مجله دنیای میکروب‌ها
سال هفتم شماره دوم (پیاپی ۱۹) تابستان ۱۳۹۳
صفحات ۱۳۷-۱۲۸

Original Article

تاثیر ضد اتصالی *لاکتو باسیلوس رامنوسوس* بر *استرپتوکوک* های دهانی

ساناز طهمورث پور[۱]، آرزو طهمورث پور*[۲]، روحا کسری کرمانشاهی[۳]

[۱]دستیار تخصصی دندانپزشکی کودکان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان اصفهان، دانشکده دندانپزشکی، گروه تخصصی کودکان، [۲] دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان اصفهان، دانشکده دندانپزشکی، گروه علوم پایه پزشکی، [۳] استاد، دانشگاه الزهرا، گروه زیست شناسی

چکیده

سابقه و هدف: پوسیدگی دندان شایع ترین بیماری مزمن در جهان است و استرپتوکوک های گروه میوتانس اصلی ترین عامل ایجاد پوسیدگی در انسان به شمار می روند. استفاده از پروبیوتیک ها یکی از روش های جدید پیشگیری از پوسیدگی دندان می باشد. از جمله پروبیوتیک های مهم در این فرآیند *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* است. این مطالعه با هدف بررسی تاثیر *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بر فرآیند اتصال استرپتوکوک های دهانی انجام شد.

مواد و روش ها: این پژوهش به صورت مقطعی- توصیفی بر روی ۴۰ سویه استرپتوکوک های میوتانس و غیرمیوتانس از نمونه های پلاک و پوسیدگی دندان افراد داوطلب مراجعه کننده به دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان اصفهان انجام شد. قدرت تشکیل بیوفیلم آن ها ارزیابی و قوی ترین سویه ها در تشکیل بیوفیلم انتخاب شدند. تاثیر *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (ATCC4769) بر اتصال استرپتوکوک ها به چند روش بررسی گردید. روش ۱، مخلوط هم حجم لاکتوباسیل و استرپتوکوک به طور هم زمان، روش ۲، ۳۰ دقیقه قبل از ورود استرپتوکوک به سیستم، روش ۳، رسوب سلولی پروبیوتیک و در روش ۴ روماند کشت شبانه پروبیوتیک استفاده گردید.

یافته ها: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در هر ۴ روش موجب کاهش اتصال استرپتوکوک ها به سطح گردید. از میان روش های مورد بررسی روش ۲ از بقیه موثرتر بود. به طوری که در روش ۲ کاهش بیشتری در اتصال استرپتوکوک های میوتانس نسبت به غیر میوتانس ایجاد گردید. بین روش های ۳ و ۴ نیز تفاوتی از نظر اتصال مشاهده نشد. اما تاثیر هر دو روش بر استرپتوکوک های میوتانس از دیگر استرپتوکوک ها بیشتر بود.

نتیجه گیری: استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به عنوان پروبیوتیک اتصال استرپتوکوک های میوتانس و غیرمیوتانس به سطوح را کاهش داده و می تواند منجر به کاهش شیوع پوسیدگی دندان گردد.

واژگان کلیدی: پوسیدگی دندان، *استرپتوکوکوس میوتانس*، پروبیوتیک، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*.

دریافت مقاله: تیر ماه ۹۲ پذیرش برای چاپ: آبان ماه ۹۲

مقدمه

پوسیدگی دندان و بیماری های پریودنتال از شایع ترین بیماری های مزمن در جهان به شمار می روند. با وجود اینکه پوسیدگی ها در انسان از دوران پیش از تاریخ وجود داشته، امروزه میزان وقوع این بیماری در سرتاسر جهان به شدت افزایش یافته است. شواهد مربوط به نقش باکتری ها به ویژه استرپتوکوک ها (Streptococcus) در ایجاد پوسیدگی، روز به

*) آدرس برای مکاتبه: اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان، دانشکده دندانپزشکی، گروه علوم پایه پزشکی. تلفن: ۰۳۱۱۵۳۵۴۰۰۱ پست الکترونیک: atahmoures@khuisf.ac.ir

روز در حال افزایش می باشد (۱). استرپتوکوک های گروه میوتانس قادر به تولید مقادیر زیادی اسید بوده و تحمل بالایی نسبت به محیط اسیدی دارند و احتمالاً ارگانیسم های اصلی مسئول پوسیدگی در انسان به شمار می روند. با توجه به میزان بالا و تراکم جهانی پوسیدگی ها، تاکنون برنامه ای با استقبال عمومی گسترده برای ریشه کنی این بیماری در مقایسه با آبله و فلج اطفال، ارائه نشده است (۲). از راه های سنتی پیشگیری از پوسیدگی دندان می توان به آموزش بهداشت دهان و دندان، مصرف فلوراید های موضعی و سیستمیک، فلوریداسیون آب آشامیدنی و در موارد نادر مصرف آنتی بیوتیک ها اشاره نمود (۱ و ۲). امروزه، استفاده از پروبیوتیک ها به عنوان یک روش جدید در پیشگیری از پوسیدگی دندان مطرح می باشد. باکتری های پروبیوتیک به علت اثرات مفید بر سلامت انسان، به مواد غذایی متنوعی مانند انواع سس، پنیر، ماست و دوغ افزوده می شوند. مکانیسم عمل این میکروارگانیسم ها مربوط به توانایی آن ها در رقابت با میکروارگانیسم های بیماری زا و تقویت سیستم ایمنی میزبان می باشد. در سال های اخیر کاربرد چنین میکروارگانیسم هایی در سلامت دهان و پیشگیری از پوسیدگی ها مورد توجه زیادی قرار گرفته است. به طوری که مطالعات انجام شده نشان می دهند که پروبیوتیک ها در پیشگیری و درمان عفونت های دهانی مانند پوسیدگی ها، بیماری های پریودنتال و بوی بد دهان موثر می باشند (۳). یک میکروارگانیسم زمانی می تواند به عنوان پروبیوتیک عمل نماید که در اکوسیستم جدید قادر به بقا، رشد، تکثیر و رقابت با عوامل بیماری زا باشد. دلایل متعددی وجود دارد که مکانیسم عمل پروبیوتیک ها در دهان مشابه مکانیسم عمل آن ها در دیگر قسمت های دستگاه گوارش یا حتی دستگاه ادراری است (۶-۴). انواع مختلفی از میکروارگانیسم ها به عنوان پروبیوتیک شناخته شده اند که از این میان می توان به لاکتوباسیل ها اشاره نمود. این باکتری ها ساکن قسمت هایی از دستگاه گوارش افراد سالم از جمله دهان می باشند و در اکوفیزیولوژی محیط دهان نقش مهمی را ایفا می نمایند.

از مهمترین *لاکتوباسیل* های ساکن دهان می توان به: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (*Lactobacillus rhamnosus*)، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (*Lactobacillus fermentum*)، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (*Lactobacillus acidiophilus*) *لاکتوباسیلوس گاسری* (*Lactobacillus gasseri*) و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* (*Lactobacillus paracasei*) اشاره نمود (۷). از آنجایی که لاکتوباسیل ها دارای جور تخمیر (Homofermentative) بوده و توانایی تخمیر ساکاروز و یا لاکتوز را ندارند، برای دندان ها ایمن به حساب می آیند (۸). بنابراین در مطالعه حاضر از *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* که از ساکنین دهان افراد سالم نیز محسوب می شود، استفاده گردید. *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، استرپتوکوک های پوسیدگی زا را مهار کرده و به دلیل عدم توانایی تخمیر ساکاروز نسبت به باکتری های تولید کننده اسید برای دندان ها ایمن تر محسوب می گردد. اما استقرار آن در حفره دهان نامشخص است (۹ و ۱۰). هدف از این مطالعه بررسی تاثیر *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به عنوان یک پروبیوتیک بر فرآیند اتصال استرپتوکوک های دهانی به روش های مختلف در شرایط آزمایشگاه می باشد.

مواد و روش ها

الف) سویه های باکتریایی و شرایط رشد: در این پژوهش مقطعی – توصیفی از نمونه های پوسیدگی دندان و پلاک دندان افراد داوطلب مراجعه کننده به دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان اصفهان، با میانگین سنی ۲۵ سال و عدم مصرف هرگونه آنتی بیوتیک در یک ماه گذشته، توسط کورت استریل دندانپزشکی، ۴۰ سویه باکتریایی جداسازی گردید. همچنین سویه استاندارد *استرپتوکوکوس میوتانس* (*Streptococcus mutans* ATCC 35668) برای مقایسه تهیه شد. تمامی سویه ها بر روی محیط کشت های بلاد آگار و میتیس سالیواریوس آگار (شرکت مرک آلمان) و در اتمسفر حاوی اندکی دی اکسید کربن و دمای ۳۷ درجه سلیسیوس کشت و گرم خانه گذاری شدند. سپس با کمک آزمون های

بیوشیمیایی و کیت تشخیصی سریع (RAPID STR) (شرکت رمل آمریکا) شناسایی و به دو گروه میوتانس و سایر استرپتوکوک های دهانی تقسیم شدند. سپس قدرت تشکیل بیوفیلم باکتری های جداسازی شده با استفاده از روش میکروتیتر پلیت مشخص و استرپتوکوک های با قدرت چسبندگی بیشتر برای استفاده در این مطالعه انتخاب گردیدند (۱۱ و ۱۲). *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ATCC4769 نیز از مرکز کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی و عفونی ایران تهیه شده و در محیط کشت MRS آگار (شرکت مرک آلمان) کشت و نگهداری گردید.

ب) تاثیر ضد میکروبی لاکتوباسیلوس رامنوسوس بر استرپتوکوک ها: برای این منظور از روش چاهک پلیت، قطره پلیت و کشت مخلوط پروبیوتیک و استرپتوکوک استفاده شد (۱۳-۱۵).

ج) تاثیر ضداتصالی لاکتوباسیلوس رامنوسوس بر شدت چسبندگی استرپتوکوک ها: در این مرحله از روش میکروتیتر پلیت استفاده شد. به طور خلاصه کشت شبانه یک درصد رقیق شده از استرپتوکوک های دهانی با قدرت اتصال بالا در محیط کشت TSB کامل شده با ۱٪ سوکروز و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ۱٪ رقیق شده در محیط کشت MRS broth تهیه شد. در روش اول ۲۰۰ میکرولیتر از مخلوط هم حجم از دو محیط فوق به چاهک های میکروتیتر پلیت انتقال داده شد. چاهک های شاهد تنها حاوی سوسپانسیون استرپتوکوک های دهانی بودند.

در روش دوم ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون پروبیوتیک ها وارد چاهک ها شده و پس از ۳۰ دقیقه سوسپانسیون استرپتوکوک ها اضافه گردید. در چاهک های شاهد این مرحله ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات و پس از ۳۰ دقیقه ۱۰۰ میکرولیتر استرپتوکوک اضافه شد. در روش سوم از رسوب سلولی پروبیوتیک استفاده شد و در روش چهارم از روماند حاصل از کشت شبانه باکتری پروبیوتیک (روش ۳) برای بررسی تاثیر پروبیوتیک بر اتصال استرپتوکوک ها استفاده گردید. در چاهک های شاهد به جای سوسپانسیون و رسوب سلولی پروبیوتیک تنها ۵۰ میکرولیتر محلول بافر فسفات ریخته شد. هدف از انجام دو روش آخر، این است که آیا جسم سلولی باکتری بر فرآیند اتصال تاثیر بیشتری دارد یا محصولات خارج سلولی باکتری. پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری محلول ها و مواد غذایی از چاهک ها خارج و ۳ بار شستشو با بافر فسفات انجام و با کریستال ویوله ۲٪ به مدت ۵ دقیقه رنگ آمیزی انجام شد.

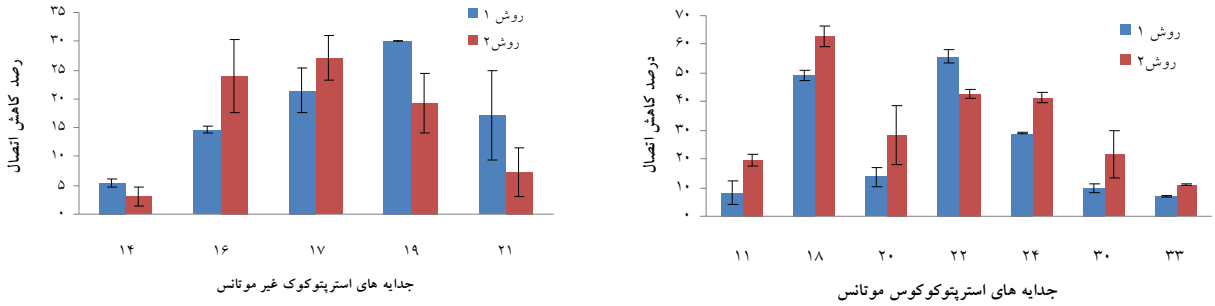
در نهایت پس از افزودن اسید استیک ۳۳٪ جذب نوری رنگ موجود در حلال رنگ بر توسط دستگاه خوانش الایزا (شرکت تکان استرالیا) ثبت گردید. با مقایسه با چاهک های شاهد درصد کاهش اتصال باکتری ها از طریق کاهش میزان جذب نوری محاسبه گردید (۴ و۱۲).

د) آنالیز های آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS آزمون دانکن و نرم افزار Excel مورد بررسی قرار گرفت. مرز معنی داری بر روی $p < ۰/۰۵$ قرار گرفت.

یافته ها

الف) جداسازی استرپتوکوک ها و تعیین قدرت تشکیل بیوفیلم آنها: در این مطالعه ۳۳ در صد از جدایه ها چسبندگی زیاد و قدرت تشکیل بیوفیلم بالایی داشتند. از این میان ۶۷ درصد *استرپتوکوکوس میوتانس* و بقیه استرپتوکوک های غیرمیوتانس بودند. ۳۹ درصد جدایه ها قدرت چسبندگی و تشکیل بیوفیلم متوسط را نشان دادند. از این میان ۵۴ درصد *استرپتوکوکوس میوتانس* بودند. ۲۵ درصد جدایه ها نیز قدرت چسبندگی ضعیف داشتند. از این میان تنها ۳۰ درصد آن مربوط به *استرپتوکوکوس میوتانس* بود. در نهایت ۳ درصد از باکتری های جداسازی شده فاقد قدرت چسبندگی و تشکیل بیوفیلم بودند به طوری که همگی به عنوان گونه های دیگر استرپتوکوک شناخته شدند. سویه استاندارد *استرپتوکوکوس میوتانس* با ATCC35668 نیز با شماره ۲۴ در این تحقیق بررسی گردید. بر اساس نتایج حاصله در گروه باکتری های شدیداً چسبنده قرار گرفت.

ب) تاثیر ضد میکروبی لاکتوباسیلوس رامنوسوس بر



شکل ۱: تاثیر *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* با دو روش ۱ و ۲ بر اتصال *استرپتوکوک های میوتانس* و *غیرمیوتانس*

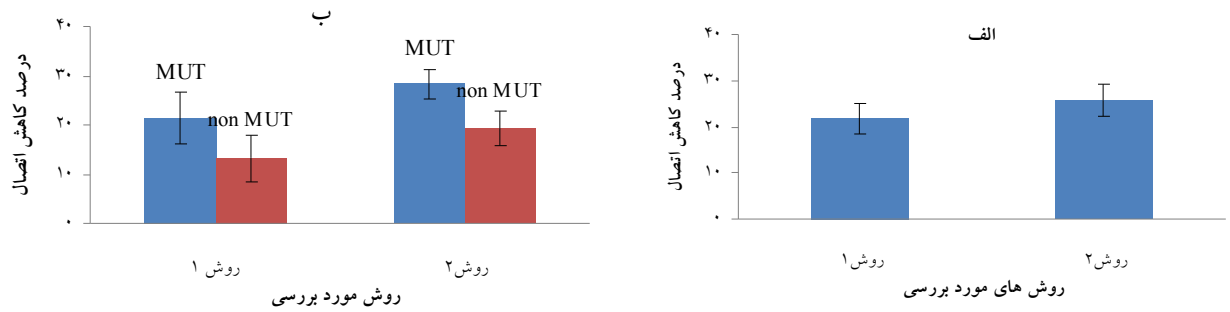
استرپتوکوک ها: در این مطالعه تاثیر ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به چند روش در مقابل استرپتوکوک های با قدرت اتصال بالا مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در هیچ یک از روش ها تاثیر ضدمیکروبی قابل ملاحظه ای وجود نداشته است.

ج) روش های بررسی تاثیر لاکتوباسیلوس رامنوسوس بر اتصال استرپتوکوک های میوتانس و غیر میوتانس: استرپتوکوک های با قدرت اتصال بالا و همچنین یک استرپتوکوک با قدرت اتصال بسیار ضعیف با استفاده از نتایج مرحله قبل انتخاب گردید.

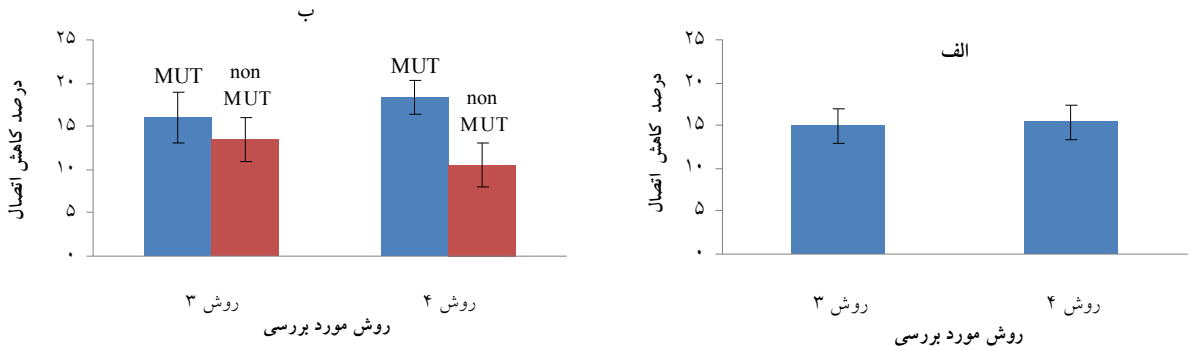
تاثیر *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به دو صورت، استفاده از کشت کامل باکتری (روش های ۱ و ۲) و استفاده از قسمتی از کشت باکتری (روش های ۳ و ۴) بر علیه اتصال آن ها به چاهک های پلی استیرنی میکروتیتر پلیت ارزیابی گردید. سپس تفاوت جذب نوری چاهک های شاهد (حاوی استرپتوکوک تنها) و چاهک های مورد نظر (حاوی استرپتوکوک و لاکتوباسیل) برای محاسبه تاثیر *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بر اتصال استفاده شد.

در استفاده از کشت کامل باکتری (روش های اول و دوم) و بررسی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بر فرآیند اتصال مشخص شد که بیشترین تاثیر به ترتیب بر *استرپتوکوکوس میوتانس جدایه های* ۱۸، ۲۲ و ۲۴ اعمال شده است (شکل ۱). تاثیر روش دوم بر اتصال استرپتوکوک ها بدون تفاوت آماری معنی دار بیش تر از روش اول بود.

روش دوم با تفاوت معنی دار آماری ($p < ۰/۰۵$) کاهش بیشتری در اتصال *استرپتوکوک های میوتانس* نسبت به غیر میوتانس



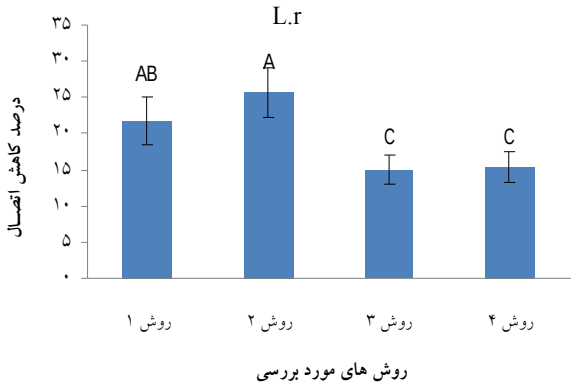
شکل ۲: مقایسه کاهش اتصال درحضور *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* با استفاده از کشت کامل پروبیوتیک (الف) و بین *استرپتوکوک های میوتانس* (MUT) و دیگر استرپتوکوک های دهانی (NON MUT) (ب).



شکل ۳: مقایسه کاهش اتصال در حضور *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بین روش های ۳ و ۴ (الف) و بین *استرپتوکوک های میوتانس* (MUT) و دیگر استرپتوکوک های دهانی (NON MUT) در ۲ روش مورد استفاده (ب).

ایجاد نمود (شکل ۲). در استفاده از قسمتی از کشت باکتری (روش های سوم و چهارم)، بین دو روش سوم و چهارم نیز تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد. اما تاثیر هر دو روش بر *استرپتوکوک های میوتانس* از دیگر استرپتوکوک ها بیشتر بود. این تاثیر در روش چهارم بین *استرپتوکوک های میوتانس* و دیگر استرپتوکوک ها تفاوت آماری معنی دار را نشان داد (شکل۳).

در مقایسه هر ۴ روش فوق مشخص شد که روش ۲ بدون تفاوت معنی دار از روش ۱ و با تفاوت معنی دار آماری از روش های ۳ و ۴ موثرتر بوده است (شکل ۴).



شکل ۴: مقایسه کاهش اتصال ایجاد شده با ۴ روش مورد استفاده در حضور *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*

بحث

در این مطالعه به بررسی اثر *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به عنوان یک باکتری پروبیوتیک بر فرآیند اتصال استرپتوکوک های گروه میوتانس و غیرمیوتانس جدا شده از افراد داوطلب به روش های مختلف پرداخته شد. نتایج نشان داد که روش دوم مورد استفاده (استفاده از پروبیوتیک به مدت ۳۰ دقیقه قبل از ورود استرپتوکوک به سیستم) از روش های دیگر موثرتر بوده است.

از زمانی که اولین مطالعات در رابطه با پروبیوتیک ها توسط متچینکوف در سال ۱۹۰۷ منتشر گردید، آگاهی از این مطلب که مصرف محصولات لبنی تخمیر شده بسیار مفید می باشد، افزایش یافته است. امروزه به دلیل کاهش تاثیر آنتی بیوتیک ها به دنبال گسترش مقاومت، توجه ها مجدداً به سمت مصرف پروبیوتیک ها معطوف گردیده است (۵ و ۶).

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که به طور کلی حضور *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ATCC4769 به عنوان پروبیوتیک موجب کاهش اتصال استرپتوکوک ها به سطوح مورد آزمایش می گردد. این مطلب می تواند به میان کنش بین باکتری ها و نیز تولید برخی متابولیت های ثانویه مانند باکتریوسین ها و بیوسورفکتانت ها نسبت داده شود.

در پژوهش حاضر لاکتوباسیل ها به دو صورت کلی بر علیه استرپتوکوک ها به کار رفتند: استفاده از کشت کامل پروبیوتیک که در این حالت علاوه بر حضور پروبیوتیک زنده محصولات

احتمالی تولید شده توسط آن ها نیز حضور دارند (روش ۱: ورود هم زمان دو باکتری به سیستم و روش ۲: ورود پروبیوتیک ۳۰ دقیقه قبل از استرپتوکوک) و استفاده از قسمتی از کشت پروبیوتیک که در این صورت از سلول زنده به تنهایی (روش ۳) یا از محصولات سلولی بدون حضور هیچ گونه سلولی (روش ۴) استفاده گردید.

وقتی از کشت کامل *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* استفاده شد کاهش ایجاد شده در اتصال استرپتوکوک ها با تفاوت آماری معنی دار بیش از استفاده از قسمتی از کشت پروبیوتیک بود. یکی از مکانیسم های موثر در پیدایش چنین نتیجه ای، برهم کنش پروبیوتیک حاضر با باکتری های بیماری زا گزارش شده است. همچنین می توان نتیجه گرفت که پروبیوتیک ها از جمله لاکتوباسیل ها قادر به اتصال به سطوح و تعدیل نمودن جایگزینی گونه های دهانی استرپتوکوک ها هستند. بنابراین حضور آن ها و متابولیت های ثانویه آن ها می تواند افزایش دهنده تاثیر هر کدام به تنهایی باشد. به طوری که مشاهده شد در صورت استفاده از قسمتی از کشت پروبیوتیک (روماند کشت حاوی محصولات سلول های پروبیوتیک یا رسوب سلولی) کاهش اتصال ایجاد شده کمتر بود. بنابراین می توان گفت که حضور پروبیوتیک (سلول های زنده) همراه با محصولات سلولی آن ها بسیار موثرتر از استفاده تک تک آن ها می باشد.

مطالعات نشان داده است که لاکتوباسیل ها مانند *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* با تولید ترکیبات ضد میکروبی از جمله اسید پیروگلوتامیک با دیگر میکروارگانیسم های موجود در دهان رقابت می نماید. از طرفی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* قادر به تداخل عمل با فرآیند جایگزینی عوامل بیماری زا در دستگاه گوارش است. به طوری که این میان کنش را با مکانیسم های رقابت و تولید ترکیبات مهار کننده از جمله باکتریوسین ها اعمال می نماید (۱۶).

در این تحقیق با مقایسه روش های ۱ و ۲ مشخص شد، زمانی که سویه پروبیوتیک قبل از استرپتوکوک وارد سیستم مورد آزمایش گردید (روش ۲) کاهش اتصال استرپتوکوک بیشتر شد. این امر را می توان به پر شدن جایگاه های اتصال توسط سویه پروبیوتیک قبل از ورود سویه کاریوژنیک نسبت داد. بنابراین افزودن سویه پروبیوتیک قبل از سویه پوسیدگی زا (کاریوژنیک) استقرار سویه پوسیدگی زا را در سطوح مورد مطالعه کاهش می دهد. از طرفی تصور می شود که سویه پروبیوتیک یا محصولات آن قادر به تغییر بخشی از ساختمان یا فیزیولوژی باکتری دخیل در تشکیل بیوفیلم (استرپتوکوک های *میوتانس* و سایر گونه های استرپتوکوک دهانی) خواهد بود. این تغییر در حضور *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در ارتباط با *استرپتوکوکوس میوتانس* جدایه ۱۸ و ۲۲ و استرپتوکوک غیر میوتانس جدایه ۱۹ مشخص می کند که اتصال به میزان بیشتری از دیگر جدایه ها تحت تاثیر پروبیوتیک مورد استفاده قرار گرفته و کاهش یافته است. کمترین تاثیر مربوط به *استرپتوکوکوس میوتانس* جدایه ۱۴ بود که جزو باکتری های ضعیف از نظر اتصال شناخته شد. این تاثیر منطقی و قابل پیش بینی بود. بنابراین به منظور تایید نتایج، از این سویه در کنار دیگر سویه ها استفاده گردید.

به طور کلی حضور پروبیوتیک در هر ۴ روش به کار رفته در اتصال استرپتوکوک ها کاهش ایجاد نمود. این فرآیند به برهم کنش باکتریایی، رقابت در اتصال به جایگاه های اتصال و یا حتی خاصیت تولید ترکیبات با قدرت ضد اتصالی توسط سویه پروبیوتیک مرتبط است. بنابراین باید مورد توجه و بررسی بیشتر قرار گیرند.

مطالعات دیگری نیز بر همین اساس با استفاده از *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (۱۱) و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (۱۲) انجام گردید که نتایج مشابهی در پی داشت. به طوری که در همگی بیشترین تاثیر مربوط به روش ۱ سپس روش ۲ بوده است. در هر ۲ مطالعه قبلی و مطالعه حاضر روند تاثیر روش های به کار رفته یکسان و به صورت زیر می باشد:

روش ۳ < روش ۴ < روش ۱ < روش ۲

موکیم (Mokeem) و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *لاکتوباسیلوس روتری* (*L. ruteri*) با کاهش *استرپتوکوکوس های میوتانس* عامل پوسیدگی به

عنوان پروبیوتیک قادر به پیشگیری از پوسیدگی می باشند. آنها یکی از مکانیسم های موثر پروبیوتیک ها را میان کنش آن ها با باکتری های بیماری زا گزارش نمودند (۱۷).

یافته های نیکاوا (Nikawa) و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان داد که مصرف شیر تخمیر شده (ماست) حاوی *لاکتوباسیلوس روتری* می تواند در کاهش ریسک پوسیدگی دندان موثر واقع گردد (۱۸). کوملی (Comelli) و همکاران در سال ۲۰۰۲ بیان نمودند که *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* می تواند از استقرار استرپتوکوک های عامل پوسیدگی ممانعت نماید (۴).

در پژوهش های دیگر نیز نقش بیوسورفکتانت *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (۱۹) و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (۲۰) در کاهش بیان ژن های موثر در اتصال *استرپتوکوکوس میوتانس* مشخص شده است. از طرفی با مقایسه نتایج حاصل از هر ۳ مطالعه و پژوهش حاضر می توان چنین برداشت نمود که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (۱۹) و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بر اتصال استرپتوکوک های میوتانس تاثیر بیشتری داشته اند. در حالی که *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (۲۰) بر اتصال استرپتوکوک های غیر میوتانس موثر تر بوده است. بنابراین می توان نتیجه گرفت که برای حصول نتیجه مناسب تر، بهتر است از انواع پروبیوتیک ها به طور همزمان استفاده نمود.

کاگتی (Cagetti) و همکاران در سال ۲۰۱۳ در یک مطالعه مروری به بررسی مطالعات بالینی انجام شده در ارتباط با تاثیر مصرف پروبیوتیک بر استرپتوکوک های میوتانس پرداختند (۲۱). در مطالعه کوتاه مدت جونجا (Juneja) و همکاران در سال ۲۰۱۲ پس از مصرف شیر حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* برای چند هفته در گروه کوچکی از بزرگسالان تعداد *استرپتوکوکوس میوتانس* در گروه شاهد و گروه مطالعه اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد. اما در دوره های پیگیری این اختلاف معنی دار بود (۲۲). در مطالعه کوتاه مدت دیگر توسط لکسنر (Lexner) و همکاران در سال ۲۰۱۰ اختلاف آماری معنی داری بین شمارش *استرپتوکوکوس میوتانس* در گروه شاهد و گروه هدف مشاهده نگردید (۲۱ و ۲۳). در حالی که در مطالعات بلند مدت که *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* برای چند ماه (۷ و ۲۱ ماه) تجویز شد، کاهش مشخص و معنی داری در شمارش *استرپتوکوکوس میوتانس* در افراد مصرف کننده *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* مشاهده شد (۸ و ۲۱). با این وجود بر اساس این تحقیقات تاثیر پروبیوتیک های مختلف بر ریسک فاکتورهای پوسیدگی با هدف کاهش قدرت پوسیدگی زایی پلاک دندان باید بیشتر مورد توجه و بررسی قرار بگیرد.

نتیجه گیری

به طور کلی می توان نتیجه گرفت که پروبیوتیک ها به ویژه لاکتوباسیل ها قادر به اتصال به سطوح و تعدیل نمودن جایگزینی گونه های استرپتوکوک دهانی هستند. به طوری که با تاثیر بر فرآیند اتصال استرپتوکوک های پوسیدگی زا ، قادر به کاهش خطر پوسیدگی دندان و دیگر بیماری های پریودنتال خواهند بود. همچنین بهتر است برای دست یابی به نتیجه بهتر از چند نوع پروبیوتیک به طور هم زمان استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از ریاست، معاونت پژوهشی و آموزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان اصفهان به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Heymann H, Edward SJR, Ritter A. Art and science of operative dentistry, 6th ed. Elsevier Mosby, St. Louis; 2013.
2. Cassamassimo S, Fields W, MCTigue J, Nowak J. Pediatric dentistry: Infancy through adolescence, 5th ed. Elsevier Saunders, St. Louis; 2013.

3. Bhushan J, CHachra S. Probiotics- their role in prevention of dental caries: J Oral Health Com Dent. 2010; 4(3): 78-82.

4. Comelli EM, Guggenheim B, Stingele F, Nesser J. Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health . Eur J Oral Sci. 2002; 110: 218-224.

5. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry. Eur J Oral Sci. 2005; 113: 188-196.

6. Reid G, Bruce AW. Selection of *Lactobacillus* strains for urogenital probiotic applications. J Infect Dis. 2001; 183(1): 77-80.

7. Caglar E, Kargul B, Tanbogaet I. Bacteriotherapy and probiotics role on Oral health: Oral Dis. 2005; 11: 1-7.

8. Näse L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Pönkä A, Poussa T, Korpela R, Meurman JH. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. Caries Res. 2001; 35: 412-420.

9. Charalampopoulos D, Rastall RA. Prebiotics and Probiotics Science and Technology, Springer, New York; 2009.

10. Yli-knuuttila H, Snall J, Kari k, Meurman JH. Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. Oral Microbial Immunol. 2006; 21(2): 129-131

11. Tahmourespour A, Kermanshahi RK, Salehi R, Nabinejad A. The effect of a probiotic strain (*Lactobacillus fermentum*) on the attachment of oral Streptococci. Iranian J Med Microbiol . 2008; 2(1): 45-51.

12. Tahmourespour A, Kermanshahi RK. The effect of a probiotic strain (*Lactobacillus acidophilus*) on the plaque formation of oral Streptococci. Bos J Bas Med Sci. 2011; 11: 37-40.

13. Herigstad B, Hamilton M, Heersink J. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. J Microbiol Meth. 2001; 44: 121-129.

14. Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, Nishimura H. *Lactobacillus reuteri* in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans Streptococci. Int J Food Microbial. 2004; 95 (2): 219-223.

15. Schooling SR, Charaf UK, Allison DG, Gilbert P. A role for rhamnolipial in biofilm dispertion. Biofilms. 2004; 1: 91-99.

16. Naidu AS, Bidlack WR, Clemens RA. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). Crit Rev Food Sci Nutr.1992; 38(1): 113-126.

17. Mokeem SA. The synergism of probiotics in dentistry. Saudi Dent J. 2007; 19(3): 1-3.

18. Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, Nishimura H. *Lactobacillus reuteri* in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans Streptococci. Int J Food Microbiol. 2004; 95 (2): 219-223.

19. Tahmourespour A, Salehi R, Kermanshahi RK. *Lactobacillus acidophilus*-derived biosurfactant effect on *gtfB* and *gtfC* expression level in *Streptococcus mutans* biofilm cells.

Brazil J Microbiol. 2011; 42: 330-339

20. Tahmourespour A, Salehi R, Kermanshahi RK, Eslami G. The anti-biofouling effect of *Lactobacillus fermentum*-derived biosurfactant against *Streptococcus mutans*, Biofouling. 2011; 27(4): 385-392.

21. Cagetti MG, Mastroberardino S, Milia S, Cocco F, Lingström P, Campus G. The use of probiotic strains in caries prevention: a systematic review. Nutrients. 2013; 5: 2530-2550.

22. Juneja A, Kakade A. Evaluating the effect of probiotic containing milk on salivary mutans Streptococci levels. J Clin Pediatr Dent. 2012; 37: 9-14.

23. Lexner MO, Blomqvist S, Dahlén G, Twetman S. Microbiological profiles in saliva and supragingival plaque from caries-active adolescents before and after a short-term daily intake of milk supplemented with probiotic bacteria- A pilot study. Oral Health Prev Dent. 2010; 8: 383-388.

Journal of Microbial World
Volume 7, No. 2, June 2014

Original Article

Anti adhesive effect of *Lactobacillus rhamnosus* as a probiotic on oral Streptococci

Sanaz Tahmourespour[1], Arezoo Tahmourespour[2], Rooha Kasra Kermanshahi[3]

[1] Department of Pediatric Dentistry, Isfahan - Khorasgan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
[2] Associate Professor, Department of Basic Medical Science, Isfahan - Khorasgan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
[3] Professor, Department of Microbiology, Alzahra University, Tehran, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Dental caries, caused mainly by *mutans* Streptococci, is the most common chronic disease in the world. Employment of probiotics is a new emerged technique to prevent dental caries production, and *Lactobacillus rhamnosus* is one of the important common probiotics in this strategy. This study aimed to evaluate the effects of *L. rhamnosus* on the adhesion of oral Streptococci.

Materials & Methods: This cross-sectional study was carried out on 40 isolates of mutans and non-mutans Streptococci isolated from dental plaque and caries of the volunteers who admitted in dental school of Islamic Azad University, Khorasgan. The biofilm formation ability of these strains was investigated and the strongest isolates in this term were selected. The effect of *L. rhamnosus* (ATCC4769) on the adhesion of Streptococci was investigated by several methods; 1: an equal volum of *Lactobacillus* and *Streptococcus*, 2: application of Lactobacilli 30 minutes before induction of Streptococci into the system, 3: probiotic pellet 4: a supernatant of the overnight culture of probiotic.

Results: Overall, *L. rhamnousus* led to reduction of Streptococci adhesion to surface using all four strategies. The second method was the most effective, its effect was more efficient on *S. mutans* adhesion than non-mutans. There was no significant difference between third and fourth methods, but effect of both methods on *S. mutans* was more than other Streptococci.

Conclusion: Application of *L. rhamnousus* as probiotic could reduce the adhesion of mutans and non-mutans Streptococci to dental surfaces and therefore can reduce dental decay.

Keywords: Dental caries, Oral Streptococci, Probiotics, *Lactobacillus rhamnosus.*

Correspondence to:

Tel: +983115354001

E-mail: atahmoures@khuisf.ac.ir

Journal of Microbial World 2014, 7(2): 128-137.