

المؤتمر العالمي الثامن للإعجاز العلمي في القرآن والسنة

**الإعجاز العلمي للسنة النبوية في
أسرار مسواك عود الأراك وتأثيره على صحة
الفم ومناعة الخلايا البشرية**

د. مشاري بن فرج العتيبي

استشاري طب الأسنان

ماجستير ودكتورة من جامعة كارولينسكا الطبية بالسويد

مستشفى قوى الأمن الداخلي بمكة المكرمة

المملكة العربية السعودية

المحتويات

www.almoslih.net

فكرة البحث؛

لا أريد أن أنسب لنفسني بأنني كنت أول من فكر في البحث عن خفايا وأسرار استخدام السواك ، وذلك لكون هذا الأمر بديهي من حيث أنه من المؤكد أن هذه الفكرة تدور في خلد كل باحث مسلم غيور ، فتحن المسلمون عندما علمنا مدى الحرص الشديد من قبل النبي الأمي ، وسيّد هذه الأمة نبينا وحبينا محمد بن عبد الله صلوات الله وسلامه عليه ، في الحث على السواك ، وقد ورد ذلك في أغلب كتب الصحاح في العشرات من الأحاديث النبوية الشريفة. فالسواك بات سنة مؤكدة لتوارد الأقوال والأفعال من السنة النبوية المطهرة على اهمية استخدامة .

ولست مبالغوا ولا متشائما ان قلت أن العلم الحديث أتى والمسلمون لا يزالون يغفون في سبات عميق وخاصة فيما يتعلق بالبحث العلمي المحكم في الطب الحديث ، ان السياق يحتدم بين الأمم ونحن أمة القرآن خير أمة أخرجت للناس أحق من غيرنا بالتفوق ، فديننا حق ونبينا حق والمعجزات تأتي الواحدة تلو الأخرى مما يظهره لنا الطب الحديث ويكون قد سبق ذكره في الكتاب الكريم أو في السنة المطهرة قبل أكثر من ١٤٠٠ سنة . ولكن أين أبناء المسلمين البررة الذين يثبتون تلك الحقائق بالبحث العلمي الحديث والمحكم والذي يعتمد على اثبات الحقائق وعدم اعتماد النظريات المنقولة الى دليل علمي . من هنا بدأت الفكرة وكان لابد من أن أقوم بواجبي كباحث لكي أبرهن للمسلمين وغيرهم على أن ما أتى به هذا النبي الكريم صلى الله عليه وسلم هو الحق وبدأت أبحاثي العلمية الدقيقة التي تهدف الى اثبات الفوائد الطبية المؤكدة لاستخدام السواك وخاصة عود الأراك على صحة الفم والصحة العامة.

النصوص الشرعية المتعلقة بأهمية استخدام السواك ؛

صح عن أهل العلم أنه قد ذكر في السواك أكثر من مائة حديث صحيح . فلقد حث النبي صلى الله عليه وسلم على السواك والمواظبة على استخدامه وتأكيده هذه السنة في العديد من الأحاديث التي وردت في أغلب كتب الصحاح . فعلى سبيل المثال لا الحصر ، ورد في صحيح البخاري ومسلم والنسائي وابن ماجه وابن حبان . من طريق عبد الله بن يوسف قال أخبرنا مالك عن الأعرج عن أبي هريرة رضي الله عنه أن رسول الله صلى الله عليه وسلم قال: " لولا أن أشق على أمتي أو على الناس لأمرتهم بالسواك مع كل صلاة " وفي مسند أحمد " لولا أن أشق على أمتي لأمرتهم بالسواك مع الوضوء " ، وفي صحيح ابن حبان " لولا أن أشق على أمتي لأمرتهم بالسواك عند كل وضوء " . وفي رواية لأحمد عن تمام بن قثم ، وابويعلى من حديث العباس " لولا أن أشق على أمتي لفرضت عليهم السواك كما فرضت عليهم الوضوء " ، وعن عائشة رضي الله عنها قالت: " وما زال النبي صلى الله عليه وسلم يذكر السواك حتى خشيت أن ينزل فيه قرآن " .

وعن أبي امامة رضي الله عنه أن رسول الله صلى الله عليه وسلم قال : " تسوكوا فان السواك مطهرة للفم ، مرضاة للرب . ما جاءني جبريل إلا أوصاني بالسواك حتى لقد خشيت أن يفرض علي وعلى أمتي ولولا أنني أخاف

أن أشق على أمتي لفرضته عليهم واني لأستاك حتى خشيت أن أحضى مقدم فمي " رواه ابن ماجه . وعن أبي وائل حذيفة رضي الله عنه قال : " كان النبي صلى الله عليه وسلم اذا قام من الليل يشوص فاه بالسواك " رواه البخاري.

وفي رواية للطبراني عن أم سلمة رضي الله عنها قالت " قال رسول الله صلى الله عليه وسلم مازال جبريل يوصيني بالسواك حتى خفت على أضراسي " . (مجمع الزوائد)

وعن أنس رضي الله عنه أن رسول الله صلى الله عليه وسلم قال: " عليكم بالسواك فتمعم الشيء السواك، يذهب بالحضر، وينزع البلغم، ويجلو البصر، ويشد اللثة، ويذهب بالبخر، ويصلح المعدة، ويزيد في درجات الجنة، وتحمد الملائكة، ويرضي الرب، ويسخط الشيطان". رواه القاضي الخولاني في تاريخ داريا.

وعن ابن عباس رضي الله عنهما أن النبي صلى الله عليه وسلم قال: " في السواك عشر خصال: يطيب الفم، ويشد اللثة، ويذهب البلغم ويجلو البصر، ويذهب بالحضر، ويصلح المعدة، ويوافق السنة، ويفرح الملائكة، ويرضي الرب ويزيد في الحسنات " . ذكره الكحال ابن طرخام.

وقد روي عن الشافعي أنه قال: أحب السواك للصلاة عند كل حال تغير فيها الفم، نحو الاستيقاظ من النوم ، والأرم (الحمية أو الانقطاع عن الطعام لأي سبب من الأسباب) ، وكل ما يغير الفم. وقد ذكر أهل العلم أن السواك المندوب اليه هو المعروف عند العرب وفي عصر النبي صلى الله عليه وسلم، مثل الأراك والبشام.

المقدمة :

المساويك ، انتشارها، مصادرها، وطريقة تحضيرها :

تستخدم أعواد السواك التي تحضر من أنواع مختلفة وكثيرة من الأشجار والنباتات كعادة متبعة ومتوارثة لتنظيف الأسنان لدى الكثير من الناس في مناطق مختلفة من العالم وخاصة في آسيا وأفريقيا والشرق الأوسط وجنوب أمريكا (Elvin-Lewis, 1980). وهذه العادة ليست متبعة لكون الدين فقط يحث على ذلك ولكن لأسباب أخرى مثل سهولة الحصول على هذه الأعواد وقلة تكلفتها على المستخدمين وكذلك لبساطتها في ذاتها. ويجدر القول هنا بأن ننوه الى ما جاء في تقرير منظمة الصحة العالمية السنوي والذي يهتم بقواعد صحة الفم العامة ونظافة الأسنان، حيث انه في عدد عام (٢٠٠٠م) قد أقر بان أعواد السواك المختلفة تلعب دورا مهما وأساسيا في تحسين صحة ونظافة الفم، وأوصى بضرورة الأسراع في اجراء الأبحاث العلمية الخاصة لتبيان تأثير استخدام مثل هذه الأعواد على صحة الأسنان. (WHO, 2000).

ولقد أثبتت الأبحاث وجود ما لا يقل عن ١٨٢ نبتة أو شجرة مختلفة الفصائل والتي تستخدم أعوادها لتحضير

المسواك، من هذه الأشجار يوجد ما لا يقل عن ١٥٨ نبتة في قارة أفريقيا وحدها (Elvin-Lewis, ١٩٨٢). وأشهر هذه الأشجار على الإطلاق وأكثرها شيوعاً واستخداماً هي شجرة الأراك (*Salvadora persica*) والتي تتبع للفصيلة الأراكية.

وشجرة الأراك جغرافياً تنتشر بشكل واسع فهي شجيرة تنمو في الأماكن الحارة والاستوائية وتمتد من راسنان (الهند)، نيبال وماليزيا في الشرق وتجدها تنمو أيضاً في باكستان، إيران، العراق، المملكة العربية السعودية، ومن مصر إلى موريتانيا في الغرب، ومن شمال أفريقيا خلال السودان، إثيوبيا، أفريقيا الوسطى إلى جنوب شرق أفريقيا (Wu et al., ١٩٨٢, Khooory, ٢٠٠١).

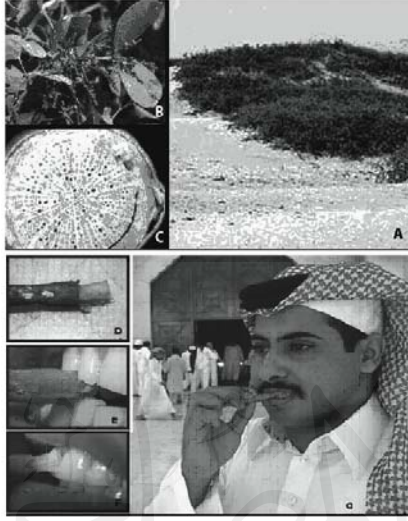
ولقد أكدت الأبحاث العلمية الميدانية الخاصة بالعناية بصحة الفم أن السواك يستخدم بشكل واسع وجلي بين العديد من المجتمعات في مناطق مختلفة من العالم، فعلى سبيل المثال لا الحصر أكدت الدراسات أن حوالي ٩٠٪ من النيجيريين، وسكان المناطق الريفية في تنزانيا وزنجبار يستخدمون السواك. وكذلك حوالي ٥٠٪ من السعوديين. و ٦٥٪ من الهنود، وأكثر من ٥٠٪ من الباكستانيين. (Elvin-Lewis, 1980b, Norton & Addy, 1989, Petersen & Mzee, 1998, Guile et al. 1996, Boghani, 1978, Asadi & Asadi, 1997).

التركيب الكيميائي لسواك شجرة الأراك (*Salvadora persica*):

كانت أعواد السواك تعتبر وسيلة تنظيف محلية اعتاد الناس عليها وكان يعتقد أن تأثيرها يكون بخاصية إزالة الرواسب ميكانيكياً لا غير، ولم يكن يُعتقد أنها يمكن أن تحتوي على مواد أخرى مفيدة. واستمر هذا الاعتقاد حتى قام بعض العلماء بدراسات مختلفة لهذه الأعواد وتم إعلان نتائج أبحاثهم في السنوات الأخيرة. ولقد أثبتت تلك الأبحاث أن أعواد السواك وأثناء استخدامها قد تفرز بعض المواد الكيميائية، وهذه المواد لها تأثيرات وخواص حيوية مثل المواد القاتلة للبكتيريا (Almas; ١٩٩٤, Eid and Selim, Elvin-Lewis, ١٩٨٠a, ١٩٩٩). وتشريحياً وجد أن عيدان الأراك مغطاة بطبقة فلينية، تليها طبقة قشرية ثم تأتي بعد ذلك الألياف الدقيقة الناعمة التي تتباعد وتتفرق عند دق نهايات العيدان ونقعها بالماء بعد إزالة الطبقة القشرية. وفي المركز أشعة مخية تفصل بين الألياف تحتوي خلاياها على بلورات السيليس والحمضات وحببيات النساء، يعتقد أنها من العناصر الفاعلة في السواك. هذه العناصر تتبدد بعد أيام من استعماله، لذا تقطع الألياف المستعملة كل بضعة أيام ويصنع من نهاية العود فرشاة جديدة وهكذا يتجدد السواك ولا تتراكم فيه الأوساخ (صلاح الحنفي، ١٩٦٢ & د. أبو حذيفة إبراهيم محمد، ١٩٨٧م).

ولقد قام الباحثون باستخلاص خلاصة المسواك ومن نباتات مختلفة، وثبت تأثير هذه الخلاصة على بعض الخصائص الوظيفية الفسيولوجية لعدد من أنواع البكتيريا الفموية والتي تعني بتسوسات الأسنان وهي البكتيريا السبحية (*Streptococcus mutans & Streptococcus sobrinus*). هذه

التأثيرات تتمثل في منع البكتيريا من إنتاج الأحماض الضارة، وإنتاج بعض الإنزيمات.
(Fadulu. 1975. Akpata & Akinrimisi. 1977. Wolinsky and Sote. 1983; Taiwo et al 1990).



الشكل رقم (١): الصور من A-C تظهر شجرة الأراك ومقطع غرضي لمسواك عود الأراك. أما الصور من D-F فإنها تظهر المسواك والكيفية الشائعة لاستخدامه، أما الصورة G فإنها تظهر شابا سعودي يستخدم المسواك أما باب احد المساجد المعروفة في مكة المكرمة.

وفي دراسات أخرى حللت أعواد الأراك كيميائيا فوجد أن التركيب الكيميائي لهذه الأعواد كالتالي:

١. مواد قلبية مثل السلفادويوريا (Salvadourea)
٢. الكلورايد، (Chloride)
٣. مادة السيستوستيرول (β -Sisto Sterol)
٤. تري ميثايل أمين (Trimethylamine)
٥. حمض اليانسون (m-ansinic acid)،
٦. السيليكا (Silica)،
٧. الكبريت (Sulfur)،

٨. فيتامين ج (Vitamin C) ،
٩. مادة الصابونين والعفص (التانين) ، (Tannin) ،
١٠. الفلافونيد (Flavonide) ،
١١. الجلايكوسايد (Glycoside) ،
١٢. ومواد لها علاقة بالخردل مثل السنيرجين (Sinnirgin) ،
١٣. مادة صمغية (Resin) .

وقد أوضح الباحثون أن خلاصة أعواد الأراك تحتوي على مواد مضادة للبكتيريا ومواد مضادة للالتهاب ومواد مخفضة للسكر. وأن هذه المواد لم تكن سامة حينما حقنت في الفئران بتركيز عالي جدا. ثم قام علماء آخرون باكتشاف وجود مادة جلوكتوتروباولين (Glucotropaeolin) ، وهذه المادة عضوية مركبة فيها مادة الكبريت ومادة السينانيد وحلقة بنزينية وهي تدعى بنزيل ايزوثايوسيانيات (Benzyl isothiocyanate) ، ويعتقد بأن وجودها هو سبب اللذعة النفاذة في جذور الأراك. وهذه المواد قاتلة للميكروبات الضارة الموجودة بالفم، وأكدت الأبحاث أيضا أن لهذه المادة قدرة على قتل الفيروسات والميكروبات من خلال قدرتها على تهيبط نموها ومنعها من إنتاج الأحماض القاتلة (Ezmirly & Seif-El-Nasr, ١٩٨١. Al-Bagieh et al, ١٩٩٤). ولقد أثبتت دراسات أخرى أن قدرة خلاصة أعواد الأراك على قتل الميكروبات الضارة تعود الى وجود كميات عالية من مواد الكبريت والكلور والكالسيوم فيها (Al-Bagieh et al, ١٩٩٤). ومن الدراسات أيضا تلك التي أرجأت قدرة المسواك على ازالة طبقات اللويحة السنية (Dental Plaque) أو بقايا الطعام اللصقة بميناء السن بدرجة مساوية أو تفوق ما تقوم به فرشاة ومعاجين الأسنان، والسبب يعود الى وجود مادة السيليكا في التركيب الكيميائي للمسواك وبكميات غير قليلة وهي مادة زالقة، تجرف تلك الطبقات اللاصقة وتزيلها (Almas & Al-La, ١٩٩٥).

وتجدر الإشارة هنا الى أن أحدث الأبحاث أكدت أن عنصر الفلورايد (Fluoride) والذي يعتبر من أهم المواد المساعدة في حماية الأسنان من التسوس، يكاد أن يكون غير موجود في تركيب أعواد الأراك، حيث ان نسبته تعتبر نسبة مهمة لا أثر لها (>٠,٠٧ Hattab) (١٩٩٧, µg/ml).

دراسات ميدانية حول استخدام المسواك وصحة الفم:

ومن الملفت للانتباه أن الدراسات الوبائية الميدانية قد أكدت أن الحاجة لمعالجة اللثة والأنسجة المحيطة بها تكون اقل عند مستخدمي أعواد المسواك عندما قورنو بأولئك الذين لا يستخدمون المسواك (Al-Khateeb et al, 1991). ومن جهة أخرى وجد أن فقدان الأسنان يكون بمستويات دنيا عند أولئك الذين يستأكون بأعواد

السواك في الكثير من الدول التي تمت الدراسة فيها (Elvin-Lewis et al., 1974). ولقد أثبتت الدراسات الجارية في كل من أثيوبيا وكينيا أن المسواك اذا ما استخدم بالطريقة الفعالة والصحيحة يكون قادرا على ازالة اللويحة السنية بصورة مساوية أو تفوق ما يتم ازالته بفرشاة الاسنان الحديثة (Danielsen, Olsson, 1978a, al et 1989). وفي دراسات أخرى أثبت العلماء أن أعواد السواك تمتلك كفاءة عالية في ازالة طبقات اللويحة السنية من على اسطح الأسنان وبالأخص الأجزاء بين السنية والتي يصعب الوصول اليها عادة، وتؤكد ذلك الأثر اذا ما استخدم السواك خمس مرات يوميا وكان ذلك بالمقارنة مع استخدام فرشاة الأسنان و كذلك تحسنت صحة اللثة بشكل ملحوظ (Hawkins et al., 1986; Gazi et al., 1990).

ومن الدراسات الميدانية تلك التي عملت على مجموعات من البدو الذين يعيشون في صحراء نيجيريا والتي أوضحت نتائجها أن تسوسات الأسنان وأمراض اللثة والأنسجة ما حول السنية المتقدمة كانت نادرة الحدوث في اولئك الذين يستخدمون أعواد السواك والتي تقل اعمارهم عن الخمسين سنة (Carl & Zambon, 1992). وفي المملكة العربية السعودية أكد الباحثون أنه لا يوجد فروقات مهمة بين مستخدمي المسواك ومستخدمي فرشاة الأسنان فيما يخص ازالة طبقة اللويحة السنية وصحة اللثة ونزيفها الدموي من خلال المقاييس المعترف بها عالميا (Eid et al., 1990a). أما في جمهورية السودان، فقد لاحظ عدد من الباحثين الذين قامو بدراسة صحة اللثة والانسجة العظمية المحيطة بالأسنان عند مستخدمي المسواك السودانيين بأنها كانت افضل مقارنة مع مستخدمي فرشاة الأسنان من قرائهم. وكذلك أكد باحثون آخرون أن نسبة التسوسات قليلة عند السودانيين المستخدمين للمسواك فضلا عن مستخدمي فرشاة الأسنان (Darout et al., 2000, Emsile, 1966). وفي كل من زمبابوي وزنجبار وغانا، قد أجريت العديد من الدراسات التي خلصت الى ملاحظة أن نسبة حدوث التسوسات وانتشارها تقل عند اولئك الذين يستخدمون أعواد السواك اذا ما تمت مقارنتهم مع من يستخدمون فرشاة الأسنان الحديثة (Sathananthan et al., 1996. Petersen & mzee, 1998; Elvin-Lewis et al., 1980).

أهمية نظافة الفم والأسنان:

من المعلوم في عالم الطب أن فم الجنين حديث الولادة يعتبر منطقة معقمة وخالية من البكتيريا ولكن بمجرد خروج هذا الجنين من رحم أمه تبدأ تتجمع فيه البكتيريا وفي خلال ٢٤ ساعة يكون هناك ١٤ نوع منها ترتفع الى ٢١ نوعاً في اليوم العاشر من عمر المولود. وتظهر هنا أهمية أن الفم بحكم موقعه في جسم الانسان هو المدخل الرئيسي للطعام و الشراب ، و باتصاله بالعالم الخارجي ، وبالجهازين الهضمي والتنفسي يصبح موطناً لكثير من الجراثيم (Ellen horn, 1997)، والتي نسميها " الزمرة الجرثومية الفموية " ومنها المكورات العنقودية والعقدية والرئوية، والعصيات اللبنية والعصيات الخنثاكة الكاذبة، والمتلويات الفوهية والفسنانية وهناك ايضا فطريات مثل فطر الكانديدا (المبيضة) وغيرها.

ورغم ذلك فإن هذه الملايين من كل نوع من البكتيريا والفطريات تعيش في افواهنا في سلام ودون أن تحدث لنا اي امراض الا فيما ندر وذلك بسبب ما جعله الله للانسان من اسباب الوقاية. وهذه الجراثيم دائماً ما تكون بحالة عابثة عند الشخص السليم ومتعايشة معه، لكنها تتقلب ممرضة مؤذية إذا تغيرت موازيتها داخل الفم، أو طرأ عليها ما يضعف مقاومة البدن (محمود النسيمي، ١٩٨٧ م). وخاصة إذا بقيت ضمن الفم، وبين الأسنان، فضلات الطعام والشرب.

فوجود بقايا الأطعمة وخاصة الكربوهيدرات منها يجعل الجراثيم تعمل على تفسخها وتخمرها، وتنشأ عنها روائح كريهة، وهذه المواد تؤدي الأسنان كذلك محدثة فيها النخور أو إلى تراكم الأملاح حول الأسنان محدثة فيها (القلح) أو إلى التهاب اللثة وتقيحها. كما يمكن لهذه الجراثيم أن تنتقل بعيداً في أرجاء البدن محدثة التهابات مختلفة كالتهاب المعدة أو الجيوب أو القصبات، وقد تحدث خراجات في مناطق مختلفة من الجسم (عبدالرزاق كيلاني، دمشق)، وقد تؤدي إلى انسمام الدم أو تجرثمه وما ينجم عن ذلك من أمراض حموية عامة.

وللعاب دور مهم في صحة الفم والاسنان، فاللعاب الراكد يحتوي على أملاح بصورة مركزة، فإذا وجد سطحاً بعيداً عن حركات التنظيف كحركة اللسان أو السواك، فإن هذه الأملاح تترسب، وخاصة في الشق اللثوي، وفي عنق الأسنان، مكونة غشاوة رقيقة جداً تتكثف شيئاً فشيئاً مكونة ما يسمى باللويحات السنية.

تشریح اللثة وأمراضها:

تتكون اللثة من نسيج ليفي مغطى بغشاء مخاطي يشبه في تركيبه بشرة الجلد ولكنها اخف مما هو موجود في الجلد في معظم مواقع اللثة. وتغطي اللثة العظم السنخي وجذور الأسنان وأعناقها. ومن أهم مناطق اللثة هو ما يسمى بالميزاب اللثوي وهو الشق الصغير الذي يوجد بين اللثة والجزء العنقي لتاج السن، وعمقه في الاحوال الطبيعية حوالي نصف الى مليمتر واحد فقط. وبما ان اللويحة السنية تترسب في هذا الميزاب اللثوي فان هذا الشق يعتبر المصدر الأول لتكون القلح (Calculus) ولنمو البكتيريا المختلفة اذا لم يتم تنظيفه وازالة اللويحة منه بشكل منتظم. ولهذا فإن كثرة التسوك وتعدد اوقاته في اليوم الواحد يعتبر وسيلة صحية ويضمن تجنب التهاب اللثة والتهاب محيط السن ولهذا وصف الرسول صلى الله عليه وسلم بأنه يذهب بالحفر.

المجتمع البكتيري في الميزاب اللثوي:

تستوطن البكتيريا المرتبطة بأمراض اللثة والعظم السنخي المحيط بالأسنان في شكل تجمعات بكتيرية تحت وفوق الشق اللثوي او الميزاب اللثوي. ولقد أثبتت الأبحاث العلمية الحديثة ارتباط بعض فئات بكتيريا اللويحة السنية بالأمراض اللثوية الفتاكة (Socransky & haffajee، ٢٠٠٢، Van der Weijden et al.،

(١٩٩٤). ومن الأمثلة على تلك البكتيريا الأتي: أكتينو باسيلاس اكتينوماسيتيمكوميتانس (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*) ، والتي يتم اختصارها لطول اسمها بذكر اول حرف من كل جزء (A.a) ، وبورفيروموناس جينجيفاليس (*Porphyromonas gingivalis*) ، و بريفوتيللا انتيرميديا (*Prevotella intermedia*) ، و تريبونيم دنتيكولا (*Treponema denticola*) .

ولقد أكدت العديد من الدراسات أن البكتيريا المسماة أكتينو باسيلاس اكتينوماسيتيمكوميتانس (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*) تعتبر هي السبب الرئيسي والمهم لاصابة الناس بأحد اكثر الأمراض شراسة والذي يصيب اللثة وأمراض العظم المحيط بالسن ويسبب تدميرها (Mandell et al. ، ١٩٨٧ ، Slots & Ting ، ١٩٩٩ ، Rodenburg et al ، ١٩٩٠) .

كان اول تعرف للعالم ببكتيريا الأكتينو باسيلاس اكتينوماسيتيمكوميتانس (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*) هو في العام الميلادي ١٩١٢ ومن ثم تم اعتبارها ضمن عائلة البكتيريا الضموية المسالمة عام ١٩٥٠م (Henderson et al. ، ٢٠٠٢) . وسوف نرى في القادم من البحث علاقة هذه النوع من البكتيريا بصحة الفم والأسنان ووبالطريقة المستخدمة في نظافة الفم .

طرق ومنهجية البحث :

• لقد قمت ولله الحمد في هذا البحث باتخاذ منهج بحثي متشدد وبالغ الصعوبة وذلك اتباعا لقواعد البحوث العلمية الحديثة والتي يتم فيها التحكم قدر المستطاع بجميع الظروف المحيطة بعناصر البحث لكي نستطيع الحصول على نتائج دقيقة واقرب الى الحقيقة وبعيدا عن العشوائية واحتمالات الصدفة. البحث كان عبارة عن دراسة طبية اكلينيكية تم اتخاذ العينة المستهدفة فيها بشكل عشوائي ولا يعتمد على الانتقائية لكي نقرب من تمثّل المجتمع ككل. فالبحث كان دراسة طولية بمعنى انه يتم متابعة الهدف فيها في اكثر من مرحلة وفي اوقات متتابعة ومدروسة ولأسباب مخطط لها مسبقا. ولحرصنا على زيادة قوة هذه الدراسة تم جعل احد طرفيها - وهو الشخص الذي يأخذ القياسات والعينات من المشتركين - ، تم جعله أعمى من طرف واحد (*Single blind*) وهذا المصطلح الاحصائي يكثر استخدامة في الأبحاث الطبية والصيدلانية، بمعنى انه على جميع المراحل لا يعلم هل العينات المدروسة تقع في اي جهة من البحث وهذا لكي نتأكد من أن قراءاته المتتابعة لن تتأثر بمعرفة المسبقة بالمشاركين وفي اي اتجاه يقعون. وكذلك تم التخطيط لهذه الدراسة بأن تحتوي على ما يسمى بطريقة التعاقب (*Cross-over*) ، وهذا المصطلح البحثي يعني ان اي شخص مشترك في هذه العينة والذي كان يستخدم وسيلة معينة في بداية البحث هو نفسه سوف يستخدم الوسيلة الاخرى مباشرة ولنفس المدة السابقة. وتكمن اهمية ذلك بأنه سوف يبين مدى حقيقة النتائج المستوحاة من البحث لان الاشخاص هم نفسهم الذين يستخدمون كلا الوسيلتين وليسوا اشخاص اخرين ولكنهم قاموا بذلك في اوقات مختلفة ومحددة مسبقا وسوف يتم شرح ذلك لاحقا بالتفصيل.

• البحث تم تقسيمه الى جزئين متلاحقين الجزء الاول كان عبارة عن دراسة او تجربة اكلينيكية والجزء الاخر كان عبارة عن دراسة مخبرية.

الدراسة الاكلينيكية:

هي عبارة عن دراسة طبية تم اقامتها في احدى المستشفيات الحكومية بالعاصمة المقدسة مكة المكرمة بالملكة العربية السعودية. وتم اخذ العينة المستهدفة في البحث من البالغين الرجال الذين تتراوح اعمارهم من ٢١-٣٦ سنة وذلك بشكل علمي غير انتقائي، وهؤلاء المشتركين جميعهم مراجعون اعتياديون لمركز الأسنان بمستشفى النور التخصصي بمكة المكرمة. ولقد قام الطبيب المختص بشرح الدراسة على جميع المشتركين والتأكد من رغبتهم في المشاركة وتم اخبارهم بوضوح عن امكانية انسحابهم من البحث في اي وقت يشاؤون وبدون ان يؤثر ذلك على سير مراحل علاجهم في المركز. وتتم مقابلة المشتركين وسؤالهم بعض الأسئلة الخاصة بصحة الفم والأسنان وهل يستعملون فرشاة الأسنان او المسواك او كلاهما معاً. يتم التأكد اولاً من انطباق الخصائص المطلوب تواجدها في المشاركين والمعده مسبقاً ومن ذلك وجود عدد معين من الاسنان لا يقل عن ٢٤ سنناً حتى يتم قبولهم في المشاركة، وكذلك يجب ان يكون المشاركون مستعملين لكلا الوسيلتين فرشاة الاسنان والمسواك حتى يتم قبوله في البحث، ويجب ان تكون الصحة العامة للمشارك جيدة. وتم اشتراط ان يكون جميع المشاركين متيمين بمعنى ان لا يوجد بينهم الأعرس (الذي يكتب بيده اليسرى)، ويجب ان نتأكد من عدم وجود بعض الاجهزة العلاجية في فم المشترك مثل اجهزة تقويم الأسنان وغيرها.

الخطة العامة للتجربة:

١. الدراسة كما ذكر سابقاً تعتبر مصممة بشكل يمنع تاثير الأخطاء الناتجة عن الصدفة وذلك بعملها طبقاً للتصميم التالي (Single, Blind, Randomized Crossover Design) وهذا التصميم البحثي الطبي يعتبر من أقدر الخطط البحثية وأكثرها دقة وصعوبة ، ونتائج مثل هذه الأبحاث عادة ما يكون لها احترام كبير لدى المختصين في هذا المجال. والشرح المبسط لهذه الخطة البحثية يتلخص في أن الدراسة عملت بشكل عشوائي (غير انتقائي) وذلك لزيادة احتمال امكانية ان تكون النتائج المستخلصة من البحث حقيقية وممثلة للمجتمع ككل وتكون نسبة الصدفة فيها ضئيلة او مهملة. وكذلك تم جعل احد اطراف البحث وهو الطبيب الذي يقوم باخذ القياسات، يقرأ المقاييس بشكل ما يسمى (اعمى) اي لا يعلم في اي اتجاه يعود الشخص الذي يقوم بقراءة قياساته، وذلك يقلل من درجة تأثر قراءات الطبيب بمعلوماته السابقة عن المشاركين، كأن يعلم بأن المشارك (س) كان يستعمل المسواك في الفترة السابقة وبذلك يكون هناك احتمال بأن قراءاته للقياسات المطلوبة سوف تتأثر نظراً لقناعاته المسبقة عن المسواك وتأثيره وكذلك الحال لفرشاة

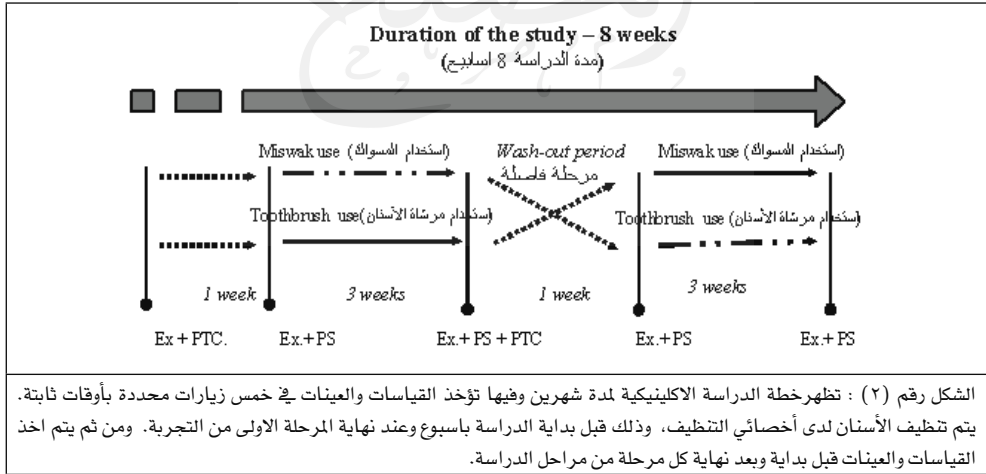
الأسنان. وأخيرا كون هذه الدراسة تتحول في منتصفها من مستعمل للمسواك الى مستعمل لفرشاة الأسنان او العكس وأن يقوم كل مشارك في هذا البحث بنفس العملية. وسوف اشرح للقارئ تفاصيل ومراحل التجربة في ما يلي وكما هو موضح في الخريطة المرسومة في الشكل رقم (٢):

١. في الأسبوع الذي يسبق بداية التجربة، يتعرض جميع المشتركين الى فحص طبي شامل للفم والأسنان، ويتم عمل جلسة تنظيف للأسنان عن طريق مختص تنظيف الأسنان. يتم اخبار جميع المشاركين عن الدراسة وضروفها وتفاصيل الوقت وعدد الزيارات ومن ثم يتم التوقيع من قبل المشتركين على نموذج الموافقة في الانخراط في الدراسة. يتم بعد ذلك تحديد العادة المتبعة في تنظيف الأسنان لدى جميع المشتركين وتقييمها في البيانات الخاصة بذلك، ثم يطلب من المشتركين الذهاب والعودة في الزيارة القادمة بعد اسبوع، ويتم اخبار المشاركين بمزاولة العادة التي كان معتادا عليها في تنظيف الأسنان خلال هذا الاسبوع وله الحرية المطلقة في ذلك.

٢. يأتي المراجع بعد اسبوع ومن هنا تبدأ الدراسة الفعلية. حيث يتم اخذ عينات من اللويحة السنية المنغمسة في الشق اللثوي وذلك باستخدام أعواد ورقية طبية معقمة مخصصة لهذا الأمر، وهذه العينات تؤخذ لعمل التحاليل المخبرية الخاصة بالحامض النووي الوراثي (DNA test) للبكتيريا الفموية المسببة لأمراض اللثة والعظم المحيط بالسن الشائخة في العالم. بعد ذلك يتم تسجيل مقدار التهابات اللثة وكميات اللويحة السنية بواسطة المقاييس العالمية المسجلة. ويتم ايضا أخذ صور رقمية للأسنان ومن مناطق مختلفة، بعد صبغ الأسنان بمادة خاصة تساعد على اظهار اللويحة السنية للطبيب المختص ومن ثم سوف يتم تحليل تلك الصور الرقمية بواسطة جهاز الحاسوب ومن خلال برنامج تحليلي علمي متخصص متقدم ودقيق جدا، كما هو مبين في الصورة التي في الشكل رقم (٢). بعد ذلك يتم تنبيه وتدريب المشاركين بأن يستخدم كل واحد منهم اما المسواك او فرشاة الأسنان وذلك لمدة ٢ أسابيع دون استخدام الوسيلة الأخرى. وتم توزيع ذلك على المشاركين بالقرعة كل حسب وقوعها عليه دون تدخل عامل الرغبة في ذلك سواء من الطبيب او المشارك.

وللتأكد من تثبيت أغلب العوامل المحيطة بالبحث فقد تم توحيد نوع وشكل فرشاة الأسنان المستخدمة عند جميع المشتركين وتم اختيار فرشاة الاسنان العادية والناعمة الألياف، المصنوعة من شركة (اورال بي) المعروفة. وتم ايضا توحيد اعواد الآراك (المسواك) المستخدم لجميع المشتركين، وذلك باعطاء كل مشترك عدد ٤ اعواد سواك متساوية الطول (٢٠ سم) ومتساوية العرض (٧ ملم) وتم حفظها في غلاف مخصص ووضعها في جهاز التبريد (فريزر) لحين استخدامها.

٣. بعد انقضاء الثلاثة أسابيع يتم احضار المشتركين ومن ثم يتم أخذ العينات واقرءات التي سبق أن عملت كما هو مذكور في الفقرة (٢). ولكن بعد انتهاء الطبيب من القراءات يتم عمل تنظيف للأسنان من قبل المتخصص نفسه الذي قام بهذه المهمة كما هو مبين في الفقرة (١). ويتم بعد ذلك اخبار المشارك بأن بإمكانه استخدام الوسيلة التي يريد وذلك خلال فترة اسبوع.
٤. بعد اسبوع واحد من نهاية المرحلة الأولى، يبدأ المشتركون يتواردون على العيادة الطبية المخصصة لاجراء القياسات واخذ العينات وذلك للقيام بنفس الاجراءات التي تمت في الفقرة (٢)، وهنا تبدأ المرحلة الثانية من التجربة. في هذه الزيارة لا يتم تنظيف الأسنان وذلك تحقيقاً لمبدأ تساوي الظروف التي كانت قائمة في بداية المرحلة الأولى. في هذه الأثناء يطلب من كل مشترك أن يبدأ باستعمال وسيلة التنظيف الأخرى التي لم يكن يستعملها في المرحلة الأولى، فمستخدم المسواك سابقاً يبدأ باستخدام فرشاة الأسنان والعكس صحيح. ويطلب من جميع المشتركين القيام بنفس العملية كما تم شرحها لهم مسبقاً لمدة ثلاثة اسابيع قادمة.
٥. في نهاية المرحلة الاختبارية الثانية، أي بعد نهاية الاسبوع الثالث، ياتي المشتركون مرة أخرى ويتم أخذ العينات المطلوبة وقراءة القياسات من جديد والتي سبق ذكرها في الفقرة (٢).



كيفية عمل الاختبارات الإكلينيكية على المشتركين؛

في الفقرة السابقة تم شرح خطة سير البحث بالتفصيل ولكن لم يتم شرح كيفية اجراء الاختبارات والقياسات التي تم عملها. وهنا سوف اقوم بالشرح المستفيض عن كيفية القيام بذلك.

أولاً يتم تسجيل مقدار ونسبة طبقات اللويحة السنية (Dental plaque) الملتصقة بأسطح الأسنان. ويتم أيضاً قياس وقراءة مستوى الالتهابات اللثوية (Gingival inflammation) وذلك باستخدام الطرق والموازين العلمية المعتمدة عالمياً. والموازين او المقاييس التي تم تطبيقها واستخدامها في هذه الدراسة كانت كالتالي : بالنسبة لقياس اللويحة السنية، تم استخدام المقياس المسمى (كويقلي هين انديكس) (Turesky modified Quigley-Hein Plaque Index). والذي كان اول ظهور له في عام ١٩٦٢م (Quigley & Hein, ١٩٦٢, Turesky et al, ١٩٧٠). أما بالنسبة لقياس الالتهابات اللثوية فقد تم استعمال ما يسمى (مقياس لوي و سيلنيس) (Gingival index) والذي بدأ العمل به عام ١٩٦٢م (Loe & Silness, ١٩٦٢). ولكي تتم القراءات بشكل مقنن ودقيق فلقد تم تدريب الطبيب المختص والمكلف بأخذ العينات والقياسات وذلك قبل البدء بالدراسة. ولقد تم ذلك في جامعة كارولينسكا الطبية بالسويد، وتم التأكد احصائياً من اتقانه لأخذ القراءات باستعمال الموازين السابق ذكرها بشكل دقيق. ولقد تمت اجراءات المطابقة لقراءاته المتعددة في اوقات مختلفة ووجد انه قد اتقن القيام بذلك العمل بشكل علمي حيث لم نجد هناك فروقات احصائية عند مقارنة قراءاته المختلفة والمتعددة اثناء فترة التدريب.

ثانياً تم أخذ الصور الفوتوغرافية الرقمية باستخدام الكاميرا الرقمية وذلك للأسطح الأمامية للأسنان داخل الفم ومن زوايا مختلفة لكافة المشتركين وذلك بعد صبغها بمادة الإريثروسين (Erythrosine) والتي تساعد في تلوين طبقات اللويحة السنية (البلاك) الملتصقة بأسطح الأسنان. ويتم تحليل هذه الصور اليكترونيا لتحديد النسبة المئوية لمساحة اسطح الأسنان التي تكسوها طبقات اللويحة السنية، ويكون ذلك باستخدام تقنية حديثة ومتقدمة تعتمد على جهاز الحاسوب وعلى استخدام برنامج رقمي متخصص لتحليل وقراءة الصور الرقمية يسمى أداة تحليل الصور (UTHSCSA Image Tool) كما هو مبين في الشكل رقم (٢). من خلال هذا البرنامج يتم قراءة الصور الرقمية التي تم أخذها لأسنان المشتركين بحيث يعمل هذا البرنامج بطريقة معينة ويقوم بحساب النسبة المئوية من أسطح الأسنان التي تكسوها طبقات اللويحة السنية وذلك عن طريق رسم احداثيات وحدود اللويحة السنية الظاهرة والملونة والملصقة بالأسنان، ومن ثم يتم القراءة اليكترونياً بقياس عدد جزيئات الصورة الرقمية (البيكسل) ويتم تحليلها وتحويلها حسابياً الى نسبة مئوية.

وهكذا نكون قد حسبنا بشكل دقيق جدا الكميات الموجودة من اللويحة السنية الملتصقة بأسطح الأسنان، وهنا يظهر الفرق بين القراءات عن طريق المقاييس المعتمدة سابقا والتي تعتمد بشكل رئيسي على كفاءة الطبيب في امكانية تطبيق المقاييس بشكل ثابت على كل القراءات وبين هذه الطريقة الحديثة والتي تقلل من درجة الفروقات بين القراءات المتتالية حيث لا يوجد مجال للخطأ البشري فيها، فالبرنامج

الحاسوبي هو الذي يقوم بذلك بشكل متقن. وهذا البحث يعتبر اول الأبحاث الطبية الذي استخدم هذه التقنية بهذا البرنامج.



الطرق المتبعة لتحليل وقراءة أعداد وأنواع البكتيريا المكونة للويحة السنية لدى المشتركين؛

من خلال المراحل الاكلينيكية للبحث تم أخذ العينات من اللويحة السنية لكل مشترك في أربع مناسبات في الزيارات الأربع المذكورة سابقا في شرح خطة البحث. ولقد تم اخذ العينات بنفس الطريقة وعن طريق طبيب مختص ثابت. حيث قام الطبيب بجمع العينات باستخدام أعواد طبية معقمة ومخصصة لذلك حتى يتم بعد جمع العينات ارسالها لاختبار الحمض النووي الوراثي (DNA) للبكتيريا الفموية المتواجدة في طبقات اللويحة السنية لكل مشترك وذلك قبل وبعد مرحلة استخدام اعواد الاراك وقبل وبعد استخدام مرحلة فرشاة الأسنان.

وتؤخذ تلك العينات من مواقع محددة لعدد من الأسنان في الفم تم تحديدها مسبقا وذلك لكل مشترك. وبعد ذلك تجمع العينات من كل مشترك في كل زيارة وتحفظ بعناية فائقة في حافظات بلاستيكية معقمة ومصنوعة خصيصا لحفظ مثل هذه العينات، ومن ثم يتم ارسالها الى قسم علم الميكروبات الفموية

في جامعة جوتنبرق بالسويد ليتم تحليلها باستخدام تقنية الحامض النووي الوراثة (DNA-DNA Technique) وهي تقنية حديثة جدا ولا توجد الا في عدد قليل من المختبرات الجامعية في العالم أجمع، ولكونها تقنية متقدمة فهي ايضا مكلفة بشكل كبير. هذه التكنولوجيا كان اول من قام بها وصدرها للعالم العالم سوكرانسكي ورفقاه (Socransky et al., 1994).

وفي هذا البحث العلمي تم تحديد انواع البكتيريا الفموية المراد عدّها وتحليلها باستخدام تقنية الحامض النووي الوراثة، وهذه الأنواع من البكتيريا تعتبر أشهر البكتيريا التي تتواجد في الشق اللثوي ومن مكونات اللويحة السنية في الفم ولمسببة لأمراض اللثة والعظم المحيط بها وهي ١٢ نوع مذكورة في الجدول رقم (١).

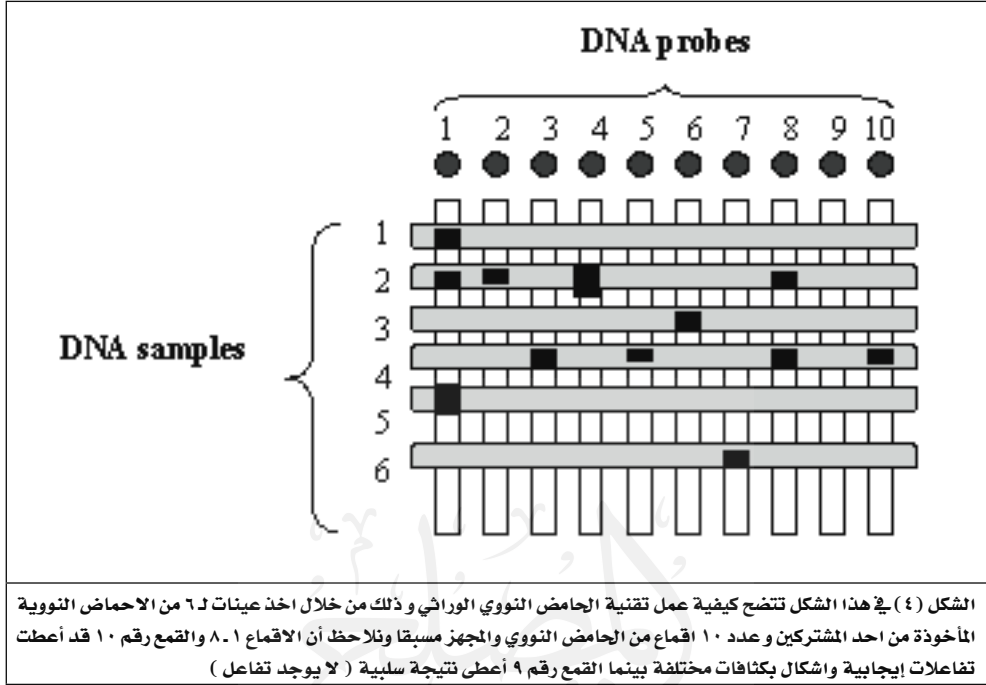
جدول رقم (١): انواع البكتيريا الفموية التي تم اختبارها بواسطة تقنية الحامض النووي الوراثة في العينات المأخوذة من كافة المشتركين في البحث.

Type of Bacteria
1- C. rectus
2- S. noxia
3- E. corrodens
4- P. gingivalis
5- F. nucleatum
6- Actinobacillus. Actinomycetemcomitans(A.a.)
7- T. denticola
8- T. forsythensis
9- S. intermedius
10- P. intermedia
11- P. nigrecens
12- P. micros

- تقنية عد وتحليل واختبار الحامض النووي الوراثي (Checkerboard DNA-DNA hybridization) :

في هذه التقنية يتم تحضير أقماغ الحامض النووي الوراثي للجينوم صناعياً بحيث يحتوي على انزيم يسمى الديجوكسين (Digoxinen-labeled)، وذلك باستخدام طقم تحضير عالي الحساسية تم صنعة في شركة المانية متخصصة.

والعملية تتم بعد أنواع البكتيريا التي تم اختيارها مسبقاً وذلك عن طريق وجود الحامض النووي الوراثي الخاص بها في العينات المأخوذة من المشتركين وذلك بعد مطابقتها وتفاعلها مع الأقماع المجهزة مسبقاً للأحماض النووية الوراثية الخاصة بنفس نوع البكتيريا. وتتم قراءة اعداد البكتيريا عن طريق الاشارات الناتجة عن تفاعل العينات المأخوذة من المشتركين مع الاقماع المشابهة لها المصنوعة مسبقاً والتي تتم مخبرياً بشكل معقد ولدى متخصص في هذه التقنية. الاشارات التي تظهر تعبر عن اشكال لها احجام مختلفة هذه الاشكال تم تصنيفها وتقسيمها في ميزان يحتوي على ٦ درجات من صفر الى خمسة. بحيث يكون كل رقم يعني وجود عدد تقريبي من البكتيريا المراد اختبارها. وتم تحديد حدّ ادنى للعدد الموجود من البكتيريا بحيث يكون = ١٠°، وتم تحديد حدّ اعلى للعدد الموجود من البكتيريا بحيث يكون = ١٠^٦. ومن ثم تم تقسيم المقياس كالتالي: صفر : يشير الى عدم وجود الاشارة نهائياً ، ١ : يشير الى وجود اشارة ضعيفة لكثافة عدد البكتيريا ولكنها اقل من الحد الأدنى (> ١٠°) ، ٢ : يشير الى وجود اشارة لكثافة البكتيريا الموجوده مساوية لما عليه الحد الأدنى من عدد البكتيريا (= ١٠°) ، ٣ : يشير الى وجود اشارة لكثافة البكتيريا الموجودة أعلى من الحد الأدنى من عدد البكتيريا ولكنها أقل من الحد الأعلى لعدد البكتيريا (< ١٠° ولكن > ١٠^٦) ، ٤ : يشير الى وجود اشارة لكثافة البكتيريا الموجودة مساوية لما عليه الحد الأعلى من عدد البكتيريا (= ١٠^٦) ، ٥ : يشير الى وجود اشارة لكثافة البكتيريا الموجودة أكثر من الحد الأعلى من عدد البكتيريا (< ١٠^٦). وتفاصيل هذه العملية تم شرحها في المراجع المتعلقة بهذا البحث (Papananou et al., ١٩٩٧). واستخدام تقنية الحامض النووي الوراثي تتم بمقارنة اعداد عينات الأحماض النووية الوراثية للبكتيريا والمأخوذة من المشتركين وتفاعلها مع عدد كبير من الأقماع المحضرة مسبقاً للأحماض النووية المشابهة لهذه البكتيريا، ويتم ذلك عن طريق ترشيح هذه العينات بوضعها على غلافين منفصلين وباستخدام بعض المحاليل يتم وضع هذه الشريحتين بشكل متعامد على بعضها البعض كما هو مبين في الشكل رقم (٤) ، ومن خلال عملية معقدة يتم التفاعل بين الاحماض النووية المتلازمة لنفس البكتيريا في الشريحتين وتظهر نتائج تلك التفاعلات على شكل دوائر سوداء قاتمة لها احجام مختلفة تتم قرائتها عن طريق الاشارات السابق شرحها.



الإختبارات والتجارب المخبرية (في العمل):

بعد جلب اعواد الاراك او مساويك ال (Salvadora Persica) الطازجة وحديثة القطع من المملكة العربية السعودية (مكة المكرمة) ، تم تصديرها وحفظها في وسط منخفض الحرارة لكي تحتفظ بمحتوياتها كما هي الى أن يحين وقت اختبارها في مختبر الميكروبات الفموية بقسم الأسنان بجامعة اوميو السويدية.

حتى يتم الحصول على مستخلص المسواك بشكل علمي تم وضع جزيئات المسواك (الاراك) في محلول خاص يسمى (RPMI-١٦٤٠) ومن ثم تم وضعه في جهاز مخصص يهتز بلطف وفي درجة حرارة الغرفة الطبيعية لمدة ساعة كاملة. ثم مررنا المستخلص عن طريق مرشح خاص يحتوي على فتحات صغيرة جدا يبلغ قطر كل فتحة اقل من ٤٥ مايكرومتر. وذلك ليكون المستخلص جاهزا للاستعمال في التجارب الخاصة بالتأثير على سموم البكتيريا القاتلة (A.a).

كيفية زراعة البكتيريا المراد دراستها بكتيريا الـ (A.a) وطريقة استخلاص السموم البكتيرية بها:

بعد ظهور النتائج الخاصة بالتجارب الاكلينيكية كان لا بد من ان نستمر في الابحاث الخاصة بتحديد قدرة تأثير عود الاراك على البكتيريا المسماة Actinobacillus. Actinomycetemcomitan وهنا سوف اشرح بشكل مبسط كيفية زراعة هذه البكتيريا في المختبر، حيث يتم زرعها في صحن خاص لزراعة البكتيريا (Blood agar)، ويتم وبعد نمو هذه البكتيريا يتم استخلاص السموم القاتلة لهذا النوع نبت البكتيريا من خلال العمل على الوصول الى خلايا هذه البكتيريا وبطريقة وبروتوكول علمي مخبري مستخدم عالميا تم شرحه في المراجع المذكورة (Johansson et al, 2006). حيث يتم نزع السموم من هذه الخلايا بعد ازالة الغلاف البروتيني الخارجي وذلك عن طريق معالجة هذه الخلايا بواسطة محاليل خاصة (100 mM NaCl)، ثم يتم استخلاص تلك السموم عن طريق محاليل اخرى مخصصة لذلك وباستخدام تقنية مخبرية معروفة تسمى الكروماتوجرافى (Chromatography). وفي الواقع هذه العملية تعتبر من الاختبارات الحساسة وتحتاج الى وجود المختص والخبير فيها مع ضرورة التركيز والمتابعة والحرص على التواجد بشكل مستمر في كل مراحل الاستخلاص المشار اليها في المرجع، وذلك في سبيل الحصول على تلك السموم البكتيرية وعمل تجاربنا الخاصة عليها.

طريقة تحضير الخلايا البشرية المناعية المسماة بالمونوسايت (Monocytes) (preparation):

لقد تم استخلاص الخلايا البشرية المناعية (المونوسايت) والمراد دراستها واختبار تأثير السموم البكتيرية المستخلصة من بكتيريا الـ (A.a)، وكذلك تأثير مستخلص المسواك (الاراك) على هذه الخلايا سواء في وجود السموم او في عدم وجودها. ويكون استخلاص هذه الخلايا البشرية عن طريق جلب عينة من الدم البشري من انسان صحيح عن طريق بنك الدم في مستشفى جامعة اوميو السويدية، ومن ثم تتم عملية مخبرية وطويلة للحصول على تلك الخلايا البشرية ومن خلال استخدام تقنية حديثة مفصل شرحها في المرجع المرافق (Kelk et al, 2002).

طريقة تحليل نشاط سموم بكتيريا الـ (A.a) على الخلايا البشرية المناعية (Monocytes):

بعد استخلاص كل من سموم بكتيريا الـ (A.a) واستخلاص الخلايا البشرية المناعية (Monocytes)، يتم دراسة تأثير السموم على تلك الخلايا وذلك بحيث يتم عمل ذلك اولا في غياب وجود مستخلص المسواك، ومن ثم في وجود مستخلص المسواك. وتتم هذه التجربة عن طريق زرع الخلايا البشرية المناعية في وسط خاص ومن ثم تعريضها الى سموم البكتيريا وقراءة تأثير هذه السموم بتقنية حديثة مجهرية تتم

بقراءة نشاطات وافرازات الانزيم المسمى لاكتيت ديهيدروجينيز (lactate dehydrogenase LDH) والذي يفرض عند موت الخلايا البشرية المناعية ويتم تحديد ذلك عن طريق استخدام الميكروسكوب (Johansson & kalfas, 1998).

كيفية قراءة مدى تأثير خلاصة مسواك عود الاراك على حياة بكتيريا الـ (A.a):

بعد زراعة البكتيريا (A.a) ، في وسط قابل للنمو ومن ثم غرس جزء من عود الاراك الحديث في منتصف هذا الوسط، فقد تم القيام بحث هذه البكتيريا على النمو بعد وضعها في ظروف خاصة تساعد على نموها ولمدة ٤٨ ساعة ودرجة حرارة ٣٧ درجة مئوية. بعد التأكد من نمو البكتيريا تم دراسة المنطقة المحيطة بقطعة مسواك عود الاراك المغروسة في منتصف الوسط، وتم تصوير المنطقة المحيطة بالمسواك والتي لم تستطع البكتيريا النمو في اتجاه عود الاراك وتم تحديد وقياس قطر تلك المسافة الخالية من البكتيريا وتصويرها بالكاميرا الرقمية كما هو موضح في الشكل رقم (٦).

نتائج البحث الاكلينيكية والمخبرية:

النتائج الاكلينيكية:

بعد تحليل القياسات والعيّنات التي تم اخذها في الدراسة الاكلينيكية والخاصة بمقارنة تأثير مسواك اعواد الاراك مع فرشاة الاسنان فيما يخص صحة اللثة والقدرة على ازالة طبقات اللويحة السنية المتواجدة في الشق اللثوي وعلى اسطح الاسنان فقد اظهرت النتائج التالي:

- القراءات التي تم عملها بالمقاييس الخاصة سواء لقياس كميات اللويحة السنية او درجة التهابات وصحة اللثة مبيّنة جميعها في الجداول رقم (٢ & ٣).
- بعد تحليل التغيرات الحاصلة في القراءات قبل وبعد كل مرحلة من مراحل التجربة (مرحلة المسواك او مرحلة فرشاة الاسنان) فقد وجد أن انخفاض معدلات ومستويات تواجد اللويحة السنية (Dental plaque) ، والتي كانت في مرحلة استخدام مسواك عود الاراك كانت أعلى مما وجد خلال مرحلة استخدام فرشاة الاسنان على العينة التي تمت دراستها من المجتمع. ولقد كان ذلك الانخفاض واضحاً ويفارق احصائي كبير لصالح مسواك عود الاراك ($p > 0,001$) كما هو مبين في الجدول رقم (٤).
- كذلك فيما يخص التغيرات التي حصلت في القراءات قبل وبعد كل مرحلة من مراحل التجربة (مرحلة المسواك او مرحلة فرشاة الاسنان) فقد وجد ان انخفاض معدلات ومستويات المقاييس الخاصة بصحة اللثة (Gingival inflamations) ، والتي كانت في مرحلة استعمال المسواك كانت تفوق ما وجد خلال

مرحلة استعمال فرشاة الأسنان على العينة التي تمت دراستها من المجتمع. ولقد كان ذلك الانخفاض واضحا وبفارق احصائي كبير لصالح مسواك عود الاراك ($p > 0,001$) كما هو مبين في الجدول رقم (٤).

جدول رقم (2): المتوسط لقراءات نسبة تواجد كميات اللويحة السنية والماخوذة قبل وبعد مرحلة استخدام مسواك عود الاراك ومرحلة استخدام فرشاة الاسنان وكل مرحلة مدتها 3 اسابيع.

Measurement	Mean (Standard Error)			
	Buccal	Lingual	Mesial	Distal
Baseline				
Miswak	2.89 (0.06)	3.17 (0.06)	4.84 (0.02)	4.72 (0.03)
Toothbrush	2.78 (0.06)	3.09 (0.05)	4.76 (0.03)	4.68 (0.04)
After 3 weeks				
Miswak	2.55 (0.05)	2.98 (0.06)	4.64 (0.05)	4.5 (0.05)
Toothbrush	2.78 (0.05)	3.15 (0.05)	4.75 (0.03)	4.66 (0.03)

جدول رقم (3): المتوسط لقراءات نسبة التهابات اللثة والماخوذة قبل وبعد مرحلة استخدام مسواك عود الاراك ومرحلة استخدام فرشاة الاسنان وكل مرحلة مدتها 3 اسابيع.

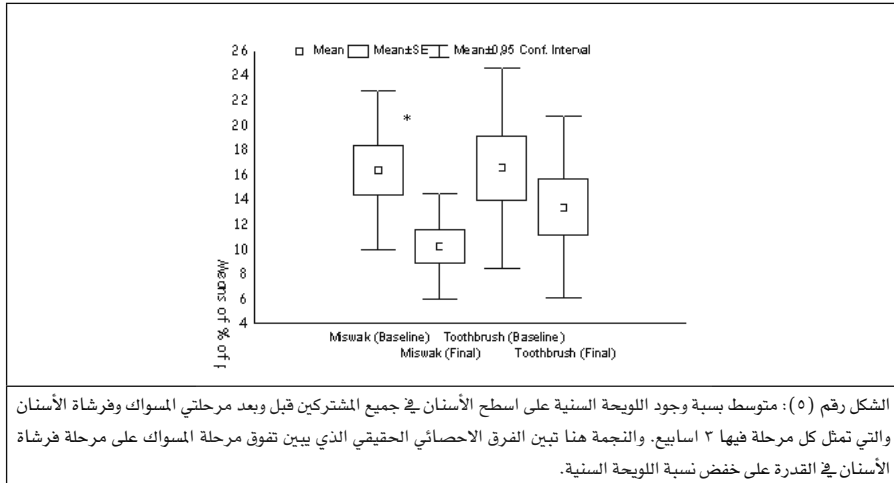
Measurement	Mean (Standard Error)			
	Buccal	Lingual	Mesial	Distal
Baseline				
Miswak	1.07 (0.02)	1.1 (0.02)	1.16 (0.02)	1.18 (0.02)
Toothbrush	0.96 (0.02)	1 (0.02)	1.01 (0.02)	1.06 (0.02)
After 3 weeks				
Miswak	0.99 (0.02)	1.03 (0.02)	1 (0.02)	1.06 (0.02)
Toothbrush	0.95 (0.02)	0.96 (0.02)	0.98 (0.02)	1.04 (0.02)

الجدول رقم (4): المتغيرات في متوسط القراءات الخاصة باللويحة السنية وبمقدار صحة اللثة كما تم قياسها وذلك بعد حسابها قبل وبعد نهاية كل مرحلة من مراحل التجربة (مرحلة المسواك ومرحلة فرشاة الاسنان).

الفرق في مرحلة المسواك (ΔM) والفرق في مرحلة فرشاة الاسنان (ΔB).

	(Miswak (M	(Toothbrush (B	ΔM versus ΔB
	ΔM	ΔB	*p-value
Plaque index			
Buccal	0.34	0	0.00001>
Lingual	0.19	-0.1	0.01>
Mesial	0.2	0.01	0.001>
Distal	0.22	0.02	0.001>
Gingival index			
Buccal	0.08	0.01	0.01>
Lingual	0.07	0.04	NS
Mesial	0.16	0.03	0.001>
Distal	0.12	0.02	0.00001>

نتائج تحليل الصور الرقمية التي تم أخذها للأسنان بعد صبغها بمادة ملونة لطبقات اللويحة السنية خلال التجارب الاكلينيكية وفي اربع مناسبات قبل وبعد كل مرحلة من مراحل التجربة أظهرت من خلال استخدام البرنامج التحليلي للصور (Image Tool) عن طريق الحاسوب. وكانت النتيجة أن معدلات نسبة وجود اللويحة السنية الملتصقة بأسطح الأسنان التي تم تصويرها قبل وبعد كل مرحلة كانت تبين أن الفارق في نسبة وجود اللويحة السنية (Dental plaque) قبل البدء في مرحلة استخدام المسواك وبعد نهايتها كانت أعلى مما كان عليه الحال في مرحلة فرشاة الأسنان. وكان ذلك الفارق تغيرا احصائيا حقيقيا ($P > 0,001$) كما هو مبين في الشكل رقم (٥).



نتائج الدراسة المخبرية:

لقد قمنا بدراسة تأثير استخدام مسواك عود الاراك وفرشاة الأسنان على عدد من انواع البكتيريا الفموية المتواجده ضمن اللويحة اللثوية بالشق اللثوي. وكما ذكر سابقا تم استخدام تقنية الحامض النووي الوراثة في بيان مدى تأثير استخدام مسواك عود الاراك على مستويات البكتيريا الفموية المتواجدة في الشق اللثوي وللمرة الاولى على مستوى العالم. وتم دراسة ١٢ نوعا من البكتيريا الفموية، تعتبر من اشهر انواع البكتيريا المؤثرة في صحة اللثة والعظم المحيط بالسن.

بعد تحليل العينات المأخوذة من اللويحة السنية للمشاركين في البحث للنظر في مدى وجود انواع البكتيريا ال ١٢ المراد دراستها وذلك باستخدام تقنية الحامض النووي الوراثة. لوحظ أنه بعد نهاية مرحلة استخدام المسواك كان المشاركون يحملون عدداً اقل من البكتيريا المسماة *Actino* *mycetemcomitan* *Actinobacillus* واختصارها (A.a) اذا ما قورن بالعدد قبل بداية هذه المرحلة. ووجد ان الفارق هنا يعتبر فارقا احصائيا حقيقيا ($P > 0.05$). بينما كان لا يوجد اي فارق حقيقي في العدد بين انواع البكتيريا ال ١١ المتبقية في كلا المرحلتين. وهذه النتيجة تؤكد ان استخدام اعواد المسواك تقلل من تواجد هذا النوع من البكتيريا الفموية (A.a) والذي يعتبر من اشرس انواع الميكروبات والسبب الرئيسي لعدد كبير من امراض اللثة والعظم المحيط بها. والجداول ٥ و ٦ تبين بالتفصيل الغيرات التي حدثت للأنواع الإثنا عشر من البكتيريا الفموية التي تم اختبارها.

الجدول رقم (٥): عدد المرات والأعداد التي ظهرت فيها ال ١٢ نوع من البكتيريا الفموية قبل وبعد مرحلة استعمال مسواك عود الاراك. كل رقم يعني أن العينة كانت ايجابية. والارقام من ١-٥ يشير الى المؤشرات التي سبق الاشارة اليها مسبقاً

1 = < 105 bacteria; 2 = 105 bacteria; 3 = >105 bacteria; 4 = 106 bacteria and 5 = > 106 bacteria.

Bacteria	Before miswak period(n=15)	After miswak period(n=15)	P-value
C. rectus	1	1 1	NS
S. noxia	1 1	1	NS
E. corrodens	1 1 1 1	1	NS
P. gingivalis	1 3	1 1 1 1	NS
F. nucleatum	1 1 1 1 1 2	3 1 1 1 1	NS
A. actinomycetemcomitans	1 1 1 1 2 2	1 1	< 0.05
T. denticola	1 1 1 1 1 1	2 2 1 1 1 1 1	NS
T. forsythensis	1 1 1 1 1 1 2 2	2 1 1 1 1 1 1	NS
S. intermedius	1 1 1 1 1 1 1 1 3	3 3 1 1 1 1	NS
P. intermedia	1 1 1 1 2 3 3 3 3	3 2 2 2 1 1 1 1 1 1 1	NS
P. nigrecens	1 1 1 2 2 2 2 3 3 3 3	3 3 3 3 2 2 2 2 1 1 1	NS
P. micros	1 2 2 2 2 3 3 3 3 3 3 3 3	3 3 3 3 3 3 3 2 2 1 1 1 1	NS
No. positive samples	15 10 5	5 10 15	

الجدول رقم (6): عدد المرات والأعداد التي ظهرت فيها ال 12 نوع من البكتيريا الفموية قبل وبعد مرحلة استعمال فرشاة الأسنان. كل رقم يعني أن العينة كانت ايجابية. والارقام من 1-5 يشير الى المؤشرات التي سبق الاشارة اليها مسبقاً

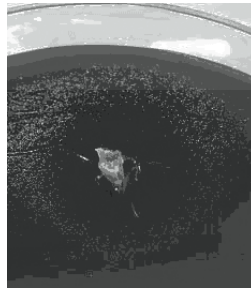
1 = < 105 bacteria; 2 = 105 bacteria; 3 = >105 bacteria; 4 = 106 bacteria and 5 = > 106 bacteria.

Bacteria	Before Toothbrush period(n=15)	After Toothbrush period(n=15)	P-value
C. rectus	1	1	NS
S. noxia	1	1	NS
E. corrodens	1 1 1 2	2 1	NS
P. gingivalis	1 1 1 2	2 1 1 1	NS

F. nucleatum	1 1 1 1 2	1 1 1 1 1	NS
A. actinomycetemcomitans	1 1 1 2 3	2 1 1 1	NS
T. denticola	1 2	1 1 1	NS
T. forsythensis	1 1 1 1 1 1 1 1 1 2	3 3 3 1 1 1 1 1 1	NS
S. intermedius	1 1 1 1 1 2	3 1 1 1 1 1	NS
P. intermedia	1 1 1 1 1 1 1 3 3	3 2 2 1 1 1 1 1 1	NS
P. nigrescens	1 1 1 1 1 1 2 2 2 3 3 3 3 4	3 3 3 2 1 1 1 1 1 1 1 1	NS
P. micros	1 1 1 1 2 2 3 3 3 3 3 3 3 3	3 3 3 3 3 3 3 3 2 1 1 1 1	NS
No. positive samples	15 10 5	5 10 15	

• تأثير خلاصة المسواك :

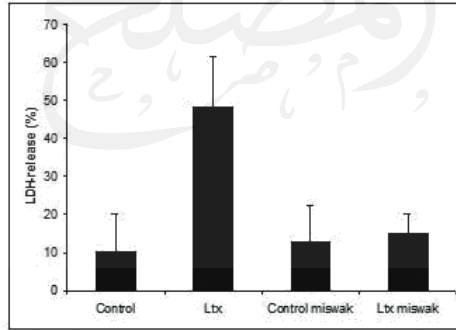
لقد أثبتت النتائج أن لخلاصة مسواك عود الاراك تأثيرا قاتلا على البكتيريا الفموية المسماة Actinomy Actinobacillus (cetemcomitan) واختصارها (A.a) كما هو مبين في الشكل رقم (٦) وهذه المعلومة تسجل للمرة الاولى على مستوى المعرفة الطبية وهذا يعتبر حقا نطالب بحفظه في المحافل العالمية. ففي الصحن المحتوي على تلك البكتيريا، نجد ان نمو هذه البكتيريا يتوقف كلياً اذا اصبح على بعد ١٠ ملم من قطعة عود الاراك المغروسة في منتصف الوسط الحاوي للبكتيريا النامية. وهذا يعني ان نمو هذه البكتيريا قد تأثر بوجود عود الاراك الذي ابطل نموها واستطاع ان يعطل عملية النمو التي تقوم بها هذه البكتيريا في الظروف الملائمة لذلك.



الشكل رقم (٦): هذه الصورة الفوتوجرافية تبين نمو البكتيريا المسماة Actinobacillus (Actinomycetemcomitan) في الوسط الخاص لنموها. ونلاحظ توقف نمو البكتيريا نهائياً في المنطقة المحيطة بقطعة عود الاراك المغروس في وسط الصحن بمسافة لا تقل عن ١٠ ملم حول المسواك.

• تأثير خلاصة المسواك على مناعة الخلايا البشرية:

في معلومة جديدة تضاف الى المعرفة البشرية، أثبتت التجارب المخبرية قدرة خلاصة مسواك عود الاراك على حماية الخلايا الانسانية المناعية (Monocytes) من الموت فيما لو تم تعريضها الى سموم اشرس انواع البكتيريا الفموية (A.a). ففي هذه التجربة تم تعريض الخلايا البشرية المناعية الى سموم هذه البكتيريا مرة بدون اضافة اي مادة اخرى ومرة اخرى في وجود خلاصة مسواك عود الاراك (٨٠٪) لمدة ٦٠ دقيقة. ولقد تم قراءة مؤثرات السموم عن طريق دراسة افرزات انزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز (LDH- activity) الذي يفرز من الخلايا الانسانية الميتة، والشكل رقم (٧) يبين ذلك. ومن هذه التجربة نلاحظ ان وجود عصارة مسواك عود الاراك كان لها تأثيراً سحري في حماية الخلايا البشرية عند تعريضها لسموم البكتيريا من الموت المحقق الذي كان ضاهرا من خلال التجربة حينما وضعت الخلايا مع السموم لوحدها وكان مصيرها الموت. وبهذا فاننا نرى انها تعمل كالجهاز المناعي وتعمل على تقوية قدرة هذه الخلايا على التغلب على السموم التي تعترضها وهذا يعتبر مفتاحا جديدا للعديد من ابواب البحث واتقضي لتبيان السبب الحقيقي وراء هذا التأثير.



الشكل رقم (٧): نرى تأثير السموم البكتيرية على الخلايا البشرية في وجود المسواك وفي عدم وجوده. ومن خلال حساب نسبة الانزيمات التي تفرزها الخلايا البشرية الميتة نرى نسبة القتل في الخلايا البشرية عالية جدا في حال التعرض للسموم وحدها والومبيئة في العمود الثاني من اليسار، ونرى مدى استطاعة خلاصة المسواك من حماية الخلايا البشرية من الموت اذا تم تعريضها للسموم في حال وجود خلاصة المسواك كما هو ضاهر في العمود الرابع من يسار.

مناقشة النتائج وطرق البحث:

لقد أكدت نتائج هذا البحث قدرة كل من المسواك وفرشاة الاسنان على خفض نسبة وجود اللويحة اللثوية الملصقة بالاسنان وتقليل درجة التهابات اللثوية والمحافظة على صحة اللثة والاسنان. ووجد ان المسواك يتفوق على فرشاة الاسنان في هذه الدراسة. وكان لاستخدام العديد من المقاييس المعتمدة عالميا في هذا البحث دورا كبيرا في قوة النتائج. منهجية البحث وتعقيدها كانت متمعددة لكي نصل الى تحكم كامل على الظروف المحيطة بالبحث العلمي ولكي نقلل من التأثيرات الجانبية على نتائج البحث.

فلقد حرصت اثناء اجرائي للبحث على رفع معدل الجودة وذلك من خلال شرح العملية البحثية لجميع المشتركين عن كيفية استخدام فرشاة الاسنان وكيفية استخدام اعواد الاراك للتسوك. وتم استخدام المقاييس العالمية المعتمدة لقياس واختبار الوضع الموجود قبل وبعد مراحل التجربة. ووجدنا ان استخدام المسواك كان مفعولة اكثر من فرشاة الاسنان في تقليل معدلات وجود اللويحة السنوية والقدرة على تحسن معدل صحة اللثة لدى المشتركين وكان هذا الفارق حقيقيا واحصائيا. ولقد وافقنا في ذلك ما جاء في بعض الابحاث العلمية السابقة، كما جاء في بحث الدكتور غازي ومعاونيه عام ١٩٩٠ م (Gazi et al., ١٩٩٠).

لقد اوردت الابحاث العلمية السابقة العديد من التفسيرات العلمية للقدرة التنظيفية للمسواك، ومن هذه التفسيرات ان لالياف المسواك تأثير ميكانيكياً، وان هناك افرازات لبعض العناصر الكيميائية المفيدة، وكذلك الجمع بين هتين الوظيفتين (Hardie & Ahmed, ١٩٩٥).

لقد اثبتت الابحاث التي قمنا بها أولاً أن لاستخدام المسواك قدرة على تقليل اعداد البكتيريا الفموية المسماة Actinobacillus (Actinomycetemcomitan) بعد فترة لا تقل عن ٢ اسابيع من استخدام الاعواد لوحدها بدون استخدام فرشاة الاسنان في هذه الفترة. ولم يكن هناك تأثير على اعداد هذه البكتيريا في مرحلة استخدام فرشاة الاسنان. وكان لهذه النتيجة دور كبير في فتح باب البحث خلف هذه المعلومة وتأكيد صحتها، وكان ذلك بالاتصال مع خبير علم الميكروبات الفموية في احد الجامعات السويدية وعمل ابحاثنا المخبرية في مختبره المعروف. وبعد القيام بالدراسة التي تم شرحها في الجزء السابق وجدنا أن لخالصة مسواك اعواد الاراك القدرة الفائقة على منع وايقاف هذا النوع من البكتيريا من النمو اذا ما تم اضافة مستخلص اعواد الاراك لها. ولقد اظهرت بعض الدراسات الحديثة التي قام بها الدكتور داروت واعوانه (٢٠٠٢م) اوعز على ان قدرة المسواك على قتل بعض انواع الميكروبات تعود الى وجود العديد من المركبات البصلية، والتي لها قوة تأثير على الانزيم المسمى البيروكسايديز ثيوساينيت (Peroxidase thiocyanates)، والنظام المضاد للبكتيريا المعتمد على انزيم الهيدروجين بيروكسيد (Hydrogen peroxide).

ان الدراسة التي بين ايدينا اظهرت بما لا شك فيه أن هناك مواد يتم افرازها من مسواك اعواد الاراك لها القدرة لتثبيط وايقاف نمو البكتيريا الفموية المسماة Actinobacillus (Actinomycetemcomitan).

وبهذه الخاصية يكون لها القدرة على حماية الخلايا البشرية المناعية من الموت فيما لو تم الهجوم عليها من السموم القاتلة المفروزة من هذه البكتيريا. وعملية الحماية هذه تحتاج الى استمرار في البحث والتحري للوصول الى التفسير الحقيقي وراء هذه القدرة العجيبة وهل التأثير كان على سموم البكتيريا ام انه كان لها تأثير في تغير محتويات الخلية الانسانية وزيادة مناعتها ضد خطر السموم. ولقد تم نشر هذه الابحاث وتنتائجها في مجلات علمية طبية معروفة عالميا وهي موجودة على محرك البحث الطبي العالمي المعروف (Pub Med).

المراجع العلمية:

المراجع العربية :

١. صحيح البخاري: الجامع الصحيح المختصر، دار ابن كثير، بيروت ١٤٠٧ للهجرة الطبعة الثالثة ، تحقيق د/مصطفى ديب البغا.
٢. صحيح مسلم بشرح النووي ، دار الفكر بيروت ١٩٧٢م.
٣. صحيح ابن حبان بترتيب ابن بلبان ، مؤسسة الرسالة بيروت ١٤١٤ هجري
٤. احمد بن حنبل: مسند أحمد، تحقيق أحمد شاكر، دار المعارف، القاهرة
٥. أحمد بن شعيب النسائي: سنن ابن ماجه بشرح الحافظ السيوطي، المكتبة العلمية، بيروت.
٦. ابن ماجه (محمد بن يزيد) ، سنن ابن ماجه، دار الفكر، بيروت.
٧. أبو داود: سنن ابي داود، ضبط وتعليق محمد محيي الدين عبدالحميد، دار الفكر، بيروت.
٨. مجمع الزوائد: مجمع الزوائد ومنبع الفوائد، دار الريان للتراث ، دار الكتاب العربي القاهرة/بيروت.
٩. الطبراني في المعجم الكبير، الطبراني، مكتبة العلوم والحكمة ، المحقق حمدي بن عبدالمجيد السلفي.
١٠. السواك، للدكتور محمد على البار، دار المنارة للنشر والتوزيع، جدة.
١١. الأحكام النبوية في الصناعة الطبية، للكحال ابن طرخام (على بن عبدالكريم الحموي) ، تحقيق عبدالسلام هاشم حافظ، البابي الحلبي، القاهرة، ١٩٥٥م.
١٢. صلاح الحنفي : السواك، رسالة جامعية، جامعة دمشق، ١٩٦٢م.
١٣. د/ ابو حذيفة ابراهيم محمد: السواك اهميته واستعماله، طنطا، ١٩٨٧م.
١٤. د/محمود ناظم النسيمي، الطب النبوي والعلم الحديث، بيروت ١٩٨٧م.
١٥. د/عبدالرزاق كيلاني، الحقائق الطبية في الاسلام، دمشق.

• References:

1. Akpata ES. Akinrimisi EO. Antibacterial activity of extracts from some African chewing sticks. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1977; 44(5): 717-722.
2. al-Bagieh NH. Almas K. In vitro antibacterial effects of aqueous and alcohol extracts of miswak (chewing sticks). *Cairo Dent J* 1997; 13: 221-224.
3. al-Khateeb TL. Darwish SK. Bastawi AE. OMullane DM. Dental caries in children residing in communities in Saudi Arabia with differing levels of natural fluoride in the drinking water. *Community Dent Health* 1990; 7(2): 165-171.
4. al-Khateeb TL. OMullane DM. Whelton H. Sulaiman MI. Periodontal treatment needs among Saudi Arabian adults and their relationship to the use of the Miswak. *Community Dent Health* 1991; 8(4): 323-328.
5. Almas K. The antimicrobial effects of extracts of *Azadirachta indica* (Neem) and *Salvadora persica* (Arak) chewing sticks. *Indian J Dent Res* 1999; 10(1): 23-26.
6. Almas K. Al-Bagieh NH. The antimicrobial effects of bark and pulp extracts of miswak. *Salvadora persica*. *Biomedical Letters* 1999; 60(235): 71-75.
7. Almas K. al-Lafi TR. The natural toothbrush. *World Health Forum* 1995; 16(2): 206-210.
8. Asadi SG. Asadi ZG. Chewing sticks and the oral hygiene habits of the adult Pakistani population. *Int Dent J* 1997; 47(5): 275-278.
9. Boghani C. Morbidity pattern of dental health problems. *J Ind Dent Assoc* 1978; 50: 277-281.
10. Carl W. Zambon JJ. Dental health of the Rendille and Samburu of the northern frontier district of Kenya. *N Y State Dent J* 1993; 59(6): 35-39.
11. Danielsen B. Baelum V. Manji F. Fejerskov O. Chewing sticks, toothpaste, and plaque removal. *Acta Odontol Scand* 1989; 47(2): 121-125.
12. Darout IA. Albandar JM. Skaug N. Periodontal status of adult Sudanese habitual users of miswak chewing sticks or toothbrushes. *Acta Odontol Scand* 2000; 58(1): 25-30.

13. Darout IA, Albandar JM, Skaug N, Ali RW. Salivary microbiota levels in relation to periodontal status, experience of caries and miswak use in Sudanese adults. *J Clin Periodontol* 2002; 29(5): 411-420.
14. Darout IA, Skaug N, Albandar JM. Subgingival microbiota levels and their associations with periodontal status at the sampled sites in an adult Sudanese population using miswak or toothbrush regularly. *Acta Odontol Scand* 2003; 61(2): 115-122.
15. Eid MA, al-Shammery AR, Selim HA. The relationship between chewing sticks (Miswaak) and periodontal health. 2. Relationship to plaque, gingivitis, pocket depth, and attachment loss. *Quintessence Int* 1990a; 21(12): 1019-1022.
16. Eid MA, Selim HA. A retrospective study on the relationship between miswak chewing stick and periodontal health. *Egypt Dent J* 1994; 40(1): 589-592.
17. Ellen horn Medical Toxicology Diagnostic and Treatment of human poisoning. Matthew J. Ellen horn 2nd edition. Williams & Wilkins 1997.
18. Elvin-Lewis M. Plants and dental health. *Prev Dent* 1980a; 6: 59-60.
19. Elvin-Lewis M. Plants used for teeth cleaning throughout the world. *J Prev Dent* 1980b; 6: 61-70.
20. Elvin-Lewis M. The therapeutic potential of plants used in dental folk medicine. *Odontostomatol Trop* 1982; 5(3): 107-117.
21. Elvin-Lewis M, Hall J, Adu-Tutu M, Afful Y, Asante-Appiah K, Lieberman D. The dental health of chewing-stick users of Southern Ghana. Preliminary findings. *J Prev Dent* 1980; 6: 151-159.
22. Elvin-Lewis M, Keudell K, Lewis WH, Harwood M. Anticariogenic potential of chewing sticks. *J Dent Res* 1974; 53(277).
23. Emslie RD. A dental health survey in the Republic of the Sudan. *Br Dent J* 1966; 120(4): 167-178.
24. Ezmirly ST, Cheng JC, Wilson SR. Saudi Arabian medicinal plants: *Salvadora persica*. *Planta Med* 1979; 35(2): 191-192.

25. Ezmirly S. Seif-El-Nasr M. Isolation of Glucotropaelin from *Salvadora Persica*. J Chem Soc Pak 1981. 3. 9-12.
26. Fadulu SO. Antibacterial properties of the buffer extracts of chewing sticks used in Nigeria. *PlantaMedica* 1975; 27: 123-126.
27. Gazi M. Saini T. Ashri N. Lambourne A. Meswak chewing stick versus conventional toothbrush as an oral hygiene aid. *Clin Prev Dent* 1990; 12(4): 19-23.
28. Guile E. Al-Shammery A. M. EB. Oral health survey of Saudi Arabia: oral health knowledge attitudes and practices among adults. *J Dent Res* 1996; 75: 1276.
29. Hardie J. Ahmed K. The Miswak as an aid in oral hygiene. *J Philipp Dent Assoc* 1995; 47(1): 33-38.
30. Hattab FN. Meswak: the natural toothbrush. *J Clin Dent* 1997; 8(5): 125-129.
31. Hawkins BF. Kohout FJ. Lainson PA. Heckert A. Duration of toothbrushing for effective plaque control. *Quintessence Int* 1986; 17(6): 361-365.
32. Hendersen B. Wilson M. Sharp L. Ward J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Med Microbiol* 2002; 51: 1013-1020.
33. Johansson A. Kalfas S. Characterization of the proteinase-dependent cytotoxicity of *Porphyromonas gingivalis*. *Eur J Oral Sci* 1998; 106(4): 863-871.
34. Johansson A. Sandstrom G. Claesson R. Hanstrom L. Kalfas S. Anaerobic neutrophil-dependent killing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in relation to the bacterial leukotoxicity. *Eur J Oral Sci* 2000; 108(2): 136-146.
35. Kelk P. Johansson A. Claesson R. Hanstrom L. Kalfas S. Caspase 1 involvement in human monocyte lysis induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin. *Infect Immun* 2003; 71(8): 4448-4455.
36. Khoory T. The use of chewing sticks in preventive oral hygiene. *Clin Prev Dent* 1983; 5(4): 11-14.
37. Loe H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *J Periodontol* 1967; 38(6): Suppl.610-616.
38. Loe H. Silness J. Periodontal disease in pregnancy: Prevalence and severity. *Acta*

Odontol Scand 1963; 21: 533-551.

39. Mandell RL, Ebersole JL, Socransky SS. Clinical immunologic and microbiologic features of active disease sites in juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 1987; 14(9): 534-540.

40. Norton MR, Addy M. Chewing sticks versus toothbrushes in West Africa. A pilot study. *Clin Prev Dent* 1989; 11(3): 11-13.

41. Olsson B. Efficiency of traditional chewing sticks in oral hygiene programs among Ethiopian schoolchildren. *Community Dent Oral Epidemiol* 1978; 6(3): 105-109.

42. Papanou PN, Madianos PN, Dahlen G, Sandros J. "Checkerboard" versus culture: a comparison between two methods for identification of subgingival microbiota. *Eur J Oral Sci* 1997; 105(5 Pt 1): 389-396.

43. Petersen PE, Mzee MO. Oral health profile of schoolchildren, mothers and schoolteachers in Zanzibar. *Community Dent Health* 1998; 15(4): 256-262.

44. Quigley G, Hein J. Comparative cleansing efficiency of manual and power brushing. *J Am Dent Assoc* 1962; 65: 26-29.

45. Rodenburg JP, van Winkelhoff AJ, Winkel EG, Goene RJ, Abbas F, de Graff J. Occurrence of *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in severe periodontitis in relation to age and treatment history. *J Clin Periodontol* 1990; 17(6): 392-399.

46. Sathanathan K, Vos T, Bango G. Dental caries, fluoride levels and oral hygiene practices of school children in Matebeleland South, Zimbabwe. *Community Dent Oral Epidemiol* 1996; 24(1): 21-24.

47. Slots J, Ting M. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: occurrence and treatment. *Periodontol* 2000 1999; 20: 82-121.

48. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000 2002; 28: 12-55

49. Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques* 1994; 17(4): 788-792.

50. Taiwo O, Xu H-X, Lee SF. Antibacterial activities of extracts from Nigerian chewing sticks. *Phytother Res* 1999; 13: 675-679.
51. Trovato A, Forestieri A, Rossitto A, Monforte MT, d'Aquino A, Galati EM. Hypoglycaemic effects of *Savadora persica* L. in rat. *Phytomedicine* 1998; 5: 129-132.
52. Turesky S, Gilmore ND, Glickman I. Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C. *J Periodontol* 1970; 41(1): 41-43.
53. Van der Weijden GA, Timmerman MF, Reijerse E, Wolffe GN, Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U. The prevalence of *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* and *P. intermedia* in selected subjects with periodontitis. *J Clin Periodontol* 1994; 21(9): 583-588.
54. WHO. Consensus Statement on Oral hygiene. *Int Dent J* 2000; 50: 139.
55. WHO. The World Oral Health Report 2003: Continuous improvement of oral health in the 21st century- the approach of the WHO Global Oral Health Programme. Geneva: World Health Organization. 2003.
56. Wolinsky LE, Sote EO. Inhibiting effects of aqueous extracts of eight Nigerian chewing sticks on bacterial properties favouring plaque formation. *Caries Res* 1983; 17: 253-257.
57. Wu CD, Darout IA, Skaug N. Chewing sticks: timeless natural toothbrushes for oral cleansing. *J Periodontal Res* 2001; 36(5): 275-284.