

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسيّة

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

## عزل وتشخيص بكتريا

# Streptococcus Mutans

## المسببة لتسوس الأسنان

( لطلبة كلية العلوم )

بحث تخرج مقدم إلى قسم علوم الحياة / كلية العلوم /

جامعة القادسية , وهو جزء من متطلبات نيل درجة

البكالوريوس في علوم الحياة من قبل الطالبة

حنين هادي ناصر

إشراف

الدكتور ميثم غالي يوسف

# الخلاصة

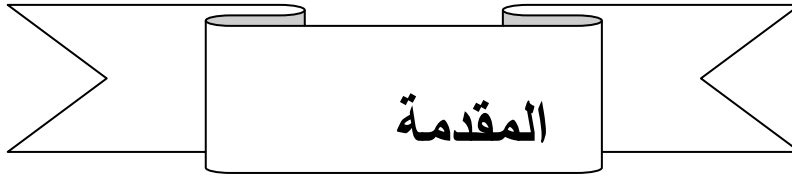
.. الخلاصة ..

جمعتُ لهذه الدراسة عشرين عينة من طلاب كلية العلوم جامعة القادسية , و لكلا الجنسين ( عشرة ذكور وعشر إناث ) من الذين يعانون تسوساً في الأسنان ....

وقد بينت نتائج الاختبارات المظهرية والكيموحيوية عائدية ( 5 ) عزلة لبكتريا العقدية الطافرة streptococcus mutans .

كما بينت نتائج الدراسة أن هذا النوع البكتيري يصيب كلا الجنسين حيث بلغت أعداد الذكور المصابين ( 2 ) والإناث ( 3 ) .

كما بينت نتائج الدراسة أن هذه الأنواع البكتيرية تستخدم المواد الكربوهيدراتية لتحويلها إلى أحماض .



الاستعمار الجرثومي للأسنان يبدأ فور بزوغ الأسنان والبروتينات اللعابية ومعطف بروتين سطح المينا ( R .J 1973- lie , T 1977 , Gibbons , ) وأن معظم هذه الاستعمارات في وقت مبكر هي نوع من المكورات العنقودية الطافرة على الرغم من أن الأسنان تصبح موطناً للوحة من مئات الآلاف من الأنواع البكتيرية ( D 1993 – moore ) (Smith , J ,WFC 1985) وأن العديد من هذه الأنواع قادرة على تخمر المواد الغذائية الكربوهيدراتية وإفراز حامض كمنج ثانوي , وهذا ما أدى ب ( ميلر ) في عام 1890 إلى إقترح النظرية الكيميائية

الطفيلية من تسوس الأسنان ( Miller ,W D 1890 ) هذه النظرية وصفها لاحقاً باسم فرضية اللوحة غير محدودة .  
( Loesche 1982 ) ، على افتراض أن decaifcation من المينا أو تسوس الأسنان كانت نتيجة لحجم الإنتاج التراكمي من حامض البكتريا للوحة الأسنان .  
في عام 1924 بين كلارك أن الأنواع البكتريا المعزولة من آفات نخر يشبه شكل متحول من مكورة وعلى فقد اعتبرها العقديّة الطافرة ( Clarke 1924) .  
ولم يتم التعرف على الطافرة في تسوس الأسنان عموماً حتى أكد هذا الباحثون عام 1960 بعد إجراء دراسات عدة على أنها هي الطافرة العقديّة streptococcus mutans .

# الفصل الأوّل

- الاسم العلمي

- وصف البكتريا

- العلامات والأعراض

- الامراضية

- الاستعمار

- الاستجابة المناعية

- العلاج

(١-١) الاسم العلمي :

**Streptococcus Mutans**

التصنيف العلمي :

kingdom	bacteria
Phylum	firmicutes
Class	bacilli
Order	Lactobacillales
<b>Family</b>	<b>Streptococcace</b>
Genus	Streptococcus
Species	S .mutan s



### (2-1) - وصف البكتريا المسببة لتسوس الأسنان :

العقدية الطافرة مكورات لا هوائية اختيارية موجبة لصبغة كرام توجد عادةً في تجويف الفم البشري وهو المساهم الرئيسي في تسوس الأسنان نتيجة لاضمحلال يمكن ان يؤثر بشكل كبير على الصحة العامة للفرد ( whiley 2013 ) . الطافرة متوسطة الحرارة تنمو في درجات حرارية ما بين ( 18 - 40 ) درجة مئوية , وهي الأكثر شيوعاً لدى الأطفال والرضع ونقل المورثات هي المسؤولة عن انتقال الطافرة من الأمهات إلى الأطفال ( Javed 2013 ) .

### (3-1) - الأمراض :

تعتبر المكورات العقدية الطافرة جزء من الفلورا الطبيعية من فم الإنسان لكن يمكن أن تنتقل من شخص لآخر عن طريق الانتقال الأفقي أو العمودي مسار انتقال العقدية الطافرة هو استعمار المضيف البشري بين نفسها .

### (4-1) - العلامات والأعراض :

المكورات العقدية الطافرة يمكن تحديدها من خلال بقعة طباشيرية بيضاء على سطح الأسنان مما يشير إلى مجال من تنقية المينا الذي يشار إليه عادة باسم آفة التسوس , آفة تظهر وهي أقرب تشخيص لتسوس الأسنان وبما أن demineralizes تزيد من الضرر , فإن يمكن أن يتحول إلى اللون البني وسوف يؤدي إلى تجويف في نهاية المطاف , فيتم فقدان بنية الأسنان ولا يمكن تجديدها , فهي آفة يظهر اللون البني اللامع والظلام تشير أن الآفة موجودة بالإضافة إلى تشكيل تجويف العقدية الطافرة السلالة البكتيرية , كما يمكن أن تسبب رائحة الفم الكريهة و أمراض اللثة (M. Spiller ) .

#### (5-1) - الاستعمار :

النمو والتمثيل الغذائي للطافرة العنقودية يغير الظروف البيئية من الفلورا الفموية والتي تمكن الكائنات الحساسة للاستعمار ويتسبب في تشكيل لوحة الأسنان العقدية الطافرة , فهي الكائنات الحية الدقيقة التي تنتج لسطح الأسنان خلق بيئة غروية بعد التمسك بالأسنان تبدأ العقديات الطافرة بالانقسام و إنتاج microcolonies ضمن طبقة الوصل تبدأ العقديات الطافرة بالنمو وتوليف dextransucrase مع الإنزيم , يحوي الديكسبران كبسولة التي تربط المينا وتكون glucanase مع الإنزيم في رد فعل السكروز , الكلوز مع الفواكه مع هذه المنتجات وكمصدر للطاقة لنمو البكتريا بينما تبدأ بلمرة الكلوز إلى بوليمر ديكتران خارج الخلية , وهذا أمر مهم لأن البوليمر يعزز الطافرة S في المينا والمواد النشوية يمكن أن يزيل البلمرة يؤدي إلى تسوس الأسنان (K. Todar ) .

#### (6-1) - الاستجابة المناعية :

المكورات العقدية الطافرة هو المرض الرئيسي لتسوس الأسنان بسبب القدرة على الالتزام والتراكم على سطح الأسنان , الاستجابة المناعية و الفطرية و التكيفية هما الجوانب الرئيسية للجهاز المناعي التي تستجيب للالتهابات مثل تسوس الأسنان .

تدخل المكورات العقدية إلى الفم والأنسجة المخاطية المرتبطة لغدد خارجية الإفراز والغدة اللعابية يساهم في إنتاج تجويف الفم لأن هذه المناطق مسؤولة عن تكوين مستضد يحتوي على الخلايا الداخلية والأجسام المضادة المحددة للبكتريا عن طريق الفم , فلاجسام المضادة إفرازية مضادة ضد تسوس الأسنان , والاستجابة المناعية هي الخلايا البلعومية التي يمكن أن تقتل البكتريا عن طريق عدة آليات ( Web MD ) .

### (7-1) - العلاج :

إن معالجة تسوس الأسنان يتوقف على مدى تسوس الأسنان , فقد يكون طفيفاً يتم معالجته باستخدام الفلورايد , عندما يتم استهلاك السكر يقوم بمعالجتها.

البكتريا بالفم تتجمع لإنتاج السكر مع ال acidthis فيؤدي إلى تآكل مينا الأسنان , ويستخدم الفلورايد لحماية الأسنان من الأضرار الناتجة عن الحامض , فيقوم الفلورايد بتجميع المناطق المنزوعة من الأسنان وتقوية المينا في عملية تدعى إعادة التمعدن , الفلورايد فعال في منع تسوس الأسنان وجعل الأسنان أقوى ولكن يكون أقل فعالية إذا شكلت التجاويف .

أما في حالة تسوس الأسنان المكون للتجاويف سوف تحتاج تنفيذ كاف أما ملء

مركب أو مزيج من اثنين (Web M D - Spiller M).



# الفصل الثاني

## المواد وطرائق العمل

المواد وطرائق العمل ( materials and methods )

المواد ( materials )

( 2-1 ) \_ الأجهزة والأدوات المستخدمة ( apparatus and equipment )

(

Autoclave	موصدة	-1
Water bath	حمام مائي	-2
Hood	كابينة التعقيم	-3
Hotplate	صفيحة التسخين	-4
Incubator	حاضنة	-5

Oven	فرن كهربائي	-6
Distiller	جهاز التقطير	-7
Microliter pipettes	ماصات دقيقة	-8
Refrigerator	ثلاجة	-9
Loop	الناقل الزرعي	-10
Petridishes	أطباق بتري	-11
Sterilized swabdisches	مسحات قطنية معقمة	-12
Slides	شرائح زجاجية	-13
Test tube	أنابيب اختبار	-14

(2-2) - الأوساط الزرعية المستعملة :

استعمل هذا الوسط لتحري عن قابلية نمو البكتريا	Blood agar base	1
استعمل بوصفه وسط تفرقي بين البكتريا الموجبة والسالبة	Macconkey agar	2

(2-3) - الصبغات ( stain ) :

صبغة كرام	Gram stain
-----------	------------

طرائق العمل

طرائق العمل :

تحضير المحاليل والكواشف ... solution and reagents

الكواشف :

- كاشف الكاتليز ... catalase reagent

استعمل هذا الكاشف وهو محلول بيروكسيد الهيدروجين بتركيز ( 3 % ) وذلك بإذابة 3 غرام من  $H_2O_2$  في 100 مليلتر من الماء المقطر المعقم , وحفظ في قنينة معقمة .

استخدم هذا الكاشف لغرض التحري عن قدرة البكتريا على إنتاج إنزيم الكاتليز ( collee , 1996 ) .

الأوساط الزرعية ... culture media

- وسط أكار الدم ... Blood agar medium

حضر وسط أكار الدم المعقم والمحضر حسب تعليمات الشركة المصنعة , ثم برد الوسط بدرجة ( 45 - 50 ) م , وأضيف له 5% من دم الإنسان صنف AB ثم صبّ في أطباق بتري معقمة , وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال ( macfaddin , 2000 ) .

- وسط الجيلاتين : Gelatine agar

يحضر الوسط بإذابة ( 6 ) غم من الجيلاتين في (500) مليلتر من المرق المغذي وزرع في أنابيب اختبار زجاجية بواقع 5 مليلتر لكل أنبوبة ثم عقم بالموصدة وحفظ في الثلاجة إلى حين الاستعمال .  
استعمل هذا الوسط لغرض التحري عن العزلات القادرة على إسالة الجيلاتين ( Atlas R .M 1995 ) .

## طرائق التعقيم ... Sterilization method

### A - التعقيم بالحرارة الرطبة Wet hot sterilization

عقمت جميع الأوساط الزرعية الجاهزة والتركيبية بجهاز الموصدة Autoclave بدرجة حرارة (121) وضغط (1 جو) لمدة (15) دقيقة .

### B - التعقيم بالحرارة الجافة Dry hot sterilization

عقمت الزجاجيات المستعملة في الفرن الكهربائي Oven بدرجة حرارة 168م لمدة ساعة ونصف .

## الفحوصات الكيموحيوية Biochemical test

### A - اختبار إنتاج الهيموليسين Heamolysin test

لحق وسط أكار الدم بالبكتريا المراد فحصها ( 18 - 24 ) ساعة ثم حضنت الأطباق في درجة حرارة ( 37 ) م لمدة ( 24 ) ساعة . أن ظهور مناطق شفافة حول المستعمرة دلالة على قدرة البكتريا على تحليل الدم . ( 1996 , collee ) .

### B - اختبار تحلل إنزيم الجيلاتين Gelatin liquification

كشف هذا الاختبار عن قدرة البكتريا على إنتاج إنزيم الجيلاتينيز Gelatinase الذي يعمل على إسالة الجيلاتين إذ لقت أنابيب الوسط بطريقة

الطعن وحضنت بحرارة 37 م° لمدة ( 24 ) ساعة , ثم التحري على بقاء  
الجيلاتين صلباً بعد وضعه في الثلاجة بدرجة ( 4 م° ) لمدة نصف ساعة  
( collee , 1996 ) .

C- اختبار قابلية البكتريا على تخمير سكر اللاكتوز :  
استعمل هذا الاختبار للتحري عن قدرة البكتريا على تخمير سكر اللاكتوز إذ  
لقح الوسط السائل بالعزلات البكتيرية المنماة على وسط الأكار المغذي ,  
وحضن لمدة ( 24 ) ساعة بدرجة حرارة ( 37 م° ) حيث بعد تحول الوسط  
ككل إلى الأصفر تكون النتيجة موجبة لتخمير سكر اللاكتوز ( Macfaddin  
2000 ) .

## النتائج .. Results

- عزل بكتريا S.Mutans وتشخيصها :  
أثبتت الدراسات الحالية عائلية ( 5 ) عزلات إلى جنس S . Mutans من  
خلال دراسة بعض الصفات الزرعية و المجهرية والفحوصات الكيموحيوية .

- الصفات الزرعية Cultural characteristic  
ظهرت هذه البكتريا على وسط Blood agar مرتفعة قليلاً عن  
سطح المنبت الزرعى , وتحاط المستعمرات النامية على Blood agar  
, بمجال حوله ( هالة شفافة ) بسبب انحلال الدم وتحللها من نوع  $\alpha$

- الصفات المجهرية **Microscopic characteristic**  
 أظهرت نتائج الفحص المجهرى أن البكتريا المعزولة تترتب بشكل  
 سلاسل من كريات مستديرة موجبة لصبغة كرام .

- الفحوصات الكيموحيوية **Biochemical test**  
 شخّصت العزلات النامية على وسط **Blood agar** بالاعتماد  
 على الفحوصات الكيموحيوية حيث يظهر الجدول التالي بأن  
 البكتريا سالبة لاختبار الجيلاتين ومخمرة لسكر اللاكتوز وسالبة  
 لاختبار الكاتليز .

نوع الاختبار	النتيجة
الكاتليز	-
الجيلاتين	-
تخمير اللاكتوز	+

الأعداد والنسب المئوية لعزل البكتريا :  
 شخّصت 5 عزلات من مجموع العزلات التي جمعت من المرضى  
 والمتبرعين كما بينت الدراسة الحالية أن نسبة الإصابة لدى  
 الإناث كانت أكثر من الذكور .

الجنس	المصابين
الإناث	3
الذكور	2

# المصادر

# References



## References :

- Atlas R.M (1995) principle of microbiology .1 st .ed  
mosby .year book company .UsA
- Clarke , JK on the bacterial factor in the aetiology of  
dental carries (1924)
- Colle ,J.G , foraser A.O.,marmiom ,BP,and simmon  
.A.(1996)
- Dental health and tooth fillings (Web M D)
- Gibbons , R,J and van houte on the formation of the  
dental plaques (1973)
- Javed M.'transmission of streptococcus mutans from  
mother to child (2013)
- Lie ,T 'Early dental morphogenesis (1977)
- Loesche ,W.J 'Dental carries atreatactable infections  
(1982)
- Mac faddin J.E, 2000 biochemical test for bacteria ,3 nd  
and the Williams and wilkins. London .
- Miller ,WD.the micro-organisms of human mouth  
(1890)
- Moor WEC : comparative bacteriology of juvenile  
periodonitis in infect human (1985)
- Smith , D.J: oral streptococcal colonization of infants  
(1993)