Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.6/ NO.3/ Year : 2014
http://www.kufabiojournal.org

اختبار فعالية مستخلص المسواك في نمو البكتريا *Streptococcus mutans* و *Staphylococcus aureus* ومدى تأثيره في الجسم الحي.

بسعاد عبد زيد عبود — كلية العلوم /جامعة الكوفة
رشا شاكر نعمة — كلية العلوم /جامعة الكوفة
حيدر كامل جبار — كلية التمريض/جامعة القادسية

المراسلة مع الباحث : بسعاد عبد زيد عبود
البريد الاليكتروني: basaad.ikab@uokufa.edu.iq

الخلاصة:
تم اختبار الفعالية التثبيطية لمستخلص المسواك في نمو البكتريا (*Streptococcus mutans* و *Staphylococcus aureus*) حيث اظهر المستخلص تأثيراً واضحاً في نمو البكتريا (*Strep . mutans*) حيث ثبطها عند التركيز 40% في حين لم يؤثر في البكتريا (*Staph. aureus*). وأكدت النتائج إن المسواك لا يؤثر على الحيوانات المعاملة به كما وفر حماية للحيوانات من خلال المحافظة على معايير الدم الفسلجية .

المقدمة:
يستخدم المسواك الذي يحضر من أنواع مختلفة و كثيرة من الأشجار والنباتات كماده متبعه ومتوازنة لتنظيف الأسنان لدى الكثير من الناس في مناطق مختلفة من العالم وخاصة في آسيا وأفريقيا والشرق الأوسط وجنوب أمريكا [10] . وهذه المادة ليست متبعه لكون الدين فقط يحث على ذلك ولكن لأسباب اخرى مثل سهولة الحصول على هذه المادة وقلة تكلفتها على المستخدمين وكذلك لبساطتها في ذاتها، وقد جاء في تقرير منظمة الصحة العالمية السنوي في عدد عام (2000) قد اقر بان اعواد المسواك المختلفة تلعب دوراً مهماً واساسياً في تحسين صحة ونظافة الفم [20].
وقد اكدت الابحاث وجود ما لا يقل عن (182) نبته او شجرة مختلفة الفصائل والتي تستخدم اعوادها لتحضير المسواك ،و من هذه الاشجار يوجد ما لا يقل عن (158) نبته في قارة افريقيا وحدها [10]واشهر هذه الاشجار واكثرها شيوعاً واستخداما هي شجر الاراك (*salvadora persica*) والتي تعود للفصيلة الأراكية.
تنتشر شجرة الاراك بشكل واسع في الاماكن الحارة والاستوائية وتمتد من الهند شرقا الى موريتانيا غربا، ومن شمال افريقيا الى جنوب شرق افريقيا [21]. لقد اثبتت الابحاث ان اعواد المسواك واثناء استخدامها قد تفرز بعض المواد الكيميائية، وهذه المواد لها تأثيرات وخواص حيوية مثل المواد القاتلة البكتريا [5]. وتشريحياً وجد ان عيدان الاراك مغطاة بطبقة فلينية تليها طبقة قشرية ثم تأتي بعد ذلك الالياف الدقيقة الناعمة التي تتباعد وتفترق عند دق نهايات العيدان ونقعها بالماء بعد ازاله الطبقة القشرية .وتوجد في المركز اشعه تفصل بين الالياف تحتوي خلاياها على بلورات وحوامض ومواد وحبيبات النشاء، يعتقد انها من العناصر الفاعلة في المسواك، تتبدد هذه العناصر بعد ايام من استعماله، لذا تقطع الالياف المستعملة كل بضعة ايام ويضع من نهاية العود فرشاه جديدة و هكذا يتجدد المسواك ولا تتراكم فيه الاوساخ [1].
وفي دراسات اخرى حللت مواد نبات الاراك كيميائياً، فقد وجد ان التركيب الكيميائي لهذه الاعواد تحتوي على مواد قلويه مثل السلفادوريا (Salvadourea),الكلورايد (Chloride), ماده السيستوسترول (B.Sisto sterol), تراي مينايل أمين (Trimethylaminc)وحامض اليانسون (m-ansinicacid).بألاضافة الى Vitamin C,sulfur , silica , Tannin, Flavonide, Glycosiole, Finuirgin و مواد صمغيه (Resin).
وقد هدف هذا البحث الى دراسة تأثير مستخلص المسواك على بعض انواع البكتريا وبعض معايير الدم الفسلجية

المواد وطرائق العمل:
1- تحضير المستخلص : تم تحضير المستخلص بإضافة 5 غم من مسحوق اعواد المسواك بعد تجفيفها وطحنها الى 100 مل ماء بارد وبعد الاذابة رشح المحلول وحضرت التراكيز اللازمة لحين الاستعمال.
2- تحضير العزلات البكتيرية : شخصت بكتريا الاختبار اولياً في المستشفى التعليمي في النجف الاشرف واجريت الفحوصات البايوكيميائية لـ(*Strep. mutans* و *Staph . aureus* استناداً الى [7] و[15].للتأكد من عزله الاختبار.
3- اختبار حساسية البكتريا(*Strept.mutans* و *Staph.aureus*)للمستخلص:
اتبعت طريقة الانتشار بالأكار في الحفر (wells) [8] في هذا الاختبار وذلك من خلال تهيئة اطباق حاوية على وسط (Muller Hinton agar) لقحت اولا بعالق بكتريا *Staph.aureus*, البكتريا*Strept.mutans* كلا على حده وبمعدل 0.1 مل/ طبق ونشرت على سطح الوسط، بعد ذلك عملت حفر باستخدام الثاقب الفليني بقطر 5ملم في كل طبق ثم اضيف 0.2 مل من المستخلص وبواقع ثلاث مكررات لكلا النوعين من البكتريا اضافه الى السيطرة ثم تركت في الثلاجة مده 30 دقيقه لانتشار محاليل المستخلص ثم حضنت بدرجه 37مْ لمده 24 ساعه، قرئت النتيجة على اساس قياس قطر التثبيط (Inhibition Zone) بواسطة المسطرة [17] .
4- اختيار كفاءه المستخلص في توفير حماية من التأثيرات المرضية للبكتريا داخل الجسم الحي.

Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.6/ NO.3/ Year : 2014
http://www.kufabiojournal.org

تم تهيئة (12) حيوان قسمت الى اربع مجاميع وبواقع ثلاث حيوانات لكل مجموعة عوملت كالاتي:
1- تم حقن المجموعة الاولى تحت الصفاق بعالق البكتريا *Strept.mutans* بمعدل 1 مل/ كغم من وزن الحيوان [7] , وتركت لمدة 24 ساعة بعد ذلك حقنت بـ 1 مل من المستخلص كل 48 ساعة لمدة اسبوعين .
2- تم حقن المجموعة الثانية تحت صفاق بعالق البكتريا (*Strept.mutans*) وبمعدل 1 مل / كغم من وزن الحيوان [7]كل 48 ساعه لمده اسبوعين.
3-المجموعة الثالثة عوملت بـ 1 مل/ كغم من وزن الحيوان المستخلص كل 48 ساعة لمده اسبوعين.
4- المجموعة الرابعة حقنت بالمحلول الملحي وبواقع 1 مل/ كغم من وزن الحيوان لغرض المقارنة.
ثم متابعة الحيوانات لمده اسبوعين بعد ذلك سحبت عينات الدم منها لأجراء الفحوصات الفسلجية.

الاختبارات الفسلجية للدم:
أ- معدل التعداد الكلي لخلايا الدم البيض (W.B.Cs) حسب طريقة [6].
ب- معدل ترسيب كريات الدم الحمر (E.S.R) حسب طريقة[6].
جـ- مكداس الدم (P.C.V) حسب طريقة[6].
د- تركيز الهيموكلوبين (Hb). اعتمدت طريقة سود [3].

التحليل الاحصائي: نفذت التجارب باستخدام التصميم العشوائي (C.R.D) باستخدام اقل فرق معنوي (L.S.D) وتمت مستوى احتمال (0.05) [2].

النتائج والمناقشة:

الفحوصات الكيميائية الحياتية التأكيدية:
لتأكيد تشخيص العزلتين (*Strept. mutans* و *Staph.aureus*) تم اجراء الفحوصات التي تضمنت أشكال الخلايا البكترية ومظهر المستعمرات ومن خلال اجراء الفحوصات البايوكيميائيه (جدول 1) وبالمقارنة مع النتائج القياسية المذكورة من قبل [7]و [15].

جدول (1): الفحوصات البايوكيميائية التأكيدية للعزلتين (*Strept.mutans* و *Staph.aureus*):

نوع الاختبار	*Strept.mutans*	*Staph.aureus*
صبغة كرام Gram stain	+	+
تخمر سكر مانيتول	+	+
انتاج انزيم oxidase	–	–
انتاج انزيم catalase	–	+
تخمر سكر اللاكتوز	+	+
تخمر سكر الكلوكوز	+	+
فحص فوكس بروسكاور	+	+
رافينوز	+	–
الحركة	–	–
Coagulases	–	+

2- تأثير مستخلص المسواك في نمو البكتريا و*Staph.aureus Strept.mutans* يتضح من الجدول (2) بأن البكتريا (*Strept. mutaus*) ابدت حساسية لمستخلص المسواك بالتركيز (15%) حيث بلغ قطر التنشيط (4.8 ملم) وازداد التثبيط مع زيادة التركيز حيث بلغ ذروته عند التركيز (40%) الذي يعتبر افضل تركيز لمنع نمو بكتريا (*Strept.mutans*) حيث اصبح قطر التثبيط (30 ملم) وهذا يتفق مع ما اشار اليه [19] بانه كلما يزداد التركيز تزداد نسبة التثبيط ويعزى ذلك الى ازدياد المواد الفعالة بزيادة تركيز المستخلص. يعزى هذا التأثير في النمو البكتيري الى عدم قدرة البكتريا على مقاومة المواد الفعالة وعدم قدرتها على الحركة وعدم تكوين السبورات التي تعطيها المقاومة كذلك عدم امتلاكها الى البلازميدات

Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.6/ NO.3/ Year : 2014
http://www.kufabiojournal.org

والتراكيب الاخرى المساعدة مما يجعلها حساسة لذلك المستخلص [12]و [16]من جهة اخرى تبين ان المستخلص لم يؤثر بشكل واضح في نمو بكتريا (*Staph.aureus*) وقد يعود السبب الى مقاومة (*Staph.aureus*) للمواد الفعالة لمستخلص المسواك.

جدول (2): معدل اقطار التثبيط لنمو بكتريا (*Staph. aureus , strept. mutans*) مقدراً بـ ملم

المعاملة	تركيز المستخلص						
	%10	%15	%20	%25	%30	%35	%40
بكتريا *Strept.mutans*	-	4.8	10	13	18	23	30
بكتريا *Staph.aureus*	-	-	-	-	-	-	-
سيطرة	-	-	-	-	-	-	-

- يدل على عدم وجود تثبيط

3- التأثيرات الفسلجيه لدى الحيوانات المصابة ببكتريا (*Strept.mutans*) المعاملة مع مستخلص المسواك.
أشارت النتائج (جدول 3) الى ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في التعداد الكلي لخلايا الدم البيض عند الجرذان المعاملة بعالق البكتريا *Strept.mutans* (8866.6) خليه / ملم3 بالمقارنة مع السيطرة (3730) خليه/ ملم^3 . وهذا يشير الى وجود اصابات بكتيرية شديدة في انسجة الجسم المختلفة نتيجة لإنتاج البكتريا الاحماض الضارة، وانتاج بعض الانزيمات المؤثرة في كريات الدم البيض او عملت البكتريا على التقليل من الفعالية الالتهاميه للخلايا العدلة [18].
اما بالنسبة للمجاميع الاولى والثالثة فقد كانت هناك فراق معنويه فيما بينهما مقارنه مع معامله السيطرة وهي واقعه ضمن المدى الطبيعي لمعدل التعداد الكلي لخلايا الدم البيض، وتؤكد هذه النتيجة على عدم حصول حاله تجرثم الدم او أي تأثيرات مرضيه في الاعضاء والأنسجة للحيوانات المعاملة.
كما اشارت النتائج (جدول3) الى وجود فروق معنوية بين المجموعة (2) المعاملة بالبكتريا فقط (*Strept.mutans*) ومجموعة السيطرة (4) في قيم مكداس الدم(PCV) حيث كانت (20.6 - 37) على التوالي بسبب السموم و الانزيمات التي تفرزها البكتريا التي عملت على تحليل خلية الدم او انها اثرت في مجموعة الانزيمات المهمة في تكوين سلسه الهيموكلوبين [13].
اما المجموعة الاولى و الثالثة فقد كانت ضمن المدى الطبيعي مقارنه مع معامل السيطرة (4) ومع المجموعة الثانية (2) وهذا يدل على ان المستخلص قلل من التأثيرات المرضية للبكتريا (*Strept.mutans*) والتي تمتاز بان طبيعة الجدار الخلوي لها هو غشاء نفاذ للعوامل المضادة للجراثيم والتي لا تمتلك ميكانيكيات المقاومة للعوامل المضادة للمكروبات مقارنه بالجراثيم السالبة لصبغة كرام [14].
اما بالنسبة لتركيز الهيمولكوبين الكلي للدم (Hb) فقد اظهرت النتائج جدول وجود فرق معنوي بالنسبة للحيوانات المعاملة بعالق البكتريا (*Strept.mutans*)ومجموعة السيطرة (4) حيث كانت (8.1 , 11.4)g/dL، حيث ان البكتريا تعمل على افراز انزيمات وسموم تسبب تحطيم غشاء كرية الدم او تغير النفاذية وبالتالي اثرت في تكوين خلايا الدم الحمر من خلال التأثير في انقسام خلايا الدم الحمر المتواجدة في نخاع العظم [13] ولم يلاحظ وجود فرق معنوي في معدل قيم الهيموكلوبين لدى الحيوانات المعاملة بمستخلص المسواك فقط مقارنه مع مجموعة السيطرة (4).
جدول (3) التأثيرات الفسلجية لدى الحيوانات المصابة ببكتريا (*Strept.mutans*) المعاملة بمستخلص المسواك.

نوع المعاملة	الفحص الفسلجي			
	HB (g/D)	P.C.V %	E.S.R (hr/mm)	W.B.C (cell/mm 3
1- بكتريا+ مستخلص	9	30.3	6.16	5300
2- بكتريا فقط	8.1	20.6	8.70	8866.6
3- مستخلص فقط	10.5	34.0	5.00	4020
4-معاملةالسيطرة	11.32	2.07	3.2	3730

ومن خلال ملاحظة الجدول (3) يمكن ان يتبين وجود فرق معنوي في معدل ترسيب كريات الدم (E.S.R) لدى الحيوانات المعاملة بعالق البكتريا *Strept.mutans* اذا بلغت (8.7 hr/mm)مقارنة مع معاملة السيطرة (3.2 hr/mm) وذلك بسبب قدره البكتريا على انتاج سموم او انزيمات اثرت على خلايا الدم مسببه ارتفاع قيمة (E.S.R) اما نتيجة المجموعة المعاملة بمستخلص المسواك فقط فكانت (5 hr/mm) وهي ضمن الحدود الطبيعية.

يمكن تفسير عدم تأثر الحيوانات المعاملة بالبكتريا ((*Strept.mutans*) ومستخلص المسواك هو ان اعواد المسواك تحتوي على مواد مضادة للبكتريا ومواد مضادة للالتهاب واخرى مخفضة للسكر وان هذه المواد لم تكن سامة حينما حقنت في الجرذان بتراكيز مختلفة وهذا ما أكده العلماء باكتشاف وجود ماده (Glucotropaeolin)، وهذه المادة العضوية مركبه فيها مادة الكبريت ومادة السيانيد وحلقة بنزينية وهي تدعى (Benzylisothiocy anate) في المسواك وهذه المادة قاتله للميكروبات من خلال قدرتها على تثبيط نموها ومنها في انتاج الاحماض القاتلة [4] و [11] .

اتضح من خلال هذا البحث ان المسواك (الاراك) يمتلك فعاليه عاليه في تثبيط نمو البكتريا (*Strept.mutans*) وذلك لاحتوائه على بعض المركبات الفعالة ذات التأثير الطبي مع عدم وجود اثر للسمية على الخلايا والأنسجة مما يجعل استخدامه امينا ونوصي بتنقية واستخلاص هذه المركبات واستخدامها لأغراض طبيه ضد انواع اخرى من الكائنات المجهرية.

المصادر:

1- ابو حذيفة, محمد ابراهيم (1987).السواك اهميته واستعماله .طنطا.
2- الراوي, خاشع وعبدالعزيز خلف الله (1980).تصميم وتحليل التجارب الزراعية, دار الكتب للطباعة والنشر, جامعة الموصل.
3- سود,رمنيك(1992).تقنية المختبر الطبي, طرائق وتفسيرات ترجمة د.صالح خميس ود.عبدالرزاق جبار, د.باقر عبيس .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي –بغداد- العراق.
4-AL-Bagieh,N.H.ALmas K.(1994).In vitro antibacterial effects of aqueous and alcohol extracts of maswak(chewing sticks).Cairo Dent.J:13:221-224.
5-Almas K.(1999).The antimicrobial effects of extracte of Azadirachta indica and Salvadora persica (Arak) chewing stick .Indian J.Dent Res ;10(1):23-26.
6-Brown,B.A.(1976).Hematologh :Princibles and procedures .2nd .ed.Lea and Febiger ,Philadelphia.
7-Collee,J.G.fraser,A.G.;Marmion ,B.P.&Simmons,A.(1996).Practical Medical Microbiology .14th .ed .Churchill.Livingstone,USA.
8-Egroore ,N.S.(1985).Antibiotics Scientific approach .Mirpubllishers ,Moscom.
9-Elvin-Lewis,(1980) M. plants and dental health .prev Dent.6:59-60.
10-Elvin-Lewis M.(1982). The therapeutic potential of plants used in dental folk medicine Odontostomatol Trop (3):107-117.
11-Ezmirly S.;sEFal-Naser M.(1981).Isolation of Glucotropaelin from Salvador persica .J.Chem.Soc .Pak.3.9-12.
13-Nowak ,T.J. and Handford,A.G.(2004).Textbook of pathophsiology .3rd .ed.Mcgraw Hill.USA.
14-Laurance ,D.R.,Bennet ,P.N.,&Brown ;M.j.(1997).Clinicalpharmacology .8th . ed.Churchill.L.Ingeston.
15-Macfaddin ,J.F.(2000).Biochemical tests for Identification of medical bacteria .Third edition Willkins company USA.
17-Saxena,G;Famer,S;Hancock,R.E.W.&Towers G.H.N.(1995).Antimicrobial compounds from Alnus rubra.Int.J.of pharmacognosy.
19-Taylor,R.S.L.;Manandhar,N.P.;Hudson,J.B.&Towers,G.H.N.(1996).Antiviral activity of Nefales Medicial plants.J.of Ethnopharmocology Hill.Usa.
20-WHO,(2000).Concensus Statement on oral hygience .*Int.Dent.J* .50:139.
21-Wu CD ;Darout I.A ;Skaug N.Chewing sticks (2001).Timeless natural tooth brushes for oralcleaning .J.Periodontal .Res.36(5):275-284.

Abstract:

The study was evaluated the inhibition activity for al-maswak extraction on *Strept.mutans and Staph.aureus* growth. The results show that al-maswak extraction have a

Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.6/ NO.3/ Year : 2014
http://www.kufabiojournal.org

strong effect on the growth of *Strept .mutans* .Since the extraction inhabit the growth of bacteria at concentration of 40%.Incontrast,the extraction have not effect on *Staph.aureus*. The result indicate that ,the extraction dose not induced any harmful effect on the animal .The extraction provide the animal with protection ,as it maintain physiological blood parameters within normal value.