دراسة تأثير المعزز الحيوي المحضر من بكتريا *Lactobacillus acidophilus* على التصاقية البكتريا المعزولة من تسوس الأسنان

أسامة فيصل كوكز — **كلية العلوم/جامعة القادسية**

د.زياد متعب الخزاعي — **كلية العلوم/جامعة القادسية**

بحث مستل من رسالة ماجستير

الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة جمع 101عينة مسحة من أفواه المرضى المصابين بتسوس الأسنان في مدينة الديوانية ومن كلا الجنسين وبأعمار مختلفة للفترة من شباط الى حزيران 2009 لعزل وتشخيص الأنواع البكتيرية من التسوس، إذ تم الحصول على 152 عزلة من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام، بينت النتائج سيادة بكتريا المكورات المسبحية *Streptococcus* spp. بنسبة 36.19% تليها المكورات العنقودية *Staphylococcus* spp. بنسبة 27.69% ثم عصيات الحليب *Lactobacillus* spp. بنسبة 19.8%، كما سجلت أنواع تابعة للعائلة المعوية Enterobacteriaceae بنسبة 18.81% والزوائف الزنجارية *Pseudomonas aeuroginosa* بنسبة 4.60%، كانت بكتريا *Streptococcus mutans* السائدة بنسبة 50.90% من بين الأنواع التابعة لجنس المكورات المسبحية، في حين شكلت بكتريا *Staphylococcus epidermidis* أعلى نسبة 66.66% من بين الأنواع التابعة لجنس المكورات العنقودية، أما بكتريا *L. acidophilus* فجاءت بأعلى نسبة 65.51% من بين أنواع عصيات الحليب المعزولة، كما أظهرت النتائج سيادة بكتريا *Escherichia coli* بنسبة 9.90% من أنواع العائلة المعوية.

أشارت النتائج الى مقاومة الأنواع الموجبة لصبغة غرام لأغلب مضادات الحياة قيد الدراسة وبشكل خاص مقاومة للمضادات الامبسيلين 91.44 % والارثرومايسين 89.26 %، في حين كانت اقل مقاومة للريفامبيسين 17.46 % والسبروفلوكساسين 22.22 % والتتراسايكلين 35.71 % أما الأنواع السالبة فكانت مقاومة للمضادات الامبسيلين بنسبة88.46 % والاموكسيلين 86.26 % إلا أنها قاومت بعض المضادات الاخرى بشكل قليل كالسبروفلوكساسين و الجنتامايسين والتتراسايكلين بنسب 15.38 % و34.61 % و 42.30 % على التوالي.

أظهرت النتائج وجود تأثيرات معنوية لأنواع المعزز الحيوي (Probiotic) الثلاثة المحضرة من بكتريا *L. acidophilus* المعزولة من عينات الألبان على التصاقية البكتريا على الخلايا الطلائية وعلى أقراص البوليمر للحشوة الضوئية، إذ أعطى راشح الخلايا تأثيره الأعلى على تقليل التصاقية اعداد البكتريا على الخلايا الطلائية للأنواع *S.sanguis* و *Staph.aureus* و*Shigella* spp. وبأعداد 17 و23 و19 بكتريا/خلية على التوالي، أما الخلايا المقتولة بالحرارة فكانت ذات تأثير عالي على *S.salivarius* و*S.aureus* و*Shigella* spp. وبأعداد 11 و13 و14 بكتريا/خلية على التوالي، أما التحطيم الصوتي الفائق للخلايا فكان ذو تأثير أيضا على الأنواع *S. mutans* و*Staph.aureus* و*Shigella* spp بأعداد 23 و27 و24 بكتريا/خلية على التوالي. أوضحت النتائج دور المعزز الحيوي وبأنواعه الثلاثة على تقليل الأعداد البكتيرية الملتصقة بأقراص البوليمر إذ كان تأثير الراشح على الأنواع *S.salivarius* و *Staph.aureus* و *E.coli* كبيرا وبقيم 6.8 و7.1 و4.7 خلية/ملم^2 على التوالي، أما القتل بالحرارة فيمتلك تأثيراً معنوياً ملحوظاً على الأنواع *S.salivarius* و*Staph.aureus* و *E. coli* وبأعداد 5.9 و7.6 و6.1 خلية/ملم^2 على التوالي، في حين كان التحطيم الصوتي ذو تأثير على الأنواع *S.sanguis* و*Staph.aureus* و *E.coli* وبأعداد 5.0 و4.5 و5.3 خلية/ملم^2 على التوالي. أظهرت النتائج حساسية الأنواع الموجبة لمضادات الريفامبيسين

والسبروفلوكساسين والتتراسايكلين عند تشبيع أقراص البوليمر بمضادات الحياة لاختبار التصاقية البكتريا على هذه الأقراص، بينما كانت مقاومة لبقية المضادات وبنسب متفاوتة، أما الأنواع السالبة لصبغة غرام حساسة للمضادات الريفامبيسين والسبروفلوكساسين وبشكل اقل للتتراسايكلين في حين أظهرت هذه الأنواع مقاومة عالية للأموكسيلين والارثرومايسين وبشكل اقل لبقية المضادات قيد الدراسة.

المقدمة

يعد تسوس الأسنان من أكثر الأمراض انتشاراً على مستوى العالم لذلك نال اهتمام المختصين و الباحثين في مجال طب الأسنان لكونه يشكل مشكلة بالغة الصعوبة لذوي الاختصاص علاوة على انه يسبب ألماً شديداً أكثر من الأمراض المعدية الأخرى، فضلاً على انه يبقى العامل المسؤول عن فقدان معظم الأسنان في الأعمار جميعها دون غيره من المسببات (1).

يعود سبب تسوس الأسنان وتقدمه إلى مراحل متطورة بشكل رئيسي لوبائية جرثومة*Streptococcus mutans* وجرثومة العصيات اللبنية *Lactobacillus* في تجويف الفم. إن مصدر هذه الجراثيم وغيرها قد يكون داخلياً (Endogenous) والمتمثل بالنبيت الطبيعي (Normal flora) أو خارجياً (Exogenous) كما في البكتريا الملوثة لمينا الأسنان من البيئة المحيطة كالغذاء والماء نتيجة لعدم الاهتمام بنظافة الأسنان أو الافتقار للتعقيم أو لانخفاض حساسية البكتريا لمواد تنظيف الأسنان بفعل آليات المقاومة التي تمتلكها، وبالتالي فأن ازدياد أعداد الجراثيم في التجويف الفمي (Oral cavity) يكون ما يسمى بالأغشية الحيوية (Biofilms) والتي تمثل نقاط ارتباط هذه الجراثيم بسطوح المواد الحية وغير الحية، ترسب هذه الأغشية على مينا الأسنان يكون ما يعرف بالصفيحة السنية (Dental plaque) وهذا ما يؤدي إلى تسوس الأسنان (3,4).

تبدأ عملية تكوين الأغشية الحيوية لهذه الجراثيم بخطوة أساسية أولى هي الالتصاق على السطوح الحية وغير الحية في تجويف الفم، إذ يعد الالتصاق على السطوح الحية عاملاً رئيسياً لبقاء البكتريا على قيد الحياة ويتطلب استمرار عملية الالتصاق عدة مراحل منها الانتقال بالقرب من المادة الأساس (السطح) ثم ارتباط هذه البكتريا بهذه السطوح بشكل أولي يعقبه تداخل جزيئي لمقاومة فك الارتباط في حالة وجود أي مؤثر خارجي ، من ناحية أخرى يتضمن التصاق البكتريا بالسطوح الصلبة ارتباط فيزيائي عكسي مؤقت وبمرور الوقت يتحول إلى ارتباط جزيئي خلوي غير عكسي (6) .

نظراً للدور الكبير الذي تلعبه عملية الالتصاق (Adhesion) في إحداث أمراضية وبقاء الأحياء المجهرية واكتسابها عوامل مقاومة لكثير من المواد ومنها المضادات الحياتية برز اتجاه جديد للسيطرة على انتشار وتكاثر الميكروبات وذلك بتثبيط أو إعاقة عملية الالتصاق وذلك باستخدام أحياء مجهرية حية عند إعطائها بكميات محدودة تضيف فائدة صحية للمضيف يعرف بالمعزز الحيوي (Probiotic)) (7) . من بين الأحياء المجهرية التي استخدمت كمعززات حيوية هي: *Eschrichia,Enterococcus, Bacillus* وغيرها. يمتاز جنس عصيات الحليب *Lactobacillus* المتواجد في الأغذية المتخمرة (Fermented foods) بامتلاكه للعديد من الصفات التي تجعله معزز حيوي مؤثر كالالتصاق ببطانة الأمعاء واستيطانه السريع للسبيل المعدي – المعوي (Gastrointestinal tract) وكونه جنس يشكل جزء من الأحياء المجهرية المتواجدة طبيعياً في مناطق مختلفة من الجسم كالفم والأمعاء والمسالك البولية (8) ، كما يتصف هذا الجنس بكونه غير ممرض وغير مسرطن مما يجعله أمين تجاه الإنسان بالإضافة لكونه يحفز الجهاز المناعي ويقلل نسبة الإصابة بسرطان القولون والأورام السرطانية ، كما يمتلك هذا الجنس قدرة عالية على التنافس على مواضع الالتصاق بالخلايا والسطوح وتتميز بإنتاجها العديد من المواد مثل حامض اللاكتيك (Lactic acid) بكميات كبيرة وإنتاج البكتريوسينات (Bacteriocins) وبيرو كسيد الهيدروجين (Hydrogen peroxide) ومواد أخرى لها تأثير مضاد تجاه الأجناس البكتيرية الممرضة (9,10) .

أشارت العديد من الدراسات إلى دور المعزز الحيوي في التقليل من تسوس الأسنان والقدرة على تثبيط نمو الأحياء التي تعد مسببات رئيسية لهذا المرض ، ومنها المعزز الحيوي المحضر من بكتريا حامض اللاكتيك *Lactobacillus* GG في تقليل

التصاق بكتريا *S. mutans* باللعاب المغطي لمادة (Hydroxy apitite) بشكل خرز (11) .

مما تقدم ونتيجة للخطورة الناجمة عن تسوس الأسنان وعدم وجود حلول ناجعة لعلاج هذا المرض جاءت فكرة دراسة تأثير النواتج الأيضية المفرزة من قبل بكتريا العصيات اللبينية المحبة للحموضة *L. acidophilus* ولأهميتها في تثبيط التصاق الأجناس البكتيرية المختلفة ومنها مسببات تسوس الأسنان البكتيرية والذي يعد بمثابة قطع سلسلة الخطوات المؤدية لأحداث أمراضية البكتريا. أجريت هذه الدراسة و شملت أهدافها النقاط التالية : عزل وتشخيص الأجناس البكتيرية المسببة لحالات تسوس الأسنان، تحضير المعزز الحيوي probiotic بثلاث أشكال مختلفة راشح الخلايا الحية والخلايا المقتولة بالحرارة والموجات الصوتية الفائقة لبكتريا العصيات اللبنية المحبة للحموضة *L. acidophilus* المعزولة والمشخصة من عينات الألبان، مقارنة القابلية التثبيطية للمعزز الحيوي والمضادات الحيوية في الأجناس المعزولة، دراسة القابلية التثبيطية للمعزز الحيوي على قابلية التصاق البكتريا على الخلايا الطلائية وأقراص البوليمر كنموذج للسطوح الغير حية.

المواد وطرائق العمل:

جمعت 101 عينة من المرضى المصابين بتسوس الأسنان في مدينة الديوانية ومن كلا الجنسين وبأعمار مختلفة للفترة من شباط إلى حزيران 2009 لعزل وتشخيص الأنواع البكتيرية من التسوس ،حيث تم تنمية العزلات على الأوساط الزرعية اللازمة للعزل والتشخيص وشملت الاكار المغذي واكار الدم والمرق المغذي واكار المانتول الملحي. بعد ذلك تم تشخيص العزلات اعتماداً على الخصائص المزرعية العامة والمجهرية وبعد ذلك أجريت الفحوصات البايوكيميائية اللازمة وشملت قابلية البكتريا على تحليل الدم و إنتاج الإنزيمات مثل إنزيم التخثر والبيروكسديز و الاوكسديز وتخمير السكريات (12,13,14).

تحضير المعزز الحيوي **Probiotic Preparation**

تم تحضير المعزز الحيوي بثلاث طرق وكما يلي :

عزل بكتريا حامض اللاكتيك من عينات الألبان :من 15 عينة تم جمعها من السوق المحلية لمدينة الديوانية، تم الحصول على 10 عينات أعطت نتيجة موجبة للاختبارات المظهرية والزرعية على وسط الركوزا المحور الصلب Modified Regosa agar (MRS) والمحاطة بمنطقة تثبيط ومن ثم نقلت إلى أوساط أخرى لأجراء بقية الفحوصات.

أ- راشح بكتريا حامض اللاكتيك **Lactic acid bacteria filtrate**

لقح وسط MRS السائل بلقاح (1%) من بكتريا حامض اللاكتيك LAB. ثم حضن لا هوائياً بدرجة (37مْ) لمدة (24) ساعة (15,16) . بعد الحضن تم نقل المزروع إلى جهاز الطرد المركزي ونبذة بقوة 6000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة، اخذ الرائق وعدل الأس الهيدروجيني للراشح عند دالة الحموضة pH=6.5 باستخدام (NaOH). ثم تم إجراء عملية الترشيح للسائل الرائق (Supernatant) خلال مرشحات دقيقة Millipore filter بقطر (0.22 µm) لغرض فصل المواد التي تفرزها البكتيريا عن الخلايا.

ب- قتل الخلايا بالحرارة **Heat Killed Cells**

لقح وسط MRS السائل بمزروع (1%) من LAB. ثم حضن لا هوائيا بدرجة (37مْ) لمدة (48) ساعة (15) .بعد الحضن غسلت بالماء المقطر ثم قتلت في حمام مائي (Water bath) بدرجة حرارة 100مْ لمدة 30 دقيقة وبعد ذلك تم تعليقها بمحلول Phosphate Buffer Saline(PBS) قبل الاستعمال (17) .

جـ- تحطيم الخلايا بالموجات فوق الصوتية **Ultrasonic Cells destruction**

تم استعمال جهاز الموجات الصوتية الفائقة (Ultrasonicator) لغرض تحطيم الخلايا بالموجات فوق الصوتية حيث تم ذلك باستعمال تردد موجي بدرجة عالية (60 Kz) لمدة 30 دقيقة وبحرارة تصل 30مْ.تم التأكد من عملية القتل بالتخطيط

على أحد أوساط النمو (10).

اختبار التصاقية البكتريا Bacterial Adhesion Test

تم أجراء هذا الاختبار بعدة خطوات طبقا لما ذكره (18,19) وكما يلي:

1- تحضير عالق البكتريا المرضية Preparation of Bacterial Suspension

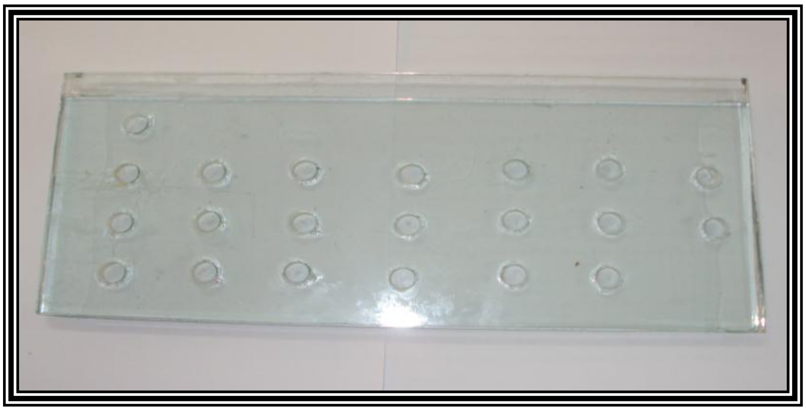
لقح 10 مل من وسط المرق المغذي (Nutrient Broth) بالبكتريا المراد اختبار التصاقيتها، حضن المزروع البكتيري بدرجة (37)مْ لمدة 24 ساعة (الكثافة الضوئية Optical density (O.D) عند 625 نانوميتر بحيث أعطت10^9× 1 خلية\مل) ، علق المزروع البكتيري بمحلول (PBS) مرتين ونبذ بجهاز الطرد المركزي (Centrifuge) عند 1000 دورة/دقيقة لمدة 20 دقيقة ثم أعيد تعليقه في محلول PBS.

2- تحضير الخلايا الطلائية Preparation of Epithelial Cells

عزلت الخلايا الطلائية من عينات الإدرار (Urine) من الإناث السليمة إذ اخذ 5 مل من الإدرار ونبذ بجهاز الطرد المركزي بسرعة 1000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق ثم غسلت العينات بمحلول PBS لثلاث مرات ثم نبذت عند 1000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق قبل تعليقها ثانية في محلول (PBS).

3-تحضير أقراص البوليمر Preparation of Polymer Discs

تم تحضير أقراص البوليمر والخاصة بالحشوة الضوئية (Light cure) من نوع A2 وذلك بعمل قوالب باستخدام الزجاج الحاوي على ثقوب بفتحات ذات قطر 1سم وبسمك 4ملم تحت ظروف معقمة ، استخدمت هذه القوالب لعدم توفر القوالب الأصلية كما في الشكل (1) .



شكل(1): الصفيحة الزجاجية الخاصة بقوالب البوليمر

4-الالتصاقية على أقراص البوليمر Adhesion to Polymer Discs

استعملت الطريقة المعتمدة في (20) وكما يلي:

الالتصاق على الأقراص بوجود المعزز الحيوي

مزجت أقراص البوليمر للحشوة الضوئية مع المعزز الحيوي الذي سبق وتم تحضيره بأنواعه الثلاثة (راشح الخلايا والمقتولة بالحرارة والموجات الصوتية الفائقة) وبنفس تركيز المثبط الأدنى Minimum Inhibitory Concentration (MIC) للبكتريا المستعمل في اختبار اللألتصاقية على الخلايا الطلائية.

الالتصاق على الأقراص بوجود المضادات الحياتية

مزجت أقراص الحشوة الضوئية مع المضادات الحياتية التالية (التتراسايكلين والأمبسلين والريفامبسين والأرثرومايسين والسبروفلوكساسين والسيفالكسين والأموكسيلين والسيفوتاكسيم) وبنفس التراكيز المستعملة في فحص حساسية البكتريا لمضادات

الحياة.

5-فحص الالتصاقية على الخلايا الطلائية Adhesion Test on Epithelial Cells

اجري هذا الفحص طبقا إلى (18,19)وكما يلي:

حضر خليط 0.2 مل من عالق البكتريا و 0.2 مل من الخلايا الطلائية و0.1 مل من محلول PBS حضن بدرجة حرارة 37مْ لمدة ساعة واحدة.تم إزالة الخلايا البكتيرية غير الملتصقة بالخلايا الطلائية بالطرد المركزي في محلول PBS بقوة 1000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق.علق الراسب النهائي بمحلول PBS من ثم تم وضع قطره من الراسب على شريحة زجاجية. جففت بالهواء وثبتت جيداً وثم تم تصبيغها بصبغة غرام، تمت ملاحظة وحساب الخلايا البكتيرية الملتصقة بالخلايا الطلائية باستعمال المجهر الضوئي المركب.شملت مجموعة السيطرة الخلايا الطلائية فقط لمقارنة النتائج.

6- أجراء فحص الالتصاقية على أقراص البوليمر

أجراء الفحص بوجود المعزز الحيوي

تم تنمية العزلات البكتيرية قيد الاختبار في وسط المرق المغذي لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37مْ وغسلت مرتين بالمحلول (PBS) ثم أعيد تعليقها بنفس المحلول، وتم قياس أعداد البكتريا في المحلول بالمطياف الضوئي عند طول موجي 600نانوميتر بحيث ضبط العدد التقريبي للبكتريا بحدود10^9× 1خلية\مل . أخذ 2مل من المحلول ووضع في أنابيب اختبار حاوية على الأقراص المشبعة بالمعزز الحيوي ثم حضنت الأنابيب بدرجة حرارة 37مْ لمدة ساعة واحدة، بعد ذلك وضعت الأنابيب في جهاز الموجات فوق الصوتية بتردد(20 KHz) لمدة 10 دقائق ثم أجريت سلسلة من التخافيف لكل أنبوبة ومن أخر تخفيف نقل ملئ عروة ناقلة وزرعت بالتخطيط على الوسط المغذي الصلب وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة وحسبت أعداد البكتريا وفق القانون (عدد البكتريا = عدد المستعمرات النامية × مقلوب التخفيف)

أجراء الفحص بوجود مضادات الحياتية

أتبعت نفس الطريقة أعلاه في ماعدا أن الأقراص تكون مشبعة بالمضادات الحيوية وبالتراكيز المحددة مسبقا.

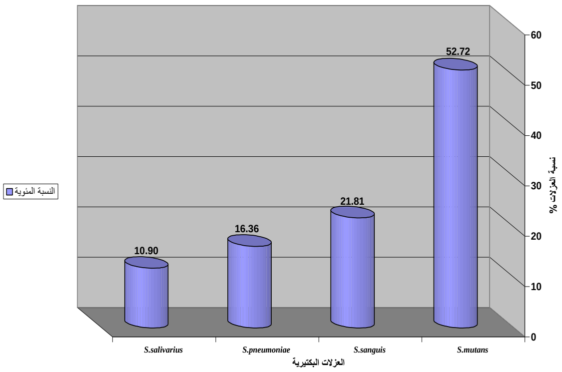
التحليل الإحصائي Statistical Analysis

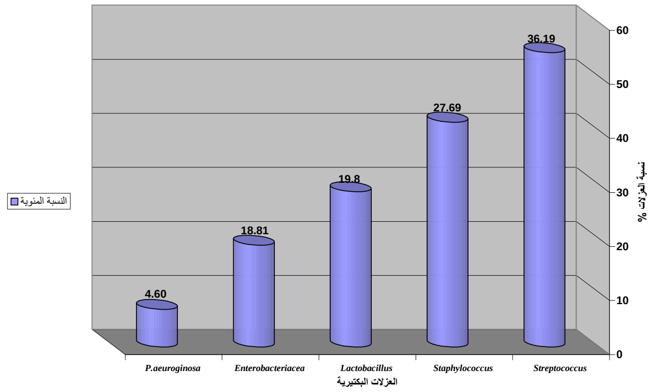
استعمل التحليل الإحصائي باستخدام المربع اللاتيني (Chi sequer) ، وجدول تحليل التباين ANOVA، وتم حساب الفروقات المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار اقل فرق معنوي (Least Significant Differences) اختبرت النتائج بمستوى احتمالية P>0.05 (21) .

النتائج Results

عزل وتشخيص البكتريا من تسوس الأسنان

شملت هذه الدراسة جمع 101 عينة من المرضى المصابين بتسوس الأسنان تم الحصول على 152 عزلة،منها عزلت وشخصت أنواع تابعة للأجناس البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة غرام،بينت الدراسة سيادة بكتريا المكورات المسبحية *Streptococcus* spp. وبعدد 55 عزلة إذ مثلت النسبة المئوية الأعلى 36.19%، تليها المكورات العنقودية *Staphylococcus* spp. بعدد 42 عزلة وبنسبة 27.69% ثم عصيات الحليب *Lactobacillus* spp. بقدر29 عزلة بنسبة 19.8% في حين سجلت أنواع تابعة للعائلة المعوية Enterobacteriaceae والزوائف الزنجارية *P. aeuroginosa* النسب الأقل 18.81% و 4.60% وبعدد عزلات 19 و7 على التوالي كما في الشكل (2).

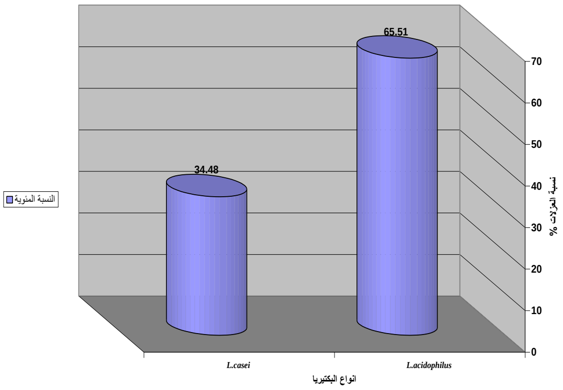


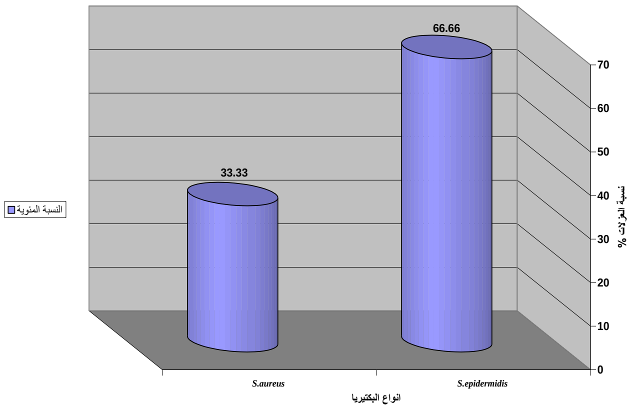


الشكل(3): النسب المئوية للأنواع البكتيرية التابعة للمكورات المسبحية   الشكل(2): النسب المئوية للأجناس البكتيرية المعزولة من تسوس الأسنان

مثلت الجرثومة المسبحية *S. mutans* أعلى نسبة مئوية 50.90% و28 عزلة من بين الأنواع التابعة لجنس المكورات المسبحية، بينما جاءت جرثومة *S.salivarius* بنسبة 10.90% بعدد 6 وهي تمثل اقل نسبة، أما جرثومة *S. sanguis* و *S. pneumoniae* فجاءت بينهما بنسب 21.81% و 16.36% بعزلات 12 و 9 على التوالي في الشكل (3).

شكلت بكتريا *Staph. epidermidis* أعلى نسبة مئوية 66.66% بعدد 28 عزلة في حين سجلت *Staph. aureus* نسبة 33.33% بعدد 14 بين العزلات التابعة لجنس المكورات العنقودية الشكل (4).

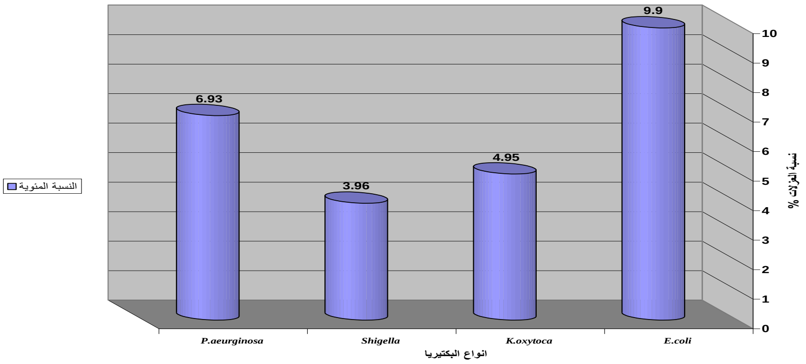




الشكل (5): النسب المئوية للأنواع البكتيرية التابعة لعصيات الحليب   الشكل(4): النسب المئوية للأنواع البكتيرية التابعة للمكورات العنقودية.

ان بكتريا عصيات الحليب *L.acidophilus* سجلت نسبة 65.51% من عدد 19 عزلة متفوقة بذلك على بكتريا *L.casei* اذ أعطت نسبة 34.48% من بين 10 عزلات التابعة لجنس عصيات الحليب الشكل (5).

أظهرت النتائج وجود انواع تابعة للعائلة المعوية والمتمثلة بالاشيرشيا القولونية *E .coli* 10 عزلات بنسبة 9.90% ، في حين جاءت *K.oxytoca* وبكتريا *Shigella* spp. بنسبة 4.95% و 3.96% على التوالي، أما الزوائف الزنجارية *P. aeuroginosa* فقد سجلت 4.60% و7 عزلات كما هو في الشكل (6).



الشكل(6): النسب المئوية للأنواع البكتيرية التابعة للعائلة المعوية والزوائف الزنجارية

عوامل مؤثرة في تفشي تسوس الأسنان

في ظل الدراسة الحالية ومن بين 52 امرأة و 49 رجل من المصابين بتسوس الأسنان ثم دراسة تأثير العوامل (الجنس والتدخين والعمر) على تفشي التسوس ، إذ بينت نتائج التحليل الإحصائي إن للجنس تأثيراً معنوياً ($P< 0.05$) على الإصابة بتسوس الأسنان، كما أشارت النتائج إن للتدخين تأثير معنوي ($P< 0.05$)، على الإصابة بالتسوس إذ لوحظ إن المرضى اغلبهم من غير المدخنين إذ يشكلون نسبة 81.18% من الرجال والنساء المصابين بالتسوس، وفي نفس السياق كان للعمر تأثيراً معنوي ($P<0.05$)، إذ يوضح الجدول (1) الفئات العمرية ويلاحظ أن الاختلاف المعنوي الأكبر وحسب نتائج التحليل الإحصائي نشاهده في الفئة 29-30 سنة والتي شكلت نسبة 30% من بين الفئات.

جدول (1) الإصابة بتسوس الأسنان ضمن الفئات العمرية للرجال والنساء المدخنين وغير المدخنين

الفئات العمرية (السنوات)	العدد الكلي	امرأة		رجل	
		مدخن	غير مدخن	مدخن	غير مدخن
10 – 19	10	0	4	0	6
20 – 29	30	0	13	5	12
30 – 39	31	0	19	6	6
40 – 49	15	0	9	2	4
50 – 59	6	1	2	2	1
60 – 69	7	1	2	2	2
70 <	2	0	1	0	1
المجموع	101	2	50	17	32

المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية

اظهرت الانواع البكتيرية اختلافات في مدى مقاومتها وحساسيتها للمضادات قيد الاختبار فقد اشارت النتائج ان الانواع البكتيرية الموجبة لصبغة غرام مقاومة بدرجة عالية للامبسيلين91.44% والارثرومايسين 89.26 % وثم المضادات السيفالكسين 75.39 % والسلفاميثوكزازول 74.60 %والاموكسيلين 71.42 % كما اظهرت العزلات مقاومة ضعيفة للمضادات الريفامبيسين 17.46 % والسبروفلوكساسين 22.22 %والتتراسايكلين 35.71 %. في حين تتراوح نسب المقاومة

لبقية المضادات الحيوية للعزلات البكتيرية مابين تلك الحدود وكما هو موضح في الجدول (2).

الجدول (3) يوضح متوسطات اقطار التثبيط للأنواع البكتيرية السالبة لصبغة غرام والتابعة للعائلة المعوية والزوائف الزنجارية، فقد اظهرت النتائج مقاومة الانواع االسالبة بشكل كبير للمضادات الامبسيلين بنسبة88.46 % والاموكسيلين 86.26 % والسيفالكسين 76.92 % والسلفاميثوكزازول 73.07 % والستربتومايسين 64.38 % بينما كانت اقل المضادات الحيوية مقاومة السبروفلوكساسين والجنتامايسين والتتراسايكلين بنسب 15.38 % و34.61 % و 42.30 % على التوالي كما موضح في الجدول.

الجدول (2): أقطار التثبيط بالملم (mm) للعوامل المضادة للجراثيم للأنواع التابعة للبكتريا الموجبة لصبغة غرام

المضاد الحيوي / البكتريا	Erythomycin	Ampicillin	Amoxicillin	Streptomycin	Gentamycin	Cefotaxim	Tetacyclin	Amikacin	Sulfamethoxazole	Cephalixin	Refampicin	Ciprofloxacin
S.mutans	R*	R*	R*	R*	S**	R*	S**	R*	R*	R*	S**	S**
S.sanguis	R*	R*	S**	S**	S**	R*	S**	R*	R*	R*	S**	S**
S.pneumoniae	R*	R*	R*	R*	S**	R*	S**	S**	R*	R*	S**	S**
S.salivarius	R*	R*	R*	S**	S**	R*	S**	S**	R*	S**	S**	S**
S.aureus	R*	R*	R*	R*	S**	R*	S**	R*	R*	R*	S**	S**
S.epidermidis	R*	R*	R*	R*	S**	R*	S**	18	R*	R*	S**	S**
L.acidophilus	R*	R*	S**	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*
L.casei	R*	R*	R*	R*	R*	S**	R*	R*	R*	R*	S**	S**
Resistance %	89.26	91.44	71.42	65.87	43.65	61.11	35.71	50.79	74.60	75.39	17.46	22.22

R* = مقاومة ***** قورنت النتائج مع جداول قياسية**
S = مقاومة** **متوفرة من CLSI (2009)**

الجدول (3) أقطار التثبيط بالملم (mm) للعوامل المضادة للجراثيم للأنواع التابعة للبكتريا السالبة لصبغة غرام

المضاد الحيوي / البكتريا	Ampicillin	Amoxicillin	Streptomycin	Gentamycin	Cefotaxim	Tetacyclin	Amikacin	Sulfamethoxazole	Cephalixin	Refampicin	Ciprofloxacin
E.coli	R*	R*	R*	S**	S**	R*	S**	R*	R*	R*	S**
K.oxytoca	R*	R*	R*	S**	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*
Shigella	R*	R*	R*	S**	R*	R*	R*	R*	R*	R*	S**
P.auroginosa	R*	R*	R*	S**	R*	S**	S**	S**	R*	R*	S**
Resistance %	88.46	85.46	65.38	34.61	61.53	40.15	42.30	73.07	76.92	46.15	15.38

R* = مقاومة ***** قورنت النتائج مع جداول قياسية**
S = مقاومة** **متوفرة من CLSI (2009)**

جدول (4) التركيز المثبط الأدنى من المعزز الحيوي للبكتريا المعزولة من التسوس

البكتيريا	التركيز المثبط الادنى (MIC)		
	راشح الخلايا راشح : وسط	**مقتولة بالحرارة** مقتولة بالحرارة : وسط	**محطمة بالموجات فوق الصوتية** محطمة بالصوت : وسط
S. mutans	**6:4**	**5:5**	**7:3**
S. sanguis	**4:6**	**3:7**	**5:5**
S. pneumoniae	**5:5**	**3:7**	**7:3**
S. salivarius	**4:6**	**3:7**	**5:5**
Staph. aureus	**6:4**	**4:6**	**8:2**
Staph. epidermidis	**7:3**	**5:5**	**8:2**
E. coli	**5:5**	**7:3**	**8:2**
K. oxytoca	**6:4**	**3:7**	**7:3**
***Shigella* spp.**	**5:5**	**3:7**	**6:4**
P. aeuroginosa	**6:4**	**4:6**	**7:3**

التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمعزز الحيوي

بعد إجراء سلسلة من التخافيف لراشح بكتريا عصيات الحليب المحبة للحموضة *L. acidophilus* ثم حضن الأنواع قيد الدراسة مع تلك التراكيز وكان لراشح البكتريا تأثيراً على نمو الأنواع المختلفة وتم معرفة التأثير من خلال التخطيط على وسط (MRS) ومن آخر تركيز لايظهر فيه نمو. كانت المكورات العنقودية *S. epidermis* مثبطة بتركيز (7:3) راشح/وسط في حين كانت بكتريا المكورات المسبحية *S. sanguis* و *S. salivarius* الأقل تحملاً للتركيز إذ كان MIC لها عند نقطة (4:6) الراشح/الوسط ومن ثم توزعت بقيت الأنواع ضمن هذه المديات.

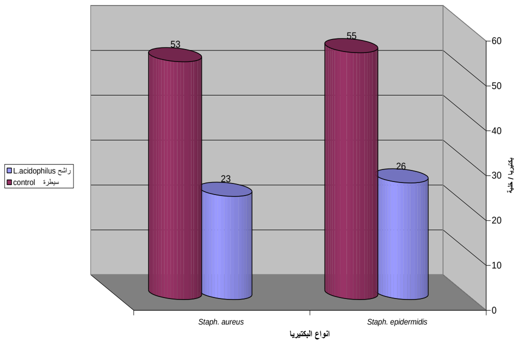
أما الخلايا المقتولة بالحرارة فكانت ذات تأثير اكبر من راشح الخلايا والمحطمة بالموجات الصوتية الفائقة، اذ كان اقل تركيز مؤثر (3:7) راشح/وسط ولأغلب الأنواع، في حين سجلت بكتريا *S. epidermidis* المستوى الاعلى عند تركيز (5:5) راشح/وسط.

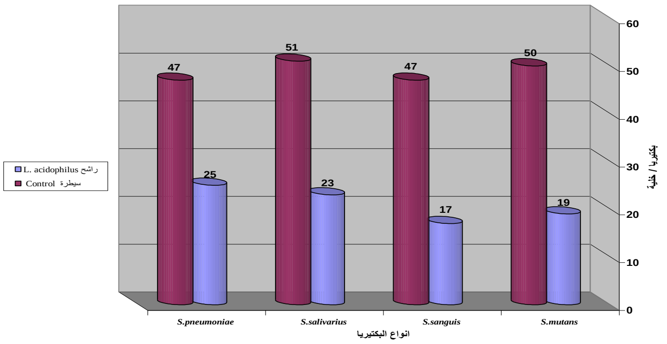
أشارت النتائج الموضحة في الجدول رقم (4) إن الخلايا المحطمة بالموجات الصوتية الفائقة كان لها الدور في التأثير على نمو الأنواع البكتيرية قيد الاختبار وان كان هذا الدور الأقل ما بين أنواع المعزز الحيوي الثلاثة، إذ كانت المكورات العنقودية ذات مقاومة اكبر اذ ثبطت عند تركيز (8:2) راشح/وسط متشاركه مع بكتريا *E. coli* في نفس التركيز، وفي نفس السياق جاءت بقية التراكيز بالانخفاض بتثبيط بقية الأنواع من التركيز (5:5) الراشح/الوسط للأنواع التابعة للمكورات المسبحية لكل من *S. sanguis* و *S. Salivarius*. كما أظهرت النتائج أن التراكيز المختلفة لا تمتلك التأثير الملحوظ على عصيات الحليب *L. casei* لذلك لم تختبر كما هو الحال في بقية الأنواع والجدول (4) يوضح ذلك.

تأثير المعزز الحيوي على التصاقية البكتريا على الخلايا الطلائية

اختبرت قابلية الالتصاق للأنواع البكتيرية قيد الدراسة إذ أظهرت النتائج أن راشح بكتريا *L. acidophilus* اثر معنويا (P< 0.05)، إذ أدى الى تقليل اعداد الخلايا البكتيرية الملتصقة بالخلايا الطلائية وبشكل ملحوظ، ففي مجموعة المكورات المسبحية وفي بكتريا *S. mutans* كانت(19) بكتريا/خلية وفي بكتريا *S. sanguis* (17) بكتريا/خلية، وفي بكتريا *S. Salivarius* (23) بكتريا/خلية وفي النوع *S. pneumoniae* (25) بكتريا/خلية بالمقارنة مع السيطرة لكل من الأنواع أعلاه

وكما هو مبين في الشكل (7).

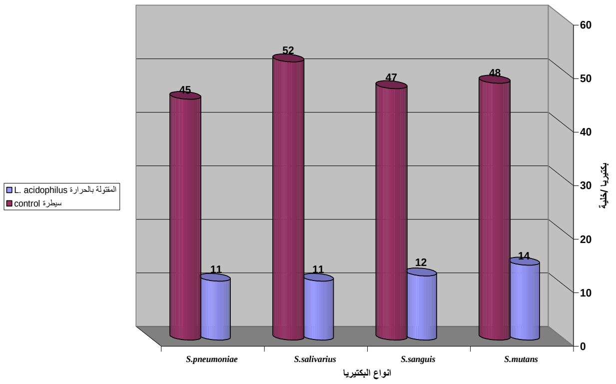


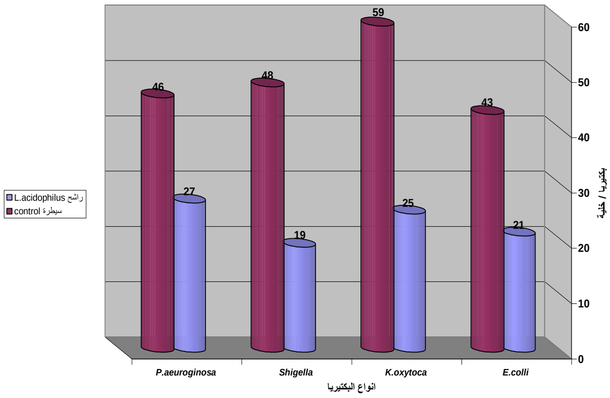


الشكل(7) لليمين: تأثير التثبيط لراشح بكتريا *L. acidophilus* على التصاقية أنواع المكورات المسبحية على الخلايا الطلائية. الشكل(8)يسارا: تأثير التثبيط لراشح بكتريا *L. acidophilus* على التصاقية أنواع المكورات العنقودية على الخلايا الطلائية.

أما الأنواع التابعة للمكورات العنقودية فكانت اعداد بكتريا *Staph. epidermidis* الملتصقة تبلغ (26) بكتريا/خلية، وبلغت اعداد بكتريا *Staph. aureus* (23) بكتريا/خلية وذات معنوية عند (P< 0.05) بالمقارنة مع السيطرة (55) بكتريا/خلية و (53) بكتريا/خلية على التوالي وكما مبين في الشكل (8).

تباينت اعداد الخلايا الملتصقة لأنواع تابعة للعائلة المعوية بالخلايا الطلائية ففي بكتريا *E. coli* بلغت(21) بكتريا/خلية مقارنة مع السيطرة (43) بكتريا/خلية في حين كانت اعداد بكتريا *K. oxytoca* تبلغ (25) بكتريا/خلية مقارنة مع السيطرة (59)بكتريا/خلية أما اعداد بكتريا *Shigella* spp. (19)بكتريا/خلية بالمقارنة مع السيطرة (48)بكتريا/خلية كما هو موضح في الشكل (9) كما يبين الشكل أيضا اعداد الزوائف الزنجارية *P. aeruginosa* والتي وصلت الى(46) بكتريا/خلية بالنسبة للسيطرة في حين كانت الاعداد الملتصقة (27) بكتريا/ خلية وكانت النتائج معنوية (P< 0.05) عند المقارنة مع السيطرة.

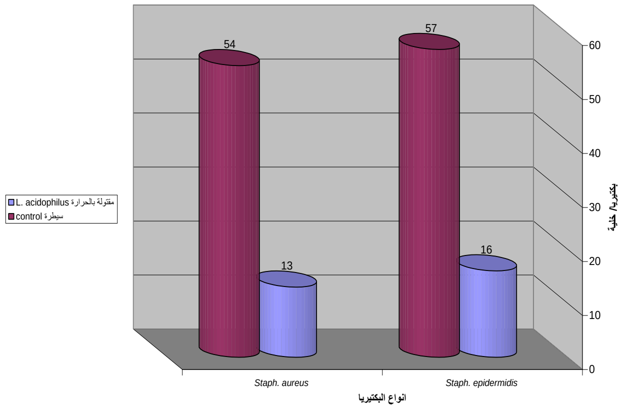


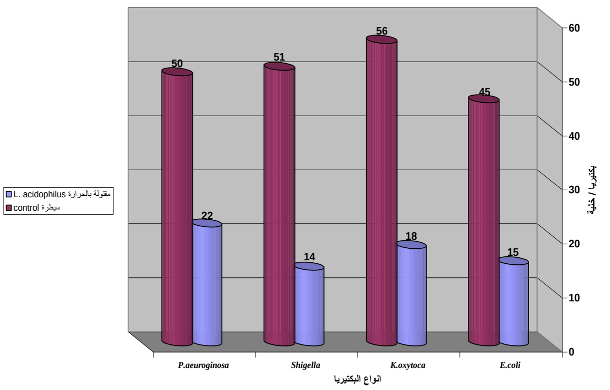


الشكل(9) لليسار: تأثير التثبيط لراشح بكتريا *L. acidophilus* على التصاقية أنواع العائلة المعوية والزوائف الزنجارية على الخلايا الطلائية. الشكل (10) لليمين: تأثير التثبيط للخلايا المقتولة بالحرارة لبكتريا *L. acidophilus* على التصاقية أنواع المكورات المسبحية على الخلايا الطلائية

بينت النتائج أن للخلايا المقتولة بالحرارة دوراً في التقليل من الاعداد البكتيرية عند اختبار التصاقيتها على الخلايا الطلائية فقد وجد أن اعداد بكتريا المكورات المسبحية تصل الى (14 و 12 و 11 و 11) بكتريا/خلية لكل من *S. mutans* و *S. sanguis* و *S. salivarius* و *S. pneumoniae* على التوالي ومعنوية عند (P< 0.05) مقارنة مع السيطرة (48 و 47 و 52 و 45)بكتريا/خلية على التوالي وكما موضح في الشكل (10).

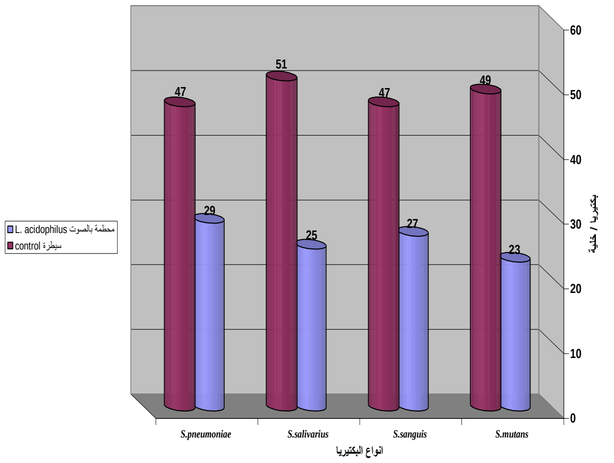
اما المكورات العنقودية فكان لها نصيب من التأثير المعنوي عند (P< 0.05) للخلايا المقتولة بالحرارة اذ كانت الاعداد الملتصقة تصل الى (16) و(13) بكتريا/خلية بالنسبة *Staph. epidermidis* و *Staph. aureus* مقارنة مع السيطرة وهذا ما يوضحه الشكل (11).

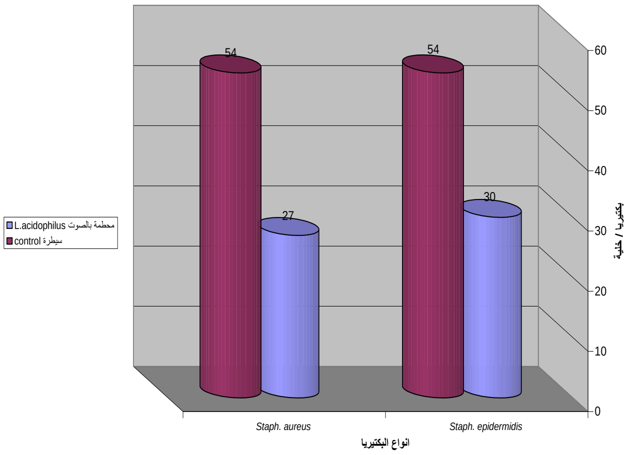




الشكل (11) لليسار : تأثير التثبيط للخلايا المقتولة بالحرارة لبكتريا *L. acidophilus* على التصاقية أنواع المكورات العنقودية على الخلايا الطلائية. الشكل (12) لليمين: تأثير التثبيط للخلايا المقتولة بالحرارة لبكتريا *L. acidophilus* على التصاقية أنواع العائلة المعوية والزوائف الزنجارية على الخلايا الطلائية

بينت نتائج التحليل الإحصائي أن للخلايا المقتولة بالحرارة لبكتريا *L. acidophilus* تأثيرا معنويا عند (P< 0.05) على اعداد أنواع تابعة للعائلة المعوية والزوائف الزنجارية الملتصقة بالخلايا الطلائية، اذ وصلت اعداد الخلايا (15) بكتريا/خلية لبكتريا *E.coli* و (18) بكتريا/خلية بالنسبة *K. oxytoca* و (14)بكتريا/خلية بالنسبة *Shigella* spp. مقارنة مع السيطرة، كما يوضح الشكل اعداد الزوائف الزنجارية والتي بلغت(22)بكتريا/خلية مقارنة مع السيطرة في الشكل (12).





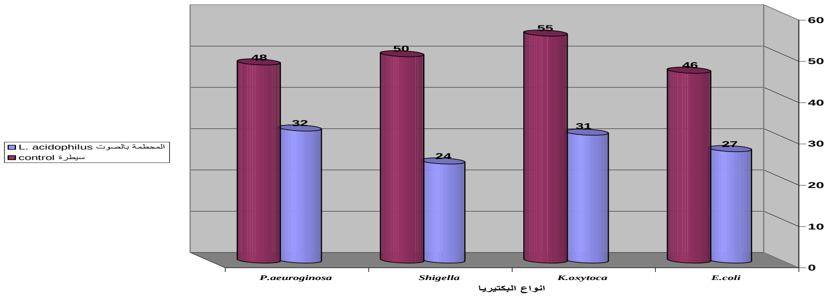
الشكل (13) لليسار: تأثير التثبيط للخلايا المحطمة بالموجات فوق الصوتية لبكتريا *L. acidophilus* على التصاقية انواع المكورات المسبحية على الخلايا الطلائية. الشكل (14) لليمين: تأثير التثبيط للخلايا المحطمة بالموجات فوق الصوتية لبكتريا *L. acidophilus* على التصاقية أنواع المكورات العنقودية على الخلايا الطلائية

عند اختبار تأثير التحطيم الصوتي لخلايا بكتريا *L. acidophilus* على الأنواع المعزولة من التسوس وجد أيضا

أن هناك تأثيراً معنوياً ($P< 0.05$) في تثبيط أو تقليل اعداد البكتريا الملتصقة وهذا ما يلاحظ في المكورات المسبحية اذ تبين أن اعداد بكتريا *S. mutans* وصلت الى (23)بكتريا/خلية باغت اعداد *S. sanguis* (27) بكتريا/خلية وأعداد نوع *S. salivarius* الى (25) وعدد نوع *S. pneumoniae* الى (29) بكتريا/خلية بالمقارنة مع السيطرة كما في الشكل (13).

اشارت النتائج الى دور خلايا *L. acidophilus* المحطمة بالموجات الصوتية في التقليل من الاعداد البكتيرية للمكورات العنقودية ففي بكتريا *Staph. epidermidis* كانت الاعداد الملتصقة (30) بكتريا/خلية واعداد *Staph. aureus* الى (27)بكتريا/خلية عند التحليل عند ($P< 0.05$) كما في الشكل (14).

اما العائلة المعوية فكان أعداد الخلايا الملتصقة تبلغ (27) بكتريا/خلية بالنسبة *E. coli* و (31) بكتريا/خلية لبكتريا *K. oxytoca* و (24)بكتريا/خلية لبكتريا *Shigella* spp. وكما هو موضح في الشكل (15) والذي يوضح ايضاً اعداد الزوائف الزنجارية مابين(32) مقارنتا مع السيطرة.



الشكل(15): تأثير التثبيط للخلايا المحطمة بالموجات فوق الصوتية لبكتريا *L. acidophilus* على التصاقية أنواع العائلة المعوية والزوائف الزنجارية على الخلايا الطلائية

تأثير العوامل المضادة للجرائيم على التصاقية البكتريا على أقراص البوليمر

أظهرت النتائج أن الأجناس البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة غرام لها مستويات مختلفة في حساسيتها ومقاومتها للمضادات الحيوية، في مجموعة المكورات المسبحية كانت الحساسية واضحة للمضادين الريفامبسين (RN) والسبروفلوكساسين (Cip)، في حين كانت مقاومة المضادات مختلفة، إذ كانت المقاومة واضحة للمضادات الاموكسيلين (Ax) والامبسيلين (Am) والارثرومايسين (E) من قبل الأنواع *S. mutans* و *S. sanguis* و *S. salivarius* و *S. pneumoniae* على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة كما في الجدول (5).

في مجموعة المكورات العنقودية كانت المقاومة واضحة للمضادات سيفوتاكسيم (CTX) و الارثومايسين (E) والسيفالكسين (KF) والاموكسيلين (Ax) وبمدى اقل للمضاد الأمبسلين (Am)، في حين كانت *S. epidermidis* و *Staph .aureus*حساسة بشكل اكبر للمضاد السبروفلوكساسين (Cip) وبأعداد (8.4 و 7.8) خلية/ملم^2 على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (3.6 و 3.8)خلية/ملم^2 على التوالي ايضاً. بينت النتائج أن عصيات الحليب مختلفة في قدرتها على الالتصاق على أقراص البوليمر إذ أظهرت المضادات الارثرومايسين (E) و السبروفلوكساسين (Cip) والريفامبيسين (RN) والسيفالكسين (KF) تأثيراً في التقليل من الأعداد البكتيرية الملتصقة لكل من *L. acidophilus* و *L. casei* كما إن هذه الأنواع كانت مقاومة للمضاد الاموكسيلين والامبسلين وبأعداد (3.8 و 3.2) و (4.0 و 5.0) على التوالي للنوعين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

جدول (5) اعداد البكتريا الغير ملتصقة بأقراص البوليمر بوجود المضادات الحياتية للأجناس الموجبة لصبغة غرام

الأعداد (× 10^2 خلية/ملم^2)

Antibiotic / Bacteria	Ampicillin (Am)	Amoxicillin (Ax)	Erythomycin (E)	Cefalexin (KF)	Cefotaxin (CTX)	Tetacyclin (TE)	Rivampicin (RN)	Ciprofloxacin (Cip)
S.mutans	4.8	6.3	5.9	5.5	5.2	6.9	7.3	6.8
S.sanguis	6.5	4.6	6.1	5.4	5.7	7.1	7.2	8.5
S.salivarius	6.6	4.8	5.8	5.6	5.8	7.1	7.5	6.2
S.pneumoniae	6.3	4.3	5.9	5.6	5.8	7.2	7.3	7.1
S.epidermidis	4.7	4.1	3.8	4.2	3.9	5.9	5.8	8.4
S.aureus	4.8	4.3	4.0	4.4	4.1	6.0	5.7	7.8
L.acidophilus	4.0	3.8	7.2	6.2	5.1	5.4	7.5	6.7
L.casei	5.0	3.2	7.6	6.1	4.8	5.2	8.1	6.5

*** الاعداد هي متوسط ثلاث تكرارات**

Control:-

***S.mutans* = 3.8 *S.epidermidis* = 3.6 *L.acidophilus* = 3.7 *S.pneumoniae* = 4.1**

***S.sanguis* = 3.9 *S.aureus* = 3.8 *L.casei* = 3.8 *S.salivarius* = 3.8**

أشارت النتائج الى ان الأنواع التابعة للعائلة المعوية أيضا اختلفت في مديات أعداد البكتريا الملتصقة بالأقراص المحضرة مختبرياً، أظهرت بكتريا *E.coli* حساسية واضحة للمضادات السيفالكسين (KF) والتتراسايكلين (TE) والريفامبيسين (RN) وبأعداد(7.0 و 6.5 و 6.2) خلية/ملم2 في حين كانت مقاومة بالدرجة الأساس للمضاد السيفوتاكسيم (CTX) وبعدد 3.8 خلية/ملم2 بالمقارنة مع السيطرة 3.4 خلية/ملم2. أما بكتريا *K. oxytoca* فقد أظهرت مقاومة للمضادات الاموكسيلين (Ax) والارثرومايسين (E) والسيفالكسين (KF) في حين كانت حساسة بشكل عالي للريفامبيسين (RN) وبعدد 8.7 خلية/ملم2 بالمقارنة مع السيطرة 3.1 خلية/ملم2، وفي نفس السياق أظهرت بكتريا *Shigella spp.* مقاومة كبيرة للعديد من المضادات الحياتية قيد الاختبار مثل الارثرومايسين (E) والامبسيلين (Am) والريفامبسين (RN) والاموكسيلين (Ax) والسيفالكسين (KF) في حين كانت حساسة بشكل كبير للمضاد السبروفلوكساسين (Cip) وبعدد 7.2 خلية/ملم2 بالمقارنة مع السيطرة 3.0 خلية/ملم2.اما الزوائف الزنجارية فقد بينت أنها مقاومة للأمبسلين 3.6 خلية/ملم2 في حين كانت حساسة بشكل عالي للسبروفلوكساسين (Cip) وبعدد 7.5 خلية/ملم2 بالمقارنة مع السيطرة وهو موضح في الجدول (6).

جدول (6) أعداد البكتريا الغير ملتصقة بأقراص البوليمر بوجود المضادات الحياتية لانواع العائلة المعوية والزوائف الزنجارية

(الأعداد ($\times 10^2$ خلية/ملم^2)

Antibiotic / Bacteria	**Ampicillin (Am)**	**Amoxicillin (Ax)**	**Erythomycin (E)**	**Cefalexin (KF)**	**Cefotaxin (CTX)**	**Tetacyclin (TE)**	Rivampicin (RN)	**Ciprofloxacin (Cip)**
E.coli	5.6	4.3	5.1	7.0	3.8	6.5	6.2	5.1
K.oxytoca	5.4	3.6	3.2	3.5	6.0	6.8	8.7	4.4
Shigella	2.9	3.2	2.8	3.5	4.1	5.4	4.3	7.2
P.auroginosa	3.6	4.4	5.7	4.3	4.4	5.1	6.8	7.5

Control:-

***E.coli* = 3.4، *K.oxytoca* = 3.1، *P.aeruginosa* 3.7، *Shigella* = 3.0 * الاعداد هي متوسط ثلاث تكرارات**

تأثير المعزز الحيوي على التصاقية البكتريا على أقراص البوليمر

أظهرت النتائج ان للمعزز الحيوي تأثيراً على اعداد البكتريا الملتصقة على أقراص البوليمر للحشوة الضوئية كما موضح في مجموعة المكورات المسبحية اذ كانت المكورات المسبحية *S. pneumoniae* مقاومة اكبر لتركيز راشح الخلايا وبعدد 4.6 خلية/ملم^2 مشاركة مع بكتريا *S. mutans* في حين كان التأثير الأكبر للراشح على البكتريا *S. salivarius* وبعدد 4.8 خلية/ملم^2 بالمقارنة مع السيطرة.

كما أظهرت النتائج المبينة في الجدول (7) ايضاً ان للمكورات العنقودية تفاوت في الالتصاقية وهذا واضح في اعداد بكتريا *S. epidermidis* التي بلغت 6.9 خلية/ملم^2 و *S.aureus* 7.1 \خلية/ملم^2 بالمقارنة مع السيطرة.

اما العائلة المعوية فكانت بكتريا *K. oxytoca* الأكثر مقاومة من خلال أعدادها 3.7 خلية/ملم2 بالمقارنة مع السيطرة 3.1 خلية/ملم2 في حين كانت *E. coli* الأكثر تأثراً وبعدد 4.7 خلية/ملم2 مقارنة مع السيطرة 3.4 خلية/ملم2 وجاءت بكتريا *Shigella spp.* متوسطة ما بين القيم أعلاه في مدى مقاومتها، اما الزوائف الزنجارية فكانت بأعداد 5.7 خلية/ملم2 مقارنة بالسيطرة. اشارت النتائج ان الخلايا المقتولة بالحرارة لها التأثير على الأنواع ، إذ تأثرت المكورات المسبحية بتركيز هذه الخلايا وخصوصاً بكتريا *S. salivarius* في حين كانت *S. pneumoniae* الأقل تأثراً وبعدد 5.5 خلية/ملم2 مقارنة مع السيطرة. أما المكورات العنقودية فكان مدى فارق المقاومة مابين *S. epidermidis* و *S .aureus* ليس بالكبير وبأعداد 7.3 و 7.6 خلية/ملم2 على التوالي.

جدول رقم (7) أعداد البكتريا الغير ملتصقة بأقراص البوليمر بوجود المعزز الحيوي للأجناس قيد الاختبار

الأعداد (× 10^2 خلية/ملم^2)

Probiotic / Bacteria	Filtrated cells	Heat Killed cells	Sonnicated cells
S. mutans	4.6	5.6	6.1
S. sanguis	4.7	5.8	6.7
S. salivarius	4.8	5.9	6.8
S. pneumoniae	4.6	5.5	6.3
S. epidermidis	6.4	7.3	6.4
S. aureus	7.1	7.6	6.7
E. coli	4.7	6.1	7.6
K. oxytoca	3.7	5.3	8.4
Shigella	4.2	5.9	6.4
P. auroginosa	5.7	5.7	7.2

الاعداد هي متوسط ثلاث تكرارات **Control:**

***S.mutans* = 3.8** ***S.epidermidis* = 3.6** ***P.auroginosa* = 3.7** ***Shigella* = 3.0**

***S.sanguis* = 3.9** ***S.aureus* = 3.8** ***S.pneumoniae* = 4.1** ***K.oxytoca* = 3.1**

***S.salivarius* = 3.8** ***E.coli* = 3.4**

أظهرت النتائج أن للعائلة المعوية مديات تأثر مختلفة في أعداد البكتريا الملتصقة على الأقراص اذ جاءت بكتريا *K. oxytoca* بعدد 5.3 خلية/ملم2 وبكتريا *Shigella* spp 5.9 خلية/ملم2 وبكتريا *E.coli* 6.1 خلية/ملم2 بالمقارنة مع السيطرة. اما الزوائف الزنجارية *P.auroginosa* فتمتلك العدد 5.7 خلية/ملم2 عند اختبار تأثير الخلايا المقتولة بالحرارة وكما هو مبين في الجدول (7). عند تحطيم الخلايا بالموجات فوق الصوتية واختبار مدى فعاليتها تبين ان للمكورات المسبحية اعداد متفاوتة اذ كانت لبكتريا *S. mutans* العدد 6.1 خلية/ملم2 وهو الأقل، في حين جاءت بكتريا *S.salivarius* بالعدد الاعلى 6.8 خلية/ملم2 مقارنة مع السيطرة. أما المكورات العنقودية فلم يكن الفارق كبير في أعداد بكتريا *S. epidemidis* واعداد بكتريا *S. aureus* فكان التأثير تقريباً متساوي مقارنة مع بعضها البعض وكما هو واضح في الجدول. أما الزوائف الزنجارية والعائلة المعوية فأيضاً لم يكن الفارق واسع في الأعداد ألا ان بكتريا *Shigella spp* احتلت الدرجة الأولى في المقاومة بعدد 6.4 خلية/ملم2 مقارنة مع السيطرة والمبينة في اسفل الجدول رقم (7).

المناقشة Discussion

بينت نتائج الدراسة الحالية سيادة الجرثومة المسبحية من بين الأجناس المعزولة وهذا ما يؤكده (23) كون بكتيريا المكورات المسبحية بالاشتراك مع العصيات اللبنية هي المسببات الرئيسية في آفات التسوس (Carious lesions)، كما أكدت النتائج سيادة جرثومة *S. mutans* من بين الأنواع التابعة لجنس المكورات المسبحية ثم تأتي بقية الأنواع بنسب اقل وهذه النتائج تتفق مع ما وجده (24) بنسبة 51% و(25) بنسبة 52% و (26) بنسبة 48% إذ أشارت هذه النسب إلى سيادة جرثومة *S. mutans* في محيط الفم من بين أنواع الجراثيم المسبحية. كما مثلت بكتيريا *S. epidermidis* النوع السائد ضمن الأنواع التابعة للمكورات العنقودية في محيط الفم وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره (27). كما أشارت النتائج إلى سيادة عصيات الحليب المحبة للحموضة *L. acidophilus* على جرثومة *L. casei* من بين الأنواع التابعة لجنس عصيات الحليب وجاءت هذه الناتج مقاربة لما حصل عليه الحسيني (28) من ان نسبة بكتيريا *L. acidophilus* تصل 72% وبكتيريا *L. casei* نسبة عزل 28% كما تختلف هذه النتائج مع (29) فقد لاحظوا سيادة جرثومة *L. casei* على جرثومة *L. acidophilus*.

كما اشارت النتائج الى اختلاف نسب عزل الأنواع التابعة للعائلة المعوية فقد جاءت نسب عزل بكتيريا *E. coli* مقاربة لما حصل عليه (30) عند دراسة لعزل البكتيريا واحياء أخرى من تسوس الأسنان، في حين جاءت نسبة عزل بكتيريا *K. oxytoca* مقاربة لما حصلت عليه العبسي (31) عند دراستها للأغشية الحيوية على مينا الأسنان وبنسبة 8.46%، اما الزوائف الزنجارية فقد كانت نسبة عزلها مقاربة للدراسة الاخيرة 7.04%، وهذه النتائج تختلف عن ما حصل عليه (32) إذ أشارت الدراسة إلى أن نسبة الزوائف الزنجارية هي 1% فقط.

وتأتي هذه النسبة الضئيلة للأنواع السالبة لصبغة غرام من ندرة وجودها في محيط وحسب ما أكدته العديد من الدراسات ومنها دراسة (33) وذلك يعود إلى إن معظم البكتيريا السالبة لصبغة غرام تأتي من التهابات الجهاز التنفسي أو القناة المعدية - المعوية وتظهر في الفم، وذلك يتفق مع ما توصلت إليه دراسة كل من (34) و (35) و (36). كما أشارت العديد من الدراسات إلى أن الاختلاف في نسب العزل تأتي من الاختلاف في أعداد الأسنان المسوسة وكذلك بطبيعة المواد الغذائية التي يتناولها الفرد ومنها الكاربوهيدرات التي تزيد من أعداد الأسنان المسوسة وهذا ما وجده (37) و (38).

بينت نتائج الدراسة الحالية وجود تأثير تثبيطي لراشح بكتيريا حامض اللاكتيك المحبة للحموضة *L. acidophilus* على نمو الأنواع البكتيرية قيد الاختبار وقد كان هذا واضحا من خلال تقليل أعداد تلك الأنواع، كما تفاوتت البكتيريا في قدرتها على تحمل التراكيز المختلفة للمعزز الحيوي. وكما هو مبين في النتائج الموضحة في الجدول (4) القدرة العالية لبكتيريا حامض اللاكتيك على تقليل وتثبيط نمو الأنواع البكتيرية بعد الحضانة لمدة 24 ساعة ويأتي ذلك متفقاً مع ما ذكره (39) و(40) من ان بكتيريا *L. acidophilus* تمتلك قدرة عالية على تثبيط مدى واسع من الأنواع البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة غرام، كما ذكر الشيخ ظاهر (41) من أن بكتيريا حامض اللاكتيك والنامية في وسط (MRS) السائل تكون ذات فعالية تثبيطية واسعة ضد الجراثيم الموجبة مثل *S. aureus* و *B. sabtilus* وأنواع سالبة لصبغة غرام مثل *E. coli* و *Klebsiella* spp، كما ذكر (42) من كون بكتيريا حامض اللاكتيك تمتلك القدرة على إنتاج العديد من المواد كالبكتيريوسينات والمضادات الحيوية والأحماض العضوية وغيرها من المواد ذات التأثير التثبيطي.

كما أظهرت النتائج قدرة الخلايا المقتولة بالحرارة لبكتيريا *L. acidophilus* على التأثير في نمو العديد من الأنواع البكتيرية ويأتي ذلك متفقاً لما ذكره كل من (43) و(44) عند استعمال بكتيريا *L. acidophilus* المقتولة بالحرارة في علاج حالات الإصابة بالإسهال لدى الأطفال والبالغين.

ان عدم التأثير لراشح بكتيريا *L. acidophilus* وبشكل ملحوظ على نمو بكتيريا *L. casei* و بكتيريا *S. epidermidis* و *S. mutans* والمعزولة خلال هذه الدراسة إلى تقارب مديات تحمل الظروف المختلفة من pH ودرجات الحرارة وبالإضافة إلى توفر المقاومة ضد نواتج كل من النوعين تجاه الآخر

بالإضافة إلى تخصص البكتريوسينات التي تمتلك الفعل الأكبر على أنواع وسلالات معينة وهذا يتماشى مع ما ذكره (45) و (46) من قدرة البكتريوسينات و تخصصها ضد سلالات معينة.

أظهرت النتائج إن المعزز الحيوي وبأنواعه الثلاث يمتلك تأثيرا ملحوظاً في تقليل الأنواع الملتصقة بالخلايا الطلائية، كما ذكر (47) إن راشح بكتيريا حامض اللاكتيك يمتلك تأثيرا مثبطاً تجاه التصاقية الأنواع البكتيرية السالبة والموجبة لصبغة غرام على حد سواء، كما أكد باحثون آخرون إن لراشح بكتيريا حامض اللاكتيك النامية في الوسط السائل تأثيرا مثبطا واسع الطيف تجاه البكتيريا الموجبة مثل *Bacillus spp.* و *Staphylococcus spp* والبكتريا السالبة لصبغة غرام مثل *Proteus mirabilis* و *Klebsiella spp.* و *E. coli* (48).

يعود هذا التأثير إلى إفراز مواد مثل Lactocidin و Plantracin و Acidophilin وتأتي هذه النتائج متوافقة مع ما وجد خلال هذه الدراسة من تأثير راشح بكتيريا *L. acidophilus* في التقليل من أعداد البكتيريا الملتصقة بالخلايا الطلائية، كما ذكر (49) عن قدرة بكتيريا حامض اللاكتيك على تنظيف مناطق الحواف وبالتالي تمنع التصاق العديد من الخلايا البكتيرية بمستقبلاتها،كما ذكر (50) بان التغطية المسبقة لسلالات حامض اللاكتيك تقلل من ارتباط بكتيريا المكورات العنقودية السالبة لإنزيم التخثر وبكتيريا *E. coli* المرضية إلى 8 بكتيريا/خلية.

كما بينت النتائج دور المعزز الحيوي في تقليل أعداد الأنواع التابعة للعائلة المعوية وهذا يتفق مع ما وجده (51) عند استعمال محلول راشح (المخفف والمركز) لبكتيريا *L. acidophilus* حيث ادى ذلك الى تقليل أعداد بكتيريا *E. coli* الى 24-21 و 30-33 (بكتيريا/خلية) وبكتيريا *K. pneumoniae* الى 9-8 و 14-10 (بكتيريا/خلية) عند استعمال المحلول المخفف والمركز على التوالي وتنسجم مع ماتم الحصول عليه في هذه الدراسة كما هو موضح في الشكل (7) و(8) و(9). كما كشفت النتائج وجود دور للخلايا المقتولة بالحرارة لبكتيريا *L. acidophilus* على تقليل أعداد الأنواع الملتصقة بالخلايا الطلائية ويعود السبب في ذلك الى ما ذكره (52) الى قدرة المواد الايضية المفرزة من قبل بكتيريا حامض اللاكتيك كالبكتيريوسينات على البقاء مستقرة في درجات حرارة عالية كما في البكتيريوسين Plantracin الذي يتحمل درجة حرارة 100مْ لمدة أكثر من نصف ساعة، كما يقاوم البكتريوسين Acidolin المفرزة من قبل بكتيريا *L. acidophilus* درجة 121مْ لمدة 15دقيقة ويمتلك هذا البكتريوسين فعالية تضادية ضد البكتيريا المعوية والبكتيريا المكونة للسبورات (53) كما في الشكل (10 و 11 و 12).

أشارت النتائج الى دور الخلايا المحطمة بالموجات فوق الصوتية لبكتيريا *L. acidophilus* في التقليل من أعداد البكتيريا الملتصقة بالخلايا الطلائية وكما موضح في الأشكال (13) و (14) و (15) ويأتي هذا متفقاً مع ما أشار إليه (54) الى امتلاك عصيات حامض اللبنيك بروتينات خاصة ضمن تركيب الجدار الخلوي تمتاز بفعاليتها حتى بعد تكسير الخلايا وقد لوحظ ان هذه البروتينات تظهر فعاليتها في الراشح بعد 24ساعة وتمتاز بقابليتها على الارتباط بالمستقبلات الخلوية للخلايا الطلائية المبطنة لأنسجة الجسم مما يمنع استعمار هذه الأنسجة من قبل العديد من البكتيريا المرضية ومن ثم يمنع مهاجمتها للأنسجة تحت الطلائية وهذا يتفق مع ما ذكره كل من (55و 56).

يمثل التصاق البكتيريا بالسطوح الفعالة والخاملة حياتياً مشكلة كبيرة ولذلك برزت الكثير من المواد التي تعمل على التقليل من أعداد البكتيريا الملتصقة بهذه السطوح ومن هذه المواد البوليمرات ومن أكثرها استعمالاً في الزراعات الطبية والمواد المستعملة في الجراحة هو مثيل مثكاريليت المتعدد Polymethy methacrylate (PMMA) والذي يدخل في تركيبة الحشوة الضوئية (Light cure) من نوع (A2) المستعملة في هذه الدراسة بالإضافة إلى مواد مؤثرة أخرى (57).

ومن اجل دراسة التأثير على التصاقية البكتيريا تم مداخلة (تشبيع Imbregnanted) أقراص الحشوة الضوئية مع مضادات حياتية مختلفة وبينت النتائج تقليل أعداد الأنواع البكتيرية الملتصقة على هذه الأقراص، وكان التأثير الأكبر في ذلك للمضاد السبروفلوكساسين والريفامبسين وكما مبين في الجدول (5) و (6) ويأتي ذلك مقارب لما حصل عليه (58) من خلال دراسة التصاقية أنواع تابعة لجنس المكورات العنقودية *S.*

والمشبعة بمضادات السيفازولين والسبروفلوكساسين (PMMA) على أقراص *E. coli* وبكتيريا *S. aureus* و *epidermidis* والكندامايسين والتوبرامايسين والفانكومايسين وقد تفاوتت هذه المضادات في مدى التأثير إلاّ إنها كانت ذات تأثير اكبر على بكتيريا *S. aureus* و *E. coli*.

كما أشارت بعض الدراسات من ان استعمال أقراص (PMMA) والمغطاة بمادة بوليمر أخرى تدعى Poloxamer 407 مع وجود مضادات الحياة يؤدي إلى تقليل ملحوظ في أعداد البكتيريا قيد الدراسة والتصاقها بتلك الأقراص المحضرة كما وجد ان ذلك يدعم الزيادة في حساسية البكتيريا لمضادات الحياة (59 و60)،كما تلعب الطبيعة الكيميائية للمواد المؤلفة للبوليمر دور مهم في التقليل من الأعداد الملتصقة بوجود مضادات الحياة،اذ يتكون البوليمر من مركز كاره للماء يعيق انغماس البوليمر في سطح البكتريا أو أي مادة أخرى ،وذلك يوفر حاجزاً ثابتاً من الناحية الكيميائية تجاه إعاقة الالتصاق(61).

تأتي مقاومة الأنواع البكتيرية لمضادات الحياة وكما هو موضح في النتائج التي أظهرت أن اغلب الأنواع تظهر ان أعدادها الملتصقة كبيرة ويعود السبب في ذلك وكما أشارت بعض الدراسات الى ان بعض الأنواع تنتج كميات كبيرة من المخاط (Slime) بشكل يشبه المحفظة الواقية وبالتالي تكون اقل حساسية للمضادات الحياتية من تلك المنتجة للمخاط بكميات اقل كما يضيف ذلك مقاومة مظهرية لتلك الأنواع التي تعمل على تكوين غشاء حيوي يحيط بها (62 و63). كما أظهرت النتائج حساسية الأنواع غير المنتجة للمخاط بكميات كبيرة مثل *E. coli* بالمقارنة مع بكتيريا *S. epidermidis* و *K. oxytoca* و *Shigella* spp وغيرها المنتجة للمخاط والحاوية على محفظة واقية تحيط بجدارها الخارجي ويتوافق ذلك مع الدراسات التي تبين أن المخاط والمتكون من سكريات متعددة خارجية يثبط قدرة الاختراق لدى المضاد الحيوي بالإضافة إلى ان البكتيريا الموجودة ضمن المادة الأساس للغشاء الحيوي يمكنها ان تعطي مستويات مختلفة من التنافس الايضي والتي من الممكن ان تظهر مقاومة بكتيرية وان كانت قليلة أو محدودة (64).

المصادر

1-Murray J.J. (1989). The Prevention of dental Disease. 2nd ed Oxford medical publications.

2- Scherp,H.W.(1971). Dental caries. Prospects for prevention. J.Science, 173:1199 1205.

3- Touyz L., Amsel R. (2001). Anticariogenic effects of black tea (camellia sinensis) in caries – prone rats. Quintessence – Int. 32(8): 647 – 50.

4- Costerton, J. W and Donlon, R.M..(2002). Biofilm microbial life on surface.J.emer. infect. disease.8(9):881-890.

5- Ryder,M.A. (2005). Catheter – related infections: It's all about biofilm – advanced practice nurising. 5(3): 1 – 15.

6- Rogers, A.H.(2008). Molecular oral Microbiology. Caister academic press.UK.

7- Food and Agriculture Organization of the United Nations and world Health organization. (2008). Health and nutritional properties of Probiotics in food, including powder milk with live lactic acid bacteria. Available athttp://www.who.int/food safety/publication/fs - managment/ en/ Probiotic .PDF .Accessed May 7.

8- Reid G.(1999). The scientific basis for Probiotic strains for *Lactobacillus* . J.Appl. Environ. Microbial. 65ca):3763 – 3766.

9- Saarela M.; Mogenson G.; Fonden R., Mättö, J.; and Mattila – sandholm T.M. (2000). Probiotic bacteria: safely, functional and technological properties . J. Biotechnol. 197 – 215.

10- Reid G.; Sanders M.E.; Gas Kins H.R.; Gibson G.R.; Mercenier A.; Rastall R.; Roberfroid M.; Rowland I.; Christine C., and Klaenhammer T.R. (2003).New Scientific paradigms for Probiotics and Prebiotic Clin. Gastroeterol. 37 (2):105 – 118.

11- Comelli, E. M.; Guggenheim, B.; Stingele, F.& Neeser, J.R. (2002). Section of diary bacterial strains as Probiotics for oral health. European Fournal of oral sciences .110, 218 – 24.

12- Collee, J. G.; Faser, A. G..; Marmion, B. P. Simmons A.(1996). Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology. 14th ed., Churchill Livingstone.USA.

13- MacFaddin , J. F. (2000). Biochemical tests for identification of medical Bacteria. 3rd. Lippincott William and Wilkins.USA.

14- Baron, E. J. O.; Finegold, S. M. and Petrson, L. R.(1994). Bailey and Scott's Diagnostic . Microbiology 9th ed. Mosby. Missouri USA: 389 – 395.

15- Schillinger, V. and Luck, F. K. (1991).Antibacterial activity of Lactobacillus sake isolated from meat. J.Appl. Environ. Microbial., 55(8) : 1901 – 1905

16- Lews, C. B. ; Kaiser. A. and Montville, T. J. (1991). Inhibition of food borne bacterial pathogens by Bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat. J. Appl. Environ. Microbial., 57:1683 – 1688. (Abst).

17- Isolouri; E.; Sutas Y.; Kankaanpaa P.; Arvilommi H.; and Salminen S. (2001). Probiotics: effects on immunity. Am. J. Clin. Nutr. 73 (suppl): 444S – 450S.

18-Lawahi, T.; Abc, Y. and Tsuchiya, K. (1982). Virulence of *E. coli*. In asendind urinary tract infection in mice. J. Med. Microbiol. 15:303 – 316.

19- Sansonetti ,P.& Zychlinsky, A. (2002). Methods in microbiology. Molecular cellular microbiology.Vol.31. Acadimic Press.USA.

20-Yuehuei, H. An. And Friedman, Richad, J.(2000) Handbook of Bacterial Adhesion: principles, Methods, and Application. 1 – 6, 601-603.

21-الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز.(2000). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. الطبعة الثانية.ص 488.

22-Clinical and Laboratory Standards Institute. (2009). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S16. Wayne, PA: CLSI.

23- Rogers. A. H. (2005). Australian Dental Journal. 50 (1).: 2-5. Microbiology Laboratory. Dental school. The university of Adelaide, South Australian.

24- Babaahmady, K. G.; Challacombe, S. J.; March, P. D. and Newman, H. N. (1998).

Ecological study of *Streptococcus mutans; Streptococcus sorbinus* and *Lactobacillus spp.* At sub sites from approximal dental

25- Brambilla, E.; Twetman, S.; Felloni, A.; Gagetti, M. G.; Ganegallo, L.; Garica, G. F. and Strohmenger, L.(1990). Salivary mutans streptococci and Lactobacilli in 9 – and 13 – health.J. Oral. Investig. 3(1):7 – 10

26- Sainie, S.; Mahajan, A.; Sharma, J. K.; Arora and Saini, O.P. (1999). Polymicrobial etiology of dental caries. Indian. J. Pathol. Microbial. 42(1): 9 – 25 (AB).

27- Nolte, W. A. (1982). Oral Microbiology with basic Microbiology and Immunology. 4th ed. The C. V. Mosby Company, London.

28-الحسيني، عدي متعب هادي. (2002). دراسة مايكروبايلوجية لمسببات تسوس الأسنان والتهاب اللثة وما حول السن والخراجات حول الجذر في محافظة النجف الاشرف. رسالة ماجستير. . كلية العلوم. جامعة الكوفة.

29- Rogosa, M.; Wiserman, R.F.; Mitchell, J. A.; Beaman, A. J. and Disraelym M. N.(1953). Species differentiation of Oral Lactobacilli from man including description of *Lactobacillus salivarius* and *Lactobacillus cellobiosus*. J. Bacteriol. 65:481 – 694.

30- Abd – Almajeed, Zaid A. Hammed. (1991). The Antimicrobial Activity of Crude Extracts of Some Chewing Sticks Against Microorganisms Isolated from Dentistry. M.Sc. Thesis. University of Baghdad. P:41.

31- العبسي، سميرة غجير جريمخ. (2009).دراسة بعض البكتريا المكونة للأغشية الحيوية على سطوح مينا الأسنان. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة القادسية.

32- Topping, J. W.; Popkes, D.J. and Disante, D.A. (1974). Salivary *Pseudomonas auroginosa* .J. Oral. Surg. 38:42 – 53.

33- Waltimo, T. M. T. ; Siren, E. K. ; Trokko, H. L. K.; Olsen, I. and Haapaselo, M. P. P. (1997). Fungi in therapy – resistant apical periodontitis. Int. Ended. J. 30: 96 – 101.

34- الميسري، محمد فاضل سالم. (2002). دراسة بكتريولوجية وراثية ووبائية عن بعض عصيات القولون المسببة للإسهال في الأطفال في بعض مستشفيات عدن. أطروحة دكتوراه . كلية العلوم .الجامعة المستنصرية.

35-الربيعي، شروق ريس كاظم.(1998) دراسة بكتريولوجية وراثية بايوكيميائية على بكتريا*Staphylococcus aureus* المنتجة لبروتينA . أطروحة دكتوراه.جامعة بغداد.

36- الموسوي، علياء موسى. (2006). دراسة حول البكتريا الهوائية والخمائر المرافقة لبعض امراض الفم في مدينة الناصرية. رسالة ماجستير .كلية التربية . جامعة ذي قار.

37- Al – Mizrakchi, A. S. (1992). The Occurrence of *Lactobacillus spp.* In the mouth of children and it's response to chlorhexidine M.Sc. Thesis in Preventive dentistry, College of Dentistry – University of Baghdad.

38-Sulaiman, A.W. (2000). Quantitative measurement of urea content in saliva, acquired Pellicle and dental Plaque in relation to dental caries susceptibility in human adults M. Sc. Thesis in

Preventive dentistry; College of dentistry – university of Baghdad.

39- Gupta. P. K; Mital, B. K. and Garg. S. K.(1996). characterization of *Lactobacillus acidophilus*. Strain for use as dietary adjunct. Int. J. of food Microbiol. 29: 7-9.

40-حميد، علي حسن علي. (2004). استخدام النواتج الايضية لبكتريا حامض اللاكتيك العلاجية لحفظ منتجي الجبن الطري والقشطة المحليين. رسالة ماجستير. كلية الزراعة.جامعة بغداد.

41- الشيخ ظاهر، عامر عبد الرحمن. (1999). عزل وتشخيص بكتريا *Lactobacillus acidophilus* ودراسة بعض صفاتها واستخدامها في تصنيع منتجات لبنية علاجية. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

42- Klaenhammer, T. R.(1988). Bacteriocins of lactic acid bacteria, J.Biochem. 70: 337-349.

43-Simakachorn, N.; Pichaipat, U. ;Rithipornpaisarn, P. ; Kongkaew, C. ;Tongpradit, P. and Varavithya, W.(2000). Clinical evaluation of the addition of lyophilized. Heat- killed *Lactobacillus acidophilus* LB to oral dehydration therapy in treatment of acute diarrhea in children. J. Pediatr. Gastroeterol. Nutr. 3091): 68-72.

44-Xiao, S. D. ; Zhang, D. Z. ; Lu, H. ; Jiang, S. H. ; Liu, H. Y. ; Wang, G. S. ; Xu, G. M. ; Zhang, Z. B. ; Lin, G. J. and Wang, G. L.(2002).Multicenter randomized controlled trail of heat –killed Lactobacillus acidophilus LB in patients with chronic diarrhea. Chinese J. Digest. Dise. 3: 167-171.

45- Mack, D. R. ; Ahrne, S. L.; Wei, S. and Holing – Swarth, M. A. (2003). Etracellular MVC3 Mucin secretion follows adherence of lactobacillus strain to intestinal epithelial cell in vitro. J.Cut.; 52: 827 -833.

46- Servin A. L.(2004). Antagonistic activities of lactobacilli and Bifidobactrium against microbial pathogens. FEMS. Microbiology Reviews. Article in press. Http// www.fems_microbiology.org/.

47-Gibson, G. R. & Roberfroid, M. R. (2008). Handbook of Prebiotic. CRC. Press. USA.

48- Gupta, U.; Rudramma; Rati, E. R. and Joseph, R. (1998). Nutritional quality of lactic fermented bitter ground and fenugreek leaves. Int. J. food Sci. Nurt. 49 (2):101 –108.

49-Gaon, D, ; Garmendia, C. ;Murrielo, N. O. ; Games, A. D. ; Cerchio, A. ; Quintus, R. ; Gonzales, S. N. and Oliver, G.(2002). Effects of Lactobacillus strains *(L. casei* and *L. acidophilus*. strains(ERELA) on bacterial overgrowth –related chronic diarrhea. Medicina. 62(2):159-163.

50- Hawthorn, L. A. **and Reid, G**. (1995).Exclusion of Uropathogen adhesion to polymer surfaces by *Lactobacillus acidophilus*, J. Biomed. Mater. Res. 24: 39-46.

51- Al – Khozai, Ziad, M. (2009). Inhibitory effects of probiotic on growth and adhesion of some gram negative pathogenic bacteria. Journal of Karbala University, 7. (1). P.P:34 – 38.

52-Daeschel, M. A.; Mckenney, M. C. and McDonald ,L. C. (1986). Abstracts of the Annual Meeting of the American Society of Microbiology. ASM. Washington, D.C.P.133.

53- Hamdan, I. T. & Mikolojeik, E. M.(1974). Acidolin: An antibiotic produced by *Lactobacillus acidophilus*. J. Antibiot. 27:631

54- Rojas, M.; Ascencio, F. and Particia, L. C. (2002). Purification and characterization of a surface protein from *Lactobacillus fermentum* 104R that Binds to procin, small Intestinal Mucus and Gastric Mucin. J.Appl. Ebviron. Microbiol. 68 (5): 2330 – 2336.

55- Robinson M.G.(2001). Bacteriotherapy may by useful in treating bacterial Vaginosis. B.M.J. 323:1128 – 1133.

56-Mclean, N.W. & Rosenstein, I. J.(2000). Characteristion and selection of *Lactobacillus* speies. To recolonies the Vagina of woman with recurrent bacterial Vaginosis. J. Med Microbiol. 49:543 – 552.

57- Gristina, A.G. (1987). Biomaterial – centered infection: Microbial adhesion versus tissue integration. J.Science 237:1588 – 1595.

58- Edmiston, Charles, E. & Goheen, Michael, P. (2005). Study Bacterial Adhesion to Antibiotic Impregnanted Polymethymethacylate .USA

59- Lee, J.A. & Tan, J.S. (1989). Protein adsorption on pluronic copolymer – coated polystyrene particles. J. Colloid Interface. Sci. 131:252 – 266.

60- Amiji, M. & Park, K. (1992). Prevention of protein adsorption and platelet adhesion on Surface by PEO/PPO/PEO triblocle copolymers J. Biomat. 13:682 – 692.

61- Bridgett, M. J.; Davies, M. C. and Denyer, S. P.(1992). Control of Staphylococcal adhesion to polystyrene surfaces by polymer surface modification with surfactants. J. Biomat. 13:411-416.

62- Schwank, S.; Rajacic, Z. and Zimmerli, W. (1998). Impact of bacterial biofilm formation an *in Vitro* an *in vivo* activities of antibiotic Antimicrobial Agents. J.Chemothe 42:895 – 8.

63- Souli, M. & Giamarellou, H. (1998). Effects of Slime produced by clinical isolates of coagulase negative staphylococci on activities of various antimicrobial agents. J.Antimicrob Agents Chemother 42:939 – 41.

64- Anwar, H.; Dasgupta, K. and Lam, K. (1989). Tobromycin resistance of mucoid *Pseudomonas auroginosa* biofilm grown under iron limitations. J. Antimicrob. Chemothe 24:647 – 655.

Study The effect of Probiotic Prepared from *Lactobacillus acidophilus* on Adhesion of The bacteria Isolated from Dental Caries

Ussama F. K. Al-Zubaidy
College of science
Al-Qadissyia university

Ziad M. Al-Khozai
College of science
Al-Qadissyia university

Cited from M.Sc. thesis

Abstract:

This study included collecting of 101 specimens from patients who infected with Dental Caries in Al-Diwaniya province from both sexes with different ages from February to May (2009) to isolate and identify bacterial causes. 152 isolates were rerecorded from both gram negative and positive bacteria. Results revealed the dominance of *Streptococcus* spp. with 36.19 %, *Staphylococcus* spp. with 27.69 %, *Lactobacillus* spp. with 19.8 %, this study was recorded species belong to Enterobacteriaceae with 18.81 % and *Pseudomonas aeuroginosa* with 4.60 %, *Streptococcus mutans* was the dominant with 50.90 % from species that belong to streptococci, while *Staphylococcus epidermidis* recorded the higher ratio 66.66% from species that belong to staphylococci, In case of lactobacilli, *Lactobacillus acidophilus* recorded the high ratio 65.51% from isolated lactobacilli species, *Escherichia coli* was the dominant with ratio 9.90 % from Enterobacteriaceae species.

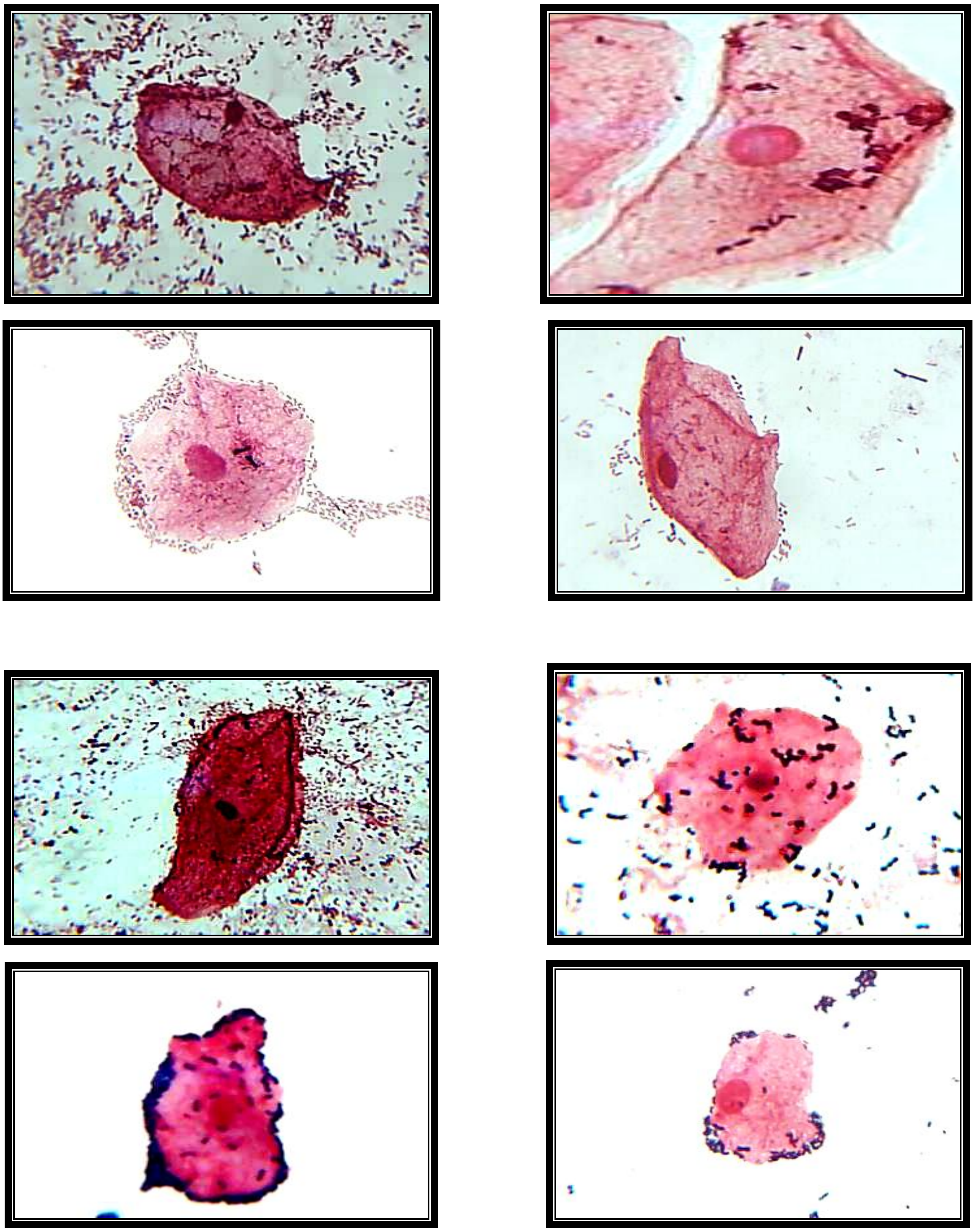
The recorded results showed resistance of Gram positive species to the most antibiotics in this study, specially to ampicillin 91.44 % and erythromycin 89.26 %, while the least resistance were to refampicin 17.46 %, ciprofloxacin 22.22 % and tetracycline 35.71 %. while Gram negative species where high resistance to ampicillin 88.46 % and amoxicillin 86.26 %, but were too low resistance to ciprofloxacin, tetracycline and gentamicin with ratios 15.38 % , 34.16 % and 42.30 respevtively

The results explained existence of significant effects of three types of probiotics that were got from isolated *L. acidophilus* from yoghurt on adhesion of bacteria on epithelial cells and polymer discs of Light cure, the filtrate of cells gave the highest effect by reduction the numbers of adhered bacteria on epithelial cells of species *S.sanguis*, *Staph. aureus*, and *Shigella* spp. with numbers 17,23 and 19 bacteria\cell respectively, while heat killed cells have high effects on species *S.salivarius*, *Staph. aureus* and *Shigella* spp. with numbers 11,13 and 14 bacteria\cell respectively, the ultrasonic destroyed cells has effect on species *S .mutans*, *Staph. aureus,* and *Shigella*

spp. with numbers 23, 27 and 24 bacteria\cell respectively.

The role of probiotic with it´ s three types on the reduction of bacterial numbers that adhered to polymer discs, the effect of filtrate *S. salivarius*, *Staph. aureus* and *E .coli* was high with value 4.8, 7.1and 4.7 cell\mm^2 respectively, while heat killed cells has a significant effect on *S.salivarius*, *S.aureus* and *E.coli* species with numbers 5.9, 7.6 and 6.1 cell\mm^2 respectively, the ultrasonic prepared probiotic had effect on *S.sanguis*, *Staph. aureus* and *E .coli* species with numbers 5.0, 4.5 and 5.3 cell\mm^2 respectively. The results of this study revealed that the sensitivity to antibiotic refampicin, ciprofloxacin and tetracycline when impregnanted polymer discs with antibiotic to test the adhesion of bacteria on these discs, while the resistance to the other antibiotics appeared in different ratios, the species of Gram negative were sensitive to refampicin and ciprofloxacin with less effect to tetracycline and high resistant to amoxillin and with less effect to the other antibiotic that used in this study.

ملحق رقم (1)



A\S.mutans\Control

B\E.coli\Control

C\S.pneumoniae\Control

D\S.aureus\Control