

عزل وتشخيص بعض انواع البكتريا المرضية المسببة لألتهاب الأذن الوسطى في محافظة ذي قار

نجلاء ناجي جفات

جامعة ذي قار- كلية العلوم- قسم التحليلات المرضية

الخلاصة

أشتملت الدراسة الحالية على عزل وتشخيص بعض انواع البكتريا المسببة لألتهاب الأذن الوسطى للفترة 20/3/2012-17/2 جمعت خلالها 175 مسحة مختلفة مأخوذة من المرضى المراجعين للعيادة الأستشارية في مستشفى الحبوبي في محافظة ذي قار والذين يعانون من التهاب الأذن الوسطى وكانت المسحات المأخوذة لأعمار ولأجناس مختلفة.

شخصت العزلات البكتيرية مظهرها وزرعيا وبأستخدام الأختبارات الكيموحيوية وذلك بقدرة هذه البكتريا على انتاج بعض الأنزيمات وكونها موجبة وسالبة لصبغة كرام اذ تم تشخيص 93 عزلة تعود الى *Pseudomonas aeruginosa* وبنسبة (53.14%) و67 عزلة تعود الى جنس *Staphylococcus* وبنسبة (38.82%) () توزعت كما يلي: 55 عزلة لـ *Staphylococcus aureus* وبنسبة (31.42%) و 12 عزلة تعود الى بكتيريا *Staphylococcus epidermidis* وبنسبة (6.85%) . كما تم الحصول على 15 عزلة تعود لجنس *Streptococcus* مثلت بكتريا *Streptococcus pneumoniae* بنسبة (8.57%) ، وقد ظهر وجود تباين كبير في حساسية العزلات لمضادات الحياة المستخدمة ، فبالنسبة لبكتيريا *p.aeruginosa* اظهرت مقاومة عالية للمضادات (Amoxicillen, Ampicillin, Cefotaxime) وأقل مقاومة لمضاد Cefotaxime وبنسبة (13.89%) اما بالنسبة لبكتريا *S. aureus* فلقد كانت مقاومة لمضادات Amoxicillen , Trimethprim, Ampicillin , Rifampicin وبنسب (100, 34.45, 38.67, 36.67%) على التوالي بينما سجلت حساسية عالية ضد المضاد Cefotaxime بنسبة (90.54%). أظهرت بكتريا *S. neumoniae* أعلى نسبة مقاومة لمضاد Amoxicillen بلغت (95.69%)، بينما كانت حساسة لمضاد Cefotaxime بنسبة (90.78%) أيضاً قاومت المضادات Cefotaxime, Ampicillin, Trimethprim, Rifampicin بنسبة (65.78, 37.46, 30.86, 28.97%) على التوالي .

Isolation and identification of some bacteria that causes inflammation of otitis media in Thi-Qar

Abstract

The current study included the isolation and identification of some bacteria that causes inflammation of otitis media. Samples were collected from various patients in the consultative clinic of the AL-Habubi hospital in the governorate of Thi-Qar at the period from 17/2-20/3/2012.

The bacteria isolation was diagnosed depending on the properties of culture and using biochemical tests to show the ability of this bacteria of some producing some enzymes (positive or negative) Gram stain . The diagnosis 93 (53.14%) isolates of *P. aeruginosa*

While number of isolates of Genus *Staphylococcus* was 67 (38.82 %) distributed as follows 55 (31.42%) isolates of *Staphylococcus aureus* and 12 (6.85%) isolates of *Staphylococcus epidermidis* .As isolation of genus *Streptococcus* 15 (8.57%) acters bacteria *Streptococcus pneumoniae*. The results appeared high varialabelty to antibiotic using , As bacteria *P. aeruginosa* showed high resistance for antibiotics (Amoxcillen , Ampicillin ,Ceftazdime) and lowest resistance for Cefotaxime is percentage of (13.89%) . As for *S. aureus* the high resistance was for antibiotics Rifampicin, Ampicillin, Trimethprim, Amoxcillen (100, 38.67, 34.45, 36.67) respectively while high sensitivity was for Cefotaxime in ratio (90.54%). As for *S. pneumoniae* high resistance was for antibiotic Amoxcillen in ratio(95.69%) while high sensitivity to Cefotaxime in ratio (90.78%) also resistant for antibiotics Ampicillin, Rifampicin , Trimethprim, Ceftazdime in ratio (28.97,30.86,37.46, 65.78%) respectively.

المقدمة

هذه البكتريا من المسببات الشائعة في البلدان النامية مثل العراق (Nicolatill, et al.,2000).

كما ويعد مرض التهاب الاذن الوسطى بكل انواعه من الامراض المنتشرة التي تصيب اعداداً كبيرة من البشر في انحاء مختلفة من العالم مسبباً مشكلة صحية مهمة وخاصة في مرحلة الطفولة المبكرة، اذ وجد أن (60-80 %) من الاطفال يتكرر لديهم التهاب الاذن الوسطى خلال السنوات الاولى من العمر (Paradise et al.,1997; Kalcioğlu et al.,2006) .

ينشأ خمج الاذن الوسطى نتيجة الاصابة بالبكتيريا أو الفايروسات أو الفطريات، وبالنسبة للاصابات البكتيرية وجد أن البكتريا الموجبة لصبغة غرام يكون مصدرها تجويف الانف البلعومي، Nosopharynx كما بين (Kononen et al.,2002) . وقد أشار (Al-Hamadany (2000) الى دور بكتيريا *S.aureus* بأحداث خمج الاذن الوسطى، اذ بلغت النسبة (81.6%) فضلاً عن بكتيريا *S. epidemidis* حيث أشارت

يعد الالتهاب البكتيري اصطلاحاً يشمل البكتريا التي تسبب امراضية عند دخولها الجسم أو عند تواجدها في أماكنها الطبيعية مثل الجهاز الهضمي مثل البكتريا المعوية *Enterobacteriaceae* ولكنها في بعض الأحيان تغادر موقعها الطبيعي الى موقع اخر لأسباب ضعف المناعة لدى الشخص المريض او عند غزوها بعض الأنسجة كالجلد محدثة اصابة متعددة حتى تصل الى مجرى الدم مسببة حالة (تسمم الدم) التي تؤدي الى الوفاة كما أن للبيئة والمجتمع دور كبير في أنتشار الممرضات البكتيرية وحدثت التهابات مختلفة في الجسم فتلوث الهواء بالبكتريا وخاصة البكتريا الموجودة في المستشفيات مثل البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* والتي تسبب خمج المنقبات وتلعب دوراً في أحداث الأصابة في الأذن والأنف وتعد

2. زرع المسحات

زرعت المسحات على الاوساط الزرعية التالية (وسط اكار الدم، وسط ماكونكي اكار) باستعمال طريقة التخطيط (Streaking method) ، حضنت الاطباق هوائياً بدرجة حرارة 37°C مئوية لمدة 24 ساعة ، شخّصت المستعمرات النامية مبدئياً من خلال صفاتها الزرعية والمظهرية وبعض الفحوصات الكيموحيوية لتشخيص البكتيريا الموجبة ، و السالبة لصبغة غرام (Atlas et al., 1995).

التشخيص

تم تشخيص البكتيريا المعزولة اعتماداً على الصفات الشكلية والصفات الزرعية والاختبارات الكيموحيوية.

• اختبار الحساسية لمضادات الحياة

استخدمت طريقة (Bauer-Kirby et al., 1966) لتقدير مدى حساسية البكتيريا المعزولة تجاه بعض مضادات الحياة المستخدمة اذ استخدم في هذا الاختبار (6) نوعاً من مضادات الحياة المجهزة من شركة (Bioanalyse) التركيبية وباستخدام الوسط الزرعى Mueller-Hinton agar لاجراء هذا الفحص وحضنت الاطباق بدرجة حرارة (37C) ولمدة 18-24 ساعة حيث تنشر المضاد الحيوي من ورقة الترشيح الى الاكار وينتج منطقة تثبيط النمو البكتيري حول الاقراص المحتوية على المضاد الفعال وهذه المنطقة يجب ان تكون بشكل دائري منتظم تم قياس مناطق التثبيط بالمليمتر بواسطة مسطرة شفافة عدت البكتيريا حساسة (S) (Sensitive) او مقاومة (R) (Resistant) او متوسطة الحساسية (I) (Intermediate) حسب المواصفات القياسية الواردة في الثوابت المختبرية العالمية (National Committee for Clinical Laboratory NCCLS., 1997).

الصكر (2000) الى دور هذه الجرثومة في حالات خمج الاذن الوسطى في مدينة بغداد والتي عزلت بنسبة (5.18%) ، أما بكتيريا *S. pneumonia* وبكتيريا *Haemophilus influenzae* وبكتيريا *Moraxella catarrhalis* فأنها تعد من المسببات الجرثومية الرئيسية في حالات التهاب الاذن الوسطى الحاد (; kkonen et al., 2000) ; (Walls et al., 2003).

ان الاستخدام المتكرر والعشوائي والمتزايد لمضادات الحياة في علاج الحالات المرضية ولفترات طويلة ادى الى ظهور تأثيرات جانبية تضر بصحة الفرد من جهة وظهور سلالات مقاومة من جهة اخرى وهذا يتطلب باستمرار اجراء دراسات لتحديد المسببات المرضية للاصابة بصورة دقيقة ومحاولة الوصول للمضاد الحيوي المناسب لعلاجها ، وعليه أستهدفت الدراسة الى :-

- 1- عزل وتشخيص بعض البكتيريا المسببة لالتهاب الاذن الوسطى.
- 2- اختبار حساسية العزلات البكتيرية تجاه بعض مضادات الحياة المستعملة في العلاج.

طرائق العمل

1. جمع العينات

جمعت (175) مسحة من مرضى مصابين بالتهاب الاذن الوسطى والذين راجعوا العيادة الاستشارية لل(ENT) في مستشفى الحبوبي العام في مدينة الناصرية على مدى شهراً ، تم أخذ العينات باستخدام مسحات قطنية معقمة (Cotton Swabs) ودونت المعلومات عن كل مريض وفق استمارة اعدت لهذا الغرض والتأكد من عدم تعاطي المريض لأي مضاد حيوي قبل أخذ المسحة لمدة لا تقل عن ثلاثة ايام ، ثم نقلت المسحات الى المختبر مباشرة. اخذت العينات من الاشخاص المرضى من كلا الجنسين وبأعمار مختلفة تراوحت ما بين (1-60) سنة ، وبمساعدة الطبيب المختص في استشارية الانف والاذن والحنجرة (ENT) في مستشفى الحبوبي .

النتائج والمناقشة

العزل والتشخيص

تم عزل وتشخيص (175) عزلة بكتيرية توزعت كما يلي : 93 (53.14%) عزلة تعود الى *P. aeruginosa* . أما عدد عزلات جنس *Staphylococcus* فكانت 67 (38.82%) عزلة توزعت كما يلي : 55 (31.42%) عزلة لـ *Staphylococcus aureus* و 12 (6.85%) عزلة تعود الى بكتيريا *Staphylococcus epidermidis* . كما تم الحصول على 15 (8.57%) عزلة تعود لجنس *Streptococcus* مثلت بكتيريا *Streptococcus pneumoniae* , وذلك باستخدام الاختبارات الكيموحيوية لقد جاءت الدراسة متفقة مع نتائج الدراسات السابقة حيث بينت تلك الدراسات شيوع بكتريا الزوائف الزنجارية *P. aeruginosa* في أحداث الإصابة تلتها بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* (الموسوي , 2011). كما أكدت دراسة سابقة ان بكتريا *P. aeruginosa* لها دور السيادة في حدوث التهابات الأذن (خليل 1980, وان استخدام الطرق الغير صحيحة في تنظيف الجروح المصابة وتطهير الأذن الخارجية يساعد على الإصابة ببعض الممرضات البكتيرية (Bed Worth & Bed Wath., 1992).

من ملاحظة النتائج نجد إن بكتيريا *P. aeruginosa* لها دور السيادة في التهابات الإذن الوسطى وتتفق هذه النتائج مع ماتوصلت إليه الجوراني (2001) وكذلك تتقارب نتائجنا مع دراسات سابقة قام بها (Indudharan et al., 1999) الذي وجد أن الكائنات المجهرية الأكثر شيوعاً في التهاب الإذن الوسطى هي *P. aeruginosa* حيث تم عزلها بنسبة 27.2% تلتها بكتيريا *S. aureus* بنسبة 23.6%. أما Miro, (2000) اشار إلى إن البكتيريا المسببة لهذا الالتهاب هي (*P. aeruginosa*, *S. aureus* , *Proteus spp.* , *Klebsiella pneumoniae*) . وقد وجد (Parry & Roland , 2002) ان *S. aureus* هي

الكائن المجهرية الثاني الأكثر شيوعاً والمعزول من التهاب الإذن الوسطى بحيث تقدر نسبة الإصابة بهذه البكتيريا من (15-30%) .

ويكون معدل إصابة الجهاز التنفسي بالمكورات الذهبية *S. aureus* عالياً لسببين :-

الأول المقاومة العالية للمضادات الحيوية ،أما السبب الآخر يرجع إلى إن بكتيريا الـ *S. aureus* قد تكون موجودة طبيعياً وتعد ممرضات انتهازية تسبب المرض في حالة انخفاض مناعة الجسم لسبب ما (Masha and Etkin , 1998) . ولوحظ إن سلالات بكتيريا *Pseudomonas* التي تسبب التهاب الإذن الوسطى تختلف عن غيرها من سلالات النوع نفسه إذ تمتاز بقابلية التصاقها العالية بالخلايا الطلائية المبطنة للمجرى السمعي (خليل, 1980) .

حساسية عزلات البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام لمضادات الحياة :-

اجري فحص الحساسية لمضادات الحياة لجميع الأنواع البكتيرية المعزولة وقد ظهر وجود تباين كبير في حساسية العزلات لمضادات الحياة المستخدمة ، فبالنسبة لمضاد الاموكسلين سجلت بكتيريا *P. aeruginosa* مقاومة عالية بلغت (100%) وهذا يتفق مع دراسة جرجيس (2006) . وأيضاً أظهرت مقاومة عالية للمضادين (Ampicillin و Cefazidime) أعلى نسبة مقاومة إذ بلغت (73.45, 77.35%) وأقل مقاومة لمضاد Cefotaxime وبنسبة (13.89%) وتعود مقاومة البكتيريا لهذه المجموعه من المضادات الى انتاج انزيمات Beta-Lactamase ذات المدى الواسع في الفعالية ضد هذه المضادات (pandey et al., 2005) اما بالنسبة لبكتيريا *S. aureus* فلقد كانت مقاومة لمضاد Rifampicin, Amoxicillin Trimethprim, Ampicillin, وبنسب (100, 38.67, 34.45, 36.67%) على التوالي بينما سجلت حساسية عالية ضد المضاد Cefotaxime بنسبة (90.54%) ويعود ذلك الى وجود ثلاث اليات مهمة تستطيع من خلالها بكتريا المكورات العنقودية مقاومة مضادات البيتا لاكتام فضلا عن انتاج انزيمات

الحياتية والمركبات الكيماوية الجديدة . رسالة ماجستير
كلية العلوم / الجامعة المستنصرية

- خليل ، هيثم محمد خليل (1980) ، أنواع الجراثيم المسببة لالتهاب الأذن الوسطى في الأعمار المختلفة في الموصل ومواليها . رسالة ماجستير - كلية الطب - جامعة الموصل.
- الصكر ، رباب قاسم (2000). دراسة عن بعض البكتريا الهوائية المقاومة للمضادات الحيوية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب الأذن الوسطى . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة بغداد .
- الغريب، نورتان عبد الصاحب جمعة (2000). دراسة مقارنة لفعالية مضادات حيوية مختارة تجاه بعض أنواع المكورات العنقودية ذات المقاومة المتعددة . رسالة ماجستير . كلية - التربية جامعة البصرة.
- الغزي ،زينة زامل تركي (2008). النشاط الهيمولاييني لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من حالات مرضية مختلفة ومقاومتها لمضادات الحياة . رسالة ماجستير . كلية التربية - جامعة ذي قار .
- الموسوي، أسيل كامل الموسوي (2011). عزل وتشخيص بعض البكتريا الهوائية المسببة لالتهابات القناة التنفسية العليا ومقارنة حساسيتها الدوائية مختبرياً مع الوصف العلاجي من مضادات الحياة في محافظة ذي قار . رسالة ماجستير . كلية العلوم - جامعة ذي قار .

البتالاكتاميزفان لهذه البكتريا قدره على توليد مقاومة داخلية وذلك من خلال خفض الفة او كمية البروتينات المرتبطة بالبكتريا وكذلك القابليه على تحمل التأثير القاتل لتلك المضادات (Jawets et al.,2001).

أظهرت بكتيريا S. pneumoniae أعلى نسبة مقاومة لمضاد Amoxicillen بلغت (95.69%)، بينما كانت حساسة لمضاد Cefotaxime بنسبة (90.78%) أيضاً قاومت المضادات Trimethprim, Ampicillin, Rifampicin, Cefazidime بنسبة (65.78, 37.46, 30.86, 28.97%) على التوالي وتتقارب هذه النتائج مع ما أورده الغريب (2000) ، وفي دراسة للغزي (2008) وجد أن نسبة مقاومة هذه البكتيريا لمضاد الاموكسيلين (92.31%) . وقد يرجع سبب المقاومة الى الاستعمال الغير ملائم لمضادات الحياة كاستخدام المضادات البكتيرية في علاج الاصابات الفايروسية فقد وجد Hooton & Levy (2001) ان نسبة (20% - 50%) المستخدمة في المستشفيات والعيادات تكون غير ضرورية كاستخدام المضادات الخاصة بالاصابات البكتيرية في علاج الاصابات الغير بكتيرية والغير مشخصة وهذا يشجع ظهور المقاومة بين الانواع البكتيرية ويتكرر استخدام هذه المضادات وفترات طويلة سوف تستمر هذه المقاومة الى السلالات الجديدة لان وجود المضاد يعمل على حث هذه السلالات على امتلاك صفة المقاومة وتطويرها.

المصادر

References

المصادر الاجنبية

- Al-Hamadany, W.S. (2000). Study of some immunologic aspects in otitis media patients caused by Gram positive cocci .M.Sc. Thesis, Al-Mustansiriya University, Baghdad , Iraq.
- Atlas, R. M. (1995). principle of microbiology , mosby . Berlin - Bosten London . New York .
- Bauer, A.M. ; Kirby, W.M. (1966). Antibiotics suscepitibility testing by a standarised

المصادر العربية

- الجوراني ، ماجدة غازي مكطوف (2001) . دراسة بعض الجوانب المناعية والبكتريولوجية للمصابين بالتهاب الاذن الوسطى في مدينة الناصرية . رسالة ماجستير . كلية العلوم - الجامعة المستنصرية .
- جرجيس، خان زاد خضر (2006) . دراسة مقاومة انواع من البكتريا المعزولة من المرضى لبعض المضادات

- lymphoma presectiny as chronic Mastiditis
.J.Laryngology and Otology.
- **Pandey, A; Maleni, R. and Asthana, AK,(2005)** . Beta – Lactamase producing *p.aeruginosa* in hospitalized patients. India J.Pathol. Microbiol .48 (4): 530 - 533.
 - **Paradise, J.L.;** Rockett, H.E. and Colborn, D.K. (1997). Otitis media in 2253 Pittsburgh-area infants: prevalence and risk factors during the first two year of life. *Pediatr.*99: 318-333.
 - **Parry, D. and Roland, D.S. (2002).** Middle ear, chronic suppurative, medical treatment. Medicine Company. Inc. website.
 - **Ukkonen P.;** Varis, K.; Jernfors, M.; Herva, E.; Jokinen, J.; Ruokokoski, E.; Zopf, D. And kilpi, T.(2000). Treatment of acut otitis media with an Controlled antiadhesive Oligosacchoride: arandomised, double-blind, Placebo- trial. *Lancet.* 356: 1398-1402.
 - **Walls , T. , Power , D , and Tagy , J. (2003)** .Bacteriocin – like inhibitory substance (BLIS) prodution by the normal flora of the nasopharynx : potential to protect against otitis media ? *J.Medici.Microbiol.* 59 : 829- 833.
 - single disc method. *AM.J.Clin. Pathol.* ,45:493- 496 .
 - **Bed Worth, a.E;and Bed Wath ,D.A.(1992)** The Profession and practice of healtheducation WCB publishers.
 - **Hooton , T.M.;** and Levy , S.B.(2001) . Antimicrobial resistance: Aplan of action for community paractice. *American Family physician,* 63 (6) :1087- 1096 .
 - **Indudharan , R; Haq , J.A. And Aiyar , S (1999).** Antibiotics in chronic supplicative otitis media . A bacteriologic study . *Ann. Otol . Rhinol Laryngol .* 108 : 440 – 445.
 - **Kalcioglu, M.T.;** Ozturan, O.; Durmaz, R. and Aktas, E. (2006). In vitro efficacy of the successive or staggered use of ear drope. *Eur.Arch.Otorhinolaryngol.* 263(5) :395-398.
 - **Kononen , E;** Jousimies –Somer ,H.; Bryk, A.; *et al.* (2002) .Establishment of Streptococci in the upper respiratory tract : Longitudinal changes in the mouth and nasopharynx up to 2 years of age .*J.Med Microbiolgy .* ,51(12): 723-730 .
 - **Masha, J. and Etkin, M.D. (1998).** Environmental tobacco smoke and middle ear disease in pre-school age children. *Arch. Ped. Adoles. Pediatrics. Org / cgi / content / full*
 - **Miro, D.M (2000).** Aerobic and Anaerobic Bacteriology of chronic supplicative otitis media without cholesteatoma in children. *Ann. Otol. Rhinol Laryngol.* 101: 866 – 869.
 - **National Committee for Clinical Laboratory standars. (1997)** Methods for Dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7 – A4. National Committee for Clinical Laboratory standars .Wayne. PA.USA.
 - **Nicolatill,MB;ch,B;Brad, M,B,ch,B;Nilesxlt,Vasan,M.B,CH,B.Molc olm,F.R.A.S (2000)** Cerebelloptine angle