

تحديد بعض عوامل الضراوة لبكتريا *Proteus mirabilis* المعزولة من الاشخاص المصابين بالتهاب

الاذن الوسطى

لمياء سعود عبود

قسم التحليلات المرضية ، المعهد التقني بعقوبة ، بعقوبة ، العراق

المخلص

أجريت هذه الدراسة خلال الفترة الزمنية من 2016/4/5 ولغاية 2016/11/13، تم جمع (50) عينة من مسحات الاذن للمصابين بالتهاب الاذن الوسطى الحاد والمزمن المراجعين إلى العيادة الاستشارية/شعبة الأنف والأذن في مستشفى بعقوبة التعليمي، وذلك لعزل وتشخيص بكتريا المتقلبات المسببة لهذا المرض والتحري عن بعض عوامل ضراوتها. زرعت المسحات على الأوساط الزرع المغذية والتفريقية، ثم أخضعت المزارع البكتيرية إلى الفحوصات المجهرية والكيموحيوية لغرض تشخيص بكتريا المتقلبات. اختبر التحري عن تكوين الغشاء الحيوي خارج الجسم الحي أجري باستخدام صبغة الكونكوريد. عزلت بكتريا المتقلبات من 10 (20%) مسحة من نوع *Proteus mirabilis*، أما المسحات التي أظهرت نمواً بكتيريا من غير جنس المتقلبات فقد كانت 30 (60%)، في حين كانت المسحات السالبة للزرع البكتيري 10 (20%). أظهرت نتائج دراسة عوامل الفوعة لبكتريا المتقلبات أن 10 (100%) عزلة لها القابلية على إنتاج حركة الانثيال (الحركة التموجية)، 9 (90%) عزلة تمتلك القدرة على تحلل كريات الدم الحمراء للإنسان، بينما أظهرت 9 (90%) عزلة القابلية على تكوين الغشاء الحيوي Biofilm.

الكلمات المفتاحية: جنس المتقلبات، عوامل الفوعة، الحركة التموجية.

المقدمة

الوسطى الإنصباي بشكل تلقائي كنتيجة لضعف وظيفة قناة اوستاكي أو كاستجابة لخمج الأذن الوسطى الحاد. وقد وثق بان (90%) من الأطفال يصابون بخمج الأذن الوسطى الإنصباي بعمر قبل دخول المدرسة، وأغلبهم بعمر ما بين (6) أشهر و(4) سنوات [6]. هنالك عوامل تساعد على تكرار الإصابة بالتهاب الأذن الوسطى (Otitis Media Recurrence) والتي تتضمن العوامل التي تمتلك تاريخ إصابة بالمرض، الأطفال الذين يقضون فترات طويلة خارج البيت، وجود أطفال مصابين في العائلة، وجود إصابات سابقة منذ الطفولة، الأطفال الذين يعتمدون على الرضاعة الاصطناعية وعند الأطفال الذين يكون آبائهم مدخنين [7]. كما أشار Hafidh وجماعته [8] إلى أهمية بكتريا *P. mirabilis* في التهاب الأذن الوسطى المزمن، ووجد (Van Hasselt & Van Kregten) [9] أن أغلب الأطفال المصابين بالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن في أفريقيا (91%) يتضمن جراثيم غائطية (Fecal bacteria) ووجدت بكتريا *P. mirabilis* بنسبة (74%) و *Enterococci spp.* بنسبة (60%)، بينما عزلت بكتريا *P. mirabilis* كمسبب مرضي لالتهاب الأذن الوسطى الحاد في نيجيريا وأن أغلب العزلات امتلكت مقاومة متعددة للأدوية الشائعة في علاج تلك الالتهابات، إن زيادة معدل الإصابة ببكتريا *P. mirabilis* لم تكن بسبب تساعد نسبة المقاومة للمضادات الجرثومية فحسب بل لإمتلاكها مجموعة من عوامل الفوعة التي تزيد من شدة إمرضيتها [10].

أهداف الدراسة

إن أهداف الدراسة الحالية هي:

1- عزل وتشخيص بكتريا *Proteus* المسببة الالتهاب الأذن الوسطى الحاد والمزمن.

عزلت بكتريا المتقلبات *Proteus* لأول مرة من قبل العالم Hauser عام 1885 من الغائط، الماء والمجاري، والمواد العضوية المتحللة وأسماها بالمتقلبات *Proteus* لامتلاكها ظاهرة تعدد الأشكال (Pleomorphism) بين الشكل المنحني والخطي الطويل والشكل الحبيبي [1]. توجد هذه الجرثومة بشكل رئيسي في الجهاز الهضمي للإنسان كجزء من النبيت الطبيعي (Normal flora) بجانب جرثومة *Escherichia coli* و *Klebsiella spp.*، وتحدث الإصابة عند الإنسان عندما تغادر مكانها الطبيعي [2]. تمتلك هذه البكتريا أغشية بلازمية خارجية (Extracytoplasmic outer membrane) والتي تتألف من طبقة دهنية (Lipid layer)، بروتينات دهنية (Lipoproteins)، سكريات متعددة (Polysaccharides) وسكريات دهنية متعددة (Lipopolysaccharides) وتشارك بهذه الصفة مع الجراثيم السالبة لصبغة كرام الأخرى، وتعتمد الإصابة بالمرض على قابلية العدوى للجراثيم وآليات الدفاع للمضيف، ويسبب المكونات المتنوعة للأغشية فلها دور في تحديد عوامل الفوعة [3].

إن تسبب التقرحات الجلدية المزمنة فضلاً عن التهابات الجهاز البولي المزمنة. يعد التهاب الأذن الوسطى (Otitis media) من الأمراض الشائعة التي تصيب كلاً من الأطفال والبالغين، وتعد الجراثيم من المسببات المهمة لحدوثه يكون التهاب الأذن الوسطى على نوعين: التهاب الأذن الوسطى الحاد (Acute otitis media) والتهاب الأذن الوسطى المزمن (Chronic otitis media) فضلاً عن الإصابة بالفطريات المختلفة [4]. وهناك نوع من التهابات الأذن الوسطى يدعى التهاب الأذن الوسطى الإنصباي (Otitis media with effusion) والذي يتميز بوجود سائل في الأذن الوسطى بدون أي أعراض أو علامات لخمج الأذن الوسطى [5]. يحدث خمج الأذن

وسط أكار الدم، وسط أكار الماكونكي، وسط أكار الحديد ثلاثي السكر، وسط سايمون ستريت، وسط الأكار المغذي، وسط المرق المغذي).

ب- وسط Methyl red voges proskaur media (MR-VP)

حضر بإذابة (1.75) غم من البيتون و(1.25) غم من فوسفات البوتاسيوم أحادية الهيدروجين و(1.25) غم من الكلوكوز في (250) ملتر من الماء المقطر المعقم ثم عقم بالموصدة بعد ضغط الأس الهيدروجيني إلى 4.0 (pH=7) [14]

ج- وسط الكونكوريد اكار

تم بإذابة 37 غم من وسط Nutrient broth و 50 غم Sugros و 10 غم من Agar في 900 مل من D.W، وتم تعقيمه بجهاز Autoclave، [15].

-التشخيص بحسب الصفات الزرعية

لوحظت الصفات المظهرية للمستعمرات النامية على وسط أكار الماكونكي، ووسط أكار الدم بملاحظة ألوانها الشاحبة، رائحتها المميزة، وملاحظة ظاهرة الإنثيال (Swarming phenomenon) التي تسببها أنواع بكتريا جنس المتقلبات.

- الإختبار المجهرى المباشر

فحصت العزلات الجرثومية مجهرياً بأخذ (3-5) من المستعمرات البكتيرية النامية على وسط ماكونكي أكار وتثبيتها على شريحة زجاجية نظيفة وتصيغها بصبغة كرام لملاحظة نوع التفاعل مع الصبغة وشكل وترتيب الخلايا الجرثومية.

- الاختبارات الكيموحيوية

أجري عدد من الاختبارات الكيموحيوية وفقاً لـ Baron [14]، لغرض تشخيص البكتريا النامية على الوسط الغذائي بعد (24) ساعة وهي المدة اللازمة لنموها. أجريت الاختبارات الكيموحيوية الآتية:-

(اختبار Triple Sugar Iron test (TSI), اختبار الاوكسيداز Oxidase test , اختبار الكاتاليز Catalase test , اختبار الإندول Indole test , اختبار المثيل الأحمر Methyl red test, اختبار فوكس بروسكاور Voges Proskauer , اختبار استهلاك السترات Citrate utilization test , Urease test اختبار اليوريز).

اختبارات التحري عن عوامل الفوعة

1- اختبار التحري عن إنتاج الهيموليسين

كُثف عن قابلية العزلات على إنتاج الهيموليسين عن طريق زرع هذه العزلات على وسط أكار الدم المحضر باستخدام دم بشري صنف (AB). وقد أضيفت مادة الأكار-أكار إلى الوسط بنسبة (3%) قبل التعقيم بالموصدة للحصول على مستعمرات منفردة بمنع الحركة التجمعية (ظاهرة الإنثيال) لجراثيم جنس المتقلبة Proteus والتي تمتاز بهذه الخاصية. حضنت الأطباق بعد التلقيح بدرجة حرارة (37)° م لمدة (16) ساعة بعدها شوهدت مناطق التحلل β -hemolysis

2- دراسة معدل إمتلاك بكتريا *p. mirabilis* لعوامل الفوعة المشمولة في الدراسة.

المواد وطرائق العمل

عقمت الأوساط الزرعية السائلة والصلبة والمحاليل الأخرى التي تحتاج إلى تعقيم بالموصدة بدرجة حرارة (121)° م لمدة (15) دقيقة تحت ضغط (15) باوند/انج²، وعقمت الزجاجيات المستخدمة في تحضير الأوساط الزرعية بالفرن الكهربائي بدرجة حرارة (180)° م لمدة ساعتين. تم تحضير كواشف الاختبارات الكيموحيوية (كاشف الاوكسيداز Oxidase reagent كاشف كوفاكس Kovac's reagent ، كاشف فوكس بروسكاور Voges - Proskauer reagent , كاشف الفا-فتول، كاشف هيدروكسيد البوتاسيوم , كاشف الكاتاليز Catalase reagent) تم تحضير المحاليل المستخدمة في الاختبارات الحيوية اعتماداً على [11,12].

كريات الدم الحمراء للإنسان

استخدم دم بشري صنف (AB) لأنه يعطي أفضل نتيجة لتحلل الدم حسب ما ورد في الحسيني [13]، إذ تم الحصول على الدم من خلال سحب الدم في أنابيب اختبار معقمة حاوية على الهيبارين كمانع للتخثر.

أجريت عملية الطرد المركزي باستخدام أنابيب نبد مركزي بلاستيكية معقمة وبسرعة (3000) دورة /دقيقة للتخلص من بلازما الدم والحصول على راسب كريات الدم الحمراء الذي غسل بالمحلول الملحي الفسيولوجي المعقم واستخدم هذا العالق لغرض:

- اختبار إنتاج الأنزيم الحال للدم

استخدمت بنسبة (5%) من الراسب لتحضير وسط أكار الدم للكشف عن قابلية العزلات المحلية على تحلل كريات الدم الحمراء.

جمع العينات Samples collection

تمثلت الدراسة بجمع مسحات الأذن من المرضى المراجعين للعيادة الاستشارية/شعبة الأذن والأنف للمدة من 4/5 /2016 ولغاية 13/11/2016. جمعت (50) مسحة أذن من المرضى الذين يعانون من خمج الأذن الوسطى الحاد والمزمن، ونقلت المسحات إلى مختبر شعبة الأحياء المجهرية لعزل وتشخيص الجراثيم المسببة للمرض.

- عزل وتشخيص البكتريا المعزولة

زرعت المسحات على الأوساط الزرعية الملائمة لنمو البكتريا والتي شملت وسط أكار الدم، وسط أكار الماكونكي، ووسط mannitols agar والتي حضنت بدرجة حرارة (37)° م لمدة اربعة وعشرون ساعة.

- تحضير الأوساط الزرعية

حضرت الأوساط التالية حسب تعليمات الشركة المصنعة والمثبتة على العبوات، ثم عقمت بالموصدة، بعدها حضنت الأوساط الزرعية في درجة حرارة (37)° م ولمدة (24) ساعة للتأكد من عدم تلوثها وحفظت بدرجة حرارة (-4)° م لحين استخدامها. وتضمنت الأوساط ما يلي:-

تم فحص شكل المستعمرات للنمو البكتيري لمسحات الأذن الوسطى على الأوساط الزرعية الاعتيادية والتفرقية، قمنا بإجراء مجموعة من الفحوص الكيموحيوية [18]، أظهرت النتائج أن 10 عزلات وبنسبة (20%) كانت تعود للوع *P. mirabilis*. جاءت هذه النتيجة مقارنة لنتيجة السعدي [21] الذي لاحظ أن نسبة الإصابة بجمع الأذن الوسطى الناتج عن الإصابة بجراثيم المتقلبات في دبالى هي (50) عزلة (14.28%)، توزعت ما بين (48) عزلة (13.7%) من جرثومة *P. mirabilis* وعزلتين من جرثومة *P. vulgaris*. كان عدد المسحات التي أظهرت نمواً جرثومياً عدا جنس المتقلبات 30 (60%) كما في الجدول (1).

الجدول (2) نتائج الزرع البكتيري للعينات المشمولة في الدراسة

نتائج الزرع	العدد	(%)
عدم وجود نمو بكتيري	10	(20)
نمو بكتيري عدا بكتيريا <i>Proteus</i>	30	(60)
نمو جرثومة <i>Proteus</i>	10	(20)
المجموع الكلي	50	(100)

أما عدد المسحات التي لم تعطي نمواً بكتيريا فقد بلغت (10) عزلات بنسبة (20%). اتفقت هذه النتيجة مع نتائج Kuczkowski وجماعته [22]، إذ وجدوا أن (13.2%) من المسحات المأخوذة من التهاب الأذن الوسطى المزمن كانت سالبة للزرع البكتيري ربما يكون هنالك أكثر من سبب لتلك النتيجة منها أن تلك الالتهابات ناتجة عن إصابات فيروسية أو فطرية، إذ وجد Pajor أن (11.4%) من المسحات المأخوذة من (228) مريضاً يعانون من التهاب الأذن الوسطى المزمن كانت بسبب الفطريات [23]، بينما أشار Tong إلى دور الفايروسات الموجودة في تجويف البلعوم الأنفي (Nasopharynx) في التهاب الأذن الوسطى الحاد والتهاب الجهاز التنفسي الأخرى، أو ربما يكون المسبب بكتيريا لاهوائية (Anaerobic bacteria) [24]، إذ لاحظ Kuczkowski أن (13) مسحة (8.5%) من المسحات المدروسة كانت تعود لإصابات مختلطة تتضمن بكتيريا هوائية ولاهوائية عند دراسته (150) مريضاً يعانون من خمج الأذن الوسطى المزمن في (Medical University of Gdańsk) [25]، وقد يكون الخمج ناتج عن الإصابة بجراثيم صعبة النمو (Fastidious) مثال *Haemophilus influenzae* [10]، أو قد يعود السبب في عدم ظهور نمو بكتيري لهذه المسحات إلى تناول المريض للمضادات الحيوية قبل جمع النموذج [3].

عوامل الفوعة Virulence factors

1- الحركة المتموجة (الأنثيال) Swarming

أظهرت النتائج الحالية جدول رقم (3) أن 10 عزلات *Proteus mirabilis* أي (100%) قادرة على تكوين الحركة التموجية على نسبة الأكار اعتيادية (1.5-2%). هذه النتيجة اتفقت مع ما توصل إليه الباحث Liaw وجماعته حيث قاموا بتتبع بكتيريا *Proteus mirabilis* على وسط زرع يحتوي (1.5) agar حيث تم ملاحظة ظاهرة الأنثيال من قبل هذه البكتيريا [26]، واتفقت هذه النتائج مع

كمناطق شفاة تحيط بمستعمرات البكتيريا المنتجة مع وضع نماذج سيطرة لمقارنة النتائج [16, 17].

2- إنتاج الغشاء الحيوي

طريقة احمر الكونغو

يتم نقل مستعمرة نقية من وسط الماكونكي الى انبوية اختبار تحتوي على 5 مل من محلول الفسيولوجي الملحي ويعد مزجها جيداً قورنت عكورته بعكورة ماكفرلاند ولقح وسط الكونكوريد وحضنت الاطباق، اذا كانت النتيجة موجبة تظهر المستعمرات باللون الاسود مع كثافة بلورية جافة، اما اذا كانت النتيجة سالبة فتبقى المستعمرات وردية اللون [18].

3- اختيار ظاهرة الأنثيال Swarming :

تم استخدام هذا الاختبار للكشف عن قابلية العزلات على ظاهرة التموج وقد أجري هذا الفحص باستخدام طريقة الاوساط الزرعية الصلبة واتبعت طريقة الباحث Liaw [26]، يتم تلقح وسط اكار الدم بطريقة النشر، إذ لقح مركز الطبق بـ (10) مايكروليتر من العالق البكتيري ومن ثم تحضن الاطباق وعند ظهور حركة التموج تدل على ان النتيجة موجبة.

النتائج والمناقشة

شخصت بكتيريا *Proteus mirabilis* باعتماد ظاهرة الحركة التموجية (Swarming) على وسط الدم الصلب، و مستعمراتها تكون صفراء على وسط الماكونكي وذلك بسبب عدم تخميرها سكر اللاكتوز فضلاً عن رائحة النمو البكتيري التي تكون مشابهة لرائحة السمك على الوسط نفس [19]، سالبة لصبغة كرام، موجبة للكاتاليز، سالبة للاوكسيداز، متحركة، اختبار الاندول سالبة، اختبار احمر المثل موجبة، سالبة للفوكس - بروس كاور سالبة وللستريت واختبار اليوريز موجبة [20] جدول رقم (1).

جدول رقم (1): الاختبارات الكيموحيوية لتشخيص بكتيريا *proteus mirabilis* المعزولة من التهابات الاذن الوسطى

Proteus mirabilis	نوع الاختبار	
	نوع البكتيريا	
-	التصبغ بصبغة كرام	
+	اختبار إنتاج أنزيم الكاتاليز	
-	اختبار إنتاج أنزيم الاوكسيداز	
-	الكشف عن إنتاج الاندول	
+	اختبار المثل الأحمر	
-	اختبار فوكاس - بروسكاور	
-/+	اختبار قابلية البكتيريا على استغلال الستريت	
+	اختبار الحركة	
+	اختبار اليوريز	
K/A + H ₂ S + gas	اختبار استهلاك السكريات الثلاثية وإنتاج H ₂ S (TSI)	

+: دلالة على ايجابية الفحص - : دلالة على سلبية الفحص
K = alkaline A = acid -/+ : نتيجة متغايرة

يشكل نسبة (90%) ، تتفق هذه الدراسة مع ما توصل اليه الطائي الذي وجد أن (43) من مجموع (46) عزلة أي بنسبة (93.4%)، اعطو نتيجة موجبة لفحص أنتاج الهيملوليسين [32].

4- إنتاج اليوريز

بينت نتائج الدراسة الحالية أن جميع العزلات قيد الدراسة تتصف بقدرتها العالية على أنتاج أنزيم اليوريز حيث كانت نسبة العزلات المنتجة 100% من مجموع (10) عزلات جدول (3)، تتأى أهمية هذا الأنزيم من قابليته على تحليل تتأى أهمية هذا الأنزيم من قابليته على تحليل اليوريا الى الأمونيا NH_4 وحامض الكربونيك H_2CO_3 [33]. أستخدم وسط اليوريا الحاوي على الدليل (Phenol red) الذي يتأثر بتغير درجة حموضة الوسط ، لذا فأنا الأمونيا الناتجة سوف تعمل على زيادة الرقم الهيدروجيني للوسط مما يؤدي الى تغير لون الدليل الى اللون الوردي وبذلك أستدل على إيجابية النتيجة. هذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه Al-Duliami وجماعته ان مجموع (24) بنسبة (100%) عزلة أظهرت ايجابية لاختبار اليوريز [34]، وتتفق هذه الدراسة مع دراسة Al-Dawah وجماعته الذي وجد ان مجموع (25) عزلة بنسبة (100%) اعطت نتيجة موجبة لفحص إنتاج اليوريز [35].

الجدول (3) اعداد العزلات المنتجة لعوامل الضراوة ونسبها المئوية ليكتريا

proteus mirabilis

النسبة المئوية	عددالعزلات الموجبة	عوامل الضراوة	عدد العزلات ليكتريا <i>P.mirabilis</i>
90%	9	الغشاء الحيوي	10
90%	9	الهيملوليسين	10
100%	10	اليوريز	10

1-Ananthanaryan, R. and Paniker, C.K. (1988). "Enterobacteriaceae: coliform, *Proteus* in the Textbook of Microbiology". 3rd dition. Orient Longman.p:259.

2-Burall, L.S.; Harro, J.M.; Li, X.; Lockatell, C.V.; Himpel, S.D.; et al. (2004). *Proteus mirabilis* genes that contribute to pathogenesis of urinary tract infection: identification of 25 signature-tagged mutants attenuated at least 100-fold. Infect. Immun., 72(5):2922-2938.

3- Penido Nde, O.; Borni, A.; Iha, L.C.; Suguri, V.M.; Onishi, E.; et al. (2005). Intracranial complications of otitis media : 15 years of experience in 33 patients. Otolaryngol. Head Neck Surg. 132 (1):37-42.

4- Burgos Sanchez, A.; Menaches Guardiola, M.I.; Gras Albert, J.R. and Talavera Sanchez, J. (2000). Descriptive study of infections ear disease in relation to summer. Acta Otorrinlaring Esp. 51(1):19-24.

5 - Shekelle, P.; Takata, G. and Chan, L.S. (2003). Diagnosis, natural history & late effects of otitis media with effusion. Evidence Report/Technology Assessment No.55. AHRQ publication. No.03-E023

نتائج العتبي التي لاحظت ان 9 عزلات وبنسبة (100%) قادرة على تكون الحركة التموجية [27] وتفسير ذلك هو ان التحركة التموجية بواسطة الاسواط احدانواع اللواصق اذ عن طريقها تتمكن البكتريا من الارتباط بمستقبلات توجد على اسطح الخلايا الطلانية، كذلك من الأسباب التي تساعد البكتريا على عمل Swarming هو أنها تقوم بإفراز مواد على الوسط هذه المواد تعمل لتقليل للـ (surface tension) لكي تستطيع البكتريا التحرك بسرعه. هذه المواد تسمى Biosurfactant [30].

2-إنتاج الغشاء الحيوي (Biofilm production):

بينت النتائج الجدول (3) بأن عدد عزلات بكتريا *P. mirabilis* المنتجة للغشاء الحيوي 9 وبنسبة (90%) ، اتفقت هذه النتائج مع ما توصلت اليه سلمان [28] إذ بلغت نسبة إنتاج الغشاء الحيوي 91.7%. وايضا نتائج النعيمي بان عدد عزلات البكتريا *p.mirabilis* المنتجة للغشاء الحيوي 20 وبنسبة (90.9) [29]. ان الجراثيم التي تنمو على الغشاء الحيوي تتحمل كثير من الادوية البكتيرية وتقاوم الاستساغة والبلعمة والظروف البيئية المختلفة [2]. زيادة إنتاج الغشاء الحيوي يزداد في الوسط القاعدي alkaline medium بواسطة انزيم اليوريز الذي ينتج من بكتريا ال *proteus* [27] عزل البكتريا قيد الدراسة قادرة على إنتاج الغشاء الحيوي هذه الدراسة تتفق مع دراسة Al-Ouqaili [31].

3- إنتاج الهيملوليسين

تم اختبار قابلية عزلات البكتريا قيد الدراسة على إنتاج الهيملوليسين وذلك من بتميتها على وسط الدم الحاوي على 5% دم، وقد بينت نتائج في جدول (3) ان اعداد بكتريا *P.mirabilis* 9 عزلة مما

المصادر

.Rockville ,MD :Agency for Health Care Research and Quality.

6-Paradise, J.L.; Rockette, H.E. and Colborn, D.K. (1997). Otitis media in 2253 pittsburgh-area infants: prevalence and risk factors during the first two years of life. *Pediatr.* 99:318-333.

7-Miller, K.E. (2002). Effect of smoke exposure on otitis media recurrence. *J. American Family Physician*, 66(4).

8-Hafidh, M.A.; Keogh, I.; Walsh, R.M.; Walsh, M. and Rawluk, D. (2006). Otogenic intracranial complications: a 7-year retrospective. *Am. J. otolaryngol.* 27(6):390-395.

9- Van Hasselt, P. and Van Kregten, E (2002). Treatment of chronic suppurative otitis media with ofloxacin in hydroxypropyl methylcellulose ear drops: a clinical/bacteriological study in a rural area of Malawi. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 63 (1): 49-56.

10- Ako-Nai, A.K.; Oluga, F.A.; Onipede, A.O.; Adejuyigbe, E.A. and Amusa, Y.B. (2002). The characterization of bacterial isolates from acute otitis media in Ile-Ife, southwestern Nigeria. *J. Trop. Pediatr.* 48(1):15-23.

- 11-Morris, P.S.; Leach, A.J.; Silberberg, P.; Mellon, G.; Wilson, C.; et al. (2005). Otitis media in young aboriginal children from remote communities in northern and central Australia: a cross-sectional survey. *BMC Pediatr.*5:1471-2431.
- 12-Mah, T.F. and O, Toole, G.A. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol.* 9:34-39.
- 13- الحسيني، رعد خليل (2001). قابلية انواع الجنس بروتيوس المعزولة من التهابات الأذن الوسطى على إنتاج الهيموليسين ومقاومة المضادات الحيوية. مجلة علوم المستنصرية. المجلد 12. العدد (2). الصفحة: 23-27.
- 14-Baron, E.J.; Peterson, L.R. and Finegold, S.M. (1994). Microorganisms encountered in urinary tract in Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 9th ed. Mosby Company .
- 15-Cowan, S.T and Steel K.J (2004) . Edited and erv.by Barrow, G.I and Felthman R.K.A., Manual for the identification of medical Bacteria. 3 rd edition. Dock House, the water front , Cape twon 8001, South Africa.
- 16-Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmian, B.P. and Simmons, A. (1996). "Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology". 14th ed. Churchill Livingstone Inc. USA.
- 17- Senior, B.W. and Hughes, C. (1987). Production and properties of hemolysin from clinical isolates of the *Proteus*. *J. Med. Microb.* 24:17-25.
- 18-Forbes, B.A.; Sahn, D.F. and Weissfeld, A.S. (2002). "Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology". 11th ed. Mosby, Inc. St. Louis. USA.
- 19-Greenwood, D.; Slack, R. and Peutherer, J. (2000). *Medical Microbiology a guide to microbiol infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory.*
- 20-Holt, J.G.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Staley, J.A.; & Williams, S.T. (1994). *Bergey, s Manual Of Derminative Bacteriology.* (9th) ed. Williams & Wilkins.
- 21- السعدي، حسن علي حسين (2001). تأثير البروتين الخام المستخلص من بكتريا *Proteus mirabilis* المعزولة من خمج الأذن الوسطى على الخلايا المناعية. رسالة ماجستير. كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.
- 22-Kuczowski, J.; Piatek, R. and Kur, J. (2004). Bacterial infections in chronic otitis media- usefulness of molecular diagnostics based on PCR method. *Otolaryngol. Pol.* 58(3):497-504.
- 23-Pajor, A.; Durko, M.; Jankowski, A.; Bartoszko-Tyczkowska, A. and Stanczyk, R. (2006). Bacteriological evaluation in chronic otitis media. *Otolaryngol. Pol.* 60(5):757-763.
- 24-Tong, H.H.; Wieser, J.N.; James, M.A. and DeMaria, T.F. (2001). Effect of influenza A virus infection on nasopharyngeal colonization and otitis media induced by transparent or opaque phenotype variants of *Streptococcus pneumoniae* in the cinchilla model. *Infect. Immun.* 69: 602-606.
- 25-Kuczowski, J.; Samet, A. and Brzoznowski, W. (2000). Bacteriologic evaluation of otitis externa and chronic otitis media. *Otolaryngol. Pol.* 54 (5):551-556.
- 26-Liaw, S.J.; Lai, H.C.; Ho, S.W. and Wang, W.B. (2000). Inhibition of virulence factor expression and swarming differentiation in *Proteus mirabilis* by p-nitrophenylglycerol. *J. Med. Microbiol.* 49:725-731.
- 27- العتيبي، دعاء عدنان كاظم (2013). دراسة بكتريولوجية لبعض اجناس العائلة المعوية المعزولة من صالات مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة. رسالة ماجستير. كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ديالى.
- 28- سلمان، افاق رشيد (2008). فوعة بعض أنواع المتقلبات *Proteus spp* المعزولة من خمج الأذن الوسطى في بعقوبة وضواحيها. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة ديالى.
- 29- النعيمي، محمد خضير عباس (2014). دراسة بكتريولوجية لبعض الاجناس البكتيرية السالبة لصبغة كرام المقاومة لمضادات البيتا لاكتام والمعزولة من اخماج المجاري البولية في محافظة ديالى. رسالة ماجستير. كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ديالى .
- 30-Ahmed, A.A.; Osman, H.; Mansour, A.M.; Musa, H.A.; Ahmed, A.B.; Karrar, Z. and Hassan, H.S. (2000). Antimicrobial ageny resistance in bacterial isolates from patients with diarrhea and urinary tract infection in the Sudan. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 63(5,6): 259-263
- 31-Al-Ouqaili, M. T. S. and Al-Kubaisy, S. H. M. (2008). Crystalline biofilm produced by *Proteus mirabilis*: an overview on their formation assays and antimicrobial interaction. *Al-Anbar. J. Med.*, 6(1):33-42.
- 32- الطائي، هادي رحمن رشيد (2005). دراسة بكتريولوجية وكيموحيوية وجزيئية لبكتريا *Proteus mirabilis* المعزولة من التهابات المجاري البولية في بعض مستشفيات بغداد. رسالة دكتوراه. كلية العلوم - الجامعة المستنصرية.
- 33-Pfaller, M.A.; Mujeeb, I.; Hollis, R.J.; Jones, R.N. and Doern, G.V. (2000). Evaluation of the discriminatory powers of the dienes test and vibotyping as typing methods for *Proteus mirabilis*. *J. Clin. Microbiol.* 38: 1077-1080.
- 34-Al-Duliami, A. A.; Nauman, N. G.; Hasan, A. S. and Al-Azawi, Z. H. (2011). Virulence factors of *Proteus mirabilis* isolated from patients Otitis media in Baquba and its Peripheries. *Diyala. J. Med.* 1(1):69-75.
- 35-Al-Dawah Mohanad J.; Adnan H. Al-Hamadany; Eman M. Al-Jarallah; (2015). Study of Some Virulence Factors of *Proteus mirabilis* Isolated from Urinary Stones Patients. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare.* Vol.5, No.23.

Identify some virulence factors of bacteria *Proteus mirabilis* isolated from people with otitis

Lamiaa saoud abbod

Medical laboratory department , Technical Institute the Baquba , Baquba , Iraq

Abstract

This study was carried out during the period from 5/4/ to 13/11/2016, collected (50) then swab from patients with acute and chronic otitis reviewers to Advisory clinic ear nose and throat Division at Baquba General Hospital, The aim of this current study was to isolate and diagnose *proteus mirabilis* and detection of some of its virulence factors. Smear incubated culture media and diffrentation, and then subjected to microscopic, biochemical tests germ farms for the purpose of diagnosing the variable spores. Test investigation of dynamic membrane configuration outside the living body run by using the variable germ isolated Congo-red dye. 10 (20%) (streak of *Proteus mirabilis*, type either wipes which showed the volatile race not pathogen growth was 30, (60 %), while negative smears for bacterial 10 (20%) .The results of a study showed virulence factors of bacteria the variable to 10 (100 %) isolation of her ability to produce swarming movement, 9 (90%) isolation possesses the ability to analyses human red blood cells, while 9 (90%) isolation of dynamic membrane configuration capability

Key words: virulence factors, swarming movement, *Proteus mirabilis*