وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية
كلية التربية المسائية/قسم علوم الحياة

دراسة الفلورة الفموية لدى الاطفال الرضع

بحث مقدم الى مجلس كلية التربية / قسم علوم الحياة
كجزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس في قسم علوم الحياة

الطالبة

نور الهدى علاوي موسى

بإشراف الدكتورة
احلام علي صخي

1440هـ　　　　2019م

بسم الله الرحمن الرحيم

((يَرْفَعِ ٱللَّهُ ٱلَّذِينَ ءَامَنُوا۟ مِنكُمْ وَٱلَّذِينَ أُوتُوا۟ ٱلْعِلْمَ دَرَجَٰتٍ ۚ وَٱللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ))

صدق الله العلي العظيم

اية المجادلة (11)

الاهــــــداء

الـــى....

الـــــذي هـــدى البشـــرية جمـــــعاء

الرسول محمد (ص) ....

الـــى......

مـن حملتني وهنا وهن وتحملت وعاشت معي صعاب الزمن ...

أمـــي العزيزة..........

الـــى....

من تحمل العناء من اجلي والذي لن اوافيه قطره من عرق جبينه..

والـــدي العزيز..........

الـــى.....

ملامح طفولتنا وعنفوان شبابنا من طال بهم شوط الانتظار الى روافد الوفاء الى من اشد بهم ازري

اخـوتي والأصـدقاء.........

الى كل من يتمنى لي النجاح والموفقية اهدي ثمرت جهدي المتواضع

البـاحـثة

الشكر والتقدير

الحمد لله الذي انار لنا درب العلم والمعرفة وعاننا على هذا الواجب ووفقنا الى انجاز هذا العمل .

أتوجه بجزيل الشكر والامتنان الى كل من ساعدني من قريب او بعيد على انجاز هذا العمل .

وفي تذليل ما واجهني من صعوبات وأخص بالذكر رئاسة قسم علوم الحياة خصوصاً الدكتور(أ.م.د. أحمد جاسم حسن)

والشكر والتقدير للأستاذة المشرفة (د.احلام علي صخي) الذي لم تبخل عليَ في توجيهاتها ونصائحها التي كانت عوناً لي في اتمام هذا البحث .

ولايفوتني ان أشكر جميع اساتذتنا الافاضل في قسم علوم الحياة

ومن الله التوفيق

اقرار المشرف

اشهد ان مشروع البحث المعنون .....

اجري تحت اشرافي في قسم علوم الحياة.. كلية التربية...جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة .

التوقيع

الاسم

اللقب العلمي

التاريخ

الخلاصة

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص الأنواع الجرثومية المختلفة من تجويف فم الأطفال خلال السنة الأولى من العمر حيث شملت (١٠٠) طفلاً من كلا الجنسين مع (100) أماً.

ظهرت الجراثيم داخل الفم بنسب مختلفة وأعلى نسبة كانت للأنواع التابعة لجنس *Streptococcus* حيث شكل النوع *S. mitis* نسبة 18.22% والنوع *S.salivatrius* نسبة 7.56% والنوع *S.mutans* نسبة 7.11% أما الأنواع التابعة لجنس *Lactobacillus* فالنوع *L.acidophilus* عزل بنسبة 16.22% والنوع *L.casei* أعطى نسبة 8% في حين الأنواع التابعة لجنس *Staphylococcus* فقد أعطى النوع *S.epidermidis* نسبة 9.78% والنوع *S.aureus* أعطى نسبة 5.11% فضلاً عن نوع *Moraxella catarrhalis* الذي أعطى نسبة 8.67% والنوع *Escherichia coli* الذي أعطى نسبة 3.56% أما النوع *Corynebacterium amycolatum* فقد شكل نسبة 3.33% والنوع *Veillonella parvula* شكل نسبة 3.11% أما النوع *Bifidobacterium bifidus* فقد أعطى نسبة 1.78% واخيرا شكلت خمائر *Candida albicans* نسبة % 7.55 من مجموع (215) طفلاً .

اختلفت نسب العزل عند الامهات حيث شكلت جراثيم النوع *S.mutans* نسبة 25.21% في حين النوع *S.mitis* اعطى نسبة 13.69% أما النوع *S.salivarius* فقد شكل نسبة 12.6% فضلاً عن ذلك فالنوع *L.acidophilus* شكل نسبة عزل 11.95% والنوع *S.epidermidis* ظهر بنسبة 11.3% والنوع *S.aureus* ظهر بنسبة 5.65% كما أن النوع *V.parvula* أعطى نسبة 5% والنوع *M.catarrhalis* أعطى نسبة 3.04% أما النوع *E.coli* فقد شكل نسبة 1.95% *والنوع C.amycolatum* ظهر بنسبة 1.08% أما خمائر *C.albicans* فقد اعطت نسبة 8.42% والنوع *L.casei* عند الامهات .

وأظهرت النتائج ان هنالك تقارباً واضحاً بين الجراثيم المعزولة من فم الأم وفم الطفل خلال أسابيع واشهر السنة الأولى من عمر الطفل حيث اشارت النتائج الاحصائية الى ان هنالك 6 انواع جرثومية اظهرت ترابطا بين الامهات والاطفال وهي: *S.mitis, S.salivarius, M.catarrhalis, C.amycolatum, V.parvula,* وخمائر *C.albicans* في حين الانواع الجرثومية الباقية لم تظهرترابطا واضحا وهي : *S.mutans L.acidophilus , S.aureus , S.epidermidis , E.coli , B.bifidus , L.casei* .

المقدمة Introdaction

يعد الفم الممر الاساسي الذي تدخل من خلاله معظم الجراثيم المسببة للامراض لذا فان دراسة صحة الفم تساهم في التقليل من الاصابات الجرثومية المتعددة داخل الجسم (Todar , 2002) تظهر خطورة الاصابة بامراض الفم ولاسيّما تسوس الاسنان خلال السنة الاولى من عمر الطفل لان الجراثيم تستوطن الفم خلال ١٢ شهراً الأولى من عمر الطفل وبعدها تبدا بالنمو والازدياد داخل الفم (Grindefjord et al , 2005).يطلق مصطلح الفلورا الطبيعية Normal Flora على الاحياء المجهرية التي بامكانها أستيطان جسم الانسان السليم دون أحداث اصابات مرضية (١٩٩٨ Brooks ,.al et) وتمتاز بالتخصص في استعمارها للجسم حيث تستوطن أماكن محددة وتحت ظروف محددة وبنسب ثابتة تقريباً.(١٩٩٨ Burnett et al., .(al.,1976; Brooks

ويمكن تقسيمها الى نوعين:

١-الفلورا المقيمة : Resident floraوهذه الفلورا تعيش في اماكن محددة من الجسم وباعمار محددة ولفترات طويلة نسبياً وقد تتغير نسب وجودها اعتماداً على توفر أو عدم توفر احتياجاتها التغذوية والفسلجية.

٢.الفلورا الانتقالية Transient flora: والتي تستوطن بعض المناطق مثل الجلد والاغشية المخاطية لفترات قصيرة تتراوح من ساعات الى ايام(Nolte,1982).

من خلال تحديد الفلورا الجرثومية داخل فم الاطفال يمكن التعرف على الاجناس والانواع الجرثومية والتي في المستقبل قد تسبب احداث امراض خطيرة تضر بصحة الفم وصحة الطفل عامة واهمها الانواع المسببة لتسوس الاسنان المبكر عند الطفل حيث ان الجراثيمLactobacillus , S. mutans عزلت من افة التسوس في الاطفال باعمار ٢-٤ سنوات (Brambilla et al , 1999)

كما ان الانواع S.mitis و S .salivarius و S. epidermidis فضلاً عن جراثيم جنسي Lactobacillus و Moraxella عزلت من التهابات النسيج المخاطي للفم مثل التهابات اللثة والخدود وعادةً هذه الجراثيم تسبب التهابات سطحية Superficial infections لاسيّما النوع S. aureus الذي يسبب التهابات الفم القيحية بكثرة (الشبل،٢٠٠٤) في حين تسبب الجراثيم اللاهوائية التهابات كثيرة تتركز عادةً في جذر السن او في منطقة شق اللثة Gingival Crevice ويعد النوع V. parvula هو المسبب الرئيسي لهذه الامراض في الاطفال الذين تبدا الاسنان لديهم بالبروز(Bradshaw & Marsh , 1998)

كما أن الفطريات توجد في الفم لاسيّما خمائر C. albicans والتي تعد من الفلورا الانتهازية المسببة لالتهابات اللثة في الاشخاص المصابين بالعوز المناعي مثل الاشخاص المصابين بالايدز. (الشبل،٢٠٠٤)

يكتسب الطفل الجراثيم من محيطه وتعد الام المصدر الأول للجراثيم المستوطنة داخل فم الرضيع من خلال كونها الشخص الاول الذي يتعامل مع الطفل في مراحل حياته وتنتقل الجراثيم من الام الى الطفل بطرق عديدة وبالدرجة الاولى من خلال الفم حيث تنتقل الجراثيم من فم الام الى فم طفلها MTMT (Mouth To Mouth Transmission) وبعدة طرق منها: التقبيل ، الكلام ، الملامسة المباشرة وغيرها من الطرق.

(Berkowtiz & Jordan, 1975; Davey & Rogers, 1984; Berkowtiz & Jones, 1985; Caufield et al, 1988; Salvador et al, 1997)

تنتقل الجراثيم ايضا عن طريق الغذاء الداخل في الفم لاسيّما الحليب إذ يختلف حليب الام عن الحليب المجفف في كون الاول ينقل الى الفم الجراثيم المعززة لصحة الطفل والاخص جراثيم النوع B.bifidus في حين الحليب المجفف ينقل العديد من الجراثيم الضارة بصحة الطفل ولاسيّما جراثيم العائلة المعوية ومنها Klebsiella , Pseudomonas E. coli: والتي تتسبب في العديد من الالتهابات المعوية عند الاطفال باعمار صغيرة وقد تؤدي الى اصابة الطفل بالجفاف (Roberts et al., 1994; Ollila et al., 1998) .

قد تسبب بعض الفلورا الطبيعة داخل الفم امراضاً مختلفة في اجزاء اخرى من الجسم مثل جراثيم M. catarrhalis التي توجد كفلورا طبيعية داخل الفم الا انها تسبب أمراض الجهاز التنفسي لاسيّما امراض الرئة عند الاطفال كما ان جراثيم جنس Corynebacterium تسبب مرض الخناق Diphtheriaوالتهابات البلعوم والحنجرة عند الاطفال صغار السن في حين تستوطن بعض انواع هذا الجنس الفم كفلورا طبيعية

(Graevenitz et al , 1998 ; Varon et al., 2000) .

تتغير الفلورا الجرثومية في فم الطفل وفقاً لعدة عوامل هي: العمر ، النظام الغذائي ، وجود الاسنان ، صحة الفم ، العلاج بالمضادات الحيوية ، الحالة الصحية العامة ، عوامل وراثية ، ثقافة الام ، الحالة الاقتصادية (الشبل،٢٠٠٤ ؛ Marsh & Martin , 1992) .

تستمر التغييرات داخل الفم باستمرار نمو الطفل حيث ان اول ظهور للاسنان داخل الفم يؤدي إلى ظهور الأنواع الجرثومية اللاهوائية والانواع المستوطنة للسطوح الصلبة كما ان اكثر التغيرات داخل الفم يمكن رصدها خلال اشهر او اسابيع السنة الاولى من عمر الطفل (Alaluusua , 1991) .

ان تفاعل الفلورا الفموية مع العوامل المحيطة بها كوجود الفلورايد وصفات اللعاب وظهور التسوس ونوع الغذاء الداخل الى الفم يساهم في ظهور او اختفاء انواع معينة من الجراثيم الفموية خلال اوقات مختلفة .

اهداف الدراسة :The Study Aims

تهدف الدراسة الى:

١- عمل مسح شامل للاجناس والانواع الجرثومية الموجودة داخل فم الطفل السليم باعمار من بعد الولادة الى ١٢ شهراً أي خلال السنة الاولى من حياة الطفل .

٢- دراسة العلاقة بين انواع الجراثيم المعزولة من تجويف فم الطفل مع الانواع الجرثومية المعزولة من فم الام.

٤- معرفة تاثير بعض العوامل على المحتوى الجرثومي داخل الفم مثل نوع الغذاء ، نوع الرضاعة ، الحالة الاقتصادية ، ثقافة الام و اتباع بعض العادات غير الصحية في تربية الطفل .

٥- التعرف على انواع الجراثيم المنتقلة الى فم الاطفال حديثي الولادة وعلاقتها بنوع الولادة سواء كانت طبيعية ام قيصرية .

المواد وطرق العمل

العينات Samples :

جمعت العينات البالغة ١٠٠ مسحة فموية Oral Swab من الاطفال باعمار مختلفة ومن كلا الجنسين والمراجعين للعيادات الاستشارية في مستشفى الديوانية التعليمي للاطفال وصالات الولادة للفترة من شهر ٢تشرين الاول٢٠١٨ لغاية كانون الثاني٢٠١٩.

تم ايضا جمع ١٠٠مسحة فموية اخرى من امهات الاطفال قيد الدراسة.

طريقة اخذ العينات :

تم اخذ العينات من تجويف فم الاطفال الرضع وحديثي الولادة وامهاتهم بواسطة مسحات معقمة Sterile Oral Swabs شملت اجزاء الفم عامة وحفظت هذه المسحات داخل انابيب الوسط المغذي الناقل Transport Media ثم نقلت الى المختبر خلال مدة زمنية بلغت اقل من ساعة .

الاوساط الناقلة Transport Media :

لغرض نقل المسحات إلى المختبر استخدم وسط نقيع المخ والقلب (B.H.I.B) Brain-Heart Infusion Broth والمحضر وفقا لشركة Oxoid .

العزل Isolation :

لغرض العزل زرعت العينات فور وصولها الى المختبر على وسط اكار الدم المحضر باضافة دم الاغنام Sheep Blood Agar بمعدل مكررين لكل عينة احدهما حضن في ظرف هوائي والاخر حضن في ظرف لا هوائي تحت Candle Jar لتوفير ٥% من غاز CO_2 عند درجة حرارة ٣٧ م° ولمدة ٢٤ ساعة وبعد ظهور المستعمرات نقلت الى موائل وسط اكار الدم Blood Agar Slants وحضنت في درجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤-٤٨ ساعة ثم حفظت في الثلاجة مع مراعاة تجديدها شهريا .

التشخيص Diagnosis :

لغرض تشخيص جميع المستعمرات النامية اجريت الفحوصات الاتية : -

الفحص المجهري Microscopic Examineition :

تم عمل مسحات من المستعمرات النامية على وسط اكار الدم Blood Agar وصبغت بصبغة كرام Gram Stain اذ لوحظت اشكال الخلايا وطبيعة اصطباغها واعتمادا على طبيعة الاصطباغ تم اجراء بقية الفحوصات (Cruichshank *et al* , 1975) .

فحص الكاتاليز Catalase test :

تم اجراء هذا الاختبار استنادا الى (Macfaddin , 1985)

فحص الاوكسيديز Oxidase test :

اجري هذا الفحص استنادا الى ما ذكر في

(Cruichshank *et al* , 1975 ; Prescott *et al*, 1996)

الاختبارات الكيماحياتية Biochemical test :

وكانت الاختبارات التالية :

اختبار تميع الجيلاتين Gelatin liquefacation test :

استخدم في هذا الاختبار وسط الجيلاتين المغذي Nutrient Gelatin والمحضر وفقا لـ (Cruickshank *et al*, 1975) . اذ لقح الوسط بمستعمرة فتية بطريقة الوخز وحضن بدرجة حرارة (٢٠-٢٥) م° لمدة ٧ ايام ثم وضعت الاوساط الملقحة في الثلاجة بدرجة حرارة ٤ م° لمدة نصف ساعة ثم قرئت النتائج فاذا كان الجيلاتين متميعا اعطى دليل ايجابية الاختبار اما عدم تميعه فيدل على سلبية الاختبار . (Macfaddin , 1985) .

اختبار فعالية انزيم اليوريز Urease test :

استخدم في هذا الاختبار وسط اكار اليوريا الاساسي Urea agar base والمحضر وفقا لشركة Oxoid والمضاف اليه بعد التعقيم ٥ مل من تركيز ٤٠% من محلول اليوريا بعد تعقيمه بالترشيح . اذ تم تلقيحه بمستعمرة فتية وحضن في درجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة . ان تغير لون الوسط الى اللون الوردي دليل على انتاج انزيم اليوريز وتحليل اليوريا الى امونيا وغاز ثنائي اوكسيد الكاربون CO_2 (Macfaddin , 1985) .

اختزال النترات Nitrate Reduction :

اجري هذا الفحص باستخدام وسط مرق النترات Nitrate Broth حيث لقح الوسط بجزء من المستعمرات الفتية وحضن بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة وبعد انتهاء مدة التحضين اضيف للوسط ٥ قطرات من كاشف A و ٥ قطرات من كاشف B المحضر وفقا لـ (Cruickshank *et al*, 1975) ان ظهور اللون الاحمر خلال ٣٠ الى ٦٠ ثانية يكون دليلاً على ايجابية الاختبار اما عدم ظهوره فيدل على سلبية الاختبار ويتم التأكد من النتيجة السالبة باضافة الزنك (Macfaddin, 1985 ; بلازيفيك ، ١٩٨٣) .

فحص انزيم التجلط Coagulase Test :

اجري هذا الفحص بطريقة الشريحة الزجاجية Slide Coagulase Test حيث وضعت قطرة من المحلول الملحي Normal Saline على شريحة زجاجية نظيفة ثم نقلت اليها مستعمرة من المكورات العنقودية ومزجا جيدا وبعد ذلك تم اضافة قطرة من بلازما الارنب Rabbit Plasma . ان الجراثيم المنتجة لانزيم التجلط تعطي تجمعاً خلال ١٥ ثانية Colle *et al*, 1996 و بلازيفيك ، ١٩٨٣) .

اختبار تحلل الدم Haemolysis test :

اجري هذا الاختبار باستخدام وسط اكار الدم الاساس Blood base Agar المجهز من شركة Oxoid وبعد تعقيم الوسط اضيف اليه ٥% من دم الاغنام الطازج Fresh Sheep Blood تحت ظروف معقمة ثم زرعت الجراثيم كل الاطباق بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة وقرئت النتائج (Cruickshank *et al*, 1975) .

النمو بدرجة حرارة ٢٠ م° :

تم اجراء هذا الاختبارلغرض عزل جراثيم الوتديات باستخدام وسط اكار الدم الاساس Blood Base Agarالمجهز من شركة Oxoid وبعد تعقيم الوسط اضيف اليه ٥ % من دم الاغنام الطازج تحت ظروف معقمة ثم زرعت العزلات على الاطباق وحضنت بدرجة حرارة ٢٠ م° لمدة ٣ ايام ثم لوحظ وجود النمو الجرثومي او عدم وجوده . (Wauters *et al*.,1998)

اختبار انتاج الانزيم المحلل للحامض النووي DNase Test :

تم تلقيح المستعمرات الفتية على وسط DNase الجاهز من شركة Oxoid وحضنت الاطباق بدرجة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة وبعد انتهاء فترة التحضين اضيف حامض الهيدروكلوريك HCl ١ عياري ان تكون الهالة الشفافة حول المستعمرات دليلاً على ايجابية الفحص (Macfaddin , 1985) .

التحلل المائي للارجنين Arginine Hydrolysis :

استخدم في هذا الاختبار وسط (Moller Decarboxylase Broth Base) الذي حضر استنادا الى (Macfaddin, 1985) واضيف اليه١% من الحامض الاميني الارجنين مع ترك قسم من الوسط بدون اضافة الحامض الاميني كأنبوب سيطرة .

تم تلقيح الاوساط بمزارع حديثة وغطى سطح الوسط بطبقة من البارافين السائل والمعقم وحضنت في درجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٤ ايام وكانت النتائج تقرأ يوميا لملاحظة تغير لون الوسط ويستدل على النتيجة الايجابية بتغير لون الوسط من البنفسجي الى الاصفر أولاً نتيجة لانتاج الحامض من تخمر سكر الكلوكوز ثم عند ترك الوسط فترة اطول (٤ أيام) سوف يتغير الى اللون البنفسجي وهذا دليل على انتزاع مجموعة الكاربوكسيل COOH وغاز CO_2:

المثيل الاحمر Methylred Test :

في هذا الاختبار يستخدم وسط ماء البيتون كلوكوز فوسفيت (Glucose- Phosphate Peptone Water) حيث لقح الوسط بمستعمرة فتية وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة وبعدها اضيف الى الوسط ٥ قطرات من كاشف المثيل الاحمر . ان تغير لون الوسط الى اللون الاحمر دليل على النتيجة الموجبة للاختبار (Macfaddin, 1985 ؛ بلازيفيك ، ١٩٨٣) .

اختبار فوكس – بروسكاور Voges-Proskauer Test :

لاجراء هذا الاختبار استخدم نفس الوسط المستخدم في اختبار المثيل الاحمر ولقح بمستعمرة فتية وحضن بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة ثم استخدم كاشف كوبلنتز (Coblentz's Reagent) المتكون من كاشف A وكاشف B حيث اضيفت ٦ قطرات من كاشف A و ٢ قطرة من كاشف B ورجت الانابيب لمدة (٣٠-٦٠) ثانية وتركت لتستقر (١٠-١٥) ثانية .

ان تغير لون الوسط الى الاحمر الوردي دليل على النتيجة الايجابية (Macfaddin, 1985) .

اختبار استهلاك السترات Citrate Utilization test :

لقح وسط اكار سايمون للسترات (Simmon's citrate agar) المجهز من شركة Oxoid بجزء من المستعمرات وحضن بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة لوحظ بعدها تغير لون الوسط من الاخضر الى الازرق دلالة على النتيجة الموجبة لهذا الاختبار (Macfaddin , 1985) .

اختبار انتاج انزيم اللايبيز Lipase Production Test :

زرعت المستعمرات على وسط اكار مح البيض Egg yolk agar المحضر محليا باضافة صفار البيض الطازج الى وسط الاكار المغذي المعقم والمبرد الى درجة حرارة ٥٥م° بنسبة١٥% وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة .

غمر الوسط بكمية من محلول كبريتات النحاس ($CuSO_4$) لمدة ١٥-٢٠ دقيقة ثم ازيل الفائض من الوسط وجفف الطبق ان ظهور اللون الازرق المخضر في موقع تحلل الدهن دليل على النتيجة الايجابية للاختبار (تحلل الدهون) (Colle *et al* , 1996) .

اختبار تحلل النشا Starch Hydrolysis Test :

حضر وسط تحلل النشا من وسط الاكار المغذي مضافا اليه ٠.٢ غم من النشا لكل ١٠٠ مل من الوسط (Cowan, 1977) ثم لقح بالمستعمرات وحضن في درجة حرارة ٣٧ م° لمدة ١٨ – ٢٤ ساعة وغمر بمحلول اليود كرام (Gram's Iodine) وتركت الاطباق ساكنة بضع دقائق ثم سكب الفائض من المحلول .

ان ظهور مناطق رائقة Clear Zones حول المستعمرات يدل على تحلل النشا اما ظهور الوسط بلون ازرق يدل على عدم التحلل (Koneman *et al*, 1997) .

١٤.٤.٥.٣ اختبار تحلل الكازائين Casien Hydrolysis :

استخدم الوسط الحاوي على الاكار المغذي الذي أضيف له ١٠% من الحليب الخالي من الدهن Skim Milk حيث زرعت المستعمرات وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٤ – ٧ ايام ان ظهور المناطق الرائقة حول النمو يدل على تحلل بروتينات الحليب (الكازائين) أما بقاء الوسط معتما فيدل على سلبية الاختبار (Koneman *et al* , 1997 ; بلازيفيك ، ١٩٨٣) .

اختبار اختزال حليب اللتموس Litmus Milk Reduction Test :

حذر الوسط حسب تعليمات شركة Oxoid ثم لقحت المستعمرات في الانابيب الحاوية على وسط حليب اللتموس وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٤ ساعات فقط ومن خلال تغير لون الوسط من البنفسجي الى الابيض يستدل على اختزال حليب اللتموس (Colle *et al*, 1996) .

اختبار انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين والاندول والحركة :

Hydrogen, Sulfide, Indol Production & Motility :

استخدم لهذا الغرض وسط Sulfide - Indol – Motility (SIM) الجاهز من شركة Oxoid والنصف صلب حيث لقح هذا الوسط بالمستعمرات الفتية عن طريق الوخز الى عمق الوسط وحضنت الانابيب بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة وبعد انتهاء مدة التحضين قرئت النتائج كالاتي :

أ-يستدل على الحركة من انتشار النمو الجرثومي الى ابعد من خط التلقيح لكون الوسط شبه صلب Semisolid مما يسهل حركة الجراثيم .

ب-يتحرى عن انتاج الاندول باضافة قطرات من كاشف كوفاكس Kovac's Reagent والذي يحول الحامض الامين التربتوفان Tryptophan الى الاندول ليعطي بعد اتحاده مع الكاشف حلقة حمراء تطفو على سطح الوسط .

جـ-عند تكون راسب اسود يستدل على انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S وبانعدامه تكون النتيجة سالبة . (Koneman *et al*, 1997) .

فحص الانبوب الجرثومي Germ tube test

يعد هذا الفحص خاصاً بالعزلات الفطرية تم اجراؤه بعمل معلق فطري حيث لقحت المستعمرات النقية في ١ مل من المصل البشري وحضن في درجة حرارة ٣٧م° لمدة ٢-٤ ساعة ثم اجري الفحص المجهري ولوحظ الانبوب الجرثومي النامي . (Refai & Taha, 1990)

النمو على وسط سابرود دكستروز اكار

Growth on Sabouraud Dextrose Agar (S D A) :

تنمو معظم العزلات الفطرية على هذا الوسط لاسيّما الانواع المصاحبة للانسان Human Fungi حيث جهز هذا الوسط من شركة Oxoid ثم زرعت العزلات الفطرية النقية على هذا الوسط وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ م° ولمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة وبعد التحضين لوحظ شكل النمو الفطري وفحصت الخلايا بالمجهر لغرض التشخيص الدقيق . (Fischbach 2009)

اختبار تخمر السكريات :

يجرى هذا الاختبار لتحديد قدرة الانواع الجرثومية على تخمير انواع معينة من الكاربوهيدرات التي تضاف الى الوسط الاساسي المستخدم المتكون من ماء البيتون والفينول الاحمر (Phenol Red Pepton Water) والمحضر وفقا لشركة Oxoid وهذه السكريات هي : اللاكتوز Lactose ،المالتوز Maltose ، الكلوكوز Glucose ، السكروز Sucrose ، الفركتوز Fructose ، المانيتول Mannitol ، الارابينوز Arabinose ، السوربيتول Sorbitol، الرافينوز Raffinose ، الرامينوز Rhamnose ، الزايلوز Xylose ، المانوز Mannose، الترايهالوز Trehalose ، الدكستروز Dextrose ، السالسين Salicin.

حيث اضيفت بتركيز ١% ثم زرعت المستعمرات وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة وتغير لون الوسط من الاحمر الى الاصفر دليل على التخمر (Cowan, 1977, Macfaddin, 1985) .

اختبار تخمر سكر الكلوكوز بدرجة حرارة ٤٢ م° : يتم هذا الاختبار لعزل جراثيم جنس الوتديات وكما في الاختبار السابق لتخمر السكريات حيث استخدم نفس الوسط الاساس وحضن في درجة حرارة ٤٢م° لمدة ٣ ايام وتغير لون الوسط من الاحمر الى الاصفر دليل على ايجابية الاختبار(Wauters *et al*, 1998) .

الكشف عن انزيم البيتالاكتامايز β-Lactamase :

اتبعت الطريقة الايودية Iodometric Method في الكشف عن قدرة بعض العزلات على انتاج انزيم β-Lactmase حيث وضعت قطعة مربعة من الورق الناشف Bibulous paper في اطباق بتري معقمة ثم نقل 0.02 غم من مسحوق البنسلين G الى مركز الورقة واضيف اليه بضع قطرات من الماء المقطر المعقم ثم نقل جزء من المستعمرة الفتية ومزجت مع البنسلين في مركز الورقة وتركت الاطباق في درجة حرارة الغرفة لمدة ١٠ دقائق ثم اضيفت ٥ قطرات من محلول اليودكرام Gram's Iodine حيث شملت الورقة باكملها ثم قرئت النتيجة خلال ٥ دقائق من اضافة اليود وظهور بقعة بيضاء في مركز الورقة تحيط بها مناطق بنية قرمزية يدل على انتاج الانزيم (Lee & Kamarmy, 1981).

حفظ العزلات الجرثومية :

لغرض حفظ العزلات لاستخدامها فيما بعد لقحت الانابيب الحاوية على وسط اكار الدم المائل Blood Agar Slants بالعزلات الجرثومية بعد تنقيتها لاكثر من مرة ثم حضنت بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤-٤٨ ساعة وحفظت بعد ذلك في الثلاجة بدرجة حرارة ٤ م° لحين الاستعمال مع مراعاة تجديدها كل ١٥-٢٠ يوماً .

النتائج والمناقشة

العزل Isolation :

جمعت العينات البالغ عددها ١٠٠ مسحة فموية من الأطفال و ١٠٠ مسحة فموية من أمهات هؤلاء الاطفال والمراجعين الى مستشفى الديوانية التعليمي للولادة والأطفال وللمدة من شهر تشرين الاول ٢٠١٨لغاية كانون الثاني٢٠١٩ .

وقد تم الحصول على نسب العزل لانواع الجراثيم المختلفة وكانت أعلى نسبة عزل في الاطفال تعود للنوع *S.mitis* (١٨.٢٢%) أمّا اقل نسبة عزل فهي تعود للنوع *B.bifidus* (١.٧٨%) اما بالنسبة للامهات فقد كانت اعلى نسبة عزل تعود للنوع *S.mutans* (٢٥.٢١%) واقل نسبة تعود للنوع *C.amycolatum* وتساوي (١.٠٨%) من نسبة العزل الكلية للجراثيم .

التشخيص Diagnosis :

بعد اجراء العزل تم تشخيص جميع العزلات الجرثومية والحصول بذلك على ١٢ نوعاً بكتيرياً مختلفاً ونوعاً فطرياً واحداً فقط من تجويف أفواه الاطفال بعمر ١-١٢ شهر وعزلت نفس الانواع الجرثومية تقريبا من امهات الاطفال .

وقد اجري التشخيص بالاعتماد على الجداول التشخيصية المعتمدة من (Macfaddin, 1985 ; Harly & Perscott, 1996) .

ويمكن توضيح نتائج الاختبارات التأكيدية لكل جنس ونوع جرثومي كالاتي :

الاجناس البكتيرية الموجبة لصبغة كرام :

A. تشخيص جراثيم المكورات السبحية الفموية :

ظهرت عزلات تحمل صفات مشابهة لصفات المكورات السبحية حيث كانت الخلايا كروية الشكل صغيرة مرتبة بشكل ازواج او سلاسل ومستعمراتها سالبة لانزيم الكاتاليز ولاختبار تحلل الارجنين وغير محللة للدم(γ-hemolysis) او محللة للدم جزئيا (∝- hemolysis) وعند نموها على وسط اكار الدم كانت مستعمراتها بيضاء اللون مختلفة الاحجام حسب انواعها ويمكن توزيعها بالاعتماد على نتائج الاختبارات الى ثلاثة انواع:

1-النوع *S. mitis*: يمتاز هذا النوع بكونه سالب لفحص الاسكيولين وفحص Vp ولايخمر سكر الرافينوز والمانيتول والسوربيتول بينما يخمر سكر اللاكتوز.

2-النوع *S. salivarius*: لايخمر هذا النوع سكري المانيتول والسوربيتول بينما يخمر سكر اللاكتوز والرافينوز ومستعمرات هذا النوع موجبة أيضاً لفحص Vp وفحص الاسكيولين.

3-النوع *S. mutans* :يعد هذا النوع موجباً لفحص الاسكيولين وفحص Vp ويخمر سكر اللاكتوز و الرافينوز والمانيتول والسوربيتول.

وكانت هذه النتائج مطابقة لما ذكر في

(Cruickshank *et al*, 1975 ; Macfaddin, 1985 ; BST, 2003)

B. تشخيص جراثيم العصيات اللبنية:

عند اجراء التشخيص وجد ان قسم من العينات كانت تحمل نفس صفات العصيات اللبنية حيث كانت الخلايا موجبة لصبغة كرام ذات شكل عصوي مفرد مستعمراتها سالبة لانزيم الكاتليز تحلل الدم بشكل جزئي (∝-hemolysis) او لا تحلل الدم(γ-hemolysis) تكون مستعمراتها ذات حافات بارزة وشفافة الى بيضاء .

تختلف الانواع فيما بينها في تخميرها للسكريات وقد عزل منها نوعان فقط هما:

١. النوع *L.acidophilus* : يمتاز هذا النوع بكونه سالب لاختبار اختزال النترات ويخمر سكر الرافينوز والكلوكوز واللاكتوز السكروز المالتوز ولا يخمرسكر الارابينوز والمانيتول .

٢. النوع *L.casei* : لا يختزل هذا النوع النترات ولا يخمر سكر الرافينوز والارابينوز ولكنه يخمر السكريات الاخرى وهي المانيتول والكلوكوز واللاكتوز والسكروز والمالتوز وتعد هذه النتائج مطابقة لما ورد في

(Cruikshank *et al*, 1975 ; Macfaddin, 1985 ; Koneman *et al*, 1997 ; Botha *et al*, 1998) .

C. تشخيص جراثيم المكورات العنقودية :

تم الحصول على عزلات كان لها نفس الصفات الخاصة بجراثيم المكورات العنقودية والتي تختلف عن جراثيم المكورات السبحية بكون خلاياها كروية مرتبة بشكل عناقيد غير منتظمة ومستعمراتها موجبة لفحص الكاتليز وهي كبيرة الحجم ذات لون يختلف حسب انواعها حيث تظهر المستعمرات إما بلون ابيض او لون ذهبي ويمكن ملاحظة نتائج الاختبارات الافتراضية من خلال الجدول (٤-١) حيث عزل منها نوعان فقط وكانت نتائج الفحوصات مطابقة لما ذكر في (Koneman *et al*,1997;Brooks *et al*, 1998 ; CFSAN, 2003).

الجدول(١) نتائج الاختبارات التشخيصية الانواع المكورات العنقودية المعزولة من تجويف الفم .

	الفحوصات	*S.epidermidis*	*S.aureus*
١.	انتاج انزيم التجلط	-	+
٢.	انتاج انزيم DNase	-	+
٣.	تحلل الارجنين	+	+
٤.	تحلل الاسكيولين	-	-
٥.	تحلل الدم	-	+[a]
٦.	تحلل اليوريا	+	+
٧.	اختزال النترات	+	+
٨.	تخمير السكريات:		
	الكلوكوز	+	+
	السكروز	+	+
	الفركتوز	+	+
	المانيتول	–	+
	التراهالوز	–	+
	السالسين	–	–

(a) تقوم جرثومة *S.aureus* بتحليل الدم تحليلاً كاملاً من نوع β.hemolysis

D. تشخيص جراثيم الوتديات :

وجدت عزلات لها صفات جنس الوتديات حيث كانت الخلايا عصوية منتفخة من جهة واحدة على الرغم من كونها غير مكونة للابواغ مما يعطيها شكلا مميزا عند الفحص المجهري ومستعمراتها موجبة لانزيم الكاتاليز ولا تحلل الدم (γ-hemolysis) وتعود هذه العزلات الى نوع واحد من جنس الوتديات هو *C.amycolatum* حيث كانت العزلات سالبة لاختبار تحلل الاسكيولين وتحلل الكازائين وتحلل النشأ في حين اعطت نتائج موجبة لفحص المثيل الاحمر كما انها لا تخمر سكر الرافينوز والسالسين واللاكتوز والارابينوز والزايلوز والراميnوز وتخمر

فقط ٣ سكريات هي الكلوكوز والفركتوز والمانوز تعد هذه النتائج متماثلة مع ما مذكور في (Wallet *et al*, 1994 ; Brandenburg *et al*, 1996 ; Graevenitz *et al*, 2008) .

بسبب كثرة انواع جنس الوتديات المعزولة من داخل الفم اجري اختباران اضافيان للتفريق بين النوع *C.amycolatum* والنوعان المرافقان له *C.xerosis* و *C.diphtheriae* واللذان اعطيا نتائج معاكسة تماما للنوع الاول في هذين الفحصين فلم تنمو العزلات بدرجة حرارة ٢٠م° على وسط اكار الدم لمدة ٣ أيام (نتيجة سالبة) في حين خمرت العزلات سكر الكلوكوز عند نموها بدرجة حرارة ٤٢م° لمدة ٣ ايام (نتيجة موجبة) وهذه النتائج مطابقة لما ذكر في (Funke *et al*, 1996 ; Riegel *et al*, 1996 ; Wauters *et al*, 1998) .

E . تشخيص جراثيم العصيات المشقوقة :

شخصت بعض العزلات على انها تعود إلى هذا الجنس وبالأخص للنوع *B.bifidus* حيث تعد هذه الجراثيم موجبة لصبغة كرام لا هوائية حيث لا تنمو بوجود الاوكسجين تكون خلاياها ذات شكل عصوي مفرد ومستعمراتها سالبة لانزيم الكاتليز ولها القدرة على تحليل الدم تحليل جزئي α-hemolysis كما اعطت نتيجة موجبة لفحص حليب اللتموس حيث لوحظ تخثر الوسط وتنتج احيانا الغاز عند نموها على الاوساط السائلة الحاوية على سكر اللاكتوز وتعد هذه النتائج مشابهة لما ورد في (Prescott *et al*, 1996 ; Koneman *et al*, 1997) .

٢.٢.٤ : الاجناس البكتيرية السالبة لصبغة كرام :

A. تشخيص جراثيم المواركسيلا :

توجد عزلات اظهرت صفات مشابهة لجراثيم جنس المواركسيلا وتعود هذه العزلات كلها الى النوع البكتيري *M.catarrhalis* ومن اهم صفات هذا النوع ان خلاياه ذات شكل مكور مزدوج يشبه حبة الفاصوليا وتمتلك المحفظة Capsule كما ان مستعمراتها موجبة لاختبار الكاتليز والاوكسيديز وذات لون ابيض مائل الى الرمادي وهي سالبة لاختبار تحلل الجيلاتين وتحلل الاسكيولين وتحلل اليوريا ولا تنتج غاز كبريتيد الهيدروجين (H_2S) وغير متحركة وغير منتجة للاندول ولا تخمر سكر الكلوكوز واللاكتوز والسكروز والفركتوز في حين تختزل النترات حيث تعطي نتيجة موجبة لاختزال النترات وتنتج ايضا عدداً من الانزيمات اهمها انزيم الليبيز وانزيم DNase وانزيمات β-lactamase التي تكسبها مقاومة ضد المضادات الحيوية وتعد هذه النتائج مشابهة لما ورد في (Baron *et al*, 1994 ; Colle *et al*, 1996 ; Koneman *et al*, 1997) .

B. تشخيص جراثيم الاشريكية :

ظهرت عزلات هذه الجراثيم بشكل عصوي مفرد ومستعمراتها صغيرة الحجم ومعتمة حيث كانت صفاتها مشابهة للنوع البكتيري *E.coli* وهذه الجراثيم موجبة لاختبار الكاتليز وسالبة لاختبار الاوكسديز وتحلل الجيلاتين وتحلل اليوريا وفحص Vp وفحص السترات وانتاج انزيم اللايبيز وانزيم DNase وانتاج غاز H_2S في حين تعد موجبة لعدد من الاختبارات حيث انها موجبة لفحص الميثل الاحمر وهي متحركة ومنتجة للاندول وتخمر عدداً من السكريات لتعطي غازاً ومنها سكر الكلوكوز واللاكتوز والارابينوز والمانيتول والسوربيتول والمانوز والمالتوز والزايلوز وتعد هذه النتائج مطابقة لما ورد في (Cruickshank *et al*, 1975 ; Macfaddin, 1985 ; Koneman *et al*, 1997) .

C. تشخيص جراثيم الفيلونيلا :

يعد تنمية هذه الجراثيم عملا صعبا وذلك لكونها تنمو في الظروف اللاهوائية حيث يعتبر وجود CO_2 عاملا محدداً واساسيا في نمو هذه الجراثيم وكانت نتائج التشخيص تشير الى ان العزلات تعود الى النوع *V.parvula* حيث ظهرت خلايا هذه الجرثومة بشكل مكور مزدوج ومستعمراتها متوسطة الحجم ذات لون ابيض مائل الى الاصفرار على وسط اكار الدم وهي سالبة لصبغة كرام وسالبة لانزيم الكاتليز والاوكسيديز ولا تحلل الجيلاتين في حين تعد موجبة لاختبار اختزال النترات ولا تخمر أي نوع من السكريات ويمكن ملاحظة تطابق هذه النتائج مع ما ورد في (Macfaddin, 1985 ; Koneman *et al*, 1997) .

الاجناس الفطرية :

تشخيص جراثيم جنس المبيضات :

لقد ظهرت عزلات لها صفات مشابهة لصفات الجنس الفطري *Candida* وبعد اجراء التشخيص وجد ان جميع العزلات الفطرية تعود الى النوع *C.albicans* حيث اظهر الفحص المجهري التبرعم بشكل واضح فضلاً عن الحجم الكبير وغير العادي لخلايا هذا النوع الفطري وبعد الزرع على وسط سابرود دكستروز اكار ظهرت المستعمرات التي كانت كريمية القوام واللون كما اعطت المستعمرات نتيجة موجبة لغرض الانبوب الجرثومي حيث ظهر الانبوب الجرثومي واضحا اثناء الفحص المجهري فضلاً عن قدرتها على تخمير انواع متعددة من السكريات وهي سكر الدكستروز والمالتوز والكلاكتوز وهذه النتائج متطابقة مع ما ورد في (Refai & Taha, 1990 ; Brooks *et al*, 1998) .

جدول (٢)انواع الجراثيم المعزولة من تجويف أفواه الاطفال الرضع واعدادها ونسبها.

الأنواع الجرثومية	عدد عزلات الجراثيم	نسبتها المئوية
S.mitis	32	18.22
S.salivarius	24	7.56
S.mutans	22	7.11
L.acidophilus	13	16.22
L.casei	12	8
S.epidermides	12	8
S.aureus	10	5.11
M.catarrhalis	10	5.1
E.coli	5	3.56
C.amycolatum	5	3.33
V.parvula	5	3.11
B.bifidus	1	1.78
C.albicans	2	7.55
المجموع	100	100

جدول (٢) : انواع الجراثيم المعزولة من تجويف أفواه الأمهات واعدادها ونسبها.

الانواع الجرثومية	عدد عزلات الجراثيم	نسبتها المئوية
S.mutans	30	25.21
S.mitis	22	13.69
S.salivaris	12	12.6
L.acidophilus	11	11.95
S.epidermides	10	11.3
S.aureus	10	5.65
V.parvula	5	5
M.catarrhalis	3	5
E.coli	3	1.95
C.amycolatum	1	1.08
C.albicans	20	8.47
المجموع	100	100

ان المجموعة البكتيرية α-Sterptococci التي هي جزء من جنس المكورات السبحية تعد من اهم الجراثيم المعزولة من تجويف أفواه الأطفال الرضع ويعزل منها عدة انواع مختلفة (HMW, 2001 ; Imad *et al*, 2002) وقد سجلت اعلى نسبة عزل بين الاجناس الاخرى حيث تم عزل ٣ انواع مهمة في هذه الدراسة وكما يلاحظ في الجدول (٤-2) فالنوع الجرثومي *S.mitis* هو النوع السائد في داخل فم الطفل ويشكل أعلى نسبة عزل (١٨.٢٢%) وهذه النسبة تتفق مع الدراسة الحديثة التي قام بها العالم Tanner وجماعته عام 2002 حيث عزل النوع *S.mitis* وبنسبة (٢٠%) من اللسان والانسجة المخاطية داخل الفم كل عام مع دراسة أخرى قام بها العالم Smith وجماعته عام ١٩٩٣ والذي عزل انواعاً مختلفة من جنس المكورات السبحية من أفواه الاطفال القاطنين في ولاية ماساشوستس في الولايات المتحدة الامريكية حيث سجل النوع *S.mitis* اعلى نسبة عزل (٨٧%) في الاطفال باعمار اقل من ٦ اشهر (قبل التسنين).

ان الاختلاف في نسبة العزل بين الدراسة الحالية والدراسة الاولى (Smith *et al*,٢٠١٢) قد يعود الى اختلاف طرق التشخيص والعزل فضلاً عن الاختلافات العمرية والجسمية والقبلية واختلاف العادات التغذوية والصحية وغيرها .

وقد اكدت مصادر حديثة سيادة النوع *S.mitis* في جميع الرضع وبعمر مبكرة (٢ و٦ و ١٢ و ٢٤) شهرا (Kononen *et al*,2002) .

يوجد النوع *S.mitis* ملتصقاً بقوة مع اللثة وباطن الخدود (MSN, 2000) لذا يعزل اساسا من الانسجة المخاطية واللسان وقد يعزل من الاسنان بعد ظهورها عند الطفل ولكن بنسبة قليلة لذا يعد العمر (٥-٦) أشهر انسب وقت لعزل جراثيم النوع *S.mitis* ويؤكد ذلك عدة مصادر حديثة (Pearce *et al*, 1995 ; Kononen, 2000 ; Beighton & Thomas, 2003)

النوع الثاني الذي عزل من تجويف أفواه الاطفال هو النوع *S.salivarius* الذي ظهر بنسبة ٧.٥٦% وهذا يتفق مع دراسة (Smith *et al*, 1993) الذي عزل هذا النوع بنسبة ٥.٢% كما عزل في دراسة اخرى بنسبة ٥.٧% من اللسان والانسجة المخاطية للاطفال بأعمار ٦-١٨ شهراً (Tanner *et al*, 2002)يلعب اللسان دورا مهما في عزل جرثومة *S.salivarius* حيث يعد المخزن الرئيسي لوجود هذه الجرثومة فضلاً عن كونها سائدة في الشهور الاولى من عمر الطفل حيث تشكل حوالي ٩٨% من جراثيم الفم وتعزل من كافة مناطق الفم لوجودها اساسا في اللعاب(MSN, 2000) الا ان ظهور الاسنان يؤدي الى وجود انواع اخرى من الجراثيم ولحصول التوازن البيئي تقل اعدادها تدريجيا .
(Kononen ,2002 ; Beighton & Thomas, 2003)

وبالمقابل فان ظهور الاسنان يؤدي الى استيطانها في منطقة محددة من الفم وهي اللسان عادة وتوجد في اللعاب ايضا . (Marsh, 1999) .

يعد النوع الثالث *S.mutans* من اهم الأنواع المعزولة من الاطفال وذلك لعلاقته المباشرة بامراض الفم حيث يعد النوعان السابقان من الفلورا الطبيعية للفم ولايسببان امراضاً مباشرة أمّا النوع *S. mutans* فيعد نوعاً خطراً على صحة الفم ولاسيّما صحة الاسنان حيث عزل هذا النوع في الدراسة الحالية بنسبة ٧.١١% في الاشهر من ٦ -١٢ من عمر الطفل ولايظهر هذا النوع في الاشهر الخمسة الاولى من العمر كما ملاحظ في الجدول (٤-٤) مع ماورد في المصدرين (Kononen , 2002 ; Beighton &Thomase , 2003) حيث توضح هذه المصادر الحديثة ان جرثومة *S. mutans* لاتظهر في الاشهر الاولى من عمر الطفل ويبدا ظهورها مع بداية ظهور اول سن داخل فم الطفل (Smith *et al.* ,2012) . لقد اجريت عدة دراسات حول هذه الجرثومة لمختلف الفئات العمرية في دراسة Kohler وجماعته عام ١٩٨٣ وعزلت *S.mutans* بنسبة ٢٤% من الا

المصادر العربية

النعيمي ، نجلاء عبد الله فتحي عبد الله ، (2001). دراسة في تقييم دور مجموعة من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام وجرثومة *Mycoplasma pneumoniae* في الاصابات التنفسية لدى الاطفال الحديثي الولادة في مدينة الموصل .رسالة ماجستير ، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

المصادر الأجنبية

An, Y. H.& Friedman, R. J. (1996). Prevention of spesis in total joint a throplasty. J. Hosp. Infect. 33: 93-108.

Andrade, M.A.; Hoberman, A.; Glustein, J.; paradise, J.L.& Wald, E.R. (1998). Acute otitis media in children with bronchiolitis. Pediatrics 101 (4): 617-619.

Anttila, S. S.; Knuuttila, M. L. E.; DDS; Sakki, T. K. (1999). Depressive symptoms favor abundant growth of salivary Lactobacilli, Psychomatics Medicine, 61: 508-512.

Braunwald, E.; Isselbacher, J. K. ;Petersdor, F. G.; Roberts, E. J.; Martin, B. J. & Fanc, S. A. (1987). Internal medicine. 11th ed., 1, Book Company, Megraw Hill, New York.

Brooks, G.F.; Butel, J.S.; Ornston, L.N.; Jawetz, E.; Melnick, J.L. & Adelberg, E.A. (1998). Jawetz; Melnick & Adelberg's Medical microbiology. 21st ed., Appleton & Lange, Simon & Schuster Company, California.USA.

Buescher, E. S. & Pickering, L. K. (1986). Polymore phounclear Leukocytes in human cobstrum & milk in Howell, R.;

Campbell, J.; McGowan, D. A. & Macfarlane, T. W. (1983). The prevalence of enterococci in the dental plaque of chronic hospital patients. Br. J. Oral Surg 21: 171-174.

Carlsson, J.; & Gothefors, L. (1975). Transmission of *Lactobacillus*

jensenii and *Lactobacillus acidophilus* from mother to child at time of delivery. J. Clin. Microbiol. 1: 124.

Caufield, P. W. (1995). The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. J. Dent. Res. 74:681-5.

Caufield, P.W.; Cutter, G.R.; Dasanayake, A.p. (1993). Initial acquisition of mutans Streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. J. Dent .Res, 72:37-45.

Caufield, P.W.; Ratana-Pridakul. K.; Allen, D.N.; Cutter, G.R. (1988). Plasmid-containing strains of *Streptococcus mutans* cluster within family&racial cohorts: Implications for natural transmissions. Infect. Immuno; 56: 3216-3220.

Center for Food Safety & Applied Nutrition(CFSAN), (2003), *Staphylococcus aureus*, Bad Bug Book, www.vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap3.htm

Chandra, R. K. (1978). Immunologic aspects of human milk. Nutrition Reviews; 36, No. 9 Sept.

Chenweth, C. & Schaberg, D. (2008). The epidemiology of enterococci. Eur. J. Clin Microbiol. Infect. Dis 9:80-89.

Clark, W. B. & & Gibbons, R. J. (1977). Oral adhesion. Infect. Immuno. 18: 514-523.

Colle, J. G., Marmion, B. D., Fraser, A. G. & Simmons, A. (1996). Mackie & Mccartney practical medical microbiology, 14th ed., Churchill Livingstone, New York.

Constantinescu, M.D.; Bocchini, J. A. & Maria D. M. (2004). *Moraxella catarrhalis* infections.www.emedicine.com/ med/topic1500.htm

Cowan, E.L. (1977). Cowan & Steels manual for the identification of medical bacteria. 2nd. Cambridge University press.

Cruickshank, R.; Duguid, J.P.; Marmion, B.P.; & Swain, R.H.A. (2011). Medical microbiology; 12th ed.; Vol. 1 Microbiol infections, Churchill Livingstone, Chapter 18; PP. 263-266.

Eronat, N.& Eden, E. (1992). A comparative study of some influencing factors of rampant or nursing caries in preschool children, J. Clin. Pediatr. Dent. 16: 275-9.

Featherstone, J.L.(1960).Astudy of oral strains of Lactobacillus spp.The effect of diet up on indigenous and implanted strains .Australian Dental Journal.5:149-156.

Firriolo, F.J. (2003). Oral candidiasis. USA, www.dentalcare.com/soap/intermed/oralcan.htm.

Fischbach, F. (1999). A manual of laboratory & diagnostic tests, 6 ed., William & Wilkins Co., Philadelphia, Baltimore, New York, pp.500-553.

Frandsen, E. V. G.; Pedrazzoli; & Kilian, M. (1991). Ecology of viridans Streptococci in the oral cavity and pharynx. Oral Microbiol. Immunol. 6: 129-133.

Frisken,K.W.; Higgins,T.&Palmer,J.M.(1990).The indcidence of periodontopathic microorganisms in young children .Oral. Microbial Immunal .5:43-45.

Funke, G., Bernard, K. A. (1999). Coneform gram-positive rods, P. 319-345. In Murray, P. R. ; Baron, E. J. ; Pfaller, M. A. ; Tenover, F. C. & Holden, R. H. (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 7th ed. ,American Society for Microbiology, Washington, D. C.

Funke, G.; Lawson, P.A.; Bernard, K.A. & Collins. M.D. (1996). Most *Corynebacterium xerosis* strains identified in the routine clinical laboratory correspond to *Corynebacterium_amycolatum*. J. Clin. Microbiol. 34: 1124-1128.

Gibbons, R.J.; & Dankers I (1981). Patterns of lectin-like reactivity of selected oral bacteria; J. Dent. Res. (spec. iss. A.); 547.

Gibbons, R.J. (1977). Adherence of bacteria to host tissue. In Schlessinger D. (ed.): Microbiology. A series of monographs. ASM; Washington; D. C.; P. 395.

Gibbons, R.J. (1984). Microbial Ecology: Adherence Interaction, which may affect Microbial Ecology in the mouth. J. Dent. Res. 63(3): 378-385.

Graevenitz, A. V.; Streit, V. P., Riegel, P. & Funke, G. (2008). Coryneform bacteria in throat cultures of healthy individuals. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 36, No. 7, pp. 2087-2088.

Grindefjord, M.; Dahllof, G.; Wikner, S.; Hojer, B. & Modeer, T. (2005). Prevalence of mutans Streptococci in one-year-old children. Grindefjord,M.; Dahllof, G.; Nilsson ,B.; et al.(2005). Prediction of caries development in 1 year old children. Caries. Res.; 29: 343-348.

Gunay, H.; Domoch-Bockhorn, K.; Gunay, Y.; Geurtsen, W. (1998). Effect on caries experience of long term preventive program for mothers & children starting during pregnancy. Clin. Oral. Invest. 2: 137-142.

Hamada, S. & Slade, H.D. (1980). Biology; immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol. Rev. 44(2): 331-384.

Hamilton, I.R.&Ng, S.K.C. (1983). Stimulation of glycolysis through lactate consumption increasing cell mixture of *Streptococcus salivarius* & *Veillonella parvula*. FEMS. Microbiol. Lett. 20: 61-65.

Hillman, J.D.; Dzuback, A.L.; Andrews, S.W. (1987). Colonization of the human and oral cavity by a *Streptococcus mutans* mutant producing increased bacteriocin. J. Dent. Res. 66(6): 1092-1094.

Holt, J. G.; Cowan, S. T.; Liston, J.; Maurray, R. G.; Niven, C.F.; Ravin, A. W. & Stainer, R. Y. (1994). Bergey's Manual of

determinative bacteriology. Waverly Press. Inc. Batimore, Md, USA; 21202.

Human Microbial World (HMW). (2001). Microbiology. Maintained by Academic Technologies, www. hsc. wvu . edu /som/microguide/humanmicro.htm

Imad, R.; Makhoul, M.D.; Polosujov, M. D.; Ardekian, L.; Kassis, M.D.; Smolkin, M.D.; Tamir, D.S.; Laufer, M. D. (2002). Factors influencing oral colonization in premature infants. IMAJ, Vol. 4, No. 5, pp. 12-19.

Jackson, M. S.; Bagg, J.; Gupta, M. N.; & Sturrock ,R. D. (1999). Oral carriage of Staphylococci in patients with rheumatoid arthritis. British Society for Rheumatology; 38: 572-575.

Koneman, E.W.; Allen, S.D. ; Dowell,V.R. Janda, W.M.; Sommer,H.M.&Winn,W.C.(1997).Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 4th ed. Lippincott Company,Philadelphia.

Könonen, E. (2000). Development of oral bacterial flora in young children. Pub Med.; 32(2): 107-12.

Könonen, E.; Jousimies-Somer, H.& Asikainen, A. (1992). Relationship between oral gram-negative anaerobic bacteria in saliva of the mother & colonization of her edentulous infant. Oral. Microbiol. Immunol; 7(5): 273-6.

Könonen, E.; Jousimies-Somer, H.; Bry, K. A.; Kilpi, T. & Kilian, M. (2002). Establishment of Streptococci in the upper respiratory tract: Longitudinal changes in the mouth & nasopharynx up to 2 years of age. J. Med. Microbiol, Vol. 51, pp. 723-730.

Loesche, W. J. (1982). Association of the oral flora with important medical diseases. Curropin Periodontol, USA;PP. 4:21-8.

Lucena, A. (2001). Breast milk inhibitis germination of *Candida albicans*. Microbiology, Orlando, Florida, USA.

Rosan, B.; Applebaum; Campbell, L.K.; Knox, K.W. & Wicken, A.J.(1982). Chemostat studies of the effect of environmental control on *Streptococcus sanguis* adherence to hydroxyapatite. Infec. Immun. 35: 64-70.

Ross, K.F.; Ronson, C.W. & Tagg, J.R. (1993). Isolation and characterization of the antibiotic salivaricin A and its structural gene sal A from *Streptococcus salivarius* 20P3. Appl. Environ. Microbiol. 59: 2014-2021.

Rotimi, V.O. & Duerden, B, I. (1981). The development of bacterial flora in normal neonates. J, Med, Microbiol. 14: 51-61.

Rotimi, V.O; Olowe, S.A. & Ahmed, I.(1985). The development of Premature neonates, J, Hyg, 94: 309-18.

Salvador, L.; Grisi, F. M.; Romanelli, R. G.; Silvanetto, C. R.; Schork, N. M. & Bretz, W.A.(1997). Similarities of preiodontal clinical Microbiology parameters in morher-child pairs. Braz. Dent.J.; 8 (2): 99-104, ISSNO 103-6440.

Sconyers, J.R.; Crawford, J.J. & Moriarty, J.D. (1973). Relationship of Bacteremia to tooth brushing in patients with periodentitis. J. Am. Dent. Assoc. 87: 616.

Sherstha, S. A.; Featherstone, J. D. B.; Eisenberg, A. D.; Cowles E.;Curzon, M.E.J.; Espeland,M.A.&Shields, C. P. (1994). Cariogenic potential of foods. Caries. Res; 28: 160-115.

Smith, A.J; Jackson, M.S.; Bagg, J. (2001). The ecology of Staphylococcus species in the oral cavity. J. Med. Microbiol;

Smith, D. J.; Anderson, J. M.;King, W. F.; Van Hout, J. & Taubman, M. A. (2012). Oral Streptococcal colonization of infants. Oral. Microbial .Immunol; 8(1): 1-4.

Stevens, J. E. (1996). It's a jungle in there. Biodcience, Vol. 46, Issue 5, p.314, 4p, 2bw, California,USA.

Stiles, H. W.; Meyers, R.; Brunelle, J. A.; witting, A. B. (1976). Occurrence of *Streptococcus mutans* & *Streptococcus sangnis* in the oral cavity & feces of young children. In: stiles, M.; Loesch,. W. J.; O'Brien, T.; eds. Microbial Aspects of Dental caries. Washington, DC: information Retrieval Inc. 187.

Stoll, B.J.; Gordon, T.; Korones, S.B; *et al.*(1996). Late-onset sepsis in very low brith weight neonates: areport from the National Institute of child health & human development Neonatal research Network. J, pediator, 129: 63-71.

The Merck Manual(TMM). (2003). Infant nutrition. Chapter 256, Section 19, Pediatrics Health, USA, pp. 1115-1110.

Theilade, E. (1990). Factors controlling the microflora of healthy mouth, p. 2-56. In Hill ,M. J. & Marsh ,P. D. (ed.), Human microbial ecology. CRC press, Inc., Boca Raton, Fla.

Todar, K. (2002). The Bacterial flora of humans & bacteria of medical importance. Bacteriology ; 303(2): 577-579.

Varon, E.; Levy, C.; De La Rocque, F. (2000). Impact of antimicrobial therapy on nasopharyngeal carriage of *Streptococus puenmoniae*, *Haemophilus inflnenzae*, & *Branhamella catarrhalis* in children with respiratory tract infections. Clin. Infect. Dis; 31(2): 477-81.

Wallet,F.; Marquette, C. H.& Courcol, R. J. (1994). Multiresistance *Corynbacterium xerosis* as a cause of pneumonia in a patient with acute leukemia. Clin. Infect. Dis; 18: 845-846.

Wattian, P., Janssens, M. & Wauters, G. (2000). *Corynebacterium stimulans* sp.nov, a nonlipophilic, fermentative Corynebacterium. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50: 347-353.