جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بابل/ كلية العلوم للبنات
قسم علوم الحياة

# عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لمرضى التهاب الاذن الوسطى واختبار بعض المضادات الفطرية

بحث مقدم الى مجلس كلية العلوم للبنات/ جامعة بابل
كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

تقدمت به الطالبة
ايناس محسن وحيد

بأشراف
أ. د. كوثر محمد علي حسن

1444هـ 2023م

**بسم اللّة الرحمن الرحيم**

**(( قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا ۖ**
**إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ))**

**صدق الله العظيم**

**سورة البقرة**
**الآية ٣٢**

## الشكر والتقدير

**الشكر و الثناء لله عز و جل أولاً على نعمة الصبر و القدرة على إنجاز العمل ، فالله الحمد على هذه النعم . اتقدم بالشكر لرئاسة قسم علوم الحياة لجهودهم الكبيرة في جميع أوقات الدراسة التي مرت علينا فما فعلتموه معنا يفوق أكبر من كل شكر وتقدير**

**و أتقدم بالشكر و التقدير إلى استاذتي الفاضلة / د. كوثر محمد علي لكل ما قدمته لي من توجيه و إرشاد لإتمام هذا العمل على ما هو عليه فلها أسمى عبارات الثناء و التقدير والى زميلاتي في الدراسة لمساعدتهم لي**


## الأهداء

**اهدي هذا البحث إلى من لا يضاهيهما أحد في الكون، إلى من أمرنا الله ببرّهما، إلى من بذلا الكثير، وقدّما ما لا يمكن أن يردّ، أمي وأبي الغاليان، فقد كنتما خير داعم لي طوال مسيرتي الدراسية**

**إلى صديقاتي ورفيقات الدرب الرائعات اللاتي جمعتني بهن هذه الكُلية لأشكرهن على وجودهن في حياتي وتشجيعي دائمًا ودفعي نحو الأمام لا سيما في تلك اللحظات التي كدت أركن فيها لليأس والاستسلام.**

## الخلاصة Abstract

**يمكن أن يؤدي الزكام أو التهاب الحلق أو أمراض الجهاز التنفسي إلى التهاب الأذن الوسطى. ويحدث عندما يتسبب بفيروس او بكتريا في التهاب المنطقة تسبب هذه العدوى التهابًا وتراكمًا للسوائل في المساحات الداخلية للأذن . وفي هذه الدراسه ان اكثر الفطريات تردداً هو *Candida albicans* وتليها خميرة *C. krusei* والفطر *Aspergillus niger* , اما فيما يخص اختبار المضادات الحيوية فقد اعطى المضاد الحيوي Ketoconazole اعلى نسبة تثبيط للخمائر المدروسة يليه المضاد Clotrimazole .**

**المقدمة Introduction**

التهاب الأذن الوسطى (بالإنجليزية: Middle Ear Infection or Otitis Media)، هو التهاب في الأذن الوسطى، يحدث عندما يتسبب فيروس أو بكتيريا في التهاب المنطقة أو التجويف خلف طبلة الأذن والتي تسمى الأذن الوسطى. يمكن أن يصيب الالتهاب إحدى الأذنين دون الأخرى أو أن يصيب كلتا الأذنين في نفس الوقت (Waseem, 2020).

ويعرف بأنه التهاب الأغشية المخاطية المبطنة لتجويف الأذن الوسطى المنتظمة سواء كان كل أو جزء من الأذن الوسطى ابتداء من قناة اوستاكي إلى جيب الغشاء والخلايا الهوائية الغشائية (Aljohani *et al* . , 2018 ) يوجد هذا الالتهاب بطورين رئيسين أحدهما الطور الحاد والآخر الطور المزمن ، وقد يصاحب هذين الطورين تدفق السائل القيحي مما يزيد من أهمية وخطورة هذا المرض (Verhoeff *et a*l , 2006 . ) والذي يمكن أن يؤدي إلى الألم أو الانزعاج (Dimitrov , 2019) ، كما يؤدي السائل المتدفق إلى فقدان السمع الدائم و من المضاعفات الخطيرة الأخرى هي التهاب جيوب النتوء الحلمي المرافق Associated papillitis papillary والتهاب السحايا meninges (Aljohani *et al* ., 2018) ، وتختر الجيوب الانفية الجانبية lateral sinus thrombosis Otogenic (Alshehabi , 2014 ).

هناك بعض العوامل والمسببات التي قد تزيد من خطر الإصابة بالتهابات الأذن الوسطى. من أهم هذه العوامل:

الإصابة بنزلات البرد أو الانفلونزا أو الحساسية. وكذلك الأمر بالنسبة إلى مشاكل الجهاز التنفسي العلوي الأخرى، مثل التهاب الجيوب الأنفية أو التهاب الحلق. جميعهم قد يزيدون من خطر الإصابة بالتهاب الأذن الوسطى، حيث قد تنتقل البكتيريا إلى قناة استاكيوس (بالإنجليزية: Eustachian Tube) والتسبب في

تورمها وظهور أعراض التهابات الأذن الوسطى. وتقع قناة استاكيوس ما بين البلعوم وتجويف الأذن الوسطى ومسؤولة عن التحكم بالضغط على جانبي طبلة الأذن. التدخين، حيث يعتبر الأشخاص المدخنون أكثر عرضة للإصابة بعدوى الأذن الوسطى (Johnson, 2020).

تعد البكتريا والفطريات والرواشح من المسببات في احداث الاصابة بالتهاب الاذن فالاجناس البكتيرية الاكثر شيوعا في احداث الاصابة هي (Ghanpur *et al* ,2017:-)

*Staphyloccocus epidermidis ,Klebsiella pnemones , Enterobacter aeroginosa , Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa*

اما الفطريات المسببة للاصابة فالشائع هما جنس *Candida* ,*Aspergillus* spp .

وقد هدفت الدراسة الحالية الى ما يلي:-

1- عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لمرضى التهاب الاذن الوسطى.

2- اختبار تأثير بعض المضادات الحياتية الفطرية تجاه الفطريات المعزولة.

## المواد وطرق العمل Materials and methods

### اولا: المواد المستخدمة في التجربة

1- وسط اكار البطاطا والدكستروز Potato Dextrose Agar (PDA) حضر هذا الوسط بإذابة 39 غم من مسحوق البطاطا والدكستروز اكار المجهز من شركة (Hi-media الهند) في 1000 مل من الماء المقطر، تم إضافة 250 ملغم من المضاد البكتيري الكلورامفينيكول ، ثم عقم الوسط بالموصدة، وبعد تبريد الوسط إلى درجة حرارة 50 مْ تقريبا صب في اطباق بتري بلاستيكية معقمة، استخدم هذا الوسط لغرض تنقية وتجديد العزلات الفطرية.

2- وسط الكروم اكار Chromagar Candida medium

حضر الوسط حسب الشركة المصنعة بإضافة 3 غم من الوسط الى 100 مل من الماء المقطر ثم يعرض الى الحرارة لحد الغليان وبعد تبريد الوسط إلى درجة حرارة 50 مْ تقريبا صب في اطباق بتري بلاستيكية معقمة, استخدم هذا الوسط لغرض تشخيص خمائر الكانديدا.

### ثانيا: طرق العمل

1- جمع العينات: تم جمع ثلاثة وثلاثين عينة من المسحات الاذن الوسطى جمعت من المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى المراجعين لمستشفى مرجان في الحلة وبواقع (15) عينة من الاناث و(18) عينة من الذكور. جمعت العينات باستخدام مسحات حاوية على الوسط الناقل معقمة ذات الاستعمال الواحد وجلبت مباشرة الى المختبر لغرض زرعها على الوسط الزرعي.

2- زرع العينات: تم زرع كل عينة في طبق بتري يحتوي على وسط البطاطا (PDA) المحضر مسبقا وبواقع مكررين لكل عينة بطريقة التخطيط ثم حضنت

الاطباق بدرجة 28°م لمدة يومين لفحص الخمائر الظاهرة في الطبق ولمدة سبعة ايام لفحص الأعفان الظاهرة في الطبق.

3- تشخيص الفطريات: شخصت الاعفان اعتمادا على الصفات المظهرية والمجهرية التي تم فحصها تحت المجهر اما الخمائر شخصت بالزرع على وسط الكروموأكار واعتماد الدليل اللوني لخمائر المبيضات في التشخيص.

4- اختبار المضادات الحياتية:

يتم تلقيح سطح وسط PDA باستخدام مسحات قطنية معقمة بعد وضعها في معلق الخميرة ،ويجب أن يوزع المعلق بالتساوي في جميع أنحاء الوسط، ثم يترك الطبق لمدة 5-15 دقيقة للسماح بامتصاص المعلق وحتى يجف سطح الآجار ، تم وضعت أقراص مضادات الفطريات قيد الدراسة (جدول 1) على مسافات متساوية على سطح الوسط باستخدام ملقط معقم وحضنت الاطباق عند 27-30 درجة مئوية. وبعد يومين ، تم قياس منطقة التثبيط بالملم لكل مضاد فطري باستخدام مسطرة مترية.

جدول (1): المضادات الفطرية المستخدمة في الدراسة.

| اسم المضاد الفطري | المختصر | الجرعة/ قرص | المنشأ |
|---|---|---|---|
| Amphotericin-B | AP | 100 uni | Hi-media /India |
| Clotrimazole | CC | 10 mcg | Hi-media /India |
| Ketoconazole | KT | 10 mcg | Hi-media /India |
| Itraconazole | IT | 30 mcg | Hi-media /India |
| Nystatin | NS | 50 mcg | Hi-media /India |

## النتائج والمناقشة Results and Discussion

من خلال زرع العينات المسحة للمرضى المصابون بالتهاب الاذن الوسطى على وسط البطاطا دكستروز اكار (PDA) كما موضح في الجدول رقم (2) حيث بينت ان اكثر الفطريات ترددا *Candida albicans* بنسبة (32.3%) وتليها خميرة *C. krusei* والفطر *Aspergillus niger* بنسبة تكرار (19.4%), اما اقل الفطريات ترددا هو الفطر *Penicillium* sp. بنسبة (3.2%) التى ظهرت على وسط دكستروز اكار. ويبين الشكل (1) نتائج زرع بعض العينات على وسط البطاطا دكستروز اكار (PDA).

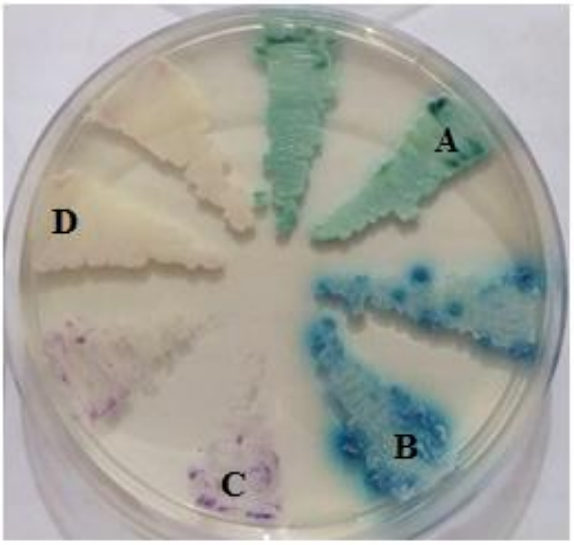
وقد استخدم وسط Chromagar Candida medium من اجل تشخيص خمائر الكانديدا حيث ظهرت خميرة *Candida albicanes* بلون اخضر تفاحي وخميرة *C. glabrata* بلون ارجواني فاتح وخميرة *C. krusei* بلون وردي باهت واخيرا خميرة *C. tropicalis* بلون ازرق معدني كما في الشكل (2).

أكثر مسببات الأمراض الفطرية التي تم تحديدها بشكل متكرر في فطار الأذن هي *Aspergillus* spp. و *Candida* spp. يمكن وجود أنواع الخميرة الأخرى مثل (*Saccharomyces cerevisiae*، *Cr. albidus*، *Malassezia* spp.) ولكن باعداد قليلة (Jurovčíková *et al*., 2018).

جدول (2): انواع الفطريات المعزولة من مرضى التهاب الاذن الوسطى.

| اسم الفطر | عدد العينات | نسبة التكرار (%) |
|---|---|---|
| *Aspergillus niger* | 6 | 19.4 |
| *Asp. flavus* | 2 | 6.5 |
| *Penicillium* sp. | 1 | 3.2 |
| *Alternaria* sp. | 2 | 6.5 |
| *Candida albicanes* | 10 | 32.3 |
| *C. glabrata* | 2 | 6.5 |
| *C. krusei* | 6 | 19.4 |
| *C. tropicalis* | 2 | 6.5 |
| العدد الكلي | 31 | 100 |

شكل (1): يبين نتائج زرع العينات على وسط البطاطا دكستروز اكار (PDA).



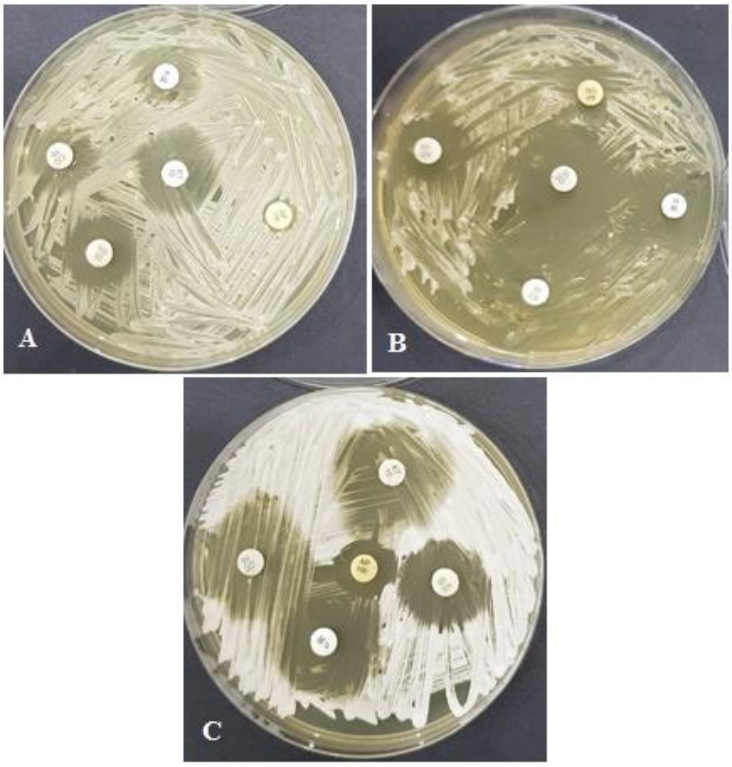

شكل (2): يبين انواع المبيضات على وسط الكروم اكار.

(A) =*C. albicans* ,(B) =*C. tropicalis* ,(C) =*C. glabrata* ,(D) =*C. krusei*

وتم استخدام المضادات الحياتيه ضد الخمائر المعزوله حيث قيست نسبة التثبيط بالملتر كما في الجدول (3) وقد اعطى المضاد الحيوي Ketoconazole اعلى نسبة تثبيط للخمائر المدروسة يليه المضاد Clotrimazole وقد اعطت خميرة *C. krusei* اعلى تثبيط اتجاه المضادات الحيوية قيد الدراسة تلها خميرة *C. tropicalis* ثم *C. albicans* (جدول 3).

جدول (3): قياس منطقة تثبيط المضادات الحياتية ضد الخمائر المعزولة بالملمتر.

| NS mm | IT mm | KT mm | CC mm | AP mm | اسم الفطر |
|---|---|---|---|---|---|
| 12 | 10 | 13 | 10 | 2 | *C. albicans* |
| 9 | 10 | 23 | 25 | 7 | *C. krusei* |
| 9 | 10 | 13 | 13 | 5 | *C. tropicalis* |




شكل (3) يبين تاثير المضادات الفطرية على الخمائر قيد الدراسة.

(A)= *C. albicans* ,(B) =*C. krusei* ,(C) =*C. tropicalis*

**التوصيات:**

1- العناية الشخصية بالاذن ونظافتها باستمرار دون المبالغة في الامر.

2- مراجعة الطبيب المختص عند الشعور باي الم او التهاب في منطقة الاذن.

3- عدم العبث بالاذن وعدم استخدام الاعواد القطنية باستمرار لان ذلك قد يؤذي منطقة الاذن .

**المصادر:**


- **Aljohani, Z., Alghonaim, A., Alhaddad, R., ALShaif, W., AlThomali, R., Asiry, A., ... & Taha, R. (2018).** Otitis media causes and management. International Journal of Community Medicine and Public Health, 5(9), 3703.
- **Alshehabi, M. H., Alqahtani, M. M., Alsanosi, A. A., & Almazrou, K. A. (2014).** Lateral sinus thrombosis in children: Case series. Saudi Journal of Medicine and Medical Sciences, 2(1), 30.
- **Dimitrov L, Jan A, Gossman WG. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL): May 15, (2019)** Pediatric Hearing Loss.
- **Johnson S. (2020).** Middle Ear Infection (Otitis Media). Retrieved on the 27th of March,
- **Jurovčíková, Magdaléna Z., Mária Š. (2018).** Monitoring the Prevalence of a Spectrum of Microorganisms in Otitis Externa with Main Focus on Otomycoses in Slovakia in the Period from 2012 to 2015 – pilot study.
- **Verhoeff, M., van der Veen, E. L., Rovers, M. M., Sanders, E. A., & Schilder, A. G. (2006).** Chronic suppurative otitis media: a review. International journal of pediatric otorhinolaryngology, 70(1), 1-12.
- **Waseem M. (2020)**. Otitis Media. Retrieved on the 27th of March

**Ministry of Higher Education and**
**Scientific Research**
**University of Babylon**
**College of Science for Women**
**Biology Department**

# Isolation and identification of fungi associated with Otitis patients and testing some antifungal drugs

Research submitted to the Council of the College of Science for Girls / University of Babylon
As part of the requirements for obtaining a Bachelor's degree in Life Sciences

**Submitted by**
**Enas Muhsen Waheed**

**Supervised by**
**. Dr.. Kawthar Muhammad Ali Hassan**

**1444 AH** **2023AD**