

**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 ودكتوراة من جامعة كارولينسكا الطبية بالسويد

مستشفي قوى الأمن الداخلي بمكة المكرمة

المملكة العربية السعودية

فكرة البحث:

لا أريد أن أنسب لنفسي بأنني كنت أول من فكر في البحث عن خفايا وأسرار استخدام السواك ، وذلك لكون هذا الأمر بيديه من حيث أنه من المؤكد أن هذه الفكرة تدور في خلد كل باحث مسلم غيره، فنحن المسلمين عندما علمنا مدى الحرص الشديد من قبل النبي الأمي ، وسيد هذه الأمة نبينا وحبيبنا محمد بن عبد الله صلوات الله وسلامه عليه، في الحث على السواك، وقد ورد ذلك في أغلب كتب الصاحب في العشرات من الأحاديث النبوية الشريفة. فالسواك بات سنة مؤكدة لتoward الأقوال والأفعال من السنة النبوية المطهرة على أهمية استخدامه.

ولست مبالغًا ولا متشارقًا إن قلت أن العلم الحديث أتى والMuslimون لا يزالون يغفون في سبات عميق وخاصة فيما يتعلق بالبحث العلمي المحكم في الطب الحديث، إن السباق يحتمد بين الأمم ونحن أمم القرآن خير أمم 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 المفتقرة إلى دليل علمي. من هنا بدأت الفكرة وكان لابد من أن أقوم بواجبي كباحث لكي أبرهن للمسلمين وغيرهم على أن ما أتي به هذا النبي الكريم صلى الله عليه وسلم هو الحق وبدأت أبحاثي العلمية الدقيقة التي تهدف إلى اثبات الفوائد الطبية المؤكدة لاستخدام السواك وخاصة عود الآرak 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 حد النبي صلى الله عليه وسلم على السواك والمواظبة على استخدامه وتأكيد هذه السنة في العديد من الأحاديث التي وردت في أغلب كتب الصاحب، 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: " لو لا أن أشق على أمتي أو على الناس لأمرتهم بالسواك مع كل صلاة " وفي مسنده ألمد " لو لا أن أشق على أمتي لأمرتهم بالسواك مع الوضوء " ، وفي صحيح ابن حبان " لو لا أن أشق على أمتي لأمرتهم بالسواك عند كل وضوء " . وفي رواية لأحمد عن تمام بن قثم، وابو يعلى من حديث العباس " لو لا 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 أمامة رضي الله عنه أن رسول الله صلى الله عليه وسلم قال : " تسوكوا فإن السواك مطهرة للضم ، مرضاة للرب . ما جاءني جريل إلا أوصاني بالسواك حتى لقد خشيت أن يفرض علىّ وعلى أمتي ولو لا أخاف

أن أشق على أمتي لفرضته عليهم واني لأستاك حتى خشيت أن أحفى مقادم فمي " رواه ابن ماجه . وعن أبي وأئل حذيفة رضي الله عنه قال : " كان النبي صلى الله عليه وسلم اذا قام من الليل يشوش فاه بالسوالك " رواه البخاري.

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

وعن أنس رضي الله عنه أن رسول الله صلى الله عليه وسلم قال: " عليكم بالسوالك فنعم الشيء السوالك، يذهب بالحفر، وينزع البلغم، ويجلو البصر، ويشد اللثة، ويذهب بالبخر، ويصلح المعدة، ويزيد في درجات الجنة، وتحمده الملائكة، ويرضي رب، ويسخط الشيطان " . رواه القاضي الخولاني في تاريخ داريا.

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

وقد روی عن الشافعی أنه قال: أحب السوالك للصلوة 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 السوالك المندوب اليه هو المعروف عند العرب وفي عصر النبي صلى الله عليه وسلم، مثل الاراك والبسام.

المقدمة :

المساویک ، انتشارها ، مصادرها ، وطريقة تحضيرها :

تستخدم أعواد السوالك التي تحضر من أنواع مختلفة وكثيرة من الأشجار والنباتات كعادة متّعة ومتوارثة لتنظيف الأسنان لدى الكثير من الناس في مناطق مختلفة من العالم وخاصة في آسيا وأفريقيا والشرق الأوسط وجنوب أمريكا (Elvin-Lewis، ١٩٨٠). وهذه العادة ليست متّعة لكون الدين فقط يحث على ذلك ولكن لأنّها أخرى مثل سهولة الحصول على هذه الأعواد وقلة تكلفتها على المستخدمين وكذلك لبساطتها في ذاتها. ويُجدر القول هنا بأنّ نتوه إلى ما جاء في تقرير منظمة الصحة العالمية السنوي والذي يهتم بقواعد صحة الفم العامة ونظافة الأسنان، حيث انه في عدد عام (٢٠٠٠) قد أقرّ بانّ أعواد السوالك المختلفة تلعب دوراً مهماً وأساسياً في تحسين صحة ونظافة الفم، وأوصى بضرورة الأسراع في إجراء الأبحاث العلمية الخاصة لتبليغ تأثير استخدام مثل هذه الأعواد على صحة الأسنان. (WHO، ٢٠٠٠).

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

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

وتحتاج الأراك جفرا فجرا تنتشر بشكل واسع فهي شجيرة تنمو في الأماكن الحارة والمعتدلة وتتمتد من راستان (الهند)، نيبال ومالزيا في الشرق وتجدها تنمو أيضاً في باكستان، إيران، العراق، المملكة العربية السعودية، ومن مصر إلى موريتانيا في الغرب، ومن شمال أفريقيا خلال السودان، إثيوبيا، إفريقيا الوسطى إلى جنوب شرق إفريقيا (Khoory, ١٩٨٢ .. Wu et al., ٢٠٠١).

ولقد أكدت الأبحاث العلمية الميدانية الخاصة بالعناية بصحة الفم أن المسواك يستخدم بشكل واسع وجلب 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 المسواك. 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).

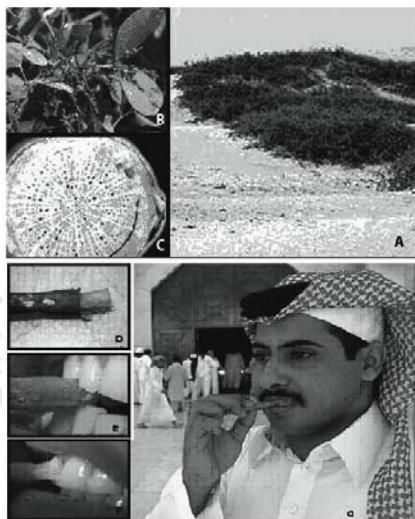
التركيب الكيميائي لسواك شجرة الأراك (*Salvadora persica*):

كانت أعاد المسواك تعتبر وسيلة تنظيف محلية اعتاد الناس عليها وكان يعتقد أن تأثيرها يكون بخاصية ازالة 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 الأعاد، وتم إعلان نتائج ابحاثهم في السنوات الأخيرة. ولقد أثبتت تلك الأبحاث أن أعاد المسواك وأثناء استخدامها قد تفرز بعض المواد الكيميائية وهذه المواد لها تأثيرات وخواص حيوية مثل المواد القاتلة للبكتيريا (Elvin-Lewis, 1980a; Almas, 1996; Eid and Selim, 1999). وتشريحياً وجّد أن عيدان الأراك مغطاة بطبقة فلسينية، تليها طبقة قشرية ثم تأتي بعد ذلك الألياف الدقيقة الناعمة التي تبتعد وتتفرق عند دخول نهايات العيدان ونقعها بملاء بعد إزالة الطبقة القشرية. وفي المركز أشعة مخية تفصل بين الألياف تحتوي خلاياها على بلورات السيليس والحمضات وحبسيات النساء، يعتقد أنها من العناصر الفاعلة في المسواك. هذه العناصر تتبدّل بعد أيام من استعماله، لذا تقطع الألياف المستعملة كل بضعة أيام ويصنع من نهاية العود فرشاة جديدة وهكذا يتجدد المسواك ولا تراكم فيه الأوساخ (صلاح الحنفي، ١٩٦٢ & د. أبو حذيفة ابراهيم محمد، ١٩٨٧).

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

التأثيرات تمثل في منع البكتيريا من انتاج الأحماض الضارة، وانتاج بعض الانزيمات.

.(Fadulu. 1975. Akpata & Akinrimisi. 1977. Wolinsky and Sote. 1983; Taiwo et al 1990)



الشكل رقم (١) : الصور من A-C تظهر شجرة الاراك ومقطع غرضي لمسواك عود الاراك. اما الصور من D-F فانها تظهر المسواك والكيفية الشائعة لاستخدامه. اما الصورة G فانها تظهر شابا سعوديا يستخدم المسواك اما باب احد المساجد المعروفة في مكة المكرمة.

وفي دراسات أخرى حللت أعود الأراك كيميائياً فوجد أن التركيب الكيميائي لهذه الأعواد كالتالي:

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

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

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

وتتجدر الاشارة هنا إلى 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 نسبة تعتربر نسبة مهملة لا أثر لها (<٠.٧ mg/ml) (Hattab, ١٩٩٧).

دراسات ميدانية حول استخدام المسواك وصحة الفم:

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

السوال في الكثير من الدول التي تمت الدراسة فيها (Elvin-Lewis et al. 1974). ولقد أثبتت الدراسات الجارية في كل من أثيوبيا وكينيا أن المسوak اذا ما استخدم بالطريقة الفعالة والصحيحة يكون قادرا على ازالة اللويحة السنية بصورة متساوية أو تفوق ما يتم ازالتة بفرشاة الاسنان الحديثة (Danielsen, Olsson 1978a, et al 1989). وفي دراسات أخرى أثبت العلماء أن أعود السوال تمتلك كفاءة عالية في ازالة طبقات اللويحة السنية من على اسطح الأسنان وبالأخص الأجزاء بين السنينة والتي يصعب الوصول اليها عادة، وتأكد ذلك الآخر اذا ما استخدم المسوak 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 السنينة المتقدمة كانت نادرة الحدوث في أولئك الذين يستخدمون أعود السوال والتي تقل اعمارهم عن الخمسين سنة (Carl & Zambon 1992). وفي المملكة العربية السعودية أكد الباحثون أنه لا يوجد فروقات مهمة بين مستخدمي المسوak ومستخدمي فرشاة الأسنان فيما يخص ازالة طبقة اللويحة السنية وصحة اللثة ونزيافتها الدموي من خلال المقاييس المعترف بها عالميا (Eid et al.. 1990a..). أما في جمهورية السودان، فقد لاحظ عدد من الباحثين الذين قاموا بدراسة صحة اللثة والأنسجة العظمية المحيطة بالأسنان عند مستخدمي المسوak السودانيين بأنها كانت افضل مقارنة مع مستخدمي فرشاة الأسنان من قررتهم. وكذلك أكد باحثون آخرون أن نسبة التسوسات قليلة عند السودانيين المستخدمين للمسوak فضلا عن مستخدمي فرشاة الأسنان (Darout et al .. 2000.. Emsile 1996). وفي كل من زمبابوي وزنجبار وغانا، قد أجريت العديد من الدراسات التي خلصت الى ملاحظة أن نسبة حدوث التسوسات وانتشارها تقل عند أولئك الذين يستخدمون أعود السوال 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 تجتمع فيه البكتيريا وفي خلال ٢٤ ساعة يكون هناك ١٤ نوع منها ترتفع إلى ٢١ نوعاً في اليوم العاشر من عمر المولود. وتشير هنا أهمية أن الفم بحكم موقعه في جسم الإنسان هو المدخل الرئيسي للطعام والشراب ، و باتصاله بالعالم الخارجي ، وبالجهازين الهضمي والتتنفسى يصبح موطنًا لكثير من الجراثيم (Ellen horn 1997) ، والتي تسمى " الزمرة الجرثومية الفموفية " ومنها المكورات العنقودية والعقدية والرئوية، والعصيات اللبنية والعصيات الخفافة الكاذبة، والملتويات الفوهية والفنسانية وهناك أيضًا 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 أي امراض الا فيما ندر وذلك بسبب ماجعله الله للانسان من اسباب الوقاية. وهذه الجراثيم دائماً ما تكون بحالة عاطلة عند الشخص السليم ومتعايشة معه، لكنها تنقلب ممرضة مؤذية إذا تغيرت موازينها داخل الفم ، أو طرأ عليها ما يضعف مقاومة البدن (محمود النسيمي، ١٩٨٧م). وخاصة إذا بقيت ضمن الفم، وبين الأسنان، فضلات الطعام والشرب.

فوجود بقايا الأطعمة وخاصة الكربوهيدرات منها يجعل الجراثيم تعمل على تفسخها وتختمرها، وتتشاءم عنها رواج كريهة، وهذه المواد تؤدي إلى الأسنان كذلك محدثة فيها التخotor 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 (عبد الرزاق كيلاني، دمشق) ، وقد تؤدي إلى انسمام الدم أو تجرثم وما ينجم عن ذلك من أمراض حمّوية عامة.

وللعل دور مهم في صحة الفم والأسنان ، فاللعاب الرادك يحتوي على أملاح بصورة مرکزة، 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 تكشف شيئاً فشيئاً مكونة ما يسمى باللوبيات السنية.

تشريح اللثة وأمراضها:

تتكون اللثة من نسيج ليفي مغطى بعشاء مخاطي يشبه في تركيبه بشرة الجلد ولكنها أخف مما هو موجود في الجلد في معظم مواقع اللثة. وتعطي اللثة العظم السنخي وجذور الأسنان وأعناقها. ومن أهم مناطق اللثة هو ما يسمى بالميزاب اللثوي وهو الشق الصغير الذي يوجد بين اللثة والجزء العنقى لتاج السن، وعمقه في الأحوال الطبيعية حوالي نصف إلى مليمتر واحد فقط. وبما ان اللوبيعة السنية تترسب في هذا الميزاب اللثوي فان هذا الشق يعتبر المصدر الأول لتكون القلح (Calculus) ولنمو البكتيريا المختلفة اذا لم يتم تنظيفه وازالة اللوبيعة 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 اللوبيعة السنية بالأمراض اللثوية الفتاكـة (Van der Weijden et al , ٢٠٠٢ ، Socransky & haffajee ..)

Actinobacillus) ١٩٩٤ ، ومن الأمثلة على تلك البكتيريا الآتي: أكتينو باسيللاس أكتينوماسيتيمكوميتانس (actinomycetemcomitans) ، والتي يتم اختصارها لطول اسمها بذكر اول حرف من كل جزء (A.a)، وبورفيروموناس جينجيفاليس (Porphyromonas gingivalis)، و بريفوتيللا انترميديا (Prevotella)، و تريبيونيمما دينتيكولا (Treponema denticola)، و تريبيونيمما دينتيكولا (intermedia).

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

كان اول تعرف للعالم ببكتيريا الأكتينو باسيللاس أكتينوماسيتيمكوميتانس (Actinobacillus actinomycetemcomitans) هو في العام الميلادي ١٩١٢ ومن ثم تم اعتبارها ظمن عائلة البكتيريا الفموية المسماة عام ١٩٥٠ م (Henderson et al .. ٢٠٠٢). وسوف نرى في القادر من البحث علاقة هذه النوع من البكتيريا بصحة الفم والأسنان وبالطريقة المستخدمة في نظافة الفم.

طرق ومنهجية البحث :

لقد قمت والله 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 ويعينا عن العشوائية واحتمالات الصدفة. البحث كان عبارة عن دراسة طبية اكلينيكية تم اتخاذ العينة المستهدفة فيها بشكل عشوائي ولا يعتمد على الانتقاء لكي نقترب من تمثيل المجتمع ككل. فاليبحث كان دراسة طويلة 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 استخدامه في الابحاث الطبية والصيدلانية، بمعنى انه على جميع المراحل لا يعلم هل العينات المدروسة تقع في اي جهة من البحث وهذا لكي تتأكد من أن قرائاته المتتابعة لن تتأثر بمعرفة المسيبة بال المشتركين وفي اي اتجاه يقونون. 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 لأن الاشخاص هم نفسهم الذين يستخدمون كلا الوسائلتين 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 الآخر كان عبارة عن دراسة مخبرية.

الدراسة الـاـكـلـيـنـيـكـيـهـ:

هي عبارة عن دراسة طبية تم اقامتها في احدى المستشفيات الحكومية بالعاصمة المقدسة مكة المكرمة بالمملكة 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 اعياديون 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 يشاون وبدون ان يؤثر ذلك على سير مراحل علاجهم في المركز. وتم 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 المشاركون والمعدّ مسبقاً ومن ذلك وجود عدد معين من الاسنان لا يقل عن ٢٤ سنًا حتى يتم قبولهم في المشاركة، وكذلك يجب ان يكون المشارك مستعمل لكلا الوسائلتين فرشاة الاسنان والمسواك حتى يتم قبوله في البحث، ويجب ان تكون الصحة العامة للمشترك جيدة. وتم اشتراط ان يكون جميع المشاركون متيمنين بمعنى ان لا يوجد بينهم الأصغر (الذى يكتب بيده اليسرى)، ويجب ان تتأكد من عدم وجود بعض الاجهزه العلاجية في فم المشترك مثل اجهزة تقويم الأسنان وغيرها.

الخطة العامة للتجربة:

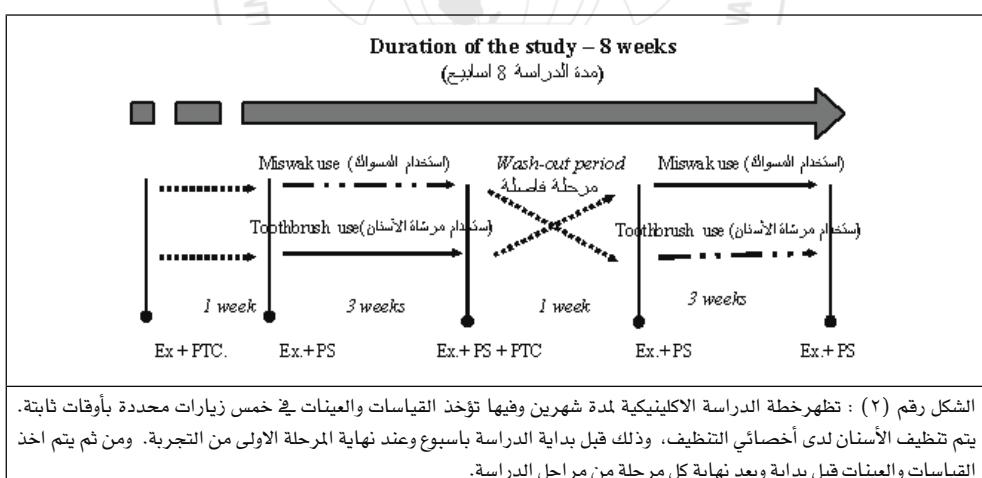
- الدراسة كما ذكر سابقاً تعتبر مصممة بشكل يمنع تأثير الأخطاء الناتجة عن الصدفة وذلك بعملها طبقاً للتصميم التالي (Single. Blind. Randomized Crossover Design) وهذا التصميم البحثي الطبي يعتبر من أقدر الخطط البحثية وأكثرها دقة وصعوبة ، ونتائج مثل هذه الأبحاث عادة ما يكون لها احترام كبير لدى المختصين في هذا 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 حقيقة 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 مايسمي (اعمى) اي لا يعلم في اي اتجاه يعود الشخص الذي يقوم بقراءة قياساته، وذلك يقلل من درجة تأثير قراءات الطبيب بمعلوماته السابقة عن المشاركون، 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. وأخيراً كون هذه الدراسة تتحول في منتصفها من مستعمل للمسواك إلى مستعمل لفرشاة الأسنان أو العكس وأن يقوم كل مشارك في هذا البحث بنفس العملية. وسوف أشرح 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 المشاركين إلى 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 المشاركين على نموذج الموافقة في الانخراط في الدراسة. يتم بعد ذلك تحديد العادة المتبعة في تنظيف الأسنان لدى جميع المشاركين وتقييدها في البيانات الخاصة بذلك، ثم يطلب من المشاركين الذهاب والعوده فيزيارة القادمة بعد أسبوع ، ويتم اخبار المشاركين بمزاولة العادة التي كان معتمداً عليها في تنظيف الأسنان خلال هذا الأسبوع وله الحرية المطلقة في ذلك.
٢. يأتي المراجع بعد أسبوع ومن هنا تبدأ الدراسة الفعلية. حيث يتم أخذ عينات من اللوحة السنية المنغمسة في الشق اللثوي وذلك باستخدام أعاد ورقية طبية معقمة مخصصة لهذا الأمر، وهذه العينات تؤخذ لعمل التحاليل المخبرية الخاصة بالحامض النووي الوراثي (DNA test) للبكتيريا الفموية المسيبة لأمراض اللثة والعظم المحيط بالسن الشائعة في العالم. بعد ذلك يتم تسجيل مقدار التهابات اللثة وكميات اللوحة السنية بواسطة المقاييس العالمية المسجلة. ويتم أيضاً أخذ صور رقية للأسنان ومن مناطق مختلفة ، بعد صبغ الأسنان بمادة خاصة تساعد على اضهار اللوحة السنية للطبيب المختص ومن ثم سوف يتم تحليل تلك الصور الرقمية بواسطة جهاز الحاسوب ومن خلال برنامج تحليلي علمي متخصص متقدم ودقيق جداً، كما هو مبين في الصورة التي في الشكل رقم (٢). بعد ذلك يتم تبليه وتدریب المشاركين بأن يستخدم كل واحد منهم أما المسواك او فرشاة الأسنان وذلك لمدة ٢ أسبوع 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.

وللتتأكد من تثبيت أغلب العوامل المحيطة بالبحث فقد تم توحيد نوع وشكل فرشاة الأسنان المستخدمة عند جميع المشاركين وتم اختيار فرشاة الأسنان العادية والناعمة الألياف، المصنوعة من شركة (اورال بي) المعروفة. وتم ايضاً توحيد اعاد وراك المسواك المستخدم لجميع المشاركين، وذلك باعطاء كل مشارك عدد ٤ اعاد سواك متساوية الطول (٢٠ سم) ومتتساوية العرض (٧ ملم) وتم حفظها في غلاف مخصص ووضعها في جهاز التبريد (فريزر) لحين استخدامها.

٢. بعد انقضاء ثلاثة أسابيع يتم احضار المشتركين ومن ثم يتمأخذ العينات واقراءات 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 بامكانه استخدام الوسيلة التي يريد وذلك خلال فترة أسبوع.
٤. بعد أسبوع واحد من نهاية المرحلة الأولى، يبدأ المشتركون يتواجدون على العيادة الطبية المخصصة لإجراء 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 ليبدأ تساوي الضروف 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 أسابيع قادمة.
٥. في نهاية المرحلة الاختبارية الثانية، أي بعد نهاية الأسبوع الثالث، يأتي المشتركون مرة أخرى ويتمأخذ 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 اللوحة السنية (Dental plaque) الملتصقة بأسطح الأسنان. ويتم أيضا قياس وقراءة مستوى الالتهابات اللثوية (Gingival inflammation) وذلك باستخدام الطرق والمازين العلمية المعتمدة عالميا. والمازين او المقاييس التي تم تطبيقها واستخدامها في هذه الدراسة كانت كالتالي : بالنسبة لقياس اللوحة السنية، تم استخدام المقاييس المسمى (كويقلي هين اندريكس) (Turesky modified Quigley-Hein Plaque Index) . والذي كان اول ظهور له في عام ١٩٦٢م (Quigley & Hein ١٩٦٢.. et al; ١٩٧٠). أما بالنسبة لقياس الالتهابات اللثوية فقد تم استعمال ما يسمى (مقاييس لوبي و سيلنيس) (Gingival index) والذي بدأ العمل به عام ١٩٦٢م (Loe & Silness ١٩٦٢). ولكي يتم القراءات بشكل متن ودقيق فقد تم تدريب الطبيب المختص والمكلف بأخذ العينات والقياسات وذلك قبل البدء بالدراسة. ولقد تم ذلك في جامعة كارولينسكا الطبية بالسويد، وتم التأكد احصائيا من اتقانه لأخذ القراءات باستعمال الممازين 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 والمتحدة 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 الاريتروسين (Erythrosine) والتي تساعد في تلوين طبقات اللوحة السنية (البلاك) الملتصقة بأسطح الأسنان. ويتم تحليل هذه الصور اليكترونيا لتحديد النسبة المئوية لمساحة اسطح الأسنان التي تكسوها طبقات اللوحة 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 اللوحة السنية وذلك عن طريق رسم احداثيات وحدود اللوحة السنية الظاهرة والملونة والملتصقة بالأسنان، ومن ثم يتم القراءة اليكترونيا بقياس عدد جزيئات الصورة الرقمية (البيكسل) ويتم تحليلها وتحويلها حسابيا الى نسبة مئوية.

وهكذا تكون قد حسبنا بشكل دقيق جدا الكميات الموجودة من اللوحة 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 تتقلل من درجة الفروقات بين القراءات المتتالية حيث لا يوجد مجال للخطأ البشري فيها، فالبرنامج

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



الشكل رقم (٢) : صورة لشاشة الحاسوب تبين أسنان أحد المشتركين بعد صبغها بالمادة الملونة للويحة السننية والتي تم ادخالها في البرنامج الحاسوبي لتحليل الصور وقراءتها.

الطرق المتبعة لتحليل وقراءة أعداد وأنواع البكتيريا المكونة للويحة السننية لدى المشتركين :

من خلال المراحل الاكلينيكية للبحث تمأخذ العينات من الويحة السننية 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 أعاد طيبة معقمة ومخصصة لذلك حتى يتم بعد جمع العينات ارسالها لاختبار الحمض النووي الوراثي (DNA) للبكتيريا الفموية المتواجدة في طبقات الويحة السننية لكل مشترك وذلك قبل وبعد مرحلة استخدام اعاد الاراك وقبل وبعد استخدام مرحلة فرشاة الأسنان.

وتؤخذ تلك العينات من موقع محددة لعدد من الأسنان في الفم تم تحديدها مسبقاً وذلك لكل مشترك. وبعد ذلك تجمع العينات من كل مشترك في كل زيارة وتحفظ بعناءة فائقة في حافظات بلاستيكية معقمة ومصنوعة خصيصاً لحفظ مثل هذه العينات، ومن ثم يتم ارسالها إلى قسم علم الميكروبات الفموية

في جامعة جوتينبيرق بالسويد ليتم تحليلها باستخدام تقنية الحامض النووي الوراثي (DNA-DNA Technique) وهي تقنية حديثة جداً ولا توجد إلا في عدد قليل من المختبرات الجامعية في العالم أجمع، ولكونها تقنية متقدمة فهي أيضاً مكلفة بشكل كبير. هذه التكنولوجيا كان أول من قام بها وصدرها للعالم العالم سوكرانسكي ورفقاه (Socransky et al., 1994).

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

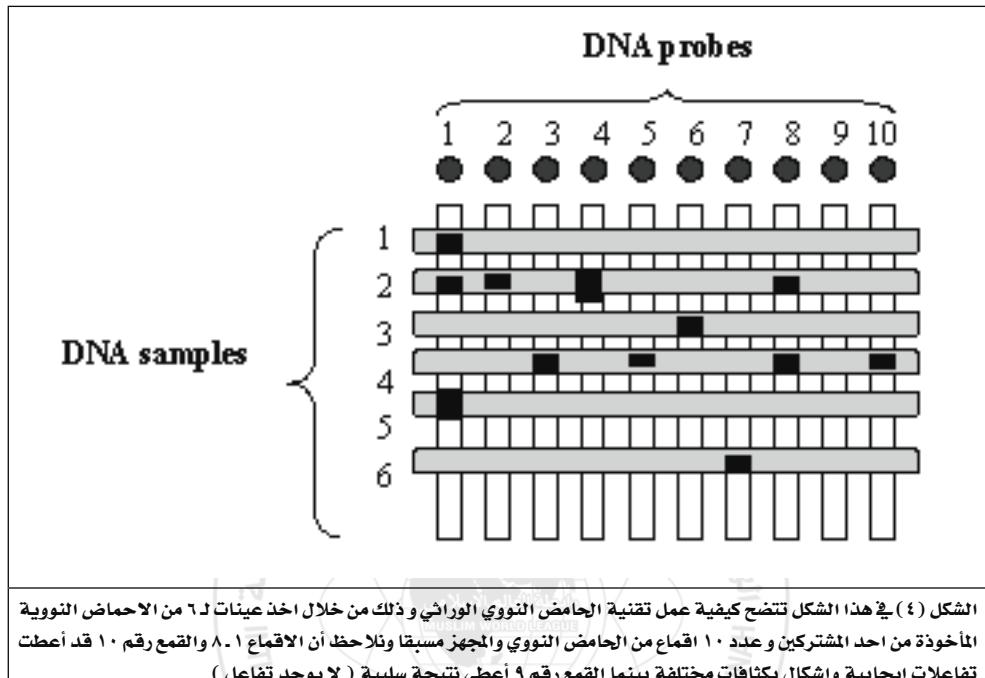
جدول رقم (١) : انواع البكتيريا الفموية التي تم اختبارها بواسطة تقنية الحامض النووي الوراثي في العينات الماخوذة من كافة المشتركين في البحث.

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) :

في هذه التقنية يتم تحضير أقماع الحامض النووي الوراثي للجينوم صناعياً بحيث يحتوي على إنزيم يسمى الديجووكسين (Digoxinen-labeled)، وذلك باستخدام طقم تحضير عالي الحساسية تم صنعه في شركة المانية متخصصة.

والعملية تتم بعدّ 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. وتقام قراءة اعداد البكتيريا عن طريق الاشارات الناتجة عن تفاعل العينات المأخوذة من المشتركين مع الأقماع المشابهة لها المصنوعة مسبقاً والتي تتم مخبرياً بشكل معقد ولدى متخصص في هذه التقنية. الاشارات التي تظهر تعبّر عن اشكال لها احجام مختلفة هذه الاشكال تم تصنيفها وتقسيمها في ميزان يحتوي على ٦ درجات من صفر إلى خمسة. بحيث يكون كل رقم يعني وجود عدد تقريري من البكتيريا المراد اختبارها. وتم تحديد حدّ أدنى للعدد الموجود من البكتيريا بحيث يكون = 10^1 ، ومن ثم تم تقسيم المقياس كالتالي: صفر : يشير إلى عدم وجود الاشارة نهائياً ، ١ : يشير إلى وجود اشارة ضعيفة لكتافة عدد البكتيريا ولكنها أقل من الحد الأدنى ($< 10^1$) ، ٢ : يشير إلى وجود اشارة لكتافة البكتيريا الموجودة مساوية لما عليه الحد الأدنى من عدد البكتيريا ($= 10^1$) ، ٣ : يشير إلى وجود اشارة لكتافة البكتيريا الموجودة أعلى من الحد الأعلى لعدد البكتيريا ($> 10^1$ ولكن $< 10^2$) ، ٤ : يشير إلى وجود اشارة لكتافة البكتيريا الموجودة مساوية لما عليه الحد الأعلى من عدد البكتيريا ($= 10^2$) ، ٥ : يشير إلى وجود اشارة لكتافة البكتيريا الموجودة أكثر من الحد الأعلى من عدد البكتيريا ($> 10^2$). وتفاصيل هذه العملية تم شرحها في المراجع المتعلقة بهذا البحث (Papananou et al., ١٩٩٧). واستخدام تقنية الحامض النووي الوراثي تم بمقارنة اعداد عينات الأحماض النووية الوراثية للبكتيريا والمأخوذة من المشتركين وتفاعلها مع عدد كبير من الأقماع المحضررة 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 متعاوٍ على بعضها البعض كما هو مبين في الشكل رقم (٤)، ومن خلال عملية معقدة يتم التفاعل بين الأحماض النووية المتلازمة لنفس البكتيريا في الشريحتين وتظهر نتائج تلك التفاعلات على شكل دوائر سوداء قائمة لها احجام مختلفة تم قرائتها عن طريق الاشارات السابق شرحها.



الإختبارات والتجارب المخبرية (في المعمل) :

بعد جلب اعماد الاراك او مساوياك ال (Salvadora Persica) الطازجة وحديثة القطع من المملكة العربية السعودية (مكة المكرمة)، تم تصديرها وحفظها في وسط منخفض الحرارة لكي تحفظ 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-1640) ومن ثم تم وضعه في جهاز مخصوص يهتز ببطء 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 ٤ مايكروميترا. وذلك ليكون المستخلص جاهزا للاستعمال في التجارب الخاصة بالتأثير على سموم البكتيريا القاتلة (A.a).

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

بعد ظهور النتائج الخاصة بالتجارب الاكلينيكية كان لابد من ان نستمر في الابحاث الخاصة بتحديد قدرة تأثير عود الاراك على البكتيريا المسماة *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* 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 نت البكتيريا من خلال العمل على الوصول الى خلايا هذه البكتيريا وبطريقة وبروتوكول علمي مخبرى مستخدم عالميا تم شرحه في المراجع المذكورة al Johansson et al (٢٠٠٠b) . حيث يتم نزع السموم من هذه الخلايا بعد ازالة الغلاف البروتيني الخارجي وذلك عن طريق معالجة هذه الخلايا بواسطة محليل خاصة (mM NaCl ١٠٠) ، ثم يتم استخلاص تلك السموم عن طريق محليل اخر مخصصة لذلك وباستخدام تقنية مخبرية معروفة تسمى الكروماتوجرافيا (Chromatography) . وفي الواقع هذه العملية تعتبر من الاختبارات الحساسة وتحتاج الى وجود المختص والخير فيها مع ضرورة التركيز والمتتابعة 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 بـmonosait (Monocytes) preparation :

لقد تم استخلاص الخلايا البشرية المناعية (المونوسايت) والمراد دراستها واختبار تأثير السموم البكتيرية المستخلصبة من بكتيريا Al (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 اممي السويدية، ومن ثم تم عملية مخبرية وطويلة للحصول على تلك الخلايا البشرية ومن خلال استخدام تقنية حديثة مفصل شرحها في المراجع المرافق (Kelk et al ٢٠٠٢) .

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

بعد استخلاص كل من سموم بكتيريا Al (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. وتم هذه التجربة عن طريق زرع الخلايا البشرية المناعية في وسط خاص ومن ثم تعريضها الى سموم البكتيريا وقراءة تأثير هذه السموم بتقنية حديثة مجهرية تم

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

كيفية قراءة مدى تأثير خلاصة مسواك عود الاراك على حياة بكتيريا 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 تساعده على نموها بسرعة درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية. بعد التأكيد من نمو البكتيريا تم دراسة المنطقة المحيطة بقطعة مسواك عود الاراك المفروسة في منتصف الوسط، وتم تصوير المنطقة المحيطة بالمسواك والتي لم تستطع البكتيريا النمو في اتجاه عود الاراك وتم تحديد وقياس قطر تلك المسافة الحالية من البكتيريا وتصويرها بالكاميرا الرقمية كما هو موضح في الشكل رقم (٦).

نتائج البحث الاكلينيكية والمخبرية:

النتائج الاكلينيكية:

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

- القراءات التي تم عملها بالمقاييس الخاصة سواء لقياس كميات اللويحة السننية او درجة التهابات وصحة اللثة مبينة جميعها في الجداول رقم (٢ & ٤).
- 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 السننية (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 واضحًا وبفارق 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 واضحًا وبفارق احصائي كبير لصالح مسواك عود الاراك ($p < 0.001$) كما هو مبين في الجدول رقم (٤).

جدول رقم (٢): المتوسط لقراءات نسبة تواجد كميات اللويحة السننية والماخوذة قبل وبعد مرحلة استخدام مسواك عود الاراك ومرحلة استخدام فرشاة الاسنان وكل مرحلة مدتها ٣ 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)

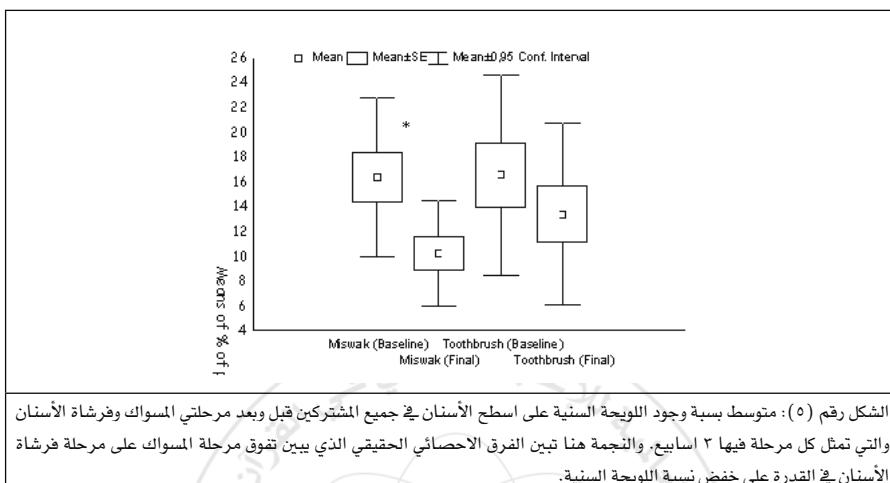
جدول رقم (٣): المتوسط لقراءات نسبة النهابات اللثانية والماخوذة قبل وبعد مرحلة استخدام مسواك عود الاراك ومرحلة استخدام فرشاة الاسنان وكل مرحلة مدتها ٣ اسابيع

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 (٤): المتغيرات في متوسط القراءات الخاصة باللويحة السننية 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 السننية 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 السننية الملتصقة بأسطح الأسنان التي تم تصويرها قبل وبعد كل مرحلة كانت تبين أن الفارق في نسبة وجود اللويحة السننية (Dental plaque) قبل البدء في مرحلة استخدام المسواك وبعد نهايتها كانت أعلى مما كان عليه الحال في مرحلة فرشاة الأسنان. وكان ذلك الفارق تغيراً احصائياً حقيقياً ($P < 0.001$) كما هو مبين في الشكل رقم (٥).



الشكل رقم (٥) : متوسط بسيه وجود اللوبيحة السننية على اسطح الأسنان في جميع المشتركين قبل وبعد مرحلتي المسواك وفرشاة الأسنان والتي تمثل كل مرحلة فيها ٢ اسابيع. والنجمة هنا تبين الفرق الاحصائي الحقيقى الذي بين تفوق مرحلة المسواك على مرحلة فرشاة الأسنان في القدرة على خفض نسبة اللوبيحة السننية.

نتائج الدراسة الخبرية:

لقد قمنا بدراسة تأثير استخدام «مسواك عود الاراك وفرشاة الأسنان على عدد من انواع البكتيريا الفموية المتواجده ضمن اللوبيحة اللثوية بالشق اللثوي». وكما ذكر سابقا تم استخدام تقنية الحامض النووي الوراثي 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 اللوبيحة السننية للمشتركين في البحث للنظر في مدى وجود انواع البكتيريا الـ ١٢ المراد دراستها وذلك باستخدام تقنية الحامض النووي الوراثي. لوحظ أنه بعد نهاية مرحلة استخدام المسواك كان المشاركون يحملون عدداً أقل من البكتيريا المسماة *Actinobacillus mycetemcomitanus* (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 الـ 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 الميكروبوات والسبب الرئيسي لعدد كبير من امراض اللثة والعظم المحيط بها. والجدائل 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.

١= < 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 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 2 2 1 1 1 1	NS
No. positive samples	15 10 5	5 10 15	

الجدول رقم (٦) : عدد المرات والأعداد التي ظهرت فيها ال ١٢ نوع من البكتيريا الفموية قبل وبعد مرحلة استعمال فرشاة الأسنان. كل رقم يعني أن العينة كانت ايجابية. والارقام من ١-٥ يشير الى المؤشرات التي سبق الاشارة اليها مسبقاً.

١= < 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 2	3 3 3 1 1 1 1 1	NS
S. intermedius	1 1 1 1 1 2	3 1 1 1 1	NS
P. intermedia	1 1 1 1 1 1 3 3	3 2 2 1 1 1 1	NS
P. nigrecens	1 1 1 1 1 2 2 3 3 3 4	3 3 3 2 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 2 1 1 1	NS
No. positive samples	15 10 5	5 10 15	

• تأثير خلاصة المسوّك:

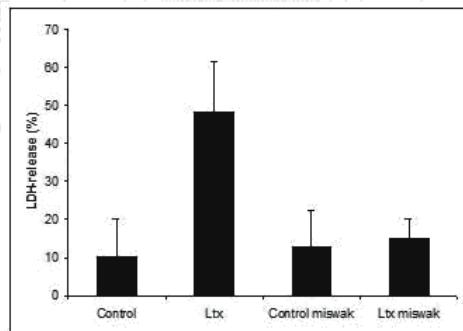
لقد أثبتت النتائج أن لخلاصة مسوّك عود الاراك تأثيراً قاتلاً على البكتيريا الفمومية المسماة *Actinomyctemcomitan* (A.a) كما هو مبين في الشكل رقم (٦) وهذه المعلومة تسجل للمرة الأولى على مستوى المعرفة الطبية وهذا يعتبر حقاً نطاّب بحفظه في المحافل العالمية. ففي الصحن المحتوي على تلك البكتيريا، نجد أن نمو هذه البكتيريا يتوقف كلياً إذا أصبح على بعد ١٠ ملم من قطعة عود الاراك المغروسة في منتصف الوسط الحاوي للبكتيريا النامية. وهذا يعني أن نمو هذه البكتيريا قد تأثر بوجود عود الاراك الذي ابطل نموها أو استطاع ان يعطل عملية النمو التي تقوم بها هذه البكتيريا في الضروف الملائمة لذلك.



الشكل رقم (٦): هذه الصورة الفوتوغرافية تبين نمو البكتيريا المسماة *Actinomyctemcomitan* (*Actinobacillus*) 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 المسوّك.

• 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 افرازات انزيم الالاكتيت 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 سحرياً في حماية الخلايا البشرية عند تعريضها لسموم البكتيريا من الموت المحقق الذي كان ينذرها من خلال التجربة حينما وضعت الخلايا مع السموم لوحدها وكان مصيرها الموت. وبهذا فانتنا نرى انها تعمل كالجهاز المناعي وتعمل على تقوية قدرة هذه الخلايا على التغلب على السموم التي تعرضها وهذا يعتبر مفتاحاً جديداً للعديد من ابواب البحث واتقسي لتبیان السبب الحقيقی 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 جداً في حال التعرض للسموم وحدها والمتباينة 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 ظاهر في العمود الرابع من يسار.

مناقشة النتائج وطرق البحث:

لقد أكدت نتائج هذا البحث قدرة كل من المسوالك وفرشاة الاسنان على خفض نسبة وجود اللويحة اللثوية الملتصقة بالاسنان وتقليل درجة الالتهابات اللثوية والمحافظة على صحة اللثة والاسنان. ووجد ان المسوالك يتفوق على فرشاة الاسنان في هذه الدراسة. وكان لاستخدام العديد من المقاييس المعتمدة عالمياً في هذا البحث دوراً كبيراً في قوة النتائج. منهجية البحث وتقديراتها كانت متعمدة لكي نصل إلى تحكم كامل على الضروف المحيطة بالبحث العلمي ولكي نقلل من التأثيرات الجانبية على نتائج البحث.

فأقدم 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 للتسلوك. وتم استخدام المقاييس العالمية المعتمدة لقياس واختبار الوضع الموجود قبل وبعد مراحل التجربة. ووجدنا ان استخدام المسوالك كان مفعولاً اكثر من فرشاة الاسنان في تقليل معدلات وجود اللويحة السنينة والقدرة على تحسن معدل صحة اللثة لدى المشتركين وكان هذا الفارق حقيقياً واحصائياً. 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 التخظيفية للمسوالك، ومن هذه التفسيرات ان لالياف المسوالك تأثير ميكانيكيًّا، وان هناك افرازات لبعض العناصر الكيميائية المفيدة، وكذلك الجمع بين هتين الوظيفتين (Hardie & Ahmed, ١٩٩٥).

لقد اثبتت الابحاث التي قمنا بها أولاً أن لاستخدام المسوالك قدرة على تقليل اعداد البكتيريا الفمومية المسماة (Actinomycetemcomitan) *Actinobacillus* 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 الفمومية في احد الجامعات السويدية وعمل ابحاثنا المخبرية في مختبره المعروف. وبعد القيام بالدراسة التي تم شرحها في الجزء السابق وجدنا أن لخلاصة مسوالك اعواد الاراك القدرة الفائقة على منع وایقاف 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 المسوالك على قتل بعض انواع الميكروبات تعود الى وجود العديد من المركبات البصلية، والتي لها قوة تأثير على الانزيم المسمى البيروكسайдيز ثيوسيانينيت (Peroxidase thiocyanates)، والنظام المضاد للبكتيريا المعتمد على انزيم الهيدروجين بيروكسيد (Hydrogen peroxide).

ان الدراسة التي بين ايديينا اظهرت بما لا شك فيه أن هناك مواد يتم افرازها من مسوالك اعواد الاراك لها القدرة لتبطیط وایقاف نمو البكتيريا الفمومية المسماة (Actinomycetemcomitan) *Actinobacillus*.

وبهذه الخاصية يكون لها القدرة على حماية الخلايا البشرية المناعية من الموت فيما لو تم الهجوم عليها من السموم القاتلة المفرزة 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 ونتائجها 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 ١٩٧٢ م:.
٣. صحيح ابن حبان بترتيب ابن بلبان ، مؤسسة الرسالة بيروت ١٤١٤ هجري
٤. احمد بن حنبل: مسنن احمد، تحقيق احمد شاكر، دار المعارف، القاهرة
٥. احمد 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 أبي داود، ضبط وتعليق محمد محيي الدين عبد الحميد، 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 عبد المجيد السلفي.
١٠. السواك، للدكتور محمد على البار، دار المنارة للنشر والتوزيع، جدة.
١١. الأحكام النبوية في الصناعة الطبية، للكحال ابن طرخام (على بن عبد الكريم الحموي)، تحقيق عبد السلام هاشم حافظ، البابي الحلبي، القاهرة، ١٩٥٥ م.
١٢. صلاح الحنفي : السواك، رسالة جامعية، جامعة دمشق، ١٩٦٢ م.
١٣. د/ ابو حذيفة ابراهيم محمد: السواك اهميته واستعماله، طنطا، ١٩٨٧ م.
١٤. د/ محمود ناظم النسيمي، الطب النبوي والعلم الحديث، بيروت ١٩٨٧ م.
١٥. د/ عبد الرزاق 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 (Miswak) 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 Salvadoria 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.Löe 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.Papapanou 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 Graaff 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.Sathananthan K. Vos T. Banga 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 victamine 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. Concensus 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.