وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية التربيه المسائية

قسم علوم الحياة

# دراسة تشخيصية لبعض انواع البكتريا الملوثة والمعزولة من اللثةالملتهبة لدى المصابين بداء السكريType1

بحث تخرج مقدم

الى مجلس كلية التربية / جامعة القادسية وهي جزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس في علوم الحياة / احياء مجهرية

تقدمت به الطالبة

نور عدنان يوسف حمزة الخالدي

بإشراف

م.د. ابتسام ثامر جعاز

2018 م 1439هـ

**سورة يوسف (76)**

# الاهداء

**الى الينبوع الذي لا يمل العطاء الى من حاكت سعادتي بخيوط منسوجة من قلبها الى والدتي العزيزة .**

**الى من سعى وشقى لأنعم بالراحة والعناء الذي لم يبخل بشي من اجل دفعي في طريق النجاح الذي علمني ان ارتقي سلم الحياة بحكمة وصبر الى والدي العزيز .**

**الى من حبهم يجري في عروقي ويلهج بذكراهم فؤادي الى اخواني وأخواتي .**

**الى من سرنا سويا ونحن نشق الطريق معا نحو النجاح والإبداع الى من تكاتفنا يدا بيد ونحن نقطف زهرة تعلمنا الى صديقاتي وزميلاتي.**

**الى من علمونا حروفا من ذهب وكلمات من درر وعبارات من اسمى واجلى عبارات في العلم الى من صاغوا لنا علمهم حروفا ومن فكرهم عبارات منارة تنير لنا العلم والنجاح الى اساتذتنا الكرام .**

**نور**

# شكر

**اقدم خالص عبارات الشكر والتقدير لرئاسة قسم علوم الحياة لأتاحتها فرصة اكمال بحثي الخاص بالتخرج , شاكرة تعاونكم الانساني والعلمي في العمل داخل مختبر الدراسات العليا في القسم كل ايات العرفان والتقدير الى استاذتي د. ابتسام ثامر لتعاونها اللامحدود في انجاز هذا البحث كل الشكر لمنتسبي مركز السكري في محافظة القادسية ومستشفى الديوانية العام ومستشفى الولادةوالأطفال التعليمي في المحافظة, كل ايات الاحترام والتقدير الى الاطباء الذين ساعدونا في جمع العينات .**

**وفق الله الجميع لمرضاته**

## الخلاصة

جمعت 22 مسحة فموية من مرضى يعانون من داء السكر (Type 1) بعمر14 – 26 سنة ولديهم اعراض انسحاب اللثة اذ تم عزلوتشخيص 31 عزلة كانت البكتريا الموجبة لصبغة كرام قد بلغت 14عزلة بنسبة 45 % اذ ان بكتريا**Streptococci** قد بلغ 57% بواقع 8 عزل وبكتريا**Staphylococci**بلغت24.8% بواقع 6 عزلة اما البكتريا السالبة لصبغة كرام فبلغت.35 5% بعدد 11عزلة كانت لبكتريا ***Escherichiacoli***عزل 6 بنسبة 63.6 % ولبكتريا 4***Klebsiellapneumonia***عزل بنسبة 12.9 % اما الخمائر المعزولة فكانت الخميرة التي عزلت هي ***Candidaalbicans*** بواقع6 عزل بنسبة19.3% , فيما كانت نتائجتاثير المضاد الحياتي **Nitruforation** على البكتريا السائدة في هذه الدراسة **Streptococci** قد بلغت بنسبة 87.5 % تلاها مضاد **Ceftazidim** بنسبة حساسية 75% ثم تلاها مضاد**Chloramphynicol** بنسبة 62.5 % وبعدها جاء **Cephotaxim** وبلغت نسبة تثبيطه 50 % تلاه مضاد **Rifampin** ونسبته كانت37.5 % واخيرا جاء مضاد **Ampicillin** بنسبة 0%.

## Abstract

# المقدمةIntrudaction

يعد مرض السكري ( **Type 1**) متلازمة سريرية مهمة تصيب الانسان خاصة الاطفال والمراهقين اذ يورث عائليا وعند حصول صدمة او خوف لدى شخص يتوقف البنكرياس عن انتاج الانسولين وذلك لحصول المرض (Najjar,2017).

وسوف تبلغ اعداد الاصابة بالسكري في العالم سنة 2025 الى 150 مليون شخص (Aldtigeetal, 2015).وقد اشار (Burgess( 2017 الى ان الفم تتواجد فية عدة ميكروبات دقيقه منها البكتريا , الفطريات , الفيروسات , فتتضمن البكتريا مئات الانواع من الاحياء المجهرية .

وذكر ( Najjar( 2017 ان هذه الاحياء المجهرية تلتصق بالأسنان , التجاويف , اللسان والطبقة المخاطية المبطنة للفم , اذ تعد الكائنات الدقيقة المتواجدة في الفم **Normal Flora** ولكن تواجد اي ضعف مناعي للجسم خاصة السكري لسنوات طويلة سوف يحولها الى مرضية Pathogenic وتكون ذات فوعهوامراضية خاصة للأسنانواللثة (Burgess 2017).

فشدة هذه الاصابات تزداد لدي المصابين بداء السكري والمعانين من سيطرة سيئة للسكري ولفترات طويلة (Carroll and Sebor , 2016) ,وذكر ( Xiaojingetal ( 2000 ان البيئة الميكروبية لتجويف الفم توفر مع عمر المريض وفقدانه للأسنان او ظهور حالات مرضية حول الاسنان فيؤدي ذلك الى تحول في تركيب سوائل الغدد اللعابية ومستوى وفعالية المكونات الدفاعية لهذه الغدد .

كما اشار (Bontenetal( 2010 الى ان الاصابات البكتيرية المزمنة للتراكيب المحيطة بالأسنان تحدث لدى المريض وان استجابة جسم المضيف للإصابات هي عوامل مهمة في تحديد الامراض وشدتها .

وترتبط الاصابات الفموية بالتأثيرات الجهازية الثانوية منها تجرثم الدم **Bactermia**والسموم المنتجه من قبل الجراثيم والالتهابات التيتتسبب عن طريق الاصابات المناعية والتي تحفز الكائنات الحية الدقيقة الفموية لأحداث الالتهاب (Asikainen and Alalursu , 2004 ) .

**و كان الهدف من هذه الدراسة ما يلي :**

**1- عزل وتشخيص اهم انواع البكتيريا الملوثة للثة الملتهبة لدى المصابين بداء السكري من النوع (type 1) وبعمر 14 – 26 سنة .**

**2- دراسة تأثير بعض المضادات الحية على النوع البكتيري السائد في هذه الاصابات .**

## طرائق العمل Methods

### 1- جمع المسحاتCollection of swabs

جمعت 22 مسحة من مرضى يعانون من داء السكر ( type1) بعمر (26-14) سنةولديهم اعراض انسحاب اللثة اذ اخذت بإمرارالمسحاتالمعقمةعلى اللثة ( Xaosingetal ,2017).

### 2-زرع المسحاتCulture of swabs

حضرت الاوساط الغذائية اكار مكونكيوآكار الدم حسب ما ورد على العلب الحاوية على هذه الاوساط من طرائق العمل وتم تعميقهابالاتوكليف بدرجة حرارة 121 م وضغط 15 باوند ولمدة ثلث ساعة وزرعت هذه المسحات بطريقة التخطيط **streaking** وحضنت في 37 م لمدة 48 ساعة(1996 Forbes etal).

### 3ـ العزل والتشخيصIsolation and Identification

تم تشخيصالعزلات البكتيرية وفق ما وردفي (1996 ) Colleeetalاذا تمت ملاحظة الصفاات المظهرية كذلك المجهرية اذ حضرت مسحات من المستعمرات النقية وصبغت بصبغة كرام وفحصت تحت المجهر.

### 4ـ اختبار الحساسية للمضادات الحياتيةAntibiotics sensitivity test

استخدمت (6) مضادات حياتية لهذا الغرض واجرى الاختبار حسب طريقة ( Anuradha and Ashok( 2016اذا نقل 4-5 مستعمرات نقية الى انابيب اختبار احتوى كل منهاعلى( 5 مل ) من وسط المرق المغذي وحضنت الانابيب بحرارة 37م لمد 24 ساعة بعدها تم مقارنة النمو في الانابيب مع الانبوبة الحاوية على محلول ماكفرلاند والذي يساوي تقريبا ($1.510^{8}$x)خلية / مل وفي حالة عدم تساوي العكورة مع انبوبة ماكفرلاند.

وباستعمال ماسحة قطنية معقمة نشرت البكتريا المراد اختبار حساسيتها على وسطالدم**Blood Agar**الصلب بالتساوي ثم وضعت اقراص المضادرات الحياتية الجاهزة على سطح الاطباق الملقحة بواسطة ملقط معقم وضغطت الاقراص بلطف اذ وزعت

الاقراص بواقع 5 قرص لكل طبق وحضنت الاطباق بحراره 37م لمدة 24 ساعة وتم تحديد البكتريا المقاومة والحساسة للمضادات الحياتية بقياس قطر منطقة التثبيط ب ( **MM**)من الجهة الخلفية للطبق باستخدام مسطرة شفافة بعدها تمت المقارنة مع الارقام القياسية المثبتة في الجداول القياسية ( **National Committee of Clinical LaboratoryStandders 2003(NCCLS).**

**5ـ الاوساط الزرعية الجاهزة والتي استخدمت لعزل البكتريا Culture Mediaواختبار الحساسية**

**أ- اكارمكونكيMacconkey's Agar**

استخدم لعزل البكتريا السالبة لصبغة كرام وهومنانتاج شركة (**Oxoid**) دولة بريطانيا (**England**).

**ب- اكار الدم Blood Agar**

استخدم لعزل البكتريا الموجبة لصبغة كرام وتشخيصها كذلك اختبار الحساسية للبكتريا السائدة في هذه الدراسة وهو من انتاج شركة (**BiolifeMikano**) دولة ايطاليا ( **Italy** ).

**ج-المرق المغذيNutrientbroth**واستخدم لتنشيط عزلات البكتريا في اختبار المضادات الحياتية من انتاج شركة (**Oxoid**) دولة بريطانيا (**England**).

## 5- اقراص المضادات الحياتية Antibiotics Disks

**تم استخدام (6) مضادات حياتية في اختبار حساسية المضادات وهي كما يلي:**

| اسم المضاد | رمزه | تركيزه | المنشأ |
|---|---|---|---|
| Nitrofuration | FT | 300 | Himedia(India) |
| Ceftazidime | CA | 30 | Himedia(India) |
| Cefotaxime | CTX | 30 | Himedia(India) |
| Rifampin | R | 2 | Himedia(India) |
| Ampicillin | AM | 10 | Himedia(India) |
| Chloramphenicole | C | 30 | Himedia(India |

## النتائج والمناقشة Results and Discussion

### 1- العزل Isolation

تم عزل 31 عزلة من 22 مسحة فموية تم جمعها من اللثة الملتهبة لأشخاص مصابين بداء السكر (**type1**) **اذا كانت انواعها كما يلي :**

**جدول (2) انواع البكتريا والخمائر المعزولة من مسحات اللثة**

| انواع البكتريا | عدد العزلات | النسبة المئوية % |
|---|---|---|
| **Streptococci** | 8 | 25.8 |
| **Staphylococci** | 6 | 19.3 |
| ***Escherichiacoli*** | 7 | 22.5 |
| ***Klebsiellaepneumoniae*** | 4 | 12.9 |
| ***Candidaalbicans*** | 6 | 19.3 |
| **Total** | 31 | 100 |

عزلت البكتريا الموجبة لصبغة كرام بواقع 14 عزلة بنسبة 45.1 % وكانت بكتريا **Streptococci** قد بلغت 8 بنسبة 57.1% اما بكتريا **Staphylococci** فبلغت 6 عزل بنسبة75 % اما البكتريا السالبة لصبغة كرام فعزلت 11 عزلة بنسبة 34.4 % اذ كانت بكتريا ***E.coli*** بواقع 7 عزل بنسبة 63.6 % وبكتريا ***Klebseillaepneumonia*** بلغت 4 عزل بنسبة 12.9% .

تم عزل بكتريا **Streptococci**بواقع 8 عزل نسبة 25.8% في دراستنا وجاءت هذه النتيجة مقاربة لنتيجة (Bontenetal 2010) , اذ كانت نتيجة العزل لديه 22.2% اما ( Xiaojingetal 2017 ) فعزلها بنسبة 19% وجاءت اقل من نسبة العزل لدينا فيما عزلها Carroll and Sebor (2016) بنسبة 32.4%وجاءت اعلى من نتيجتنا .

اما المرتبة الثانية فكانت لبكتريا **Staphylococci**وخميرة ***Candidaalbicans***اذ عزلتا بواقع 6 عزل لكليهما بنسبة 19.3% وقد عزل ( 2004) Asikainen and Alalunsua كليهما هذه البكتريا بواقع 4 عزل لبكتريا **Staphylococci** بنسبة 13% وخميرة ***C. Albicans*** بواقع 6 عزل بنسبة 16.1% اما (2016) Aldridge etal فعزلها بواقع 10عزل بنسبة 24%.

وجاءت بكتريا ***E. coli*** في دراستنا ب 7 عزل بنسبة 22.5% اما ( 2017) Anurdha and Ashok فعزلاها بواقع 10 عزل بنسبة 26.4% وجاءت اعلى من نتيجتنا وعزلها Asikainen and Alalunsua (2004)بواقع 13 عزلة بنسبة 28%فيما كانت عند Carroll and Sebor (2016) بواقع 4عزل بنسبة 4.3%.

ثم جاءت بكتريا ***K. pnenmoniae***بواقع 4 عزلة بنسبة 12.9% فيما عزلتها Solt (2016)بواقع 6عزل بنسبة 17.2%وعزلتها (2011)Phihstrometalبواقع 2 عزلة بنسبة 5.6% وعزلت لدى (2017)Hiroaki andAstuo ان امراض التهاب اللثة تسبب امراض مزمنة حول الاسنان واصابات خطرة عند عدم العلاج فتؤدي الى فقدان الاسنان اذ تؤثر على الاسنان لدى 80% من الاشخاصالمصابين بالتهاب اللثة.

## 2ـ اختبار الحساسية Sensitivity test

جاء مضاد **Nitruforation** في المرتبة الاولى في دراستنا اذ تحسست له 7عزل من اصل 8 بنسبة 87.5% فيما كانت المقاومة له قد بلغت 12.5% , اما مضاد **Ceftazidim** فجاء بالمرتبة الثانية فبلغت الحساسية له 75% اذ كانت المقاومة له 25% , وكان مضاد **Chloramhpinicole** في المرتبة الثالثة بنسبة حساسية 62.5 % ونسبة مقاومة بلغت 37.5% وجاءت المضاداتCephotaxim, Rifampin و Ampicillinبنسب حساسيةبلغت(50 , 37.5, 0 ) % علىالتواليبنسبة مقاومة ( 50 , 62.5 ,100) % على التوالي.

**جدول (3) نتائج اختبار الحساسية لبكتريا Streptococci تجاه المضادات الحياتية المستخدمة في هذه الدراسة**

| المضادات الحياتية | عدد العزلات الحساسة | % | عدد العزلات المقاومة | % |
|---|---|---|---|---|
| **Nitruforantion** | **7** | **87.5** | **1** | **12.5** |
| **Ceftazidim** | **6** | **75** | **2** | **25** |
| **Chloromphinicol** | **5** | **62.5** | **3** | **37.5** |
| **Cephotaxim** | **4** | **50** | **4** | **50** |
| **Rifampin** | **3** | **37.5** | **5** | **62.5** |
| **Ampicillin** | **0** | **0** | **8** | **100** |

كان المضاد الحياتي**Nitruforation** كفؤا في تثبيط بكتريا **Streptococci** خلال دراستنا وكان كفوئا ايضا في تثبيطها عند (Bontenetal 2010) , اذ ثبطها بنسبة 76 % اما في دراسة (2016) Carroll and Sebor فكان مثبطا بنسبة 46 % وفي دراسة Aldalunsua (2004) فكان التثبيط له قد بلغ لنفس البكتريا 32 % فيما كان لدى Hiroaki and Astu (2017)قد وصل الى 14% .

اما مضاد **Ceftazidim**فبلغت الحساسية له في دراستنا الى 75 % اما لدى Hiroaki and Astu (2017) فبلغت 66% فيما كانت لدى(2017) Anurdha andAstu قد بلغت 52.5 % اما لدى (2011) Phihstrometal فكان 34% وكان منخفضا عند Xiaojingetal (2017) فوصل الى 6%.

وبالنسبة**Chlorompgenicole** قد بلغ لدينا 62.5% وكانت مقاربة لما وجده Xiaojingetal (2017) اذ بلغت لديه 59 % ولدى ( 2017) Bontenetal قد بلغت 52.5 % اما لدى Aldrige (2016) فوصلت الى 48.5 % .

وفيما يخص مضاد **Cefotaxime** كانت الحساسية والمقاومة متساوية لدينا فبلغت 50% اما دراسة Carroll and Sebor (2016) فكانت لديه 74 % وجائت اعلى من نتيجتنا اما Anurdha and Ashok (2017) بلغت لديهما67% ووصلت الى نسبة 61% عند (Asikuinen and 2004).

وكانت الحساسية لل**Rifampin** قد بلغت لدينا 37.5% اما عند Bontenetal (2010) بلغت 19% ولدى Carroll and Sebor (2014) كانت 11% فيما وصلت لدى Aldlunsuma الى4 % وعند Anurdha and Ashok(2017)وصلت 2.5% , اما المضاد الاخير **Ampicillin** كانت الحساسية لدينا منخفضة اذ وصلت الى 0% ولدى Xiaojingetal (2017)كانت النسبة لديه 4% ولدى(Alalunsua( 2004 وصلت الى 3 %امالدى Phitstrometal (2011) كانت0 % فجائتمتطابقة مع نتيجتنا .

**References** المصادر

*Aldridge, J . P ; Lester , v . and Wilson ,R.E (2016) . Single– blind . Studies of the effects of improved periodontal health.

*Alia , M.A.(2016) . Isolate and diagnose some bacteria and yeast associated with some oral diseases in the city of Nasiriyah. M.S.C. thesis College of Education . University of

The-Qar .

*Anurdha, A and Ashok, C. (2017) . Isolation and Identification of – root canal bacterial from symptomatic convitalteeth with periapical.thesis college of dental surgery Health.Sciences , Dharan .Nepal medical college and Hospital . Punjab , India:P: 12.

*Asikainen, S. and Alatuusuq , S.(2004).Bacteriology of dentalinfecteriology of dental infections : Eur heart . J .14: 43-50.

**B**

*Bauer, A.W . ; Kirbu, W.M and Turck ,N. (2003). Antibiotic susceptibility tasting by standaridized tasting disc method .A.M.J.Clin. Pathol. (NCCLS) .945:493:496 .

*Bonten, M.J. ;Gaillara, C.A; Smeets , H.G. and Tiel , F.H(2010). The stomach is not a saurce for colonizationof the upper respiratory tract and pneumonia in ICU patients . chest .105: 878-884 .

**C**

*Carroll, G.G. and Sebor,R.J. (2016) . Dental flossing

and relashin ship to transient bacteremia. J,.per. 51-691-692.

∞Chun,s - ; Huh, H.J. and lee, N.J.(2012).Species specific diference in antimicrobial susceptibility among viriduns group streptococci.Ann.Lab.Med.35:205 .

* Clauser , M.B; Bernard,J.K. and Mreillon ,P.(2016). Successful single – close amoxicillin prophylaxis againstexpermi mental streptococcalendocartitis evidence for two mechanisims of protection specimens . FEMS.Micro. 115-220.

*Collee, J.G;Fraser ,J.G. ; Marmion; B.P, and Simmons A.S. (1996) . Pacterial medical microbiol . 14th – ed. Churchil. Living Stone. New York.

**F**

*Forbes , B.A.; Saham, D.F and Weissfeld, A.S. (1998).Bailey and Scott's diagnostic microbiology .10th-ed .Mosby**.**

**G**

***Gamal,M. (2014). Control of growth streptococcus mutants isolated from saliva and dentelcarries . Int.J. Curr. Micro. APP. Sci.3(10):1-10.

**H**

*Handal, T. and Olsen, N. (2012). Antibiotic resistance in bacteria isolated from sub gingival plaque in a nor wegian population with refractory marginal poriodontitis J. List . Anti. Agen . Chem. 47(4): 1443-1445.

**I**

***Inaba; H.I and Amano , A.(2017).Roles of oral bacteriain cardiovascular diseases from molecular mechanisms to clinical cases implication of periodontal diseases in development . J Phar.Sci: 133: 103-109.

**J**

*Jubair, H. H. (2015). The relation shipbetweenbiofilmforming antibiotics resistance of streptococcus mutans isolated from dental caries . Int. J. Curr. Micro.App. 4(5):568 -574.

**L**

*****Lesley,P.; Longman ,P ; Pearce, K. and Martin , M.V. (1991**).**Antibiotics resistant streptococci in dental patientes susceptible to infective endocard; .J.Med.Mic. 34: 33-37.

**M**

*Muna, A. (2011). Microbiology studies bacteria associated with several oral disease and dental carrier .J. Tkrit. oral .Sci.1:83.

**N**

*****Nakajima,T;Nakanishi.S. and Mason , C. (2013). Populationandstracture characterization of viridians group streptococci isolated from patients in the community .Ulster. Med . j .82: 164-168.

**P**

*****Pasquantonio, S. ; Condo, L. ; Cerroni, . and Ripa . S. (2012). Antibacterial activity of various antibiotics against in the oral cavity. Int.J.Imm.Phar .25(3):805-809.

*****Petersen, P.E . ; Bourgeosis, D. and Ogawa, H. (2005). The global burdes of oral health . Bill .World Health Organization .9(83) : 661-669.

*Phihstrom , B.I ; Mchalowic, B.C and Johnson , N.W.(2011). Periodontal diseaes lancet. 2(366): 1809-1820.

**S**

*****Slots, J . (2016). Systemic antibiotics inperiodentits. J . Periodontal . 67.831- 838.

*Suzuk,s. ; Banu, k. and Cetin,M. (2016). Antimicrobial susceptibility against penicillin, ampicillin and vancomycinof viridians group streptococci in oral microbiota of infective endocarditis . InfezioniMetrilma. 3: 190-193.

W

*Whiley ,R.A. and Douglas .(2016) . Streptococci parasangnisan atypical viridians streptococci from human clinical specimens . Fems. Micro : 115-220.

**X**

*Xiaojing, L. ; Kristin ,M.; Leif , T . and Olsen, I. (2017)Systemic diseases caused by oral infection . J. Clin. Mic.

13(4) : 5.