بررسی باکتری های بیماران مبتلا به پریودونتیت و مقایسه آن با گروه شاهد

دکترمحمدحسین سالاری [۱] ، دکترپرویزاولیاء [۲] ، مریم خوش رضا[۱]، دکترزینب کدخدا [۳]

واژه های کلیدی : *باکتری ها، پریودونتیت*

چکیده

باکتـــری های موجود در منطـقه سالکـوس لثه مبتلایان به عفونت پریودونتیت را ارگانیسم های گرم منفی تشکیل می دهند که اغلب جزء باکتری های بی هوازی مانند گونه هایی از جنس های *پورفایرومونـاس ، پروتلا، فوزوباکتریوم ، ولینلا* و نیز گونه هایی از باکتری های کاپنوفیل مانند *اکتینوباسیلوس اکتینومایستم کومیتانس ، ایکنلاکورودنس و کاپنوساپتوفاگا* می باشد.

دراین مطالعه ۲۰۶ نمونه بیماران مبتلا به پریودونتیت و ۱۴۵ نمونه تهیه شده از افراد سالم را بعنوان گروه شاهد از نظر باکتری های پریودونتوپاتوژن مورد بررسی قرار داده، باکتری های مختلف جدا شده از کل نمونه ها به ترتیب در دو گروه بیمار و شاهد بدین صورت است.

اکتینوباسیلوس اکتینومایستم کومیتانس (گروه بیمار ۳۶/۹ درصد، گروه شاهد ۴/۱) ، *کاپنوساپتوفاگا* (۴۷/۹ درصد، ۱۵/۹ درصد)، *ایکنلاکورودنس* (۳۴/۵ درصد، ۱۰/۳ درصد)، *پورفایرمونـاس ژنژیوالیس* (۳۵ درصد، ۱۱ درصد) ، *پروتلاانترمدیوس* (۲۵/۷ درصد، ۶/۷ درصد) و *پروتلاملانینوژنیکوس* (۱۳/۶ درصد، ۳/۴ درصد) .

سرآغاز

همانطور که می دانیم در حالت طبیعی دندان ها در درون بخشی از استخوان آرواره بنام استخوان آلوئلی قرار گرفته و بافت های سمان، الیاف پریودونتال و لثه آنها را احاطه می نماید. این بافت ها که مجموعاً به پریودونشیوم معروفند، کمک می کنند تا دندان ها در وضعیت مناسب و ثابت قرار گرفته، بتوانند عمل طبیعی خود را انجام دهند. عوامل گوناگونی از جمله باکتری ها بر روی پریودونشیوم موثر بوده، موجب تخریب آن ونهایتاً بروز بیماری های پریودونتال می شوند. ضایعات محدود به لثه را ژنژیویت و گرفتاری سایر بافت های نگهدارنده مانند الیاف پریودونتال

۱- گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت وانستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی وخدمات بهداشتی درمانی تهران، صندوق پستی ۱۴۱۵۵-۶۴۴۶ ، تهران، ایران.

۲- گروه پاتوبیولوژی ، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی شاهد، تهران، ایران.

۳- گروه پریودونتیت ، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی وخدمات بهداشتی درمانی تهران، ایران.

و استخوان آلوئولی را علاوه بر لثه، پریودونتیت نامید، آن را به چهار گروه ذیل تقسیم می نمایند: ۱) پریودونتیت قبل از بلوغ، ۲) پریودونتیت جوانان، ۳) پریودونتیت با پیشرفت سریع و ۴) پریودونتیت بالغین .

درمراحل پیشرفته بیماری پریودونتیت ، استخوان آلوئولی و سایر بافت های نگهدارنده تخریب شده، باعث لقی و از دست دادن دندان ها می شود. علایم بالینی این بیماری عبارتست از التهاب لثه همراه باخونریزی ، لقی دندان، تحلیل رفتن لثه، بد بو شدن تنفس و بدمزگی دهان و تخریب استخوان آلوئولی. درعفونت پریودونتال عامل اصلی بیماری را باکتری های بی هوازی مربوط به جنس باکتروئید، پورفایرومونواس ، پروتلا و نیز گونه هایی از باکتری های کاپنوفیل مانند *اکتینوباسیلوس مایسیتم کومیتانس، ایکنلاکوروردنس و کاپنوسایتوفاگا* می دانند. پژوهشگران از گروه دوم، گونه های پورفایرومونواس ژنژیوالیس، پروتلا اینترمدیوس و اکتینوباسیلوس اکتینومایسیتم کومیتانس را عامل اصلی بروز عفونت پریودونتال معرفی می کنند. اگرچه باکتری ها در بروز عفونت پریودونتال نقش دارند لیکن نقش عوامل دیگری مانند ضعف سیستم دفاعی بدن، مصـــرف دخانیات، افـــزایش سن ، هورمون های گوناگون، اختلالات ژنتیکی و بیماری های سیستمیک از جمله دیابت را نمی توان نادیده گرفت.

گزارش می شود که اغلب افراد جامعه در طول عمر خود حداقل یک بار به عفونت پریودونتال مبتلا شده ، که نسبت مردان به زنان و افراد بی سواد به باسواد بالاتر است و نیز تقریباً ۹۷ درصد موارد از دست دادن دندان را مرتبط با پوسیدگی دندان و یا عفونت پریودونتال مطرح می نمایند به هرحال باتوجه به نوع عفونت که اغلب به صورت مشارکت [1] چند باکتری پریودونتـــوپاتوژن می باشد، شناخت این نوع باکتری ها و نیز آشنایی با مقاومت دارویی آنها نحوه درمان و نیز انتخاب آنتی بـــیوتیـــک مناسب را علاوه بر روش های متداول و موسوم مشخص می نمایند (۲۲،۱۹،۱۸،۱۳،۸،۱).

نمونه گیری و روش بررسی

دراین مطالعه از بیماران مبتلا به پریودونتیت مراجعه کننده به بخش پریودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران طی سال ۱۳۷۳ با رعایت موارد ذیل ۲۰۶ نمونه تهیه شد: ۱) بر اساس خصوصیات مطرح شده توسط اشلوگر بیماران مبتلا به پریودونتیت بودند. ۲) برای بیماران فاقد درمان بصورت جرم گیری فوق لثه انجام شده بود. ۳) طی دو ماه گذشته آنتی بیوتیک مصـــرف نـــکرده بـــودند. ۴) بیماران فاقد بیماری سیستمیک بوده، خانم ها باردار نبودند. ۵) درموضع نمونه گیری پلاک و کالکولوس موجود بود. ۶) بیماری در فاز اکتیو بوده

1- Mix infection

و علایم التهاب در لثه دیده می شد.

چون هدف این مطالعه مقایسه افراد بیمار و سالم بوده است، ۱۴۵ نمونه نیز طبق خصوصیات ذیل بعنوان گروه شاهد تهیه گردید:

۱) دوماه قبل از نمونه گیری آنتی بیوتیک و نیز داروهای ایمنوساپرس استفاده نکرده بودند. ۲) فاقد علایم کلینیکی بیماری ژنژیویت بودند. ۳) عمق پاکت کمتر از ۲ میلی متر بود. ۴) بیماری سیستمیک نداشته خانم ها باردار نبودند.

جهت نمونه گیری از هر بیماری پاکت های با عمق ۵ میلی متر یا بیشتر که هنگام پروب کردن خونریزی داشتند را برای نمونه گیری انتخاب نموده، پس از اینکه توسط گاز استریل و رل پنبه ای کاملاً دندان مورد نظر را جدا نموده، توسط یک کروت استریل ، پلاک سوپراژنژیوال را از روی سطح دندان بطور کامل برداشته، سپس یک کروت استریل را وارد پلاک کرده، در عمق ۵ میلی متر و یا بیشتر قرار داده شد. پس از اینکه کروت با سطح دندان کاملاً آداپته شد، کروت را روی سطح دندان با فشار ملایم حرکت اپیکوکورنال داده، تا پلاک زیر لثه بدست آید. کورت را داخل ۲ میلی لیتر محیط ترانسپورت [1] برده، آن را خوب تکان داده تا پلاک کاملاً حل شد. سپس محیط ترانسپورت فوق را بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. لازم به ذکر است که دراین مطالعه ۱۴۵ نمونه از افراد سالم (گروه شاهد) را نیز به روش فوق تهیه نموده ، کلیه نمونه های بیمار و شاهد از طبق شرایط ذیل کشت شد(۱۴،۱۱،۱۰).

بی هوازی : نمونه را روی محیط اختصاصی [2] باکتری های بی هوازی کشت نموده و حداقل به مدت ۴۸ ساعت در شرایط بی هوازی و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس با مطالعه خصـــوصیـــات باکتـــری و کلنی آنها و نیز انجام تست های بیوشیمیایی مخصوص باکتری های بی هوازی مانند مقاومت به صفرا، تولید اندول ، هیدرولیزاسکولین، تخمیر قندها و نیز استفاده از دیسک های آنتی بیوتیک ، باکتری ها مورد شناسایی قرار گرفتند (۲۱،۲۰،۵،۲).

کاپنوفیل : نمونه ها را روی محیط های اختصاصی *اکتینوباسیلوس اکتینومایسیتم کومیتانس* [3]، *کاپنوسایتوفاگا*[4]، *ایکنلاکوروردنس* [5] و نیزمحیط های دیگر [6] کشت داده، سپس در شرایط وجود ۵ درصدی اکسیدکربن و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد حداقل به مدت ۳ روز انکوبه شد. با درنظر گرفتن خصوصیات کلنی و باکتری و نیز انجام تست های گوناگون مانند کاتالاز، اکسیداز، اوره، تخمیر قندها ، احیاء نیترات و هیدرولیزاسکولین، باکتری های مذکور مورد شناسایی قرار گرفتند (۱۷،۹،۲).

1- Thioglycolate broth
2- Brucella agar+Hemin+Vitamin K1+blood
3- Tryptic soy agar+ bacitracin+Vancomycin
4- Tryptic soy blood agar+ bacitracin+polymyxin B
5- Tryptic soy blood agar+ Clindamycin
6- Chocolate agar and blood agar

هوازی ، کلیه نمونه ها را علاوه بر محیط های فوق الذکر روی بلادآگار و اندوآگار کشت داده، آنها را به مدت ۲۴ ساعت در شرایط هوازی و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه کرد(۲).

یافته ها

دراین مطالعه ۲۰۶ نمونه بیماران (۸۹ مرد، ۱۱۷ زن) مبتلا به پریودونتیت و ۱۴۵ نمونه افراد سالم (۵۴ مرد، ۹۱ زن) را بعنوان گروه شاهد تهیه نمودیم. سپس نمونه ها را توسط محیط ترانسپورت به آزمایشگاه باکتریولوژی دانشکده بهداشت منتقل نموده و مورد بررسی قرار داده شد. نتایج بدست آمده حاکی از آن است که طیف گسترده ای از باکتری های بی هوازی و کاپنوفیل از نمونه های مورد مطالعه جدا گردید. با استفاده از آزمون کای دو (X^2) مشخص گردید که فراوانی باکتری های ذیل در دو گروه بیمار و شاهد (بااحتساب درجه آزادی یک واحتمال اشتباهی نزدیک صفر درصد P=0) دارای اختلافی معنی دار می باشد (شترنگ و نمودار یک). ضمناً متذکر می شود که از اکثر بیماران بیش از یک نوع باکتری جدا شده، (شترنگ ۲) و کشت هوازی نمونه ها نیز فاقد باکتری های بیماری زای هوازی و یا هوازی - بی هوازی پریودونتوپاتوژن بود.

کنترل و بهره گیری پایانی

براساس نتایج بدست آمده و گزارش های متعددی دراین زمینه می توان نقش تعدادی از باکتری های بی هوازی و نیز کاپنوفیل را در بروز بیماری های پریودونتیت مسلم دانست. البته فاکتورهای دیگری مانند عدم رعایت بهداشت دهان و دندان، ضعف سیستم ایمنی بدن، مصرف دخانیات، افزایش سن، نقش هورمون های مختلف، اختلالات ژنتیکی و بیماری های سیستمیک از جمله دیابت را بعنوان زمینه ساز عفونت می توان نام برد.

دراین مطالعه از نمونه بیماران و گروه کنترل باکتری های متعددی جدا شده است. لیکن اختلاف فراوانی تعدادی از این باکتری ها مانند *اکتینوباسیلوس اکتینومایستم کومیتانس* ، *کاپنوسایتوفاگا، ایکنلاکوروردنس، پورفایروموناس ژنژیوالیس ، پروتلاانترمدیوس* و *پروتلاملانینوژنیکوس* بارز و مشخص است (شترنگ ونمودار ۱).

نتایج بدست آمده دراین پژوهش از نظرنوع ، فراوانی واختلاف فراوانی باکتری های جدا شده در بیماران و گروه شاهد با گزارش تعدادی از محققین تا حدودی مطابقت داشته و گویای این مطلب است که شاید بتوان باکتری های فوق الذکر را باتوجه به موارد ذیل بعنوان پریودونتوپاتوژن مطرح نمود (۲۰،۱۴،۶،۴،۳).

۱- با وجود آن که اغلب محققین باکتری های *اکتینوباسیلوس اکتینومایستم کومیتانس*، *ایکنلاکوروردنس، کاپنوسایتوفاگا، پورفایروموناس ژنژیوالیس ، پروتلاانترمدیوس* و *پروتلاملانینوژنیکوس* را بعنوان پریودونتوپاتوژن مطرح نموده اند. لیکن فاکتورهای زمینه ساز و

مشارکت این گروه باکتری ها (Mix infection) را در بروز عفونت نمی توان نادیده گرفت (شترنگ ۲).

۲- تفاوت فراوانی باکتری های پریودونتوپاتوژن در گروه بیمار و شاهد و نیز عدم حضور بعضی از این باکتری ها در گزارش ها، مؤید این مطلب می باشد که با توجه به وضعیت اقتصادی، بهداشتی، آداب و سنن مردم در جوامع مختلف، طیف باکتری های مذکور و نیز فراوانی آنها ممکن است متفاوت باشد. اگرچه دراین رابطه نمی توان تجربه پرسنل آزمایشگاه باکتریولوژی و نیز وجود امکانات، مواد و لوازم مورد نیاز در تحقیق و تشخیص این گروه باکتری ها را نادیده گرفت (۲۰،۱۸،۱۶،۱۵،۱۲،۷،۳).

به هرحال براساس نتایج این بررسی و دیگر نتایج به عمل آمده، عامل اصلی بیماری پریودونتیت را تعدادی از باکتری های پریودونتوپاتوژن بی هوازی و کاپنوفیل معرفی می نمایند که اغلب بصورت مشارکت چند باکتری می باشد. ازنظر پیشگیری رعایت موازین بهداشتی مخصوصاً بهداشت دهان و دندان و در امر درمان علاوه بر روش های متداول، تجویز آنتی بیوتیک های موثر بر این گروه که بصورت ژل نیز آماده شده، مورد توجه است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از بخش باکتریولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ، جناب آقای دکتر کیومرث قاضی سعیدی و خانم ها ربابه حافظی ، نسرین ایرانپرست و همکاران بخش پریودونتیکس دانشکده دندانپزشکی و نیز مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی یزد وابسته به این دانشگاه صمیمانه تشکر می نماید.

شترنگ ۱ - توزیع فراوانی باکتری های جدا شده از نمونه بیماران مبتلا به پریودونتیت و گروه شاهد

باکتری		بیمار n = ۲۰۶	شاهد n = ۱۴۵	Pval
گروه ، جنس	گونه			
باکتری های بی هوازی:				
پورفایرومونادس	ژنژیوالیس	(۳۵) ۷۲	(۱۱) ۱۶	۰,۰۰۰
پروتلا	اینترمدیوس	(۲۵/۷) ۵۳	(۷/۶) ۱۱	۰,۰۰۰
	ملانینوژنیکوس	(۱۳/۶) ۲۸	(۳/۴) ۵	۰,۰۰۱
	اوریس	(۶/۳) ۱۳	(۸/۳) ۱۲	۰/۴۶۴
	اورالیس	(۲/۹) ۶	(۴/۸) ۷	۰/۵۵۴
	بوکا	(۱/۵) ۳	(۲/۸) ۴	۰/۳۳۰
فوزوباکتریوم	نوکلئاتوم	(۱۷/۵) ۳۶	(۸/۳) ۱۲	۰/۰۲۰
	موردتیفروم	(۴/۴) ۹	(۴/۸) ۷	۰/۸۵۶
	نکروفروم	(۲/۹) ۶	(۲) ۳	۰/۳۲۰
	پریودونتیکوم	۰	(۰/۷) ۱	۰/۲۲۶
ولئلا	رکتا	(۸/۷) ۱۸	(۶/۲) ۹	۰/۳۷۷
پپتواستربتوکوکوس		(۱۶/۵) ۳۴	(۸/۳) ۱۲	۰/۰۲۴
اکتینوباکتریوم		(۴/۴) ۹	(۸/۳) ۱۲	۰/۱۴۳
میکوپلاسما		(۴/۴) ۹	(۳/۴) ۵	۰/۶۴۷
باکتری های کاپنوفیل:				
اکتینوباسیلوس		(۳۶/۹) ۷۶	(۴/۱) ۶	۰,۰۰۰
اکتینومایسیتم کومیتانس				
ایکنلا	کورودنس	(۳۴/۵) ۷۱	(۱۰/۳) ۱۵	۰,۰۰۰
کاپنوسایتوفاگا		(۴۷/۶) ۹۸	(۱۵/۹) ۲۳	۰,۰۰۰

شترنگ ۲ - توزیع فراوانی نمونه بیماران مبتلا به پریودونتیت برحسب نوع و تعداد گونه باکتری در نمونه

باکتری		تعداد گونه باکتری در نمونه				
گروه و جنس	گونه	یک	دو	سه	چهار	جمع
باکتری های بی هوازی :						
پورفایرومونادس	ژنژیوالیس	۴	۳۳	۲۷	۸	۷۲
پروتلا	اینترمدیوس	۲۰	۱۷	۱۲	۴	۵۳
	ملانینوژنیکوس	۱۲	۳	۶	۷	۲۸
	اوریس	۳	۳	۶	۱	۱۳
	اورالیس	۱	۵	۳	۰	۶
	بوکا	۱	۱	۱	۰	۳
فوزوباکتریوم	نوکلئاتوم	۱۲	۹	۱۱	۴	۳۶
	موردتیفروم	۰	۵	۲	۲	۹
	نکروفروم	۱	۱	۴	۰	۶
	پریودونتیکوم	۰	۰	۰	۰	۰
ولئلا	رکتا	۴	۷	۵	۲	۱۸
پپتواستربتوکوکوس		۸	۱۶	۷	۳	۳۴
اکتینوباکتریوم		۶	۱	۲	۰	۹
میکوپلاسما		۲	۵	۲	۰	۹
باکتری های کاپنوفیل :						
اکتینوباسیلوس		۹	۴۳	۲۴	۰	۷۶
اکتینومایسیتم کومیتانس						
ایکنلا	کورودنس	۱۳	۳۷	۲۱	۰	۷۱
کاپنوسایتوفاگا		۱۱	۴۷	۴۰	۰	۹۸

نمودار ۱ - توزیع فراوانی باکتری های جدا شده از نمونه بیماران مبتلا به عفونت پریودنتیت و گروه شاهد

کتابنامه

1- Artel, H. et al. (1990): *Capnocytophaga* infections. Ann. Biol. Clin. Paris, **44**(4) : 373 - 379.

2- Baren , E.J. ; Finegold , S.M. (1990) : Diagnostic microbiology. 8th edition: 422- 427.

3- Chung, H.J. and et al. (1989): Actionbacillus actinomycetem comitans serotypes and leukotoxicity in korean LJP. J. Periodontal, **60**(9): 506-511.

4- Drake, C.W. ; Hunt , R.J. ; Beck , J.D. and Zamdon , J.J. (1993): The distribution and interrelationship of *Actinobacillus actinomy cetemcomitans* , *Porphyromonas gingivalis* , Prevotella intermedia and B.A.N.A. Scores among older adult, S.J. periodontal **64**: 89-94.

5- Dzink, J.L. et al. (1988): The predominat cultivable microbial active and inactive lesions of destructive periodontal disease. J. Clin. Periodontal, **15**: 316-323.

6- Ebersole , J.L. et al. (1991) : Serum antibody in *Actinobacillus actinomycetem comitans* infected patients with periodontal disease. Infection and Immunity, **59**(5): 1802.

7- Finegold , S.M. (1995): Anaerobic infections in humans. An Overview Anaerobe. **1**: 3-9.

8- Macfarlane , T.W. , Samaranayake , L.P. (1983) : Clinical Oral Microbiology. 1th edition. 7(31): 51-70.

9- Mashimo, P.A. et al. (1983): Selective recovery of oral *Capnocytophaga* (SPP) with sheep blood agar containing bacitracin and polymyxin B.J. Clin. Microbiol. **17**(2): 187-191.

10- Monder , R. ; Sacransky , S.S. (1981) : A selective medium for *Actionbacillus Actinomycetem* comitans and the incidance of the organism in juvenile periodontitis, J. of Periodontology. **52**: 593 - 598.

11- Moore , W.E.C. ; Holdeman , L.V.H. (1983): Bacteriology of moderate (chronic) periodontitis in mature adult humans infection and immunity, **42**: 510-515.

12- Moore, W.E.C.; Moore, L.V.H. (1994): The bacteria of periodontal disease. Periodontology 2000. **5**: 66-77.

13- Murray, P.R.; Kobayashi, G.S.; Pfaller, M.A.; Rosenthal, K.S. (1994): Medical Microbiology Mosby - Year book, Inc.

14- Naiming , H. et al. (1991) : Bacteriological study of juvenile periodontitis in china J. Periodont Res. **26**: 409 - 414.

15- Rodenburgr , J.P. et al. (1990) : Occurence of *B.gingivalis* , *B. intermedius* and *Actionbacillus Actionmycetem comitans* in severe periodontitis in relation to age and treatment history. J. Clin. periodontol. **17**(6): 392 - 399.

16- Savitt , E.D. ; Kent , R.L. (1991) : Distribution of *Actinobacillus Actinomycetem comitans* and *Porphyromonas gingivalis* by subject age. J. Periodontol. **62**: 490 - 494.

17- Slee , A.M.; Tanzer , J.M. (1978): Selective medium for isolation eikenella corrodens from periodontal Lesions. J. Clin. Microbiol. **8**(4): 459 - 462.

18- Slots, J. et al.(1982): The occurence of *Actinobacillus Actinomycetem comitans*. J. Clin. Microbiol. **15**(4): 606 - 609.

19- Suzuki, J.B. (1988): Diagnosi and classification of the periodontal disease. Periodontics. **32**(2): 195 - 216.

20- Syed, S.A. et al. (1979): Proportions of bacteroides *Asaccharofyticus* in the pocket plaques of untreated humans and beagle dogs with periodontitis. Washington D.C. American society for microbiology. abstract C(H) 25.

21- Tanner, A.; Bouldin, H. (1989): The microbiole of early periodontitis lesions in adults. J. Clin periodontal. **16**: 467-471.

22- Walter, J.; Loeschi. (1991): Role of anaerobic bacteria in periodontal disaese. Ann Otol Rhiol Lavingol.