بررسی فراوانی درصد استرپتوکوک میتیس در پلاک میکروبی همراه با بیماری ژنژیویت و اثر آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام بر این باکتری

دکتر پریچهر غلیانی[۱]، منصوره آزاده*[۱]، دکتر روحا کسری کرمانشاهی[۲]، دکتر محمدرضا زرگرزاده[۳]

چکیده

مقدمه: پلاک میکروبی عمده‌ترین عامل ایجاد کننده بیماری‌های شایع دهان از جمله پوسیدگی دندان و بیماری‌های لثه و بافت‌های پریودنتال از جمله ژنژیویت می‌باشد. ژنژیویت یک بیماری التهابی مخرب است و حذف پلاک میکروبی هدف اصلی درمان این بیماریست. هدف از انجام این پژوهش، شناسایی باکتری‌های ناحیه بیمار و درصد آنها بود. همچنین اثر انواع آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام بر باکتری‌های شناسایی شده بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش توصیفی تحلیلی و تجربی، ۱۰۰ بیمار مراجعه کننده به بخش بیماری‌های دهان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در سال‌های ۱۳۸۳-۱۳۸۲ مورد پژوهش قرار گرفتند. با استفاده از پروب پریودنتال از پلاک موجود در ناحیه سرویکال دندان‌های قدامی مبتلا به ژنژیویت نمونه برداری شد. نمونه‌ها به محیطهای کشت بلاد آگار و شوکلات آگار انتقال داده شد. تعداد کل ۳۶۱ محیط کشت باکتری مورد بررسی قرار گرفت که با آزمون‌های بیوشیمیایی شناسایی شدند. با روش کربی بایر (Kerby –Bauer) سویه استرپتوکوک میتیس به ده نوع آنتی بیوتیک تعیین حساسیت شد و وجود اختلاف بین میانگین قطر هاله عدم رشد نمونه‌های مورد آزمایش با سویه‌های استاندارد معین گردید. اطلاعات به دست آمده توسط آزمون آماری t-test و با استفاده از نرم افزار spss مورد تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: در این پژوهش تعداد کل محیطهای کشت باکتری‌ها ۳۶۱ عدد بود که گونه استرپتوکوکوس شناسایی شده ۲۰۴ (۵۵/۹۸ درصد) محیط کشت بود. از این میزان، استرپتوکوکوس میتیس ۱۲/۹۳ موارد را به خود اختصاص داد. سویه‌های استرپتوکوکوس میتیس به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام با حساسیت بیش از ۸۰ درصد جواب دادند، به استثنای پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین که بیش از ۷۰ درصد سویه‌ها به آنها حساس بودند. ۲ درصد سویه‌ها به کلیندامایسین حساسیت نشان دادند.

نتیجه‌گیری: با توجه به تاثیر آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام بر سویه‌های استرپتوکوک میتیس، آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است به عنوان روشی موثر در کنار روش‌های دندانپزشکی به پیشبرد موفق درمان ژنژیویت منجر شوند.

کلید واژه‌ها: ژنژیویت، استرپتوکوکوس میتیس، آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام.

* کارشناس ارشد میکروبیولوژی، فلاورجان، دانشگاه آزاد فلاورجان، اصفهان، ایران. (مؤلف مسؤول)
ma_azadeh1382@yahoo.com

۱: دانشیار، گروه بیماری‌های دهان و دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲: استاد، گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه الزهرا (س) تهران، تهران، ایران.

۳: دکتری تخصصی فارموسیوتیکس، داروسازی فارابی، اصفهان، ایران.

این مقاله در تاریخ ۸۸/۱۱/۱۱ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۸۹/۳/۲۳ اصلاح شده و در تاریخ ۸۹/۴/۱۵ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان
۱۳۸۹؛ ۶(۳)؛ ۲۰۳ تا ۲۰۶

مقدمه

پلاک میکروبی عمده ترین عامل ایجاد کننده بیماری‌های شایع دهان از جمله پوسیدگی دندان و بیماری‌های لثه و بافت‌های پریودنتال می‌باشد. یکی از شایع‌ترین این بیماری‌ها ژنژیویت است و حذف پلاک میکروبی هدف اصلی جهت درمان آن می‌باشد. ژنژیویت یک بیماری التهابی لثه است وشایع‌ترین شکل بیماری لثه را شامل می‌شود. تقریبا همیشه التهاب لثه با اشکال مختلف در بیماری‌های لثه ایجاد می‌شود. عوامل موضعی نظیر پلاک دندانی، جرم و ماتریا آلبا به دلیل حضور و فعالیت میکروارگانیسم‌ها و مواد تولید شده توسط آنها سبب ایجاد ژنژویت می‌گردند[۱]. ژنژیویت مرتبط با پلاک میکروبی شایع ترین فرم بیماری لثه می‌باشد. این بیماری نتیجه اثر متقابل بین میکروارگانیسم‌های پلاک دندانی، بافت میزبان و سلول‌های التهابی می‌باشد. تداخل میزبان –پلاک ممکن است تحت تاثیر عوامل موضعی، سیستمیک ویا هر دو و نیز داروها و سوء تغذیه قرار گیرد. همه این عوامل ممکن است شدت و مدت پاسخ میزبان را تحت تاثیر قرار دهند[۲].

این بیماری دو گونه کلی حاد و مزمن دارد: در نوع حاد با بیماری دردناکی مواجه می‌شویم که به طور ناگهانی تظاهر کرده، فقط مدت کوتاهی ادامه دارد. از انواع آن می‌توان ژنژیویت اولسراتیو نکروتیک حاد و ژنژیویت استوماتیت هرپتیک را نام برد. نوع مزمن شایع ترین نوع بیماری لثه محسوب می‌شود و تحت عنوان ژنژیویت ساده نیز نامیده می‌شود. این نوع ژنژیویت ممکن است بدون پیشرفت برای مدتها باقی بماند و یا اینکه بعد از مدتی به تخریب سایر بافت‌های پریودنشیوم منتهی گردد[۱].

شایع‌ترین علت ایجاد بیماری لثه، رعایت نکردن بهداشت صحیح دهان می‌باشد که باعث تجمع پلاک باکتریال می‌شود. عوامل موضعی دیگری نظیر گیر مواد غذایی، جرم دندانی، تنفس دهانی و ترمیم‌های غلط نیز نقش ثانویه را دارا می‌باشند[۲]. در هنگام بلوغ و حاملگی به علت وجود عوامل هورمونال و تشدید جذب پلاک میکروبی، ژنژیویت ایجاد می‌شود. در بیماران دیابتی کنترل نشده، عکس العمل بافت نسبت به مواد تحریک کننده موضعی تشدید می‌شود. در دوران یائسگی تغییرات التهابی در لثه به صورت خونریزی و درد است که تجویز استروژن و پروژسترون موجب بهبودی این نوع التهاب لثه می‌شود[۳].

به احتمال زیاد استرپتوکوک میتیس شایع‌ترین گونه استرپتوکوکی است که از پلاک‌های دندانی جدا می‌شود. پژوهش‌های اخیر بر روی صد سویه از این باکتری نشان داده که این گونه از نظر فیزیولوژی و سرولوژی نامتجانس است و به علاوه می‌توان بر اساس آنتی‌ژن‌های هیدرات کربنی دیواره سلولی آنها را گروه بندی کرد[۴]. نخستین قدم برای درمان بیماری ژنژیویت برداشتن پلاک میکروبی است که باید به همراه درمان آنتی بیوتیکی انجام گردد[۱]. یکی از اهداف این پژوهش شناسایی باکتری‌های ناحیه بیمار و تعیین درصد آنها می‌باشد. از دیگر اهداف پژوهش حاضر تعیین اثربخشی داروهای رده اول و دوم بر استرپتوکوک میتیس می‌باشد. درمان این بیماری بسیار مهم است زیرا از پیشرفت آن و تبدیل به بیماری پریودنتال جلوگیری می‌کند[۱].

مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع پژوهش‌های توصیفی – تحلیلی و تجربی بود و در سال‌های ۱۳۸۳–۱۳۸۲ در مورد ژنژیویت انجام شد. همه بیماران مراجعه کننده به بخش بیماری‌های دهان و تشخیص دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان در سال‌های ۱۳۸۳–۱۳۸۲ توسط متخصصان بیماری‌های دهان به دقت معاینه شدند و تعداد ۱۰۰ نفر مبتلا به ژنژیویت همراه با پلاک موجود بر روی سطوح دهانی انتخاب گردیدند. ازبیماران رضایت نامه کتبی گرفته شد. از تعداد ۱۰۰ نفر بیمار، ۵۵ نفر مرد و ۴۵ نفر زن بودند. با توجه به آزمون‌های بیوشیمیایی، ۶ نفر آنتی بیوتیک مصرف کرده بودند و ۹ نفر جرم گیری کرده بودند ولی همچنان به این بیماری مبتلا بودند. بیماران التهاب و قرمزی لثه داشتند ولی پاکت پریودونتال نداشتند و هیچ یک به بیماری سیستمیکی مبتلا نبودند. با توجه به التهاب لثه، از سطح دندان‌های قدامی مبتلا به ژنژیویت نمونه برداری انجام شد. برای نمونه‌گیری، برای هر فرد جداگانه از پروب پریودنتال دندان‌پزشکی استریل استفاده شد و نمونه گرفته شده از قسمت عفونی لثه فرد بر روی محیطهای کشت شکلات آگار و آگار خونی تلقیح گردید. پس از آن نمونه‌ها به آزمایشگاه میکروب شناسی منتقل شدند. محیط کشت شکلات آگار در دستگاه حاوی CO_2 قرار داده شد و آگار خونی در شرایط هوازی در گرمخانه با دمای $37^{\circ}C$ به مدت ۲۴–۱۸ ساعت اتو گذاری (یا گرمخانه گذاری) شد. پس از رشد آنها خالص سازی به روش streek plate انجام شد. در ابتدا، از کلنی‌های تک نمونه‌های

www.mui.ac.ir

خالص سازی شده رنگ‌آمیزی گرم به عمل آمد. کلنی‌ها پس از حصول اطمینان از خالص بودن، جهت غنی سازی بر روی محیط آبگوشتی Tripticase Soy Brouth تلقیح شده، پس از ۱۲-۶ ساعت که کدورت لازم ایجاد گردید بر روی محیط آگار خونی کشت داده شدند و دوباره رنگ آمیزی انجام گرفت. کلنی‌ها در صورت خالص بودن بر روی لوله‌های اسلنت حاوی آگار خونی جهت نگهداری کشت داده می‌شدند[۵]. با توجه به آزمون‌های بیوشیمیایی و طبق الگوی مندرج در منابع، ابتدا آزمون کاتالاز به کار گرفته می‌شد و در صورت منفی بودن این آزمون به شناسایی تخصصی این سویه پرداخته می‌شد. ابتدا آزمون‌های بیوشیمیایی از جمله تخمیر قندهای سوربیتول، لاکتوز اینولین و مانیتول انجام می‌شد. این آزمون‌ها بر روی باکتری استرپتوکوک میتیس منفی می‌باشند و محیط آگار خونی به رنگ صورتی باقی می‌ماند و اگر از محیط ساکارز آگار استفاده شود، چسبندگی و لزج بودن ایجاد نمی‌شود. آزمون‌های حساسیت به باسیتراسین و اوپتوچین منفی است. حل در صفرا و آزمون دهیدرولاز و رشد در نمک طعام ۶/۵ درصد باکتری مزبور نیز منفی است و همولیز بتا ایجاد می‌شود. پس از جدا سازی و شناسایی نوبت به تست آنتی بیوگرام می‌رسد[۶]. دیسک‌های آنتی‌بیوگرام استفاده شده عبارت بودند از پنی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، کوآموکسی‌کلاو، آمپی‌سیلین، کلوکساسیلین، سفالکسین، سفکسیم، نئومایسین، نئوبیوسین، سفوروکسیم، اریترومایسین، جنتامایسین، تتراسایکلین و وانکومایسین (شرکت پادتن طب و ایران دارو). دیسک‌های تشخیصی اوپتوچین و باسیتراسین (شرکت پادتن طب). قرص کوآموکسی‌کلاو و کپسول آموکسی‌سیلین (شرکت داروسازی فارابی).

به منظور ارزیابی حساسیت میکروبی نسبت به آنتی بیوتیکها از روش دیسک پلیت (کربی بایر) و جهت مقایسه و تنظیم کدورت از نیم مک فارلند استفاده شد[۷]. برای باکتری‌های استرپتوکوک باید قبل از توزیع ۵ درصد خون به پلیتها اضافه کرد. برای اطمینان از استریل بودن محیط کشت حاصله، آن را به مدت ۲۴ ساعت در اتوکلاو ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده، در صورتی که بعد از این مدت رشدی در محیط مشاهده نشود، محیط استریل ارزیابی می‌شود و در یخچال در حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد حداکثر به مدت یک تا دو هفته قابل نگهداری است. این محیط برای انجام آنتی‌بیوگرام در این پژوهش به کار رفت. قطر هاله عدم رشد باکتری برای هر نمونه در محیط کشت اندازه گیری شد. میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد باکتری محاسبه گردید. اطلاعات به دست آمده توسط آزمون آماری t-test و با نرم افزار spss مورد تحلیل قرار گرفت (α =۰/۰۵).

یافته‌ها

در این پژوهش تعداد کل محیطهای کشت باکتری‌ها ۳۶۱ عدد بود که از این بین گونه استرپتوکوک شناسایی شده ۲۰۴ (۵۵/۹۸ درصد) محیط کشت بود. تعداد و درصد استرپتوکوک‌ها به این صورت بود: استرپتوکوک پنومونیه ۴ عدد (۱/۵ درصد)، استرپتوکوک سنگویس ۱۰۰عدد (۲۶/۴ درصد)، استرپتوکوک موتانس ۴۰ عدد (۱۰/۷ درصد)، استرپتوکوک سالیواریوس ۱۰ عدد (۲/۶۳ درصد)، استرپتوکوک میتیس ۴۵ عدد (۱۲/۹۳ درصد)، استرپتوکوکوس اینترمدیوس ۵ عدد (۱/۳۱ درصد). درصد سایر باکتری‌های جدا شده بجز استرپتوکوک‌هابه این قرار بود: استافیلوکوک اورئوس ۲/۶۲ درصد، کوکسی گرم منفی ۱۴/۲۲ درصد، باسیل گرم مثبت ۲۳/۳۸ درصد، رشته‌ای گرم مثبت ۱/۳ درصد، باسیل گرم منفی ۱/۳ درصد، مخمر ۱/۳ درصد، رشته‌ای گرم منفی ۱/۳ درصد.

در جدول (۱) میانگین و انحراف معیار آنتی‌بیوتیک‌های مختلف برای استرپتوکوک‌های شناسایی خلاصه شده است.

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد باکتری‌های استرپتوکوکوس میتیس در برابر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام

نوع آنتی‌بیوتیک	CN	CX	AM	AMC	AMX
انحراف معیار + میانگین	۲۶/۳ ± ۴/۸	۴/۶ ± ۶/۱	۲۶/۲ ± ۳/۶	۲۸/۴ ± ۲/۵	۲۶/۷ ± ۴/۵
نوع آنتی‌بیوتیک	V	E	TE	P	CC
انحراف معیار + میانگین	۱۷/۱۷ ± ۰/۳۸	۲۸/۵ ± ۵/۷	۲۵/۵±۴/۶	۲۷/۸ ± ۴/۲	۲۴/۱ ± ۴/۱

AMC: کوآموکسی کلاو. AMX: آموکسی سیلین. AM: آمپی سیلین. CX: کلوکساسیلین. CN: سفالکسین. CC: کلیندامایسین. V: وانکومایسین. P: پنی سیلین. TE: تتراسیکلین. E: اریترومایسین

www.mui.ac.ir

بحث

پژوهش‌های قبلی نشان می‌دهد که تشخیص موقعیت کانین عامل ژنژیویت ناشی از پلاک میکروبی دندانی در ۵۱ درصد موارد کوکسی‌های گرم مثبت و در ۴۴ درصد موارد کوکسی‌های گرم منفی می‌باشند. در سایر موارد باسیل‌های بی‌هوازی اجباری و اختیاری مشاهده می‌شوند. باکتری‌های گرم مثبت شامل استرپتوکوک‌های ویریدانس از جمله استرپتوکوک میتیس و موتانس، سنگویس، اینترمدیوس و سالیواریوس می‌باشند[۱]. در پژوهش حاضر بیشترین نوع باکتری جدا شده در ژنژیویت، گونه‌های مختلف استرپتوکوک بود. بر اساس پژوهش Mandell در سال ۲۰۰۵ [۸] هم بیشترین عامل، استرپتوکوک‌ها شامل سنگویس، ویریدانس و پیوژنزیس بودند. این موضوع طبیعی به نظر می‌رسد زیرا در حالت عادی هم استرپتوکوک‌های ویریدانس روی دندان نسبت به سویه‌های ذکر شده غالب بوده، پس از تخریب بافت توانسته‌اند عامل اصلی ایجاد عفونت باشند[۱]. براساس پژوهش Mandellدر سال ۲۰۰۵ [۸]، پنی‌سیلین‌ها بر روی این گونه‌ها مؤثر می‌باشند و از نظر آنها پنی‌سیلین داروی انتخاب اول دارویی می‌باشد. تکنیکی که در این پژوهش برای شناسایی استرپتوکوک‌ها به کار رفت براساس تخمیر قندها و هیدرولیز اسکولین یا به طور خلاصه خصوصیات بیوشیمیایی آنها بود، ولی در پژوهش Cicek در سال ۲۰۰۴ [۹] از روش ELISA برای این منظور استفاده شد. گروه پنی‌سیلین‌ها هنوز داروی انتخابی اول در درمان بیماری دهان می‌باشد، همان طور که در پژوهش حاضر نیز درصد زیادی از استرپتوکوک‌های ویریدانس به این‌گروه‌های دارویی حساسیت نشان دادند. براساس پژوهش Kuriyama در سال ۲۰۰۲ [۱۰]، پنی‌سیلین‌ها بر درصد زیادی از استرپتوکوک‌های ویریدانس مؤثر می‌باشند. از نظر آنها هم پنی‌سیلین‌ها داروی انتخاب اول می‌باشد. در پژوهش مذکورگفته شده در صورتی که بیماری قبلا از پنی‌سیلین استفاده کرده باشد و هنوز درمان نشده می‌تواند از آموکسی‌سیلین یا کوآموکسی‌کلاو استفاده کند. بر اساس پژوهش Sandor در سال ۱۹۹۸ [۱۱]، در بین آنتی بیوتیک‌ها پنی سیلین‌ها برای درمان پیشنهاد می‌شوند، به خاطر اینکه آنها طیف ضد باکتریایی وسیعی را در بر می‌گیرند و کمترین سمیت را دارند و علاوه بر این مزایا، قیمت مناسبی نیز دارند.

References

1. Newman MG, Takei H, Carranza FA, Klokkevold PR. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. Philadelphia: W.B. Saunders: 2006. p. 150-60, 314-21, 660-4.
2. Zaree Beigi M. Microbiology of plaque and dental caries. 1st. Mashhad; 1997. p. 41-58.
3. Ghaem Maghami A. Occupational therapy on dentistry. 1st ed. Tehran: Jahad Daneshgahi Shahid Beheshti University; 1986. p. 10-28.
4. Moenning JE, Nelson CL, Kohler RB. The microbiology and chemotherapy of odontogenic infections. J Oral Maxillofac Surg 1989; 47(9): 976-85.
5. Rashed T, Nazem M. laboratory bacteriology. 3rd ed. Mashhad: Mashhad University; 1996. p. 382-462.
6. Murray PR, Baron EJ, American Society for Microbiology. Microbiology clinical of Mannual. 7th ed. Washington, DC: ASM Press; 1999. p. 264-79.
7. Baron EJ, Bailey WR, Finegold SM. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 8th. Philadelphia: Mosby; 1990. p. 323-33.
8. Mandell GL, Douglas RG, Bennett GE. Infections of the oral cavity neck and head. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and practice of infectious diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005. p. 787.
9. Cicek Y, Ozgoz M, Canakci V, Orbak R. Streptococcal gingivitis: a report of case with a description of a unique gingival prosthesis. J Contemp Dent Pract 2004; 5(3): 150-7.
10. Kuriyama T, Karasawa T, Nakagawa K, Nakamura S, Yamamoto E. Antimicrobial susceptibility of major pathogens of orofacial odontogenic infections to 11 beta-lactam antibiotics. Oral Microbiol Immunol 2002; 17(5): 285-9.
11. Sandor GK, Low DE, Judd PL, Davidson RJ. Antimicrobial treatment options in the management of odontogenic infections. J Can Dent Assoc 1998; 64(7): 508-14.

www.mui.ac.ir

Prevalence of Streptococcus mitis in the bacterial plaques associated with gingivitis and its sensitivity to β-lactam antibiotics

Ghalyani P, Azadeh M*, Kasra kermanshahi R, Zargarzadeh M

Abstract

Introduction: *Bacterial plaque is the most common etiology of oral conditions such as dental caries, gingivitis and periodontal disease. One of the most common periodontal diseases is gingivitis. Elimination of bacterial plaque is the main goal in treatment of this destructive inflammatory disease. The purpose of this study was to investigate the prevalence of Streptococcus mitis in bacterial plaque and its sensitivity to β-lactam antibiotics.*
Materials and Methods: *In this cross sectional study, we evaluated the effectiveness of 10 β-lactam antibiotics for the treatment of gingivitis via determining the antimicrobial susceptibility of the major pathogens. This study included 100 patients referring to Oral Disease Department at the School of Densitry, Isfahan University of Medical Sciences, from 2003 to 2004. Sampling of plaques on the cervical region of anterior teeth was performed with periodontal probes. Samples were then cultured into chocolate and blood agar media. In this study a total of 361 types of bacteria were isolated. Isolated strains were identified through biochemical tests. The antimicrobial susceptibility of Streptococcus mitis to 10 β-lactam antibiotics was assessed by Disk plate and Kerby– Bauer. The collected data were analyzed via t-test on a computer using SPSS (α = 0.05).*
Results: *The results showed that there were 204 Streptococcus strains (55.9%). Streptococcus mitis formed 12.93%. The sensitivity of Streptococcus mitis to β-lactam antibiotics was more than 80% except for penicillin and ampicillin. As much as 2% of strains were sensitive to clindamycin.*
Conclusion: *Streptococcus mitis in the dental plaques seem to be sensitive to β-lactam antibiotics. Therefore such antibiotics might be considered for the treatment of gingivitis.*

Key words: *Gingivitis, Streptococcus mitis, β-lactam antibiotics.*

Received: 31 Jan, 2010 **Accepted:** 6 Jul, 2010

Address: MSc of microbiology, Azad University of Falavarjan, Isfahan, Iran.

Email: ma_azadeh1382@yahoo.com

Journal of Isfahan Dental School 2010; 6(3): 203-206.

www.mui.ac.ir