

## مقایسه اثر دوغ پروبیوتیک کفیر با دهان شویه های کلرهگزیدین ۰/۲٪ و سدیم فلوراید ۰/۲٪ بر استرپتوکوکوس موتانس: یک مطالعه آزمایشگاهی

مریم قاسمپور<sup>۱</sup> (DDS,MS)، سیدعلی اصغر سفیدگر<sup>۲</sup> (PhD)، سمانه قره خانی<sup>۳</sup> (DDS)\*، لیلا شیرخانی<sup>۴</sup> (BSc)،

علی اکبر مقدم نیا<sup>۴</sup> (PhD)

۱- مرکز تحقیقات مواد دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

۲- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

۳- دانشگاه علوم پزشکی بابل

۵- گروه فارماکولوژی و فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

دریافت: ۹۱/۱۱/۱۷، اصلاح: ۹۱/۱۲/۱۶، پذیرش: ۹۲/۲/۱۱

### خلاصه

**سابقه و هدف:** کاهش در تعداد استرپتوکوکوس موتانس بزاق، منجر به کاهش پوسیدگی می گردد. پروبیوتیکها در دستیابی به هدف مذکور موثر اند. هدف از این مطالعه، مقایسه اثر دوغ پروبیوتیک کفیر با دهان شویه های سدیم فلوراید ۰/۲٪ و کلرهگزیدین ۰/۲٪ بر رشد استرپتوکوکوس موتانس می باشد.

**مواد و روشها:** در این مطالعه آزمایشگاهی، سوسپانسیون میکروبی از یک سوش استاندارد استرپتوکوکوس موتانس PTCC 1683 و ۷ سوش جدا شده از بزاق، بر پلیت BHI تلقیح شد. در هر پلیت دو چاهک تعبیه گردید که یکی حاوی دهان شویه سدیم فلوراید ۰/۲٪ یا کلرهگزیدین ۰/۲٪ یا نوشیدنی کفیر و یا محلول ۲۰ mg/ml پنی سیلین (کنترل مثبت) و دیگری محتوی آب مقطر (کنترل منفی) بود. پس از انکوباسیون قطر هاله عدم رشد در اطراف هر چاهک بررسی گردید. برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد به روش کدورت سنجی، محلولهای کلرهگزیدین، کفیر و پنی سیلین بطور سریالی رقیق شده و سوسپانسیون میکروبی به آنها افزوده شد. کدورت محلولها قبل و پس از انکوباسیون توسط دستگاه ELIZA reader 2 ثبت و کمترین غلظت با اثر ضد باکتریایی گزارش گردید.

**یافته ها:** در اطراف سدیم فلوراید هاله ای وجود نداشت. میانگین قطر هاله برای پنی سیلین، کلرهگزیدین و کفیر به ترتیب ۴۳/۲۹±۴/۶۸ mm، ۲۷/۳۸±۳/۳۹ و ۱۹/۸۸±۵/۶۲ بود. اختلاف داده ها بین سه گروه و نیز دو به دو در تمامی گروهها معنی دار بود ( $p \leq 0.001$ ). حداقل غلظت بازدارندگی از رشد برای پنی سیلین، کلرهگزیدین و کفیر به ترتیب در دامنه ۶/۲۵-۳/۱۲۵٪، ۲۵-۶/۲۵٪ و ۵۰-۲۵٪ ثبت گردید.

**نتیجه گیری:** نتایج مطالعه نشان داد که کفیر بیشتر از سدیم فلوراید ۰/۲٪ و کمتر از کلرهگزیدین ۰/۲٪ قادر به مهار استرپتوکوکوس موتانس می باشد.

**واژه های کلیدی:** کفیر، کلرهگزیدین، سدیم فلوراید، استرپتوکوکوس موتانس.

### مقدمه

کلرهگزیدین، آدامسهای زایلیتول و ... در کاهش تعداد استرپتوکوکوس موتانس بزاق موفق بوده اند (۲). کلرهگزیدین به عنوان یک ماده ضد میکروبی عالی به صورت دهان شویه، ژل و وارنیش در دسترس است اما به دلیل طعم بد، تغییر حس چشایی و پتانسیل تغییر رنگ بافتهای دهان، علی رغم اثرات ضد میکروبی مفید آن، عدم رضایت مصرف کنندگان را در پی داشته است (۳و۴). دهان شویه سدیم فلوراید در دو غلظت ۰/۵٪ و ۰/۲٪ به ترتیب برای مصرف روزانه و هفتگی ارائه می شود (۱-۳). این ترکیب در استفاده طولانی مدت، علاوه بر مقاوم سازی مینا در برابر پوسیدگی و تقویت روند معدنی شدن مجدد ضایعات اولیه پوسیدگی، میزان استرپتوکوکوس موتانس بزاق را نیز می کاهش (۳). با این حال،

پوسیدگی دندان یک بیماری عفونی شایع با ماهیت چند عاملی می باشد (۱). حضور باکتری های مولد پوسیدگی در کنار دندان مستعد، دسترسی به کربوهیدرات قابل تخمیر تصفیه شده و زمان، عاملی ضروری برای آغاز روند دمنیزالیزاسیون دندان است (۱و۲). در واقع پوسیدگی دندان بدون حضور باکتریهای پوسیدگی زا روی نمی دهد (۱). استرپتوکوکوس موتانس مهمترین و بیماریزاترین میکروارگانیسم پوسیدگی زاست و مسئول آغاز پوسیدگی شناخته شده است، طبیعتا بکارگیری روشهای مهار کلونیزاسیون این باکتری می تواند از میزان پوسیدگی بکاهد (۱). تاکنون مواد ضد میکروبی گوناگونی به منظور مهار باکتریهای پوسیدگی زا مورد آزمایش قرار گرفته اند. ترکیبات فلوراید،

\* مسئول مقاله:

آدرس: بابل، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده دندانپزشکی، تلفن: ۰۱۱۱-۲۱۹۱۴۰۸

e-mail: sgharekhani@gmail.com

محیط MRS agar و تحت شرایط قبلی کشت داده و از هر کلونی لام تهیه و رنگ آمیزی گرم انجام شد، برای شناسایی مخمرها تست جرم تیوب، هیدرولیز اوره، رشد در محیط سیکلوهاگزامید و تخمیر قندهای لاکتوز، سوکروز، گلوکز، گالاکتوز، مالتوز، ترهالوز و برای شناسایی باکتریها تست کاتالاز، اکسیداز و هیدرولیز بایل اسکولین و تخمیر قندهای لاکتوز، سوکروز، گلوکز، گالاکتوز، مانوز، مالتوز، مانیتول، ملیبوز، رافینوز، آرابینوز، زایلوز و سوربیتول (Sigma-Aldrich, USA) انجام شد (۱۰). پس از شناسایی مخمرها و باکتریهای موجود در نوشیدنی کفیر، محلول تهیه شده برای ادامه مطالعه به کمک فیلتر  $\mu\text{m}$  ۰/۲۲ استریل شد.

**آزمون چاهک پلیت و کدورت سنجی برای تعیین اثر و حداقل غلظت بازدارندگی از رشد:** از هر نمونه باکتری سوسپانسیون سلولی با غلظت  $0/5 \times 10^8$  مک فارلند تهیه شده و با سواب استریل بر سطح ۸ پلیت BHI (Brain heart infusion, Himedia, India) - در مجموع بر سطح  $64 \times 10^8$  پلیت- تلقیح شد (برای هر نمونه، هر آزمون دو بار انجام گرفت). ۲ چاهک به قطر  $2 \text{ mm}$  و عمق  $3 \text{ mm}$  در هر پلیت تعبیه شد. در هر کدام از چاهکها به میزان مساوی  $100 \mu\text{l}$  از دهان شویه سدیم فلوراید  $0/2\%$  (۹۰۰ ppm) (Shahre daru, Tehran, Iran) یا دهان شویه کلرهگزیدین  $0/2\%$  (Shahre daru, Tehran, Iran) یا نوشیدنی پروبیوتیک کفیر خانگی و یا محلول آبی  $20 \text{ mg/ml}$  (Thehran, Iran Farabi pharmaceutical co.) پنی سیلین به عنوان کنترل مثبت (۲۰) و در چاهک بعدی آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی ریخته شد. پلیتها به مدت ۴۸ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد انکوبه شدند. برای تعیین MIC (حداقل غلظت بازدارندگی از رشد) به روش کدورت سنجی، رقتهای  $1/2$  تا  $1/64$  (۵۰-۱/۵۶٪) از دهان شویه کلرهگزیدین، نوشیدنی کفیر و پنی سیلین در محیط کشت مایع BHI (Himedia, India) تهیه شد. سپس  $1 \text{ ml}$  از هر نمونه سوسپانسیون سلولی استرپتوکوکوس موتانس (غلظت  $0/5 \times 10^8$  مک فارلند) به هر لوله اضافه شده و برای ۲۴ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد انکوبه شدند. کدورت محلولها قبل و پس از انکوباسیون به کمک دستگاه ELIZA reader ۲ خوانده و ثبت گردید. سپس قطر هاله عدم رشد در اطراف هر چاهک اندازه گیری و نتایج با آزمون آماری غیر پارامتریک Kruskal-Wallis و Mann-Whitney آنالیز شد و  $p < 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته ها

نمونه های بومی جدا شده تحت عنوان استرپتوکوکوس موتانس به اپتوچین و باسیتراسین مقاوم، کاتالاز منفی، برخی از آنها قادر به هیدرولیز اسکولین و تخمیر قندهای سوبیتول و مانیتول بودند. همچنین ساکارومایسس سرویزیه و لاکتوباسیلوس کازنی زیرگونه سودو پلانتراروم از نوشیدنی کفیر تهیه شده، جدا شدند. نتایج آزمایشات انجام شده برای شناسایی پروفایل میکروبی نوشیدنی کفیر در جدول ۱ آمده است. در این مطالعه از ۸ سوش باکتری استرپتوکوکوس موتانس هیچ کدام در اطراف چاهک مربوط به دهان شویه سدیم فلوراید و آب مقطر استریل (کنترل منفی) هاله عدم رشد نشان ندادند. بنابراین قطر هاله برای آنها معادل قطر چاهک یعنی ۶ میلی متر در نظر گرفته شد. میانگین قطر هاله عدم

بلع مقادیر زیاد فلوراید موجب مسمومیت حاد و گاه کشنده گشته و یا در دراز مدت منجر به تغییر رنگ و هیپوپلازی مینای دندانهای در حال تکامل می شود. بنابراین تجویز دهان شویه فلوراید به دلیل عدم توانایی کودکان پیش دبستانی در بیرون ریختن آب دهان و در نتیجه احتمال بلع فلوراید اضافی منع گردیده است (۳-۱). از سوی دیگر اخیراً چندین مطالعه تاثیر پروبیوتیکها - میکروبیهای زنده و مفید که بمقادیر کافی به غذاها یا مکملهای غذایی افزوده می شوند- را در کاهش تعداد باکتریهای پوسیدگی زان نشان داده اند (۵). اثرات مفید این میکروارگانیسمها بر سلامتی، همچون درمان و پیشگیری از بیماریهای دستگاه گوارش و سیستم ایمنی و ... به خوبی نشان داده شده است (۷و۶). تصور می شود با جایگزینی پروبیوتیکها در رقابت با استرپتوکوکوس موتانس برای تصاحب غذا و پناهگاه در محیط دهان، بتوان اکوسیستم پلاک را در جهت کاهش تعداد باکتریهای مولد پوسیدگی تغییر داده و به تبع آن میزان پوسیدگی را نیز کاهش داد (۸). کفیر یکی از انواع محصولات لبنی پروبیوتیک است که از طریق تخمیر شیر با دانه های کفیر تهیه می شود. دانه های سفید رنگ کفیر با ظاهری شبیه به گل کلم حاوی مجموعه ای از باکتریها شامل لاکتوباسیلها و لاکتوکوکسیها و مخمرهاست و سرشار از ویتامین های B1 و B2 و K، کلسیم، اسیدهای آمینه و اسید فولیک می باشد (۹). از آنجا که این نوشیدنی حاوی درصد کمی چربی و لاکتوز است در بسیاری از رژیمهای غذایی خاص کاربرد دارد (۷). محققان نشان دادند که دانه های کفیر بر علیه انواع گوناگون باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی و برخی از قارچها موثرند (۹). هدف از انجام این مطالعه تعیین و مقایسه اثر مهارت نوشیدنی پروبیوتیک کفیر با مواد ضد میکروبی رایج از جمله دهان شویه سدیم فلوراید  $0/2\%$  و کلرهگزیدین  $0/2\%$  بر رشد استرپتوکوکوس موتانس در آزمایشگاه می باشد.

### مواد و روشها

این یک مطالعه تجربی- آزمایشگاهی به روش چاهک- پلیت و کدورت سنجی طراحی گردید. **تهیه نمونه میکروبی مورد نیاز:** برای انجام این مطالعه از سوش استاندارد استرپتوکوکوس موتانس PTCC 1683 (مرکز کلکسیون قارچها و باکتریهای صنعتی ایران) و جدا شده از نمونه بزاق ۷ داوطلب سالم ۳۵-۲۵ ساله استفاده شد. جداسازی استرپتوکوکوس موتانس بزاق افراد داوطلب، از طریق کشت در محیط Blood agar (Merk, Germany) با  $5\%$  خون انسان و انجام رنگ آمیزی گرم و تستهای بیوشیمیایی از قبیل تست مقاومت به اپتوچین و باسیتراسین، کاتالاز، هیدرولیز اسکولین و تخمیر قندهای سوربیتول و مانیتول صورت گرفت (۱۰).

**تهیه نوشیدنی پروبیوتیک کفیر و شناسایی پروفایل میکروبی آن:** نوشیدنی پروبیوتیک کفیر با افزودن  $5\%$  دانه کفیر به شیر پاستوریزه، طی ۴۸ ساعت تخمیر در حرارت  $30^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد تهیه شد. ابتدا  $1 \text{ ml}$  از رقت  $10^{-6}$  محلول مذکور به محیط کشت MRS broth (Mann Rogosa Sharp, Himedia, India) منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد در شرایط هوازی و بی هوازی ( $100\% \text{ CO}_2$ ) انکوبه شد. سپس یک لوپ از آن را در محیط کشت MRS agar (Himedia, India) کشت داده و انکوبه شد. بار دیگر کلونی های متفاوت از لحاظ شکل و سایز بطور مجزا در

پنی سیلین و سدیم فلوراید با کنترل منفی به ترتیب در تصاویر نشان داده شده است (تصاویر ۴-۱). حداقل غلظت بازدارندگی از رشد برای نوشیدنی کفیر در دامنه غلظت ۵۰-۲۵٪، برای کلرگزیدین ۲۵-۶/۲۵٪ و برای پنی سیلین ۶/۲۵-۳/۱۲۵٪ بود.

رشد در اطراف چاهک کفیر  $19/88 \pm 5/62$  mm، در اطراف چاهک کلرگزیدین  $27/38 \pm 3/39$  mm و در اطراف چاهک پنی سیلین  $43/29 \pm 4/68$  mm بود. اختلاف داده ها بین سه گروه و نیز دو به دو در تمام گروهها معنی دار بود ( $p \leq 0/0001$ ). مقایسه هاله عدم رشد در اطراف چاهکهای کفیر، کلرگزیدین،

### جدول ۱. خصوصیات بیوشیمیایی ساکارومايسس سرویزیه و لاکتوباسیل کازئی زیر گونه سودو پلانتاروم

| آزمایش                | ساکارومايسس سرویزیه | لاکتوباسیل کازئی زیر گونه سودو پلانتاروم |
|-----------------------|---------------------|------------------------------------------|
| رنگ آمیزی گرم         | +                   | +                                        |
| جرم تیوب              | -                   | -                                        |
| هیدرولیز اوره         | -                   | -                                        |
| مقاومت به سیکلوگزامید | -                   | -                                        |
| کاتالاز               | +                   | +                                        |
| اکسیداز               | +                   | +                                        |
| متابولیسم اسکولین     | +                   | +                                        |
| لاکتوز                | -                   | +                                        |
| گالاکتوز              | +                   | +                                        |
| دکستروز               | +                   | -                                        |
| سوکروز                | +                   | +                                        |
| ترهالوز               | +                   | +                                        |
| فروکتوز               | +                   | +                                        |
| مانیتول               | +                   | +                                        |
| تخمیر قندها           | +                   | +                                        |
| مانوز                 | +                   | +                                        |
| مالتوز                | +                   | +                                        |
| ملبیوز                | -                   | -                                        |
| آرابینوز              | -                   | -                                        |
| زایلوز                | -                   | -                                        |
| رافینوز               | -                   | -                                        |
| سوربیتول              | -                   | -                                        |



تصویر ۲. هاله عدم رشد در اطراف چاهک دهان شویه کلرگزیدین



تصویر ۱. هاله عدم رشد در اطراف چاهک نوشیدنی پروبیوتیک کفیر



تصویر ۴. فقدان هاله عدم رشد در اطراف چاهک دهان شویه سدیم فلوراید



تصویر ۳. هاله عدم رشد در اطراف چاهک پنی سیلین



## بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه پنی سیلین، کلرهگزیدین و دوغ کفیر به ترتیب بیشترین توانایی را در مهار استرپتوکوکوس موتانس نشان دادند. اگرچه هاله عدم رشد در اطراف چاهک حاوی دوغ پروبیوتیک کفیر کمتر از پنی سیلین و کلرهگزیدین بود ولی موید اثر ضد میکروبی این ماده است. Cogulu و همکاران در یک مطالعه بالینی نشان دادند مصرف ۳ هفته نوشیدنی کفیر، می تواند منجر به کاهش اجتماع استرپتوکوکوس موتانس بزاق شود (۱۱). علاوه بر آن، مشخص شده که گونه های پروبیوتیک با حداکثر قابلیت تداخل علیه استرپتوکوکوس موتانس شامل لاکتوباسیلوس رامنوز، لاکتوباسیلوس پلانتروم، لاکتوباسیلوس رتری و لاکتوباسیلوس پاراکازی می باشند (۱۳ و ۱۲) و از آنجا که این میکروارگانیسمها در گونه های مختلف کفیر یافت شده اند، می توان انتظار داشت که انواع مختلف کفیر اثرات ضد استرپتوکوکوس موتانس داشته باشند (۱۴). به نظر می رسد pH پایین محیط اطراف لاکتوباسیلها، استمرار کلونیزاسیون استرپتوکوکوس موتانس را مهار می کند بنابراین در عمل، پروبیوتیکها، مانع تشکیل بیوفیلم باکتری مذکور و چسبندگی آن به سطوح بافتی می شوند (۱۷-۱۴).

بر خلاف عوارض یاد شده برای سایر مواد آنتی باکتریال و آنتی بیوتیکها، در مطالعات گذشته عارضه خاصی برای نوشیدنی کفیر عنوان نشده است در عین حال تنها در موارد وجود پوسیدگی فعال، به فرض امکان دخالت لاکتوباسیلها در پیشرفت پوسیدگی فعلا استفاده از آن توصیه نمی شود (۱۹ و ۱۸). در مقابل کلرهگزیدین گلوکونات به عنوان استاندارد طلایی در مطالعات بر روی مواد کنترل کننده پلاک و همچنین بهترین ماده ضد میکروبی با طیف وسیع در محیط دهان شناخته شده است. نمک گلوکونات کلر هگزیدین با ماهیت کاتیونیک در طول زمان اثر باکتریوستاتیک مداومی ایجاد می کند. مکانیسم اثر این ماده از طریق اتصال به دیواره سلولی میکروارگانیسم و افزایش نفوذ پذیری غشای سلولی و نشت محتویات سیتوپلاسمی به خارج از سلول می باشد (۲۰). اما متأسفانه این ماده ارزشمند به دلیل طعم بد، تغییر در حس چشایی و ایجاد رنگدانه قهوه ای بر روی دندانها و مخاط دهان و زبان چندان مورد استقبال مردم قرار نگرفته است (۲۳-۲۱ و ۲۴).

بر خلاف انتظار سدیم فلوراید در این مطالعه اثر ضد میکروبی از خود نشان نداد. می توان گفت احتمالا این این نتیجه، به غلظت کم و مدت زمان کوتاه تماس با دهان شویه فلوراید در مطالعه حاضر مربوط است. فلوراید یک ماده ضد میکروبی با طیف فعالیت وسیع و پایداری طولانی مدت در دهان است. این ماده

در غلظت ۱-۱۰ ppm سبب کاهش تولید اسید شده، در غلظت های بالاتر از ۲۵۰ ppm باکتریوستاتیک و در ۱۰۰۰ ppm باکتریسید است (۲۴). اثرات باکتریسیدال و باکتریوستاتیک فلوراید در غلظتهای بالا و یا اکسپوزهای مداوم به ترکیبات فلوراید با غلظت کم، در مطالعات گذشته به اثبات رسیده است. Kaneko و همکاران نشان دادند که مصرف طولانی مدت دهان شویه فلوراید تعداد استرپتوکوکوس موتانس بزاق را کاهش می دهد (۲۵). Yoshihara و همکاران با مطالعه تاثیر دهان شویه فلوراید بر سطوح استرپتوکوکوس موتانس بزاق دریافتند که دهان شویه فلوراید میزان استرپتوکوکوس موتانس بزاق را بطور معنی داری کاهش می دهد (۲۶). مطالعه بالینی Kulkarni و همکاران نیز اثر مهاری دهان شویه سدیم فلوراید ۰/۰۵٪ را بر استرپتوکوکوس موتانس نشان داد (۲۷). بنابراین پیشنهاد می شود این مطالعه به صورت بالینی انجام گیرد تا محدودیت موجود برطرف گردد و قیاس صحیحی بین مواد ضد باکتریایی مورد مطالعه انجام گیرد.

بر اساس داده های مربوط به حداقل غلظت بازدارندگی از رشد برای محلولهای مورد آزمایش، می توان گفت که میزان مورد نیاز از ماده فعال پنی سیلین، کلرهگزیدین و دوغ کفیر برای مهار باکتری استرپتوکوکوس موتانس به ترتیب گفته شده کمتر می باشد. به دلیل وجود تفاوت های جزئی در خصوصیات بیوشیمیایی سوشهای انتخابی برای آزمون کدورت سنجی، MIC برای هر کدام از محلولهای ضد باکتریایی نه در قالب یک عدد خاص، بلکه به صورت یک دامنه گزارش شده است. در مجموع نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اثر ضد استرپتوکوکوس موتانس دوغ کفیر از دهان شویه سدیم فلوراید ۰/۲٪ بیشتر و نسبت به دهان شویه کلر هگزیدین ۰/۲٪ کمتر است. با این حال دوغ پروبیوتیک کفیر با توجه به داشتن طعمی مطبوع، آثار سودمند در سلامت عمومی و راحتی مصرف، در کنار رعایت اصول بهداشتی دهان و فلورایدتراپی حرفه ای برای اکثر افراد جامعه که در صدد کنترل جمعیت باکتریایی دهان خود هستند توصیه می شود.

## تقدیر و تشکر

بدین وسیله از آقای دکتر رمضان رجب نیا و خانم زهرا مولانا برای راهنماییهای علمی و همچنین از خانم دکتر شیما میری برای تهیه گونه میکروبی استاندارد تشکر و قدردانی می گردد.

## Comparison of the Effect of Probiotic Yogurt-Drink Kefir, % 0.2 Chlorhexidine and % 0.2 Sodium Fluoride Mouthwashes on Streptococcus Mutans: An In vitro Study

M. Ghasempour (DDS, MS)<sup>1</sup>, S.A.A. Sefidgar (PhD)<sup>2</sup>, S. Gharekhani (DDS)<sup>3\*</sup>,  
L. Shirkhani (BSc)<sup>3</sup>, A.A. Moghadamnia (PhD)<sup>4</sup>

1. Dental Materials Research Center, Faculty of Dentistry, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

2. Cellular and Molecular Biology Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

3. Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

4. Department of Pharmacology & Physiology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

J Babol Univ Med Sci; 15(6); Nov 2013; pp: 12-18

Received: Feb 5<sup>th</sup> 2013, Revised: Mar 6<sup>th</sup> 2013, Accepted: May 1<sup>st</sup> 2013.

### ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Reduction in the number of salivary streptococcus mutans, leads to reducing the caries score. The probiotics are effective in achieving this purpose. The aim of this study was to compare the effect of probiotic yogurt-drink Kefir, 0.2% sodium fluoride and 0.2% chlorhexidine mouthwashes on the growth of streptococcus mutans.

**METHODS:** In this experimental study, microbial suspension from a standard strain of streptococcus mutans PTCC 1683 and 7 isolated salivary strains were inoculated on BHI plates. Two wells were inserted in each plate, one containing the 0.2% sodium fluoride or 0.2% chlorhexidine mouthwashes or drink Kefir or 20mg/ml penicillin solution (positive control) and the other contained distilled water (negative control). The inhibition zone around each well was measured after incubation. To determine the minimum inhibitory concentration, in turbidity measurement method, the chlorhexidine, Kefir and penicillin solutions were diluted serially so microbial suspension was added to them. The turbidities of the solutions before and after incubation were measured by ELIZA reader 2 and the minimum concentration with antibacterial effect was reported.

**FINDINGS:** There was not halo around the sodium fluoride. The mean diameter of halos for penicillin, chlorhexidine and Kefir was  $43.29 \pm 4.68$ ,  $27.38 \pm 3.39$  and  $19.88 \pm 5.62$  mm, respectively. These differences between all groups two by two were significant ( $p \leq 0.0001$ ). The minimum inhibitory concentration of penicillin, chlorhexidine and Kefir was recorded at the range of 3.125 - 6.25%, 6.25 - 25% and 25 - 50%, respectively.

**CONCLUSION:** The results of this study showed that Kefir was able to inhibit the Streptococcus mutans more than 0.2% sodium fluoride but less than 0.2% chlorhexidine.

**KEY WORDS:** Kefir, Chlorhexidine, Sodium fluoride, Streptococcus mutans.

\*Corresponding Author;

Address: Department of Pediatric, Faculty of Dentistry, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

Tel: +98 111 2291408

E-mail: sgharekhani@gmail.com

## References

1. Dean JA, Avery DR, McDonald RE. McDonald and Avery dentistry for the child and adolescent. 9th ed. Philadelphia: Mosby 2011; p: 206.
2. Pinkham JR, Casamassimo PS, Fields HW, Mc Tighe DJ, Nowak A. Pediatric dentistry: infancy through adolescence. 4th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders Co 2005; p: 200.
3. Harris N, Garcia-Godoy F, Nathe CN. Primary preventive dentistry. 7th ed. New Jersey: Pearson Education 2009; pp: 37, 69.
4. Amin M, Kazemi M, Rasaie N. In Vitro comparison of the effects of garlic juice and chlorhexidine mouthwash on oral pathogens. Jundishapur J Microbiol 2012; 5(2):398-400.
5. Hasslof P, Hedberg M, Twetman S, Steckslen-Blicks C. Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by commercial probiotic lactobacilli - an in vitro study. BMC Oral Health 2010;10:18.
6. Saraf K, Shashikanth MC, Priva T, Sultana N, Chaitanya NC. Probiotics - Do they have a role in medicine and dentistry? JAPI 2010; 58: 488-492.
7. Kasra Kermanshahi R, Moatar F, Shadzi Sh, Mahdavi M. The antimicrobial and antifungal effects of Keffir in vitro. J Babol Uni Med Sci 2002;3(4):19-24. [in Persian]
8. Twetman S, Steckslen-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. Int J Pediatr Dent 2008;18(1):3-10.
9. Otles S, Cagindi O. Kefir: a probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. Pakistan J Nutr 2003; 2(2):54-59.
10. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins 1994; p: 527-67.
11. Cogulu D, Topaloglu A, Caglar E, et al. Potential effects of a multistrain probiotic-kefir on salivary Streptococcus mutans and Lactobacillus spp. J Dent Sci 2010;5(3):144-9.
12. Simark MC, Emilson CG, Grahn HE, Jacobsson C, Roos K, Holm S. Lactobacillus-mediated interference of mutans streptococci in caries-free vs caries-active subjects. Eur J Oral Sci 2007; 115: 308-314.
13. Söderling EM, Marttinen AM, Haukioja AL. Probiotic lactobacilli interfere with Streptococcus mutans biofilm formation in vitro. Curr Microbiol 2011;62(2):618-22.
14. Farnworth ER. Kefir- a complex probiotic. Food Sci Technol Bull Functional Foods 2005;2(1):1-17.
15. Bonifait L, Chandad F, Grenier D. Probiotics for oral health: myth or reality. J Can Dent Assoc 2009;75(8):585 -7.
16. Lodi CS, Manarelli MM, Sasaki KT, Fraiz FC, Delbem AC, Martinhon CC. Evaluation of fermented milk containing probiotic on dental enamel and biofilm: In situ study. Arch Oral Biol 2010;55(1):29-33.
17. Sookhee S, Chulasiri M, Prachyabrued W. Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. J Appl Microbiol 2001; 90(2):172 -9.
18. Tahmourespour A, Kermanshahi RK. The effect of a probiotic strain (Lactobacillus acidophilus) on the plaque formation of oral Streptococci. Bosn J Basic Med Sci 2011;11(1):37-40.
19. Caglar E, Kuscu OO, Selvi Kuvvetli S, Kavaloglu Cildir S, Sandalli N, Twetman S. Short-term effect of ice-cream containing Bifidobacterium Lactis Bb-12 on the number of salivary mutans streptococci and lactobacilli. Acta Odontol Scand 2008;66(3):154-8.
20. Haukioja A, Söderling E, Tenovu J. Acid production from sugars and sugar alcohols by probiotic lactobacilli and bifidobacteria in vitro. Caries Res 2008;42(6):449-53.
21. Ataei Z, Abdollahi H, Salarzadeh M. In vitro comparison of the effect of Iranian nystatin and chlorhexidine mouthwashes with foreign samples on standard and local isolated strains of Candida albicans. J Dent Med Tehran Univ Med Sci 2006;18(4):69-76.

- 22.Parwani SR, Parwani RN, Chitnis PJ, Dadlani HP, Sai Prasad SV. Comparative evaluation of anti-plaque efficacy of herbal and 0.2% chlorhexidine gluconate mouthwash in a 4-day plaque re-growth study. *J Indian Soc Periodontol* 2013;17(1):72-7.
- 23.Nagappan N, John J. Antimicrobial efficacy of herbal and chlorhexidine mouth rinse -A systematic review. *J Dent Med Sci* 2012;2(4):5-10.
- 24.Roberson T, Heymann HO, Swift EJ. Sturdevant's art and science of operative dentistry. 6th ed. Philadelphia: Mosby 2012; p: 115.
- 25.Kaneko N, Yoshihara A, Ida H, et al. Influence of a fluoride mouthrinse on mutans streptococci in schoolchildren. *Caries Res* 2006;40(6):501-7.
- 26.Yoshihara A, Sakuma S, Kobayashi S, Miyazaki H. Antimicrobial effect of fluoride mouthrinse on mutans streptococci and lactobacilli in saliva. *Pediatr Dent* 2001;23(2):113-7.
- 27.Kulkarni VV, Damle SG. Comparative evaluation of efficacy of sodium fluoride, chlorhexidine and triclosan mouth rinses in reducing the mutans streptococci count in saliva: An in vivo study. *J Indian Soc Pedo Prev Dent* 2003;21(3):98-104.