

دراسة لتقييم كفاءة حليب الإبل في تثبيط بكتريا *Streptococcus* spp. و *Staphylococcus* spp. المعزولة من فم المرضى المصابين بالتهاب اللثة

هيفاء جابر حسين

فرع العلوم الأساسية، كلية طب الأسنان، جامعة الكوفة

الخلاصة:

أعدت هذه الدراسة لتقييم قابلية بعض مكونات حليب الإبل في القضاء على نوعي البكتريا المدروسة والمسببة لمرض التهاب اللثة (Gingivitis) في الإنسان. تم أخذ المسحات من 35 شخص كانوا يعانون من الإصابة ، تم تشخيص 50 عزلة من البكتريا المرضية المسببة للإصابة اعتماداً على طرق التشخيص القياسية بواقع 32 عزلة لبكتريا *Streptococcus* spp. و 18 عزلة لبكتريا *Staphylococcus* spp. ، اذ تم استبعاد البكتريا المرضية الأخرى ذات النسب الإحصائية القليلة . عوملت البكتريا قيد الدراسة بتركيزات مختلفة من حليب الإبل (5% ، 10% ، 20% ، 30%) على التوالي . أشارت النتائج إلى أن تركيز 5% لم يحدث تأثيراً على النمو البكتيري ، بينما عند التركيز 10% كان التثبيط 16% و 44% لبكتريا *Streptococcus* spp. و *Staphylococcus* spp. على التوالي ، وعند التركيز 20% كان التثبيط 84% و 88% للبكتريا المدروسة على التوالي في حين أوجدت نتائج الدراسة أن تركيز 30% كان مادة مثبطة لنمو نوعي البكتريا اعلاه وبنسبة 100% .

Study to evaluation the Camel milk effect to inhibition *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. in patients with gingivitis

Hayfa'a Jaber Hussein

Department of Basic Sciences, College of Dentistry, University of kufa

Abstract:

The purpose of this study was to detect the ability of Camel milk composition to control two main causative bacteria of gingivitis in human being 35 swaps taken from the patient gum ,50 isolation of bacteria would be diagnosed by slandered methods, 32 isolates were identified as *Streptococcus* spp. and 18 isolation from *Staphylococcus* spp. other statistically lower ratios were discarded. The bacteria treated by different concentrations of Camel milk (5%, 10%, 20% and 30%) . The results showed ,there is no effect of 5% concentration on the bacteria growth , while 10% , 20% concentrations where lead to inhibition of growth bacteria 15.6% , 16.6% , 56.25% , 66.6% respectively and which the 30%. Concentrated of Camel milk completely inhibition of all strains of two types of bacteria 100% .

التهاب اللثة:

المقدمة:

من الأجسام المضادة IgG و IgA التي أثبتت فعاليتها ضد العديد من مسببات المرضية الفيروسية والبكتيرية (20) بالإضافة إلى وجود كميات جيدة من Lactoperoxidase, Lysozyme, Lactoferrin حيث يعد الأخير له دور كبير في قتل و تثبيط نمو العديد من أنواع الجراثيم مثل *Escherichia. coli* , *Staphylococcus* (21).

كما وجد (22) في دراسة أجريت على فئران سويسرية أن الحليب يعمل anticytotoxin فهو يعمل على تنشيط فعل cisplatin المستخدم في علاج حالات السرطان المختلفة والذي يؤدي إلى تحطيم الكبد والكلية وقد ذكر (23, 24) أن الحليب يستخدم كمضاد للأكسدة نتيجة لاحتوائه على كميات عالية من العناصر التي تعمل على تحفيز عمل الإنزيمات المضادة للأكسدة ومن هذه العناصر المغنيسيوم والزنك وفيتامين B₂ و C و E .

ولما كانت خلاصة هذه الأبحاث في مختلف الميادين أن حليب الإبل يستخدم في علاج الكثير من الأمراض التي تقشت في الآونة الأخيرة في المجتمعات البشرية مثل التهاب الكبد الوبائي، فقر الدم، السيل الرئوي، السكري، بعض حالات السرطان وكذلك في علاج الكثير من حالات الالتهابات الناتجة عن مختلف المكروبات المرضية (10) ونظرا لقلة الدراسات الفسلجية التي تناولت هذا النوع من الحليب من حيث المكونات والتأثيرات العلاجية صممت هذه الدراسة لظهور الدور التثبيطي للحليب على نمو البكتيريا المرضية في الفم .

المواد وطرائق العمل :-

1- عينات الحليب

أ- جمع العينات:

جمعت عينات الحليب من عدة جمال منتشرة في بادية محافظة النجف الاشراف بعد التأكد من خلوها من حالات التهاب الضرع بإجراء فحص كاليفورنيا (25) وبعد التأكد من عدم إعطائها للمضادات الحيوية لمدة لا تقل عن أسبوع للتأكد من خلو الحليب من بقايا المضادات التي يمكن

يعد من أهم الأمراض التي تشكل 80% من مشاكل الأسنان لدى البالغين (1) . فهو التهاب لأنسجة اللثة (2) في حالة غياب العلاج اللازم تتطور الحالة إلى ما يعرف بأمراض ما حول الفم Periodontal disease (3) . إن السبب الرئيس بحدوث مرض Gingivitis أو ما يدعى Plaque disease هو الإصابة بالبكتيرية الشائعة مثل *Staphylococcus* and *E. coli* , *Streptococcus* والتي تلتصق على أسطح الأسنان (4) . حيث تظهر علامات على الشخص المصاب ألم شديد، تقرحات على جلد اللثة، حكة، رائحة غير مرغوب بها للفم، انتفاخ مع احمرار ومن ثم نزيف بسيط يظهر على اللثة المصابة (5) .

يعد حليب الإبل الغذاء الرئيسي للبدو في الصحراء، ويقارن ايجابيا جدا بالحليب الإنساني (6) وهذا يؤكد أهميته للتغذية الإنسانية . إن طعم ونوعية وكمية الحليب بالإضافة إلى التقلبات في تراكيز مكوناته تتأثر بكمية الماء المأخوذة من قبل الحيوان وكمية الغذاء المأكول (7) . تنتج الناقة التي تتغذى بصورة جيدة (10 - 15) كغم من الحليب يوميا (8)، من صفاته ذا لون ابيض بليد عموم (9,7)، له طعم حلو حاد مالح (10)، الأس الهيدروجيني pH للحليب يتراوح بين (6.5- 6.7) (8,11)، تزداد حموضته بسرعة لو ترك لبعض الوقت (12a) . وقد أجريت دراسات عديدة للتحري عن مكونات حليب الإبل الطبيعية منها دراسة (13)

كما اوجد (14) أن الحليب غني بفيتامين C ، في حين اثبت (15) احتواء الحليب على فيتامين B₁ و B₂ .

كما يحتوي الحليب على مستوى عالي من العناصر التالية :- الصوديوم، البوتاسيوم، الحديد، الزنك، النحاس، المغنيسيوم والكارصين (16,17,18) وكذلك فيتامين B₂

E و C ومستوى عالي من هرمون الأنسولين وانخفاض بمستوى السكر والكوليسترول . كما أشار (19) إلى وجود تراكيز عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة والأحماض الامينية مثل Linoletic، بالإضافة إلى وجود تراكيز عالية

ان تطرح عن طريق الحليب .حفظت العينات في قناني بلاستيكية معقمة ووضعت في صندوق مبرد ثم نقلت مباشرة الى المختبر ووضعت في الثلاجة .

ب- المعاملات التي أجريت على الحليب

أ- فحصت العينات عينيا للتأكد من خلوها من الشوائب وغيرها الناتجة من الجمع.

ب- عومل الحليب المجموع بطريقة البسترة السريعة 72 م° لمدة 5 ثواني .

2- جمع المسحات:

تم جمع المسحات من 35 مصابا بالتهاب اللثة توزعت بواقع 15 حالة من العيادات الخاصة و 20 حالة من المستشفى التعليمي في كلية طب الاسنان جامعة الكوفة ، حيث تراوحت اعمارهم من 18-60 سنة بعد التأكد من عدم حصول تركيب اسنان اصطناعية لتجنب حصول اصابة مختلطة ناتجة عن استخدام تلك الاسنان ،

و حفظت هذه المسحات في انابيب اختبار معقمة ومحكمة الغلق ووضعت في الثلاجة لحين الاستخدام حيث تزرع وتحضن بدرجة 37 م° . شملت الدراسة فحص 50 عزلة بكتيرية بواقع 32 عزلة لبكتريا *Streptococcus* spp. و 18 عزلة لبكتريا *Staphylococcus* spp. . وقد استبعدت نتائج الزرع البكتيري الاخرى من الدراسة ،علما ان نوعي البكتريا اعلاه هما الاكثر شيوعا (26) .

3 - تحضير الأوساط الزراعية:

كل الأوساط الزراعية المستخدمة حضرت حسب الشركة المصنعة وتعليماتها الموجودة على العلبة بالإضافة إلى أنها عقت بجهاز التعقيم بدرجة 121°C ولمدة 15 دقيقة وبعد ذلك بردت ،وبالنسبة لوسط الدم الصلب يضاف 5% من دم الحصان ليستخدم لعزل بكتريا *Streptococcus* spp. .

- الأوساط الزرعية

اسم الوسط	الشركة المصنعة
Brain heart infusion broth and agar	Mast Diagnostic (UK)
Eosin methylen blue	Hemedia
MacConkey agar	Bioline(Italy)
Muller Hinton agar	Oxoid (UK)
Blood agar	Oxoid

4- تشخيص البكتريا

تم تشخيص بكتريا *Streptococcus* و *Staphylococcus* اعتمادا على الفحوصات المظهرية والكيميوكيوية واستنادا الى (27,28,29) .

5- تخفيف الحليب وإضافته

خفف الحليب وأضيف حسب طريقة agar dilution (30) .

النتائج والمناقشة:

اظهرت نتائج الزرع البكتيري وكما موضح في جدول (1) حصولنا على 32 عزلة من بكتريا *Streptococcus* spp. و 18 عزلة من بكتريا *Staphylococcus* spp من اصل 50 عزلة وبنسبة مئوية 64% و 36% على التوالي .

جدول (1) العدد الكلي للبكتريا المعزولة عن حالات التهاب اللثة والنسب المئوية لها

النسبة المئوية	العدد	نوع البكتريا
----------------	-------	--------------

<i>Streptococcus</i> spp.	32	64%
<i>Staphylococcus</i> spp.	18	36%
Total	50	100%

الامينوكلوبولينات (IgA و IgG) التي تلعب دور مهم في تثبيط النمو البكتيري (20) . أما ما يفسر حصول التثبيط البكتيري بنسبة 100% في التركيز الثالث حسب ما موضح في جدول (2) قد يكون ناتج عن زيادة تراكيز مكونات الحليب أعلاه كذلك لوحظ ارتفاع تراكيز العناصر المغنيسيوم والزنك وفيتامينات (A,B,C,E) التي تعمل كمواد محفزة لعمل الأنزيمات المضادة للأكسدة والتي تلعب دور مهم في تثبيط النمو البكتيري اذ تعمل على معادلة مادة الجذور الحرة القاتلة التي تنتجها الإحياء المهجيرية (31,32,33) . وكذلك أشار البحث (22) الى احتواء الحليب على تراكيز عالية من مادة Antigen toxic التي تعمل Anticytotoxic ذات الدور المهم في تثبيط النمو البكتيري . بالإضافة للدور الفعال في قتل البكتيريا نتيجة لاحتواء الحليب على انزيم lactoperoxidase وكذلك lacto ferine كما أشارت لذلك البحوث (21, 34,35,36)

من جدول (2) لوحظ أن تركيز 5% لا يؤثر على النمو البكتيري ولم يحصل أي تثبيط قد يعود السبب في ذلك إلى قلة تراكيز مكونات الحليب المختلفة التي تعمل على تثبيط النمو البكتيري. بينما يعتقد حصول التثبيط البكتيري عند تركيز 10% نتيجة لوجود تراكيز عالية من fat and protein كما أشار لذلك (12a,13) بالإضافة إلى احتواء الحليب على كميات جيدة من الفيتامينات والمعادن وما لها من دور في تثبيط النمو البكتيري وهذا ما أكدته بحوث (16,17,18) او قد يعود التثبيط الى طبيعة pH الحليب التي تكون حامضية (6.5-6.7) (8,11) . وكذلك لوحظ زيادة معدلات التثبيط البكتيري ترايدا طرديا مع زيادة تراكيز الحليب فنلاحظ مثلا أن تثبيط (56.25%، 66.6%) بالنسبة لل *Streptococcus* ، *Staphylococcus* على التوالي. حيث يعتقد أن هذا التثبيط للمستعمرات البكتيرية ناتج عن احتواء الحليب على تراكيز عالية من

جدول (2) عدد العزلات والنسبة المئوية للتثبيط البكتيري الناتج عن استخدام تراكيز مختلفة لحليب الإبل

نوع البكتيريا	تراكيز الحليب							
	5%		10%		20%		30%	
	No	%	No	%	No.	%	No	%
<i>Streptococcus</i> spp. n= (32)	0	0%	5	15.6 %	18	56.25%	32	100%

<i>Staphylococcus</i> spp. n=(18)	0	0%	3	16.6%	12	66.6%	18	100%

* No. تمثل عدد العزلات البكتيرية المثبطة

حالات الالتهابات المختلفة مثلا استخدامه كغرفة بعد إجراء الفحوصات المختبرية التي تؤكد خلوه من العوامل المرضية الاخرى.

من جدول 3 لوحظ ان أعلى تثبيط للنمو البكتيري كان عند تركيز 30%. يستنتج من الدراسة الدور التثبيطي لحليب الابل على نوعي البكتريا المدروسة ، لذلك يوصى باستخدام حليب الإبل كمادة مثبطة للنمو البكتيري في

جدول (3) يوضح مقاومة البكتريا للنمو في تراكيز مختلفة من حليب الإبل مع السيطرة.

نوع البكتريا	تراكيز الحليب				
	5%	10%	20%	30%	control
<i>Streptococcus</i> spp N=(32)	+	+	+	-	-
<i>Staphylococcus</i> spp N=(18)	+	+	+	-	-

مقاومة البكتريا للنمو +
عدم مقاومة البكتريا للنمو -

4-Rogers, A.H.editor (2008).
Molecular oral microbiology. Caster
Academic Press. ISBN 978-1-
904455-24-0.

5- Oral microbiology J., Wikipedia
foundation (2010).Inc., Organization
21:54.

6- Davis, J.O. and Mackdonald,S.J.
(1952). Richmond's dairy, Edition 2
Charles Griffen &CO. Ltd.,London
101.

المصادر:

1- Natures Medicine Gingivitis. J.
10-3-2010.

2- The American Academy of
Periodontology. (1989). Proceeding
of the world workshop in clinical
periodontics.Chicago;23-24.

3-Lamont,R.J., Robert,A.B., Marliyn
,S. L., Donald, J. L . (2006). Oral
microbiology and Immunology.
Washington, USA.

- 15- Gast,M., Mauboisj,I. and Adda,J. (1969) .Le lait et Les produits Laitiers en Ahaggar . Center .Rech. Anthr. Prehist. Ethn.
- 16- Knoess, K.H. (1979). Milk production of the dromedary . Proceeding of the IFS symposium Camels, Sudan pp:201-214.
- 17- Sawaya, W.N., Kikhalil, J., Alshalhat, A. and Al-Mohammad, H.(2006). Chemical composition and nutritional quality of Camel milk . J. food 49: 744-747.
- 18- Al- Hashem, F.(2009). Camels' milk protects against aluminum chloride-induced toxicity in the liver and kidney of white Albino Rats.Biochem. & Biotech. 5 :98-108.
- 19- Raga, H.mohammad, Salama,O., Hegazi, A., El-Shaieb,S. and Al-Mehdar,H. (2005). Camel milk as an alternative therapy for the treatment of type -1 Diabetes:Verification of a Traditional Ethno-Medical practice.National Cancer Institute, Cario Egypt.
- 20- Khitam, Al-Amir . (2003). Camel milk plasma may help produce anti-microbial vaccine Gulf News Al- Nisr publishing LLC.
- 21- EL-Agamy, El. Ruppaner, R., Ismail, A.I. (1992). Antibacterial and activity of Camel milk protective proteins .J. Dairy Res. 59 :169-175.
- 7-Yagil, R. and Etzion, Z. (1980). The Effect of drought condition on the quality of Camel's milk, J.dairy Res.47:159-166.
- 8- Shalash, M.R.(1979). Utilization of Camel meat and milk in human nourishment. In:IFS symposium Camels.Sudan .285-306.
- 9- Dilanyan, S.H.(1959). Utilization of mares. Ewes.Camels and yaks' milk in the USSR. Report Int. Comm.. Dairying in warm countries . Dairy Fed. Brussels.
- 10- Rao, M.B., Gupta,R.C. and Dastur, N.N.(1970). Camels' milk and milk products .Ind. J. Dairy Sci .23:71-78.
- 11- Grigoryants, N.N. (1954). Composition of Camel milk and chal(Rus) Vop. Pit.13:41-45.
- 12- Ohris, S.P. and Joshi, B.K.(1961). Composition of Camel milk .Indian Vet. J. 38 (a):514-516.
- 13- Konus Payevg G., Faye, B. and Loisean, G. (2008) .The Composition of Camel milk .A meta-analysis of the literature data. J.of food composition ,Analysis , 22: 95-101.
- 14- Kheraskov,S. G.(1961). Composition, Properties and nutritive value of Camels' milk .Vop.Pitan 20:69-72.

- 29- Levinson , W.; and Jawetz, E.(2002). Medical Microbiology and Immunology , 7th edition .McGraw – Hill ,New York .
- 30- Erisson, H.M. and Sherris, J.C. (1971). Antibiotic sensitivity testing report of an international collaborative study .Acta. Pathologica et Microbiologica Scand.,Section B.Suppl 217:1-90.
- 31- Dean V. Sculley , Langley-Evans, S c. (2002). Salivary antioxidants and periodontal disease status.proceedings of the nutrition society .61,137-143.
- 32- David, E., Clarke, BVSc.(2001). Clinical and Microbiological Effects of Oral Zinc Ascorbate Gel in Cats. J.Vet.Dent.18 :177-183.
- 33- Zeelie J.J., McCarthy T.J., (1998). Effects of copper and zinc ions on the germicidal properties of two popular pharmaceutical antiseptic agents, cetylpyridinium chloride and povidone iodine.Unit. for Health Services, Port Elizabeth Technikon , Private Bag X6011,Port Elizabeth South Africa Analyst. 123\3(503-507).
- 34- Bhimani RS., Vendrov Y.,Furmanski P.(1999). Influence of lactoferrin feeding and injection against systemic staphylococcal in mice. J.Appl Microbiol.Uni. NY,USA. 86 :135-144.
- 35- Kruzel ML., Harari Y., Chen CY., Castro GA.(1998). The gut. A
- 22- Afifi, M.E. (2010). Effect of Camels' milk on Cisplatin -Induced Nephrotoxicity in Swiss albino mice AM.J.Biochem and Biotech. 6:141-147.
- 23- Barbagallo, M. (1999). Effect of vitamin E and glutathione on glucose metabolism: Role of magnes Hypertension,34:1002 - 1006.PMID:10523398.
- 24- Ozdemir,G.and Inanc, F. (2005). Zinc may protect remote ocular Injury caused by intestinal ischemia reperfusion in rats. Tohoku j. Exp. Med. 206:247-251.
- 25- Coles, E.H. (1986). Veterinary clinical pathology, 4th . ed. Canada, W.B Saunders Company, pp. 448-462.
- 26- Al-Khafagy, M.T., Al-Yasiri,I.K., Al-Quriani,N.T.(2010). Disinfectionof silicon impression materials by using different natural solution (in vivo study) kufa med. J. l; 13:45-51.
- 27- MacFaddin,J.E.(2000). Biochemical tests for identification of medical bacteris,3th edition .Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia .USA.
- 28- Collee ,J.G.; Fraser, A.G.; Marmion , B.P; and Simmons , A. (1996). Mackie and McCartney, Practical Medical Microbiology, 14th edition. Churchil Livingstone , New York .

36-Tomita M., Takase M., Wakabayashi H., Bellamy W.(1994). Antimicrobial peptides of lactoferrin.Nutritional Science Laboratory, Morinaga Milk Industry Co.Ltd.,Kanagawa, Japan.Adv. Exp. Med Biol. 357:209-218.

key metabolic organ protected by lactoferrin during experimental systemic inflammation in mice. Uni.Texas Medical School ,USA. Adv. Exp. Med Biol ;443:167-173.