وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى- كلية التربية
قسم علوم الحياة

فوعة بعض أنواع المتقلبات *Proteus* spp. المعزولة من خمج الأذن الوسطى في بعقوبة وضواحيها

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية / جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير
في علوم الحياة / أحياء المجهرية
تقدمت بها

آفاق رشيد سلمان

بإشراف

د.عباس عبود فرحان
أستاذ

د. عبد الرزاق شفيق حسن
أستاذ مساعد

جمادي الأولى 1428هـ

آيار 2008 م

الفصل الأول
CHAPTER ONE

المقـدمة
INTRODUCTION

1-1- المقدمـة Introduction

يعد خمج الأذن الوسطى (Otitis Media) أحد الأخماج التي تصيب أعداد كبيرة من البشر في أنحاء مختلفة من العالم مسببا مشكلة صحية مهمة وخاصة في مرحلة الطفولة المبكرة، إذ أن (60-80%) من الأطفال يتكرر لديهم خمج الأذن الوسطى خلال السنوات الأولى من العمر (Paradise *et al*., 1997 ; Kalcioglu *et al*., 2006).

وجد Pettigrew *et al*.(2006) أن (38%) من الأطفال يتكرر لديهم خمج الأذن الوسطى مرة واحدة، و (24%) منهم مرتين، و (10%) منهم ثلاث مرات أو أكثر خلال السنوات الأولى من حياتهم، فضلاً عن ذلك فأن تكرار خمج الأذن الوسطى في مرحلة الطفولة يزيد من ضعف السمع وتأخر القدرة على الكلام (Daly *et al*., 2005). إن سوء استعمال المضادات الجرثومية ونقص المناعة فضلاً عن طبيعة قناة اوستاكي كل ذلك يؤدي إلى تكرار خمج الأذن الوسطى لدى الأطفال.

أشار Penido Nde *et al*.(2005) إلى أن التشخيص المبكر لخمج الأذن الوسطى الحاد والمزمن مهم في تفادي المضاعفات التي تصاحب هذا الخمج في مراحله المتأخرة والمتمثلة بخراج الدماغ (Brain abscess)، إلتهاب السحايا (Meningitis)، تجلط الجيب الوريدي الجانبي (Lateral sinus thrombosis)، خراج تحت الجافية (Subdural abscess)، إذ أشار الباحثون إلى أن (58%) من المضاعفات ناشئة عن خمج الأذن الوسطى.

إن مسببات خمج الأذن الوسطى متنوعة فقد يكون المسبب بكتيرياً أو فطرياً، فقد أشار Pajor *et al*.(2006) إلى أن النمو الجرثومي للمسحات المأخوذة من خمج الأذن الوسطى بلغ (88.6%) والتي تتضمن جراثيم *Staphylococcus aureus* و *Proteus mirabilis* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Proteus vulgaris*، كما أشار Hafidh *et al*. (2006) إلى دور جرثومة *P. mirabilis* في خمج الأذن الوسطى المزمن، ووجد Van Hasselt & Van Kregten (2002) أن أغلب الأطفال المصابين بخمج الأذن الوسطى القيحي المزمن في أفريقيا (91%) يتضمن جراثيم غائطية Fecal

(bacteria) ووجدت جرثومة *P. mirabilis* بنسبة (74%) و*Enterococci* spp. بنسبة (60%)، بينما عزلت جرثومة *P. mirabilis* كمسبب مرضي أساسي لخمج الأذن الوسطى الحاد في نيجيريا وأن أغلب العزلات تمتلك مقاومة متعددة للأدوية الشائعة في علاج تلك الأخماج، إن زيادة معدل الخمج بجرثومة *P.mirabilis* لم تكن بسبب تصاعد نسبة المقاومة للمضادات الجرثومية فحسب بل لإمتلاكها مجموعة من عوامل الفوعة التي تزيد من شدة إمراضيتها (Ako-Nai *et al.*, 2002).

إن لعوامل الفوعة (Virulence factors) التي تمتلكها جرثومة *P. mirabilis* ومنها ظاهرة الإنثيال، إنتاج اليوريز، بروتينات الغشاء الحيوي، قابلية النمو بوجود مصادر حديد مختلفة، إنتاج الأنزيم الحال للدم، قابلية التراص الدموي ووجود تعبير متنوع لجينات الخمل (Fimbrial) (Sosa *et al.*, 2006)، فضلاً عن إمتلاك هذه الجرثومة لقابلية إنتاج الغشاء الحيوي (Jones *et al.*,2005 a)، وإنتاج الأنزيم الحال للبروتين (Senior *et al.*, 1988) دوراً مهماً في إمراضيتها، فقد زادت الأهمية الطبية لجرثومة *P. mirabilis* وتوسعت الدراسات التي تناولت وبائية تلك الجراثيم (Mutnick ; Hyniewicz *et al.*, 2001 ; Cielikowski *et al.*, 2003 ; Patzer *et al.*, 2002 ; *et al.*, 2002).

1-2- أهداف الدراسة

إن أهداف الدراسة الحالية هي:

1- عزل وتشخيص جرثومة *Proteus* المسببة لخمج الأذن الوسطى الحاد والمزمن في مدينة بعقوبة وضواحيها و تأثير بعض العوامل على نسب الإصابة كالعمر، الجنس، السكن والتدخين.

2- دراسة عوامل الفوعة لجرثومة *Proteus* ومعدل إمتلاك تلك الجرثومة لعوامل الفوعة المشمولة في الدراسة.

3- دراسة الاستجابة للمضادات الحياتية وتحديد نمط المقاومة المتعددة لجرثومة *Proteus* والتركيز المثبط الأدنى (Minimum Inhibitory Concentration) (MIC) للمضادات الحياتية ودراسة تأثير الأس الهيدروجيني على الاستجابة للمضادات الحياتية.

4 – إختبار حساسية عزلات جرثومة *Proteus* المعزولة من خمج الأذن الوسطى الحاد والمزمن لمادة الشمع الذي تفرزه الأذن البشرية كمادة مضادة للجراثيم.

5 - إجراء إختبار دينس لملاحظة مدى التشابه بين العزلات المحلية ودراسة إمكانية استخدامه كمؤشر وبائي للتحري عن إنتشار تلك العزلات.

Summary

During this study which was conducted for the period from 1st/December/2005 to 31th/july/2006, a total of (270) middle ear swabs were collected from patients with acute or chronic otitis media attending the out-patient clinic in Baquba General Hospital. The aims were isolation and identification of *Proteus* species causing otitis media and to explore the effect of certain host factors such as age, sex, residence and smoking; determination of antimicrobial susceptibility patterns of these isolates; and to investigate the utility of Dienes test as an epidemiological marker.

The swabs were cultured on enrichment and differential media. Bacterial growth were submitted for morphological and biochemical investigations for identification of *Proteus* species. Antimicrobial susceptibility was done by disc diffusion method, while the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) was assessed by two-fold agar dilution method. *In vitro* Biofilms formation was detected by enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA)..

The *proteus* species were isolated from 35 (13%) swabs, The *P. mirabilis* constitute 28(10.4%) and *P. vulgaris* (2.6%).Swabs showed bacterial growth other than *proteus* were 205 (75.9%) , while swabs with no bacterial growth were 30(11.1%).

The mean age of patients was 25.9 ± 16.8 years .The isolation rate from males was (17.8%), which was higher than that of females (8.5%). Regarding the age group, the highest isolation rate (18.4%) was found in those 10-19 years old, while the lowest isolation rate (6.6%)was recorded in those < 5 years old. The isolation rate from patients reside in rural areas was higher than that reside in urban areas (13.3% *vs* 11.9%). The isolation rate of *Proteus* from swabs collected from chronic otitis media

was higher than that in acute otitis media (18.6% *vs* 6.9%). Additionally, the isolation rate from swabs collected from smoker patients was (21.1%), followed by those with negative smoking (14.6%) and the lowest rate (9.9%) was among non-smokers.

The results of virulence factors revealed that 23(95.5%) isolates had the ability to agglutinate RBCs, 22(91.7%) were able to form Biofilm *in vitro*, 21(87.5%) were able to adhere to epithelial cells, 16(66.7%) and 18(75%) isolates had the ability to hemolyze human and sheep RBCs respectively. 18(75%) of the isolates were esterase enzyme producers, 11(45.8%) were proteinase and β-lactamase producers, 8(33.3%) isolates were broad-spectrum β-lactamase producer. One (4.2%) isolate expressed all under study virulence factors. On the other hand, the inhibitory effect of ear wax material was recorded on 9(37.5%) of the isolates.

The results revealed that the proteus isolates had a wide variability in resistance to the antimicrobials. Ciprofloxacin was the most effective against these isolates. On the contrary, the cefotaxim, vancomycin, lincomycin, erythromycin and cloxacillin were the least effective. Furthermore, the sensitivity of *Proteus* isolates was increased in alkaline medium, while the resistance increased in acidic medium.

The MIC was determined for five antimicrobials. The median MIC for tobramycin, gentamycin, ciprofloxacin, cefotaxim and nalidixic acid was 64,64, 48, 4, 4, µg/ml respectively.

The Dienes test for *P. mirabilis* isolates found a close similarity among these isolates that may indicate the occurrence of otitis media by the same isolate.