

**Ministry of Higher Education and Scientific Researches
University of Mosul
College of Dentistry**



Bacterial Study of Dental Caries in Children

A Thesis Submitted To

The Council of the College of Dentistry in University of Mosul

By

Rafit Jasim Mohammad Al-Adool

B D S ,H H D ,M. Sc.

**In Partial Fulfillment of the Requirements For the Degree of
Philosophy Doctorate of Sciences**

In

Dental Sciences/Oral Microbiology

Supervised By

Assistant Professor

Dr. Ghada Y. Abudul-Rahman

2018 A.D.

1440 A.H

Abstract

The objective of this study (which was done at College of Dentistry /University of Mousl from October 2012 till April 2017) was to estimate the correlations between dmft score and saliva pH with three oral cariogenic bacteria (*Streptococcus mutans*, oral *lactobacilli* and oral enterococci). Saliva was taken from sixty three children, their ages about 4-9 years. Inoculation of saliva were done on three types of the selective media; Mitis Salivarius Bacitracin agar, Rogosa SL and m Enterococcus agar (All media were from Himedia, India). After incubation at 37°C for 48 hours (anerobically for Mitis Salivarius Bacitracin and aerobically for m Enterococcus agar and Rogosa SL agar), colony forming units (CFU) were calculated. Mean of dmft of examined children was (6.3). Positive correlation was observed between dmft and *Streptococcus mutans* ($p=0.553$). No significant relations were found between dmft with oral lactobacilli and oral enterococci. Also, no significant relations were found between salivary pH and the three tested bacteria.

Another objective of this study was to test microscopic biofilm of new three oral bacteria. A new saliva samples were taken from several subjects suffered from dental caries. After suitable mixing, dilution and inoculation on the three selective media, *Streptococcus mutans*, *Facklamia hominis* and *Streptococcus salivarius* were isolated. The use of automated microbial identification instrument (Vitek 2, BioMerieux, France) confirmed the identification of the three test bacteria. Four attachment surfaces were prepared for this experiment. They were permanent teeth surfaces, deciduous teeth surfaces, amalgam and composite fillings surfaces. Each surface was sent for examination using scanning electron microscope at laboratories of Ministry of Sciences and Technology-Baghdad/Iraq. The anti-biofilm formation assay was done with same procedure with use of test

toothpaste(Sensodyne repair and protect,USA contain stannous fluoride 0.454 % as active ingredient).Scanning electron micrographs with different magnification powers reveals the great decrease in biofilms formations after the application of test toothpaste on all test attachment surfaces.The effects of test toothpaste was less on amalgam filling surfaces than other attachment surfaces.The decrease in formed biofilms include both the bacterial cells aggregations and the related extracellular poly saccharides(EPS).There were similarities in topograraphies of permanent and deciduous teeth surfaces but obvious difference was found in roughness between amalgam and composite filling surfaces.

The third objectives of this study was to estimate the antibacterial effects of same test toothpaste on the three test bacteria using two methods.The first method was disc diffusion method which approved the antibacterial effects of the test toothpaste.In relation to *Streptococcus mutans*,the mean diameter of zone of inhibition was 13mm whereas for the control(chlorohexidne gluconate)was 6mm.For *Facklamia hominis*,the mean diameter of zone of inhibition was 7mm whereas for the control(chlorohexidne gluconate)was 4.5mm.For *Streptococcus salivarius*,the mean diameter of zone of inhibition was 13.6mm whereas for the control (chlorohexidne gluconate)was 10mm.The second method was the photometric method which insured great antibacterial effects of the test toothpaste on the three test bacteria.Paired samples statistics of T test showed significant antibacterial effects of the test toothpaste on the three bacteria *Streptococcus mutans*,*Facklamia hominis* and *Streptococcus salivarius* (0.000, 0.001and 0.004 respectively).



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الموصل

كلية طب الأسنان

دراسة جرثومية لتسوس الأسنان في الأطفال

أطروحة مقدمة

إلى

مجلس كلية طب الأسنان في جامعة الموصل

من قبل

رأفت جاسم محمد العدول

بكالوريوس طب وجراحة الفم والأسنان، دبلوم عالي في التشخيص الفموي

ماجستير أحياء مجهرية فموية

كجزء من متطلبات نيل درجة دكتوراه فلسفة في

علوم طب الأسنان / أحياء مجهرية فموية

بإشراف

إ.م.د. غادة يونس عبد الرحمن

وباستخدام نفس الإجراء، تم إجراء اختبار مضاد الطبقة الجرثومية البكتيرية باستخدام معجون الأسنان (protect and repair، Sensodyne) الولايات المتحدة الأمريكية والذي يحوي على الفلور بنسبة 0.454% كمادة فعالة).

حيث كشف المسح الميكروسكوبي الإلكتروني مع قوى تكبير مختلفة لتشكيل الطبقات الجرثومية الانخفاض الكبير في تشكيلات الطبقات الحيوية الجرثومية بعد استعمال معجون الأسنان المختبر على جميع السطوح اللاصقة.

وكانت تأثيرات معجون الأسنان المختبر أقل على سطوح الحشوات الملمغمية من سطوح الالتصاق الأخرى. وشمل الانخفاض في تشكيلات الطبقات الحيوية الجرثومية كلا من تجمعات الخلايا البكتيرية وما يرتبط بها من التجمعات السكرية الخارجية (EPS). وكانت هناك أوجه تشابه في تضاريس أسطح الأسنان الدائمة والأسنان اللبنية، ولكن الفرق كان واضحاً في خشونة سطوح الحشوات الملمغمية و سطوح الحشوات المركبة.

وكان الغرض الثالث من هذه الدراسة هو تقدير التأثيرات المضادة للبكتيريا لنفس معجون الأسنان المختبر على الثلاث أنواع من البكتيريا المختبرة وباستخدام طريقتين.

الطريقة الأولى كانت طريقة انتشار الأقراص التي أظهرت التأثيرات المضادة للبكتيريا لمعجون الأسنان المختبر. حيث كان القطر المتوسط لمنطقة التثبيط بالنسبة لـ *Streptococcus mutans* 13 ملم في حين كان القطر المتوسط لمنطقة التثبيط لـ *Streptococcus mutans* 13.6 ملم في حين كان القطر المتوسط لمنطقة التثبيط لـ *Facklamia hominis* 6 ملم. أما بالنسبة لـ *Streptococcus salivarius* كان القطر المتوسط لمنطقة التثبيط 7 ملم بينما السيطرة 4.5 ملم. أما عن *Streptococcus salivarius* كان القطر المتوسط لمنطقة التثبيط 13.6 ملم في حين كان القطر المتوسط لمنطقة التثبيط لـ *Streptococcus salivarius* 10 مل (يطرة) 10 مل.

أما عن الطريقة الثانية فكانت الطريقة الضوئية التي أكدت مدى التأثيرات المضادة للجراثيم لمعجون الأسنان للثلاث أنواع من البكتيريا المختبرة. وأظهرت إحصاءات العينات المقترنة من اختبار T تأثيرات معنوية كبيرة مضادة للجراثيم على البكتيريا الثلاث *S.mutans* و *F.hominis* و *S.salivarius* (0.000 و 0.001 و 0.004 على التوالي).

الملخص

كان الغرض من هذه الدراسة هو تقدير الارتباط بين درجة dmft (الأسنان المتسوسة والمفقودة والمحشوة) ودرجة الحموضة اللعابية مع ثلاثة من البكتيريا الفموية المسببة لتسوس الأسنان وهي البكتيريا السبحية الطافرة والعصيات اللبنية الفموية والمكورات المعوية. أخذت عينات لعاب من ثلاثة وستين طفلاً تراوحت أعمارهم بين 4-9 سنوات وتم استعمال ثلاثة أنواع من الأوساط الانتقائية وهي Rogosa SL و Mitis Salivarius Bacitracin agar و m Enterococcus agar من شركة (Himedia) الهندية.

بعد التحضين عند 37 درجة مئوية (لاهوائياً) Mitis Salivarius Bacitracin agar و هوائياً و m Enterococcus agar و Rogosa SL agar (لمدة 48 ساعة, تم حساب وحدات تشكيل المستعمرات (CFU).

كانت معدل dmft من الأطفال الذين تم فحصهم هو (6.3). ولوحظت علاقة إيجابية بين dmft و البكتيريا السبحية الطافرة (ع = 0.553) في حين لم يتم تأسيس علاقات ذات دلالة بين dmft مع العصيات اللبنية والمكورات المعوية. كما لم يتم تأسيس أي علاقة بين درجة الحموضة اللعابية والثلاث أنواع من البكتيريا المختبرة.

وكان الغرض الآخر من هذه الدراسة اختبار الطبقة الحيوية لثلاث أنواع جديدة من البكتيريا الفموية حيث تم أخذ عينات جديدة من اللعاب من أشخاص يعانون من تسوس الأسنان. بعد الخلط المناسب و التخفيف والتلقيح على الوسائط الانتقائية الثلاثة، تم عزل *Streptococcus* و *Facklamia hominis mutans* باستخدام أداة تحديد الهوية الميكروبية (Vitek 2، BioMerieux الفرنسية المنشأ) تم التشخيص لأنواع البكتيرية الثلاث.

تم إعداد السطوح اللاصقة من أجل هذه التجربة وهي أسطح أسنان دائمية وأسطح أسنان لبنية وأسطح الحشوات الملغمية والحشوات المركبة. ثم تم إرسال الأسطح لفحصها باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح في مختبرات وزارة العلوم والتكنولوجيا /بغداد.