جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة

دراسة عن البكتريا المختزلة للكبريت المعزولة من حالات تسوس الأسنان

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة – الأحياء المجهرية

من قبل

لقاء محمد خضير

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى 2003– 2004

بإشراف

أ.د. عدنان نعمة عبد الرضا العزاوي

ذي الحجة/1435**هـ** **تشرين الأول/**

2014م

المقدمـــة

1 المقدمـــة Introduction:

يعد التجويف الفموي في الإنسان السليم معقما عند الولادة و تبدأ البكتيريا بالدخول إليه عن طريق التغذية بعد 3-5أيام من الولادة (Davis وآخرون1990) حتى تصل بعد عدة أشهر إلى أكثر من مليون خلية بكتيرية التي يكون بعضها نبيت طبيعي للفم والبعض الآخرممرض (Ted وChristine ,1995). إن التجويف الفمي يتكون من العديد من السطوح بعضها مغلفة بعدد كبير من البكتريا داخل الغشاء الحيوي المثالي لنموها (Jørn وآخرون2005) .تطلق تسمية لويحات الأسنانplaque على الغشاء الحيوي المتشكل على سطوح الأسنان . ان تشكيلات الغشاء الحيوي (Biofilm) في الأنسجة الناعمة (Smooth tissuse) اكثر مماثلة لبعضها البعض اكثر من تلك الموجوده في لويحات اللثة العلوية واللثة السفلية والبكتريا التي تنمو في تجاويف اللثة تشكل المصدر والمسبب الرئيس والأساس للكثير من أمراض الأسنان واللثة ، مثل تسوس الأسنان والتهاب اللثة والمناطق المحيطة بها ،وكذلك حول الأسنان والتراكيب الصناعية ،وقد تم اعتبار الغزو البكتري العامل الرئيسي لفشل زراعة الأسنان وتعتبر بكتريا الأغشية الحيوية مسؤولة عن حوالي 65% من الإمراض في الفم ومن ضمنها التهاب محيط الأسنان الصناعية والتهابات اللثه(2011, Sangeeta)

هناك أنواع متخصصة من البكتريا الفموية التي تشارك في العديد من الأمراض الجهازية مثل البكتريا المسببة لالتهاب الشغاف (1997,Berbari) ذات الرئه (1999,Scannapieco)التهاب نخاع العظم في الأطفال (2000, Dodman) ولادة أطفال ذوي وزن منخفض وقبل الموعد المحدد (2005, Buduneli) ومرض أوعية القلب (2000,Trevisan) .

هناك ما يزيد على 700 نوع من بكتريا النبيت الفموي (2009, Hojo) . تشكل مستعمرات لهذه الأنواع البكترية في الأسنان واللسان وغشاء تجويف الفم ومناطق نخر الأسنان والجيوب اللثوية .ان توزيع النبيت الطبيعي في تجويف الفم ليس عشوائيا .إذ تفضل بعض الأنواع البكترية بعض المناطق على غيرها لتوفير الظروف التي تلائمها مثل الظروف اللاهوائية التي توفرها جيوب اللثة (2006, Paster) .

تستوطن البكتريا الأسنان مكونة ما يعرف لويحات الأسنان التي وصفت عام 2002 من قبل Donlan و Costerton بأنها عبارة عن غشاء حيوي رقيق ذا صفات وظيفية وتركيبية يتراوح بين 500-300 خلية بكتيرية (Davis وآخرون 1990) تضم مجتمعا ميكروبيا متنوعا يبقى مستقرا نسبيا ولكن بدخول بعض الأنواع الممرضة إليه يعاني من تغيرات مثل إنتاج الحامض العضوي و ينغمر هذا المجتمع الميكروبي في بيئة من السكريات المتعددة ذات المصدر البكتيري و بعض البوليمرات اللعابية. يسمح هذا الغشاء للبكتيريا بالنمو و يعمل بوصفه واقيا يمنع دخول المضادات البكتيرية إليها وبذلك تقل فعالية علاج الالتهابات التي تصيب اللثة او الأسنان و يسهل لها انتقال المغذيات وزيادة الطاقة (Marsh, 2006) و (Wirthlin وآخرون2003) و(Leonard,2002) .

بعد اكتمال تكون لويحات الأسنان تكون غنية بالأنواع البكتيرية التي غالبا ماتنحسر تدريجيا مع سيادة أنواع قليلة لها القدرة على إنتاج حامض عضوي و خلق بيئة حامضية (pH5.5) عن طريق تغيير تعبيرها الجيني لزيادة إنتاج الحامض و زيادة إنتاج بروتينات نوعية تحميها من هذه البيئة الحامضية (Loesche,1986) (Welinوآخرون2003) . عند هذه المرحلة يحدث عدم توازن بين المواد المكونة للسن و اللويحة السنية ينتج عنه فقدان العناصر المعدنية للسن (2006,Marsh) .

أشار العديد من الباحثين إلى الأهمية الامراضية للويحات الأسنان و صنفها إلى نوعية تعتمد على بعض الأنواع الممرضة المتواجدة فيها وغير نوعية تعتمد على المنتجات الفاسدة التي تنتجها البكتيريا في لويحات الأسنان و تسبب التهاب اللثة و التهاب حول السن وتسوس الأسنان(Prattenوآخرون 1998) التي تعد من المشاكل المهمة التي تعاني منها الدول الصناعية الكبرى إذ تصيب الأطفال بنسبة 60%-90 و نسبة كبيرة من البالغين (Brown وآخرون 2000) .

ذكر Li وجماعته(2007) إلى إن هناك تنوعا بكتيريا له القدرة على استيطان أسنان الأطفال و تكوين لويحات الأسنان و أكد على عدم إمكانية زرع كل الأنواع المتواجدة. تحدث إصابة لويحات الأسنان بصورة مبكرة عند الأطفال لأسباب عدة منها الأسنان الحساسة لأسباب وراثية أو إصابة الأم إثناء الحمل بالحمى او قلة التغذية أو التدخين او من البكتيريا المنتقلة من ألام آو الأشخاص ذوى الصلة بالإضافة إلى عدم تكامل الجهاز المناعي الموضعي (2006,Anne) وبالتالي تسبب لهم تسوسا مبكرا و تنخرا واضحا بسبب الحامض العضوي

المنتج منها الذي يذيب العناصر المعدنية من الأسنان ولهذا فان هذه الأسنان تكون حساسه و هشه عند الكبر و هي ظاهرة كثيرة الحدوث عند أطفال الأسر ذات الدخل المحدود (Kidd و Harris) (2004,Fejershov وآخرون 2004) . يتكون المحتوى الميكروبي المسبب لتسوس الأسنان من البكتريا المختزلة للكبريت Sulfate Reducing Bacteria(SRB)

Desulfovibrio desulfricans , Desulfovibrio vulgaris

Desulfotomaculum ramini s, Desulfomicrobium

نظرا لأهمية الدراسات الخاصة بتحديد نوعية الأجناس البكترية المسببة لتسوس الأسنان عند الصغار والبالغين

جاءت هذه الدراسة لتسلط الضوء على ما يأتي :

1. عزل وتشخيص البكتريا المختزلة للكبريت المسببة لتسوس الأسنان في الاعمار المختلفة.
2. دراسة عوامل الضراوة للبكتريا فضلا عن استجابتها لمضادات الحياة .
3. تأثير درجات الحرارة المختلفة على الالتصاق على السطوح المختلفة وقدرتها على البقاء.
4. اختبار قدرة البكتريا المختزلة للكبريت على تآكل معدن الحديد المستعمل في الحشوات.

الخلاصة

في الدراسة الحالية تم تشخيص البكتريا المختزلة للكبريت ولأول مرة في العراق (مدينة بعقوبة) من فم الأنسان، وتحديداً في الأسنان المتسوسة والجيوب اللثوية .جمعت 300عينة وتضمنت200 عينة من الأسنان المتسوسة، 100عينة من مسحات الجيوب اللثوية باستخدام (paper points حجم 30) إذ قسمت العينات بواقع 75عينة للأسنان المتسوسة و75 عينة للمسحات اللثوية معزولة من الأطفال الذين تتراوح أعمارهم (5-15) سنة و(125) عينة للأسنان المتسوسة و25 عينة للمسحات اللثوية معزولة من الأشخاص الذين تتراوح أعمارهم (20-60) سنة من الذكور والإناث وتحت الإشراف الطبي المختص في المجمع الطبي التخصصي في بعقوبة الجديدة وعيادات طب الأسنان وفي المدارس وبعض المتبرعين خلال الفترة بين18/ 10 / 2013 ولغاية 1 /2 / 2014 .شخصت 40 عزلة من البكتريا المختزلة للكبريت (Sulfate Reducing Bacteria)وبواقع 5 عزلة (12.5%)*Desulfovibrio vulgaris* و12 عزلة (30%) *Desulfovibrio desulfuricans* و 17 عزلة (42%) *Desulfotomaculum raminis* و 6عزلة(15%) *Desulfomicrobium* باستخدام طريقة العزل والتنقية تحت الظروف اللاهوائية الإجبارية باستخدام غاز النيتروجين وثاني اوكسيد الكاربون بنسبة20-80% وباستخدام وسط ApI الصلب .

تم التحري عن إنتاج عوامل الضراوة في العزلات قيد الدراسة إذ أظهرت النتائج تباينا للقدرةعلى انتاج الهيمولايسين وبواقع 3عزلة (60%)*Desulfovibrio vulgaris* و10 عزلة (83.33 %)*Desulfovibrio desulfuricans* و14 عزلة (82.35%) *Desulfotomaculum raminis* و 4عزلة (66.7%) *Desulfomicrobium* وعلى انتاج البكتريوسين وبواقع 3عزلة (60%)*Desulfovibrio vulgaris* و7 عزلة (58.3%) *Desulfovibrio desulfuricans* و10 عزلة (58.82%)*Desulfotomaculum raminis* و 4عزلة (66.7%) *Desulfomicrobium* وان جميع العزلات كانت موجبة لاختبار تكوين الجليدات واختبار المحفظة .

أما الغشاء الحيوي فقد تم الكشف عن قابلية العزلات على تكوينه بطريقتين هما احمر الكونغو وقد اظهرت 4عزلة (80 %)*Desulfovibrio vulgaris* و11 عزلة (91.7 %)