دراسة الفعالية المضادة للميكروبات للمستخلصات المائية والكحولية للأوراق التويجية لورد الجوري على المسببات الجرثومية والفطرية لخمج الأذن الوسطى في محافظة كركوك

سماح هاشم خليل[1] ، عبدالكريم فتاح عمر[2]

[1] المختبر الكيمياوي ، شركة صلاح الدين ، الدور ، العراق

[2] قسم علوم الحياة ، كلية التربية للبنات ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

(تاريخ الاستلام: 2 / 10 /2012 ---- تاريخ القبول: 16 / 12 / 2012)

الملخص

تم أخذ *40* مسحة أذن من المرضى المصابين بالتهاب الأذن الوسطى القيحي (الحاد ، المزمن) من كلا الجنسين وبأعمار مختلفة من المراجعين لمستشفى كركوك العام في مدينة كركوك وللمدة من تشرين الثاني*2011* الى شباط *2012* . أعطت*37* عينة نمواً بكتيريا بنسبة *92.5*% وثلاث *(3)* أعطت نمو للفطريات جنس *Candida albicans* بنسبة *(7.5%)* ، فيما يتعلق بالعمر والجنس فقد كانت إصابة الإناث بنسبة *52.5* % بينما كانت في الذكور بنسبة *47.5* % كما أظهرت أعلى نسبة للإصابة في الفئات العمرية بين *(31-40)* حيث كانت *(27.5%)* ثم تلتها الفئات الأخرى .

أجريت الاختبارات التشخيصية والكيموحيوية الأساسية والتكميلية باستخدام *APIE 20, API Staph* على العزلات البكتيرية للتشخيص عند مستوى الجنس والنوع وبينت النتائج أن بكتريا *Staphylococcus aureus* كانت أكثر شيوعا بنسبة *(20%)* تلتها الأنواع البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* بنسبة *(15%)*، *Staph. epidermidis* *(15%)* ، *Proteus mirabilis* *(10%)* (*Staph. xylosus %10*) ، *Staphylococcus hominis* *(7.5%)*، *Citrobacter fruendii* *(7.5%)*، *Enterobacter cloacae (%5)* ، *Proteus Vulgaris* (*2.5* %) أما الفطريات جنس *Candida albicans* بنسبة *(7.5%)* .

تم أستخدام الأوراق التويجية لزهرة الورد الجوري *Rosa damascene L* لغرض تحضير المستخلصين المائي والكحولي ، هذه المستخلصات أستخدمت لغرض الكشف عن فعاليتها الضد–ميكروبية على العزلات البكتيرية قيد الدراسة *Staph aureus ,Staph epidermidis ,Staph hominis ,Staph.xylosus,Pseudomonas aeruginosa ,Proteus Vulgaris ,Proteus mirabilis , Citrobacter freundii ,Enterobacter cloacae)*، وأستخدم نوعين من المضادات الحيوية *(Tetracycline,Ceftriaxon)* كعامل سيطرة أظهرت النتائج بأنه لم يكن هناك أي تأثير للمستخلص المائي على نمو العزلات البكتيرية المستخدمة ، المستخلص الكحولي أظهر فعالية عالية ضد بكتريا *Staph aureus , Staph epidermidis , Staph hominis , Staph.xylosus , Citrobacter freundii , Enterobacter cloaca* .

المقدمة

Otitis Media (OM) هو مصطلح يطلق على ألتهاب الأذن الوسطى الذي يكون سببه البكتريا ، الفطريات او الفيروسات. توجد ثلاثة أنواع من التهاب الأذن الوسطى وهي التهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن *Chronic Suppurtive otitis Media (CSOM)* الذي يعرف بأنه التهاب مزمن في الأذن الوسطى مع التهاب الخشاء (*Mastoiditis*) يرافقه وجود ثقب في غشاء الطبلة وطرح افرازات الأذن عبر الغشاء المثقوب وتكون مدته أكثر من ستة أسابيع ، التهاب الأذن الوسطى القيحي الحاد *Acute Purulent (APOM)* *Otitis Media* هي إصابة بكتيرية للأذن الوسطى منشأها إصابة القناة التنفسية العليا (*URT*) وذلك بدخول البكتريا بواسطة قناة اوستاكي (*Eustachian Tube*) التي تمثل الباب الأساس لدخول الممرض الى الأذن وتكون مدته أقل من ستة أسابيع . أما النوع الثالث فيسمى التهاب الأذن الوسطى الإفرازي *Otitis Media with Effusion* ويكون التهاب في الأذن الوسطى مع وجود افرازات مصلية أو مخاطية أو قيحية. يكون هذا المرض شائع عند الأطفال وغالبا ما يكون مشترك مع إصابة فيروسية القناة التنفسية العليا (*URT*) وتكون ذروة حدوثه ما بين أعمار (4–7) سنوات (*16*) ان سبب كثرة شيوعه عند الأطفال هو عدم اكتمال النمو قناة اوستاكي (*Eustachian Tube*) ومرونة جدارها الذي يتحسن عند التقدم في السن (*20*) . ان المسبب الرئيسي للمرض غالبا ما يكون هو نفسه المسبب للالتهاب الجيوب ومن الممرضات الشائعة المسببة لهذا المرض *Haemophilis.influenza* ،*Streptococcus.pneumoniae* ، *Moraxella.catarrualis* ، *Staph aureus* أن اغلب حالات التهاب الأذن الوسطى الحاد (*AOM*) تحدث عقب الإصابة الفيروسية للقناة التنفسية العليا ، وأغلب الفيروسات *Syncytial virus* ، *hinovirus* ،*Adeno virus* ،*Influenza virus* ومن المسببات المحتملة الأخرى للأذن الوسطى مثل*Mycoplasma pneumonia* ، *hlamydia trachomatis* (*15*) . يعد الورد الجوري *Rosa damascene L.* ملك الورد *Queen of roses* لما يتمتع به من منظر جميل ورائحة فواحة . يعود هذا النبات إلى رتبة *Rosales* عائلة *Rosaceae* جنس *Rosa* الذي يضم أنواع او أصناف اتصل إلى *75* نوع (*5*) . بعض من خصائصه العلاجية يستخدم كمضاد للاكتئاب*Anti-depressant* مضاد للأكسدة *Anti-oxidant* وعلاج مؤازر *Synergistic* ومخفض للضغط ، وللعناية بالبشرة (*14*) .

ركزت الدراسة على ما يأتي :

1-عزل وتشخيص البكتريا والفطريات المسببة لالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن والحاد في مدينة كركوك باستخدام الاختبارات الشكلية والمزرعية والكيموحيوية وباستخدام نظام *API Staph,API E20* .

2- دراسة تأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات الورد ألجوري على البكتريا قيد الدراسة .

2- المواد وطرق العمل

شملت عينة البحث *40* مريضا من الوافدين الى مستشفى كركوك العام في قسم ألأذن ألأنف الحنجرة في مدينة كركوك للفترة من تشرين الثاني 2011 الى شباط 2012 ، وقد شخصت المستعمرات والجراثيم أعتمادا على الصفات الشكلية والفحوصات الكيموحيوية الأساسية وحسب ما أشار إليها (*15,13,12*) . استخدم وسط أكار الدم الحاوي *5*% دم إنسان وسط *MacConkey* وتم تعقيمه بالموصدة على درجة حرارة *121* ولمدة *15* دقيقة . تم التشخيص المباشر للنموذج من خلال تحضير مسحة وصبغها بصبغة كرام والتحري عن نوع البكتريا بأستخدام العديد من الأختبارات والفحوصات الكيموحيوية ،كما أستخدم نظام *API 20E* و*API Staph* لأحتوائه على العديد من الفحوصات التأكيدية (*9*) .

2-1 تحضير العينات النباتية :

استخدمت في هذا البحث الأوراق التويجية (*Petals*) لورد الجوري حيث جمعت الأزهار في فترة الربيع من تاريخ *2012/4/20* ولغاية*2012/5/1* من الحدائق الخاصة من مدينة تكريت بعدها فرزت الأجزاء الزهرية وأخذت الأوراق التويجية للورد وغسلت بالماء المقطر للتخلص من الغبار والأجزاء العالقة بها وحفظت في علبة زجاجية معقمة وجافة في الثلاجة لحين الاستخدام ، وقبل بدء عملية الاستخلاص بدقائق قطعت الأوراق التويجية بواسطة سكين صغيرة الى قطع صغيرة وأستخدمت مباشرة في عملية الأستخلاص حفاظا على زيتها الطيار.

2-1-1 تحضير المستخلصات النباتية

1- تحضير المستخلص المائي

وزن(*100* غم) من الأوراق التويجية المقطعة أنيا الى قطع صغيرة ووضعت في دورق زجاجي وأضيف أليها (*500*) مل من الماء المقطر المغلي وترك ليبرد مع التحريك المستمر ، ثم رشح عبر طبقات من الشاش ومن ثم بورق ترشيح *Whatmann No.2* ، وأخذ الراشح وبخر بجهاز المبخر الدوار *Rotary Evaporator* بدرجة حرارة *40C°* لحين الحصول على سائل كثيف ،بعدها جفف السائل في حاضنة بدرجة حرارة *37C°* ولمدة *4* أيام الى أن يتكون مسحوق مجفف ، حفظ هذا المسحوق في قنينة زجاجية نظيفة جافة ومعتمة ووضع في الثلاجة لحين الأستخدام (*4*) .

2- تحضير المستخلص الكحولي

وزن (*100*غم) من الأوراق التويجية المقطعة أنيا الى قطع صغيرة وضعت في دورق زجاجي وأضيف أليها (*200*) مل من الكحول الأثيلي بتركيز(*80*%) ،ترك الدورق في حاضنة هزازة لمدة *24* ساعة بدرجة حرارة *37 C*° ثم نبذ المستخلص بجهاز الطرد المركزي بقوة (*2500*) دورة / دقيقة لمدة *10* دقائق بعدها رشح الراشح بورق ترشيح *Whatmann No.2* ، وأخذ الراشح وبخر بجهاز المبخر الدوار *Rotary Evaporator*بدرجة حرارة *40 C°* لحين الحصول على سائل كثيف ، بعدها جفف السائل في حاضنة بدرجة حرارة *37 C°* ولمدة *7* أيام الى أن يتكون مسحوق مجفف، حفظ هذا المسحوق في قنينة زجاجية نظيفة جافة ومعتمة ووضع في الثلاجة لحين الاستخدام (*22*) . تم أذابة (*1*) غم من المستخلص النباتي في (*10*) سم^{3}من الماء المقطر المعقم ،وعقم بالترشيح بأستخدام المرشحات الغشائية بقطر(*0.22mm*) واعتبر هذا المستخلص قياسي بتركيز (*100*) ملغم/سم^3 أستخدم لاحقا لتحضير(*12*) تركيز لكلا المستخلصين وهي (*300* , 600 , *1000* , *3000* , *6000* , 10000 , *30000* , *60000*) مايكروغرام / مل .

3-الفعالية المضادة للمستخلص المائي والكحولي والمضادات الحيوية على الأنواع المختلفة من البكتريا

اتبعت طريقة (*6*) إذ تم تلقيح وسط المرق المغذي بمستعمرات مفردة من الجراثيم قيد الدراسة كلا على حدة وحضنت بدرجة حرارة *37 C°* مدة *18* ساعة . لمعرفة تأثير المستخلص النباتي في نمو الجراثيم تم ثقب سطح الأكار المغذي بأستخدام *Stainless stell borer* وبقطر*6* ملم بعدها خففت المزرعة الجرثومية بالمحلول الفسلجي للحصول على معلق بكتيري حاوي على 10^8 خلية / سم ^{3} وبالمقارنة مع انابيب ماكفرلاند القياسية تم نقل (*0.1*) سم ^{3} من المعلق الجرثومي الى سطح الأكار المغذي *Nutrient agar* ونشر على سطح الطبق بأستخدام ماسحة قطنية معقمة . تركت الأطباق لمدة *30* دقيقة لكي يحصل التشرب ،ملئت الحفر ب *0.2* مل من أحد التراكيز لمستخلص الورد الجوري . حضنت بعدها الأطباق *37C°* مدة *24* ساعة تم بعدها قياس قطر المنطقة الخالية من النمو بأستخدام مسطرة شفافة ومدرجة لبيان حساسية الجراثيم للمستخلص ، تم استخدام المضادين *Tetracyclin,Ceftriaxone* كعينة سيطرة موجبة للجراثيم وذلك حسب ما يستخدم في مختبر الصحة العامة والمعتمد على فحوصات منظمة الصحة العالمية .

النتائج والمناقشة

بينت النتائج أنه من مجموع (*40*) عزلة حصلت على (*24*) عزلة من البكتريا وعزلتان من الفطريات جنس *andida albicans* المسببة لالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن *Chronic Suppurative Otitis Media (CSOM)* و (*13*) عزلة من البكتريا وعزلة واحدة من الفطريات جنس *Candida albicans* المسببة لألتهاب الأذن

الوسطى الحاد *Acute Otitis Media* (*AOM*) , كما في الجدول رقم (*1*) . وبعد أجراء الفحوصات التشخيصية المزرعية والكيوحيوية حسب ما ورد في الجداول (*4*)،(*5*) وتأكيد ذلك باختبارات نظام *API 20E* و *API Staph* كما في الأشكال (*1*،*2*) أظهرت *21* عزلة بعد (*24–48*) ساعة من النمو على وسط أكار الدم مستعمرات دائرية ملساء لماعة محدبة وبأقطار تراوحت ما بين (*1–2*) ملم . أما على وسط أكار المانيتول والملح فقد سبب بعض منها تغيراً في لون الوسط إلى الأصفر نتيجة تخميرها لسكر المانيتول في حين أن البعض الآخر لم يستطع تخمير هذا السكر إذ ظهرت بشكل مستعمرات بيضاء . ومن خلال الفحص المجهري ظهرت هذه البكتريا على شكل خلايا كروية موجبة لصبغة كرام متجمعة بشكل عناقيد أو أزواج أو سلاسل قصيرة أو بأشكال غير منتظمة، و أغلب هذه العزلات كانت حساسة للمضاد الحيوي نوفوبايوسين *Novobiocin* ، كما أنها غير منتجة لإنزيم الأوكسديز وجميعها متغايرة لفحص تخمر السكريات وتدل الأختبارات الكيموحيوية والاختبارات المزرعية والشكلية إلى إن هذه العزلات تعود لجنس *Staphylococcus* وبالتحديد الأنواع *S.epidermidis. S.hominis. S.xylosus S.Aureus* (*13*) . ظهرت بكتريا *Ps.aeruginosa* سالبة لهذه الصبغة وعلى شكل عصيات قصيرة . وكانت مستعمراتها شاحبة على وسط الماكونكي لأنها غير مخمرة لسكر اللاكتوز، منتجة للصبغة وموجبة لاختبار الأوكسديز خلال 10 ثواني . سالبة لإختبار الأندول والمثيل الأحمر وفوكس بروسكور ونتيجة موجبة لاختبار السترات، جميع العزلات متحركة وغير منتجة لغاز H_2S ، معظمها لها القدرة على أكسدة الكلوكوز في إختبار الاكسدة والاختزال . وبينت النتائج قدرتها على النمو في درجة حرارة $42C^o$ وهو ما يميزها عن النوع *s.fluorescens* (*15*). اما جراثيم العائلة المعوية *Enterobacteracea* فقد ظهرت على شكل عصيات قصيرة ومتحركة سالبة لصبغة كرام وجميعها متغايرة لفحص السكريات . وظهر النوع *Proteus mirabilis* مستعمراتها صغيرة الحجم ملساء غير مخمرة للاكتوز وظهرت بشكل شاحب على وسط الماكونكي ومنتجة لغاز H_2S . وقد لوحظت ظاهرة العج *Swarming* على اكار الدم وتدل الاختبارات الكيمو حيوية وكما مبين بالجدول (*5*) والشكل رقم (2) ، على أنها عائدة الى النوع *Proteus mirabilis* وما يميزها عن النوع *P.vulgaris* هو كونها سالبة لاختبار الأندول (*15*) . كما ظهرت بكتريا *Citrobacter freundii* مستعمراتها ملساء مرتفعة قليلا يصل قطر المستعمرة (*2–4*) ملم وتكون رطبة *moist* شفافة وأحيانا معتمة أو رمادية ذات لمعان سطحي ذات حافات دائرية متكاملة *Entire edges* ،منتجة ضعيفة للأندول ومنتجة *H2S* وتدل الاختبارات الحيوية كما مبين في الجدول (*5*) والشكل رقم (2) ، على انها عائدة الى *Citrobacter freundii* *Enterobacter cloacae* (*15*) هي عصيات مستقيمة مستعمراتها مسطحة ذات حافات غير منتظمة تكون بقطر (*3-2*) ملم ذات لون ورردي على وسط الماكونكي كونها مخمرة للاكتوز سالبة لفحص الأوكسيديز والأندول والمثيل الاحمر وموجب لفحص فوكس بروسكور ومخمرة للكلوكوز وتنتج غازاً وتدل الاختبارات الكيموحيوية وكما مبين في الجدول (*5*) والشكل رقم (2) على انها عائدة الى *Enterobacter cloacae* .

أما مستعمرات النوع *Candida albicans* فقد ظهرت على شكل مستعمرات بقطر(*3–6*) ملم بيضاء ، وهي من الخمائر المخمرة للكلوكوز مع انتاجها الغاز ومخمرة للسكروز والكالاكتوز بدون انتاجها الغاز ، وهي من الممرضات الانتهازية (*19*) . يشير الجدول رقم (*2*) (*3*) الى توزيع الأصابة حسب العمر والجنس وقد كانت الفئة العمرية (*31–40*) بنسبة (*27.5* %) هي الأكثر ويعود ذلك الى أن أغلب الأصابات في هذه الفئة يكون سببها البكترية الممرضة التي تتفخ من البلعوم المصاب الى الأذن الوسطى عن طريق قناة اوستاكي خلال أصابة القناة التنفسية العليا *(11,2)* تلتها فئة الأطفال من (*10*>) بنسبة (*22.5*%) وهي الفئة الثانية ويعود ذلك الى قصر قناة اوستاكي وكونها افقية اكثر في الأطفال من الباغين أضافة الى ضعف المناعة يمنح الكثير من الممرضات الأنتهازية الصعود من البلعوم الى تجويف الأذن الوسطى*(8)*، تلتها فئة (*21–30*) بنسبة (*15*%) ، فئة (*41–50*) بنسبة (*12.5*%) ، فئة (*51–60*) بنسبة (*10*%) ، فئة (*11–20*) بنسبة (*7.5*%) ومن ثم الفئة (60 <) بنسبة (*5*%) اما بالنسبة للجنس فقد كانت نسبة الأناث أكثر من الذكور ربما يعود ذلك الى ان للجنس علاقة بنسبة الأصابة وهذا يتفق مع (*3*) . وتخالف *(21,1)* أذ لم تكن هناك فروق معنوية بين الجنسين .

3-1 الفعالية الضد مايكروبية للمستخلص المائي والكحولي لأوراق زهرة الورد الجوري مقارنة بالمضادات الحيوية

تم دراسة تأثير المستخلص المائي والكحولي لأوراق زهرة الورد الجوري *Rosa damascene L.* على نمو البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام بأختلاف نوع البكتريا والتركيز، وقد أختيرت العزلات البكتيرية الأكثر مقاومة من بين العزلات ، لم يلاحظ أي تأثير ينكر للمستخلص المائي ، أما المستخلص الكحولي فقد أظهر تأثيرا تباينا كبيراً في تأثيره على البكتريا قيد الدراسة وبالتراكيز المختلفة ، ولم يكن للمستخلص الكحولي أي تأثير للتراكيز العالية عدا أوطئ ثلاث تراكيز وهي (*60,30,10*) مايكروغرام/مل . قد ظهر لون احمر غامق يزداد بزيادة التركيز لكلا المستخلصين ،ربما تعود فعالية تأثير المستخلص الكحولي الى أن المادة الفعالة للنبات تكون ذائبة بشكل أفضل في الكحول (*17*) وتعود فعالية التراكيز الثلاث الواطئة ربما الى خلوها من المادة الملونة التي لوحظ أنه كلما زاد التركيز كلما ازدادت درجة اللون الأحمر الذي يحتمل أنه يتداخل مع فعالية المادة الفعالة الموجودة في المستخلص ويجعلها غير مؤثرة وهذا خلافا للنتائج التي حصل عليها (*14*) (أذ لاحظ أن ظهور اللون له تأثير تثبيطي على نمو البكتريا ، وتوافقه في أن التراكيز الواطئة للمستخلصين أبدت فعالية أكثر من التراكيز العالية وأن التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي أفضل من

المائي . تشير نتائج الجدول رقم (6) ، والشكل رقم (3) ، الى أن تأثير التركيز (60) للمستخلص الكحولي كان تأثيره على العزلة *S.aureus* أفضل من التركيز (30) بالنسبة للعزلة *S.epidermidis* فقد أبدى التركيز (30,60) تأثيرا أفضل من المضادين الحيويين ولكن التركيز (10) فلم يبدي أي تأثير مقارنة بالتركيزين الأخرين ، أما العزلة *S.hominis* فقد أبدى التركيز (30) تأثيراً مشابها لتأثير التتراسايكلين ، ولم يكن اي تأثير للتركيزين الأخرين . أما البكتريا السالبة لصبغة كرام فلم تبدي اي من التراكيز (30،10،60) تأثيرا على النمو البكتيري للعزلات *Proteus.mirabilis Pseudomonas aeuginosa , Proteus vulgaris,* على العكس من المضادين الحيويين اللذان أظهرا تأثيرا ضئيلا على كل منها ، أما العزلة *Citrobacter freundii* فلم يلاحظ هناك فرق بين تأثير المستخلص بتركيز 30 والمضادين الحيويين أما التركيزين المتبقيين من المستخلص الكحولي فلم يكن لهما أي تأثير يذكر. العزلة *Enterobacter cloacae* كانت أفضل تأثرا بالمستخلص الكحولي عند التركيز 30 من المضادين الحيويين المستخدمين أما التركيزين الآخرين من المستخلص الكحولي فلم يكن لهما أي تأثير يذكر. أن المستخلصين الكحولي والمائي يحتويان على أقل من نسبة 100% من المواد الفعالة بايولوجياً الذي أدى الى هذا الاختلاف في التأثير ومن المواد التي يحتويها هذان المستخلصان التي لها التأثير على هذه الأحياء المجهرية هي الدباغيات والتربينات والصابونيات والفلافونيدات والقلويدات والستيرويدات (14) حيث ان لهذه المواد تأثيرا مضادا للأحياء المجهرية من خلال أيقافها صنع الأحماض النووية في الخلية الحية المجهرية بتثبيط عمل أنزيم *DNA gyrase* كما تؤثر في الوقت نفسه على المساعدات الأنزيمية *Co – enzyme* التي تنتج في داخل الخلية المجهرية مثل *folic acid* (7,10) وتحتوي هذه المستخلصات على الأنزيمات والكلايكوسيدات والتي تعد من المواد البايلوجية الفعالة في علاج الأحياء المجهرية المسببة أخماج الجروح والحروق (18) ، ربما تعود مقاومة الأحياء المجهرية للمستخلص المائي على الرغم من أحتواءه على المواد الفعالة السالفة الذكر الى تعرض الأحياء المجهرية الى مضادات حيوية وبجرع مختلفة أدى الى أمتلاكها بلازميدات تمنحها آليات مقاومة مثل أنظمة التدفق وأنتاجها أنزيمات أيضية لها القدرة على تحليل المركبات الفعالة الموجودة في هذه المستخلصات كالأواصر الأروماتية والأمينية والهايدروكسيلية التي بتحللها تنتج طاقة حيوية تستفاد منها الأحياء المجهرية نفسها في تكاثرها ونموها (7) .

جدول (1) توزيع مسببات مرض التهاب الأذن الوسطى.

البكتريا المسببة للمرض *Bacterial Pathogens*	*CSOM*	*AOM*	*%(Total)* العدد الكلي
Staphylococcus aureus	4	4	20)8(%
Pseudomonas aeruginosa	3	3	(%15)6
Staphylococcus epidermidis	5	1	(%15)6
Proteus mirabilis	2	2	(%10) 4
Proteus vulgaris	0	1	(%2.5)1
Staphylococcus xylosus	2	2	(%10) 4
Staphylococcus hominis	3	0	(%7.5) 3
Citrobacter freundii	3	0	(%7.5)3
Enterobacter cloacae	2	0	(%5)2
Candida albicans	2	1	(%7.5)3
العدد الكلي *(Total)*	26	14	(100,0)40

- *Chronic suppurative otitis media- CSOM* - التهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن .
- *Acute otitis media –AOM* - التهاب الأذن الوسطى الحاد .

جدول (2) توزيع التهاب الأذن الوسطى حسب العمر

العمر (السنوات)	العدد (%)
< 10	(%22.5) 9
20-11	(%7.5) 3
30-21	(%15) 6
40-31	(27.5) 11
50-41	(12.5) 5
60-51	(%10) 4
> 60	(%5) 2
العدد الكلي *(Total)*	(100.0) 40

جدول (3) توزيع التهاب الأذن الوسطى حسب الجنس

الجنس(Sex)	(%)
ذكر(Male)	19 (47.5%)
أنثى(Female)	21(52.5%)
العدد الكلي (Total)	40 (100.0)

جدول (4) الاختبارات الكيوحيوية المستخدمة لتشخيص الأنواع البكتيرية لنوع *Staphylococcus*

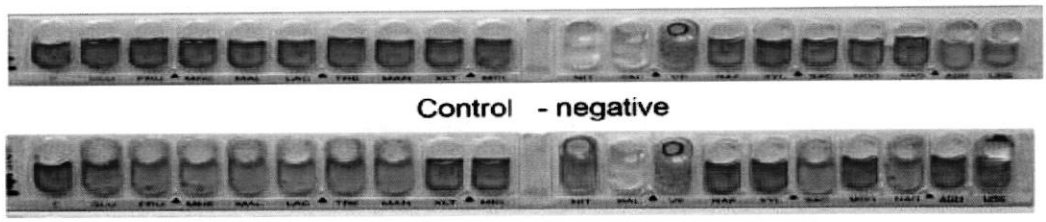
الأختبارات	*S.aureus*	*S.xylosus*	*S.epidermidis*	*S.hominis*
الكاتاليز	+	+	+	+
الأوكسديز	–	–	–	–
أنزيم التجلط *Coagulase*	+	–	–	–
أختزال النترات الى نتريت	+	+	+	+
الحساسية للنوفوبايوسين	*S*	*S*	*S*	*S*
اليوريز	+	+	+	+
المانيتول	+	+	–	–
الزايلوز	–	+	–	–
السكروز	+	+	+	+
لتريهالوز	+	+	–	+
الفركتوز	+	+	+	+
المالتوز	+	+	+	+
المانوز	+	+	+	–
اللاكتوز	+	+	+	+

+ : يشير الى النتيجة الموجبة للأختبار ، – : يشير الى النتيجة السالبة للأختبار، *S* : يشير الى صفة الحساسية للمضاد الحيوي

جدول (5) الأختبارات الكيموحيوية المستخدمة لتشخيص الأنواع البكتيرية المعزولة السالبة لصبغة كرام

الأختبارات		*Ps.aerugenosa*	*P.mirabilis*	*P.vulgaris*	*E.cloacae*	*C.freundii*
الأوكسديز		+	–	–	–	–
الكتاليز		+	+	+	+	+
الأندول		–	–	+	–	+
المثيل الأحمر		–	+	+	–	+
الفوكس بروسكاور		–	–	–	+	–
السترات		+	+	+	+	+
أختزال النترات		+	+	+	+	+
اليوريز		–	+	+	+	–
T.S.I S/B Gas H2S		*K/K .gas- H2S-*	*K/A .gas+ H2S+*	*K/A.gas+ H2S+*	*A/A .gas+ H2S-*	*A/A .gas+ H2S+*
النمو في *C°42*		+	-	-	-	-
تخمر السكريات	اللاكتوز	–	–	–	+	+
	الكلوكوز	+	+	+	+	+
	المالتوز	–	–	+	+	+
	السكروز	*ND*	+	+	+	+
	الفركتوز	+	+	+	+	+

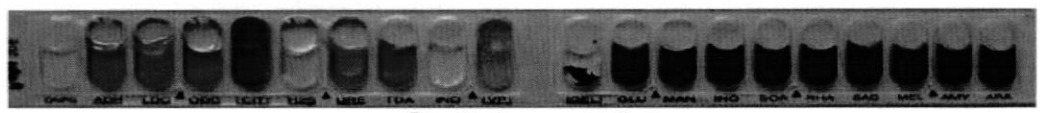
+ : يشير الى النتيجة الموجبة للأختبار، *A* : *acid* ، – : يشير الى النتيجة السالبة للأختبار، *K*:*Alkaline*، *ND* : لم يجر الأختبار



Control - negative

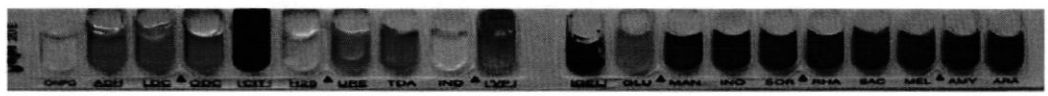
Staphylococcus aureus

شكل (1) الاختبارات المستخدمة في نظام *API Staph* لتشخيص الجنس البكتيري ***Staphylococcus aureus***



Control - negative

Citrobacter freundii



Pseudomonas aerugenosa

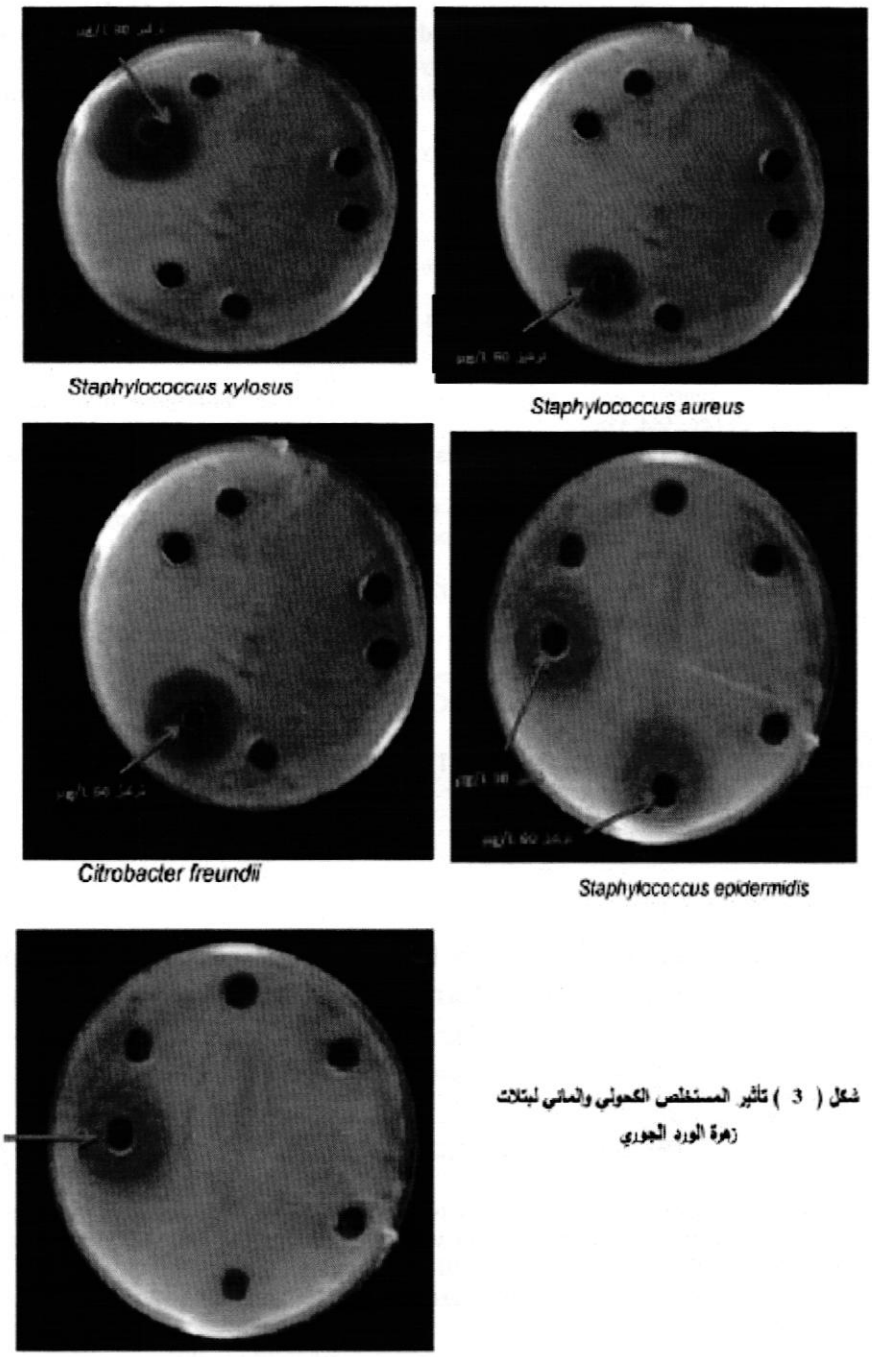
Proteus mirabilis

Enterobacter cloacae

شكل (2) الأختبارات المستخدمة في نظام *API E20* لتشخيص البكتيريا السالبة لصبغة كرام

الجدول (6) تأثير المستخلص الكحولي والمائي لأوراق زهرة الورد الجوري مقارنة بالمضادات الحيوية

Ceftriaxone 30 µg/ disk	Tetracycline 30 µg/ disk	المستخلص الكحولي للأوراق بالمايكروغرام/مل			المستخلص المائي للأوراق بالمايكروغرام/مل			البكتريا
		60	30	10	60	30	10	
7	9	15	0	0	0	0	0	S.aureus
15	10	15	15	0	0	0	0	S.epidermidis
0	15	0	15	0	0	0	0	S.hominis
10	12	0	20	0	0	0	0	S. xylosus
0	0	0	0	0	0	0	0	Ps.aeruginosa
11	8	0	0	0	0	0	0	P.vulgaris
7	15	0	0	0	0	0	0	P.mirabilis
10	15	15	0	0	0	0	0	C.freundii
0	0	0	15	0	0	0	0	E.cloacae



شكل (3) تأثير المستخلص الكحولي والمائي لبتلات زهرة الورد الجوري

المصادر

1- Ahmed , A; Usman, J ;Hashim , R.(1999). Isolates from chronic supporative otitis media and their antimicrobial sensitivity. Pakistan Armed Forces Medical Journal, vol. 49,1999,P.82-85.

2- Akinjogunala, .J. ; Enabulele , I . O.(2010).Virulence factors , plasmid profiling and curing analysis of multi – drug resistant Staphylococcus aureus and coagulase negative Staphylococcs spp .isolated from patients with acute otitis media .Journal of American Science , vol .6 (11),P.1022-1033.

3- Akinjogunala, O.J. ; Eghafona, N . O ; ; Enabulele , I . O.(2011) . Aetiologic agents of acute otitis media (AOM) : Prevalence , Antibiotic susceptibility , β - lactamase (βL) and extended spectrum β –Lactamase (ESBL) production. Journal of microbiology, Biotechnology and food Sciences.vol.1(3).P.333-353.

4- Ali , H.M.(2007).Effect of Some Plant Extracts Against Entamoeba histolytica That Growing in Culture Media .M.Sc.Thesis.Baghdad.Iraq.

5- Al- Musawi, A.H.A.(1987).plant Taxonomy .Dar Al-Kuttub for Printing and Publishing / Mosul –Iraq

6- Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C. and Turch, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Pahol., 45: 493- 496.
7- Bertram ,G.and Anthony , J .(1993). Pharma –cology (Examination and board Review). Appleton and Lang . Los Altos – California –USA. P.(267-270).
8- Bluestone, C. D ; Stephenson, J.S; Martin, L. M.1992. Ten year reviewof otitis media pathogens. Pediatric infection and disease Journal, vol.11(8).P.7-11
9- Brown,A .E .; Parks, L. C. and Atlas , R. M.(1995). Laboratory manual of experimental microbiology . Mosby –year Book, Inc.
10-Cowan, M. M. (1999). plant Products As Antimicrobial Agent . 12 (4) : 564-574.
11-Faden , H ; Harabuchi ,Y ; Hong, J.J ; Pediatrics , T.W.1994. Epidemology of Moraxella catarrhalis in children during the first 2 years of life : Relationship to otits media .Journal of infectons diseases ,vol.169,1994,p.1312-1317.
12-Forbes,B .A.;Sahm,D.F.and Weissfeld,A.S . (2007) . Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology . 12th ed ., Mosby Elsevier , USA.
13-Holt, J.C.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Stahley, J.T. and William, S.T. (1994). Bergy's Manual Of Determinative Bacteriology. 9th ed., USA.
14-Kurhade, B.B; Vite .M.H; Nangude. (2011). Antibacterial activity of rosa damascene miller . international Journal of research in pharmaceutical and biomedical sciences. Vol .2(3).1015-1020.
15-Mahon,C.R.;Lehman,D.C.;Manuselis,G.(2007).Te xtbook of Diagnostic Microbiology . 3rd ed., Saunders Elsevier, USA.
16-Okesola.A.O ; Fasina.O.A . (2012) .Trends in the Resistance Pattern Of Bacterial Pathogens of Otitis Media in Ibadan Nigeria. Afr .J. Cln .Exper.Microbiol 13(1) : 46-5.
17-Özkan. G ; SagdiÇ . O ; Baydar .H.(2004) . Antioxidant and antibacterial activities of Rosa damascene flower extracts. Int J Food Sci Technol ; 10 :277 -281.
18-Pioneer Enterprise Company, (2001).Medical plants , J .P .Herbal .1 :16-20.
19-Raju ,S. B .and Rajappa , S (2011),Isolation and identification of Candida from the oral cavity . Review Article , vol 10.p,1-7.
20-Sherris J.C; Ryan ,K.J ;Ray , C.G .(2010).Medical Microbiolog 5th . . McGraw-Hill Co., Inc.,U.S.A
21-Variya, A; Tainwala, S; Mathur, S. (2002). Bacteriology of acute otitis media in children. Indian Journal of Medical Microbiology , vol.20.P.54-55.
22-Zokian S.A.(2005).Study of Biological Efficiency of Water and Ethanolic Extract of Local Equisetum arvense L. M.Sc. Thesis. Baghdad –Iraq.

Study of antimicrobial Activity for Aqua Extracts of *Rosa damascene* Alcoholic and on the Bacterial and fungal Causative of Otitis Media in Kirkuk City

Samah Hashim Khaleel[1], Abdul Kareem F. Omar[2]

[1] *Chemical Laboratory , Salah Al Din Company , AL Door City , Iraq*
[2] *Dep of Biology , Education for Women , Tikrit university , Tikrit , Iraq*

(Received: 2 / 10 / 2012 ---- Accepted: 16 / 12 / 2012)

Abstract

Forty ear swabs were collected from patients of both sexes and of different ages who were suffering from chronic and acute suppurative otitis media who were attended to Ear-Nose-Throat Department at General Kirkuk hospital in Kirkuk City from November , 2011 to February, 2012 .

Thirty seven 92.5% specimens gave bacterial growth and three specimen7.5% gave fungal growth, The distribution of infection according to the sex and age the infection was in female 52.5% whereas the male 47.5% They also showed the highest rate, of infections (27.5%) in age groups (31-40) .

Essential diagnostic and complementary biochemical tests and API E 20, API Staph were conducted on bacterial isolates for their identification at the level of genus and species, the results showed that Staphylococcus aureus was most commonly isolated bacteria (20%), followed by other bacterial species: Pseudomonas aeruginosa (15%), Staphylococcus epidermidis (15%), Proteus mirabilis (10%), Staphylococcus xylosus (10%), Staphylococcus hominis (7.5%), Citrobacter freundii (7.5%), Enterobacter cloacae (5%), Proteus Vulgaris (2.5%) and at last the fungal genus Candida albicans (7.5%) .

The petals of Rosa damascene L. had used in this research to prepare two type of extracts which were aquatic and alcoholic, extracts which used to test their Anti-microbial effectiveness on the bacterial isolates under study (S.aureus,S.epidermidis,S.hominis,S.xylosus,Ps.aerugenosa,Proteus.sppC.freundii, E.cloacae) ,Two antibiotics (Tetracycline, Ceftriaxon) were used as a control,the results showed that the aqueous extract had no effect on growth of all bacteria used, but alcoholic extract showed high efficacy against bacteria by inhibition of growth of Citrobacter freundii, Enterobacter cloaca, Staph aureus ,Staph epidermidis , Staph hominis , Staph.xylosus .