

## عزل وتشخيص أنواع فطر *Aspergillus* من المرضى المصابين بالتهاب الأذن وحساسية الفطر لبعض المضادات الفطرية

داليا عبد الكريم عبد الشهيد  
كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد

### الخلاصة

تضمن البحث عزل بعض أنواع فطر *Aspergillus spp.* من حالات التهاب الأذن في الإنسان من مستشفى اليرموك التعليمي، حيث تم جمع 50 عينة من كلا الجنسين ومن مختلف الأعمار خلال فصل الصيف، كما تم اخذ 10 عينات من أشخاص أصحاء كسيطرة. وكذلك اجري اختبار الحساسية للعزلات لبعض من أهم وأكثر أنواع المضادات الفطرية شيوعاً واستخداماً في علاج حالات التهاب الأذن، وبعد تنمية العزلات على وسط السابوروديكتيتروز اكار شخصت كما مبين أدناه: 14 عزلات *Aspergillus niger*، 11 عزلات *Aspergillus fumigatus*، 8 عزلات *Aspergillus flavus*، 3 *Aspergillus terreus*. فيما أظهرت نتائج اختبار حساسية العزلات اتجاه المضادات الفطرية كما يلي: أظهرت أنواع فطر *Aspergillus spp.* حساسية عالية جداً اتجاه المضادين Clotrimazole و Econazole بحيث لم يظهر نمو في الأطباق وحساسية اقل اتجاه Nystatin.

## Isolation and identification of *Aspergillus species* From patients with ear infections and sensitivity to some antifungal agents

D. A. Abdul Shaed  
Veterinary Medicine College\ Baghdad University

### Abstract

This research included different isolates of *Aspergillus spp.* from different cases of ear infection in human during the period from June to September (2010) in AL-Yarmouk Teaching Hospital, by taking 50 samples from both sex of different ages and 10 sample as negative control. Sensitivity test was done to some isolates against some important antifungal agents which commonly used in the treatment of infection of ear cases.

After cultivation of isolates on Sabourouds dextrose agar, different species of *Aspergillus* isolated in this study as the following: 14 *Aspergillus niger*, 11 *Aspergillus fumigatus*, 8 *Aspergillus flavus*, 3 *Aspergillus terreus*. Antifungal sensitivity tests revealed Clotrimazole, Econazole were more sensitive than Nystatine.

### المقدمة

تعتبر الأذن من احد الأجزاء المهمة والحساسة في الجسم، حيث تتكون من الصيوان وقناة الأذن الخارجية والأذن الوسطى المنتهية بطبلة الأذن وتغطي قناة الأذن الخارجية بالجلد والذي يحتوي على الشعر والغدد الدهنية، وتقوم الغدد بافراز مادة لزجة، كما ان الجلد الميت يختلط مع افراز الغدد ليكون ما يسمى شمع الأذن Cerumen والذي ي

يشكل حماية للاذن من الالتهاب لانه حامضي ويحتوي كذلك على مستضدات وأنزيمات، لذا فان اي عامل يؤدي الى تحطيم هذه الطبقة او تقليل حموضتها يؤدي الى التهاب الاذن، ومنها ازالة الشمع بالتنظيف الزائد باستخدام أعواد القطن (1) وعادة ما تكون الأصابة سطحية وقد تمتد إلى داخل قناة الاذن وصولا لغشاء الطبلة، وتكون الأصابة بثلاث أشكال (المزمن، الحاد، تحت الحاد) اعتمادا على شدة الأصابة وقد قسم (1، 2) التهاب الأذن الفطري إلى ثلاث أنواع:

1. الالتهاب الفطري غير المرضي Non pathogenic mycosis: حيث عزلت أنواع من عفن *Aspergillus spp.* من المناطق العميقة الرطبة لقناة الاذن، كما لوحظت خيوط العفن نامية على شمع الاذن وبقايا الخلايا الظهارية الميتة.

2. الالتهاب الفطري السطحي superficial mycosis.

3. الالتهاب الفطري العميق Deep (invasive) mycosis.

حيث لوحظ ان النوعين الاخيرين هما الاكثر حدوثا.

تبين ان هناك عدة عوامل تعتبر مهيئة لحدوث الاصابة هي: الإصابة المزمنة للإذن مع طول فترة استخدام المضادات الحيوية والمركبات الستيرويدية (steroid) للإذن وبشكل قطرات، حدوث إصابة فطرية خاصة ببعض أنواع الخمائر في بعض اعضاء الجسم، مرض السكري، امراض اخرى تغير من الاستجابة المناعية للجسم (3)، (4).

لوحظ ان من العوامل المهيئة للاصابة هي: غياب شمع الإذن Cerumen، الرطوبة العالية، زيادة درجات الحرارة، الكلم الموضعي للإذن Local trauma، استخدام المسحات القطنية (عيدان تنظيف الإذن) أو قرصات الشعر، كثرة السباحة او التعرض للماء يزيل طبقة الشمع ويؤدي الى جفاف القناة السمعية، الاصابة بالاكزما، الجيوب الأنفية التحسسي allergic rhinitis والربو asthma، استخدام المضادات الحيوية لفترات طويلة (6، 10).

عزلت أنواع من عفن *Aspergillus spp.* من الاذن الملتهبة لبعض المصابين من خلال ملاحظة بقايا الجلد الميت مصبوغا باللون الاسود او الاصفر (7)، واكدت الكثير من البحوث من ان الاصابة تزداد في المناخ الحار اكثر وكذلك لدى السباحين الرياضيين، حيث لوحظ ان من بين كل 8 حالات التهاب الاذن 3 حالات اصابة فطرية، وان الفطريات المعزولة منها كانت انواع من *Aspergillus spp.* وخاصة وبالدرجة الأولى *Aspergillus niger* ثم باقي الأنواع (7، 8). ولاحظ الباحثون ان الاصابة تزداد في الاجواء الحارة وكذلك في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية، بينما لوحظ ان الاصابة اكثر في نهاية الصيف خاصة في البلدان الأوربية (6، 9). بينما تم عزل بعض انواع عفن *Aspergillus spp.* من حالات التهاب الاذن في اشخاص يعانون من نقص مناعي او اضطرابات مناعية او المتناولين للعلاجات المثبطة للمناعة (1، 5، 8).

ولأهمية هذا الموضوع فقد هدف هذا البحث الى عزل وتشخيص بعض انواع فطر *Aspergillus spp.* المسبب لمرض التهاب الاذن الفطري لانتشاره عند الاطفال والمراهقين خاصة في فصل الصيف وكذلك اجراء فحص الحساسية للعزلات لغرض اختيار المضاد المناسب للعلاج.

## المواد وطرائق العمل

\* **جمع النماذج:** تم جمع 50 عينة من حالات التهاب الاذن في الانسان وبمختلف الاعمار ومن كلا الجنسين وبهيئة مسحات قطنية بالتعاون مع مجموعة من اخصائين انف واذن وحجرة في مستشفى اليرموك التعليمي خلال الفترة الممتدة ما بين شهر اذار وحتى شهر اب من عام 2010، كما تم جمع 10 عينات اخرى من حالات غير مرضية كنماذج سيطرة.

\* **عزل الفطريات:** زرعت العينات على وسط السابورود ديكستروز اكار (Mast L.T.D) وبمعدل طبقين لكل نموذج وحضنت الاطباق بدرجة 37° و 25° ولمدة اسبوع مع ملاحظة النمو كل يومين وفي حالة عدم ظهور النموخلال المدة اعلاه تركت لاسبوع اخر فعند عدم ملاحظة النمو اعتبرت النتيجة سالبة، كما تم عمل مسحة من كل نموذج على شريحة زجاجية مع اضافة هيدروكسيد البوتاسيوم 10 % وباستخدام صبغة اللاكتوفينول الازرق لغرض الفحص المجهرى.

#### \* الفحوص التشخيصية: Diagnostic test

- الفحص العياني Macroscopic : فحصت المستعمرات الفطرية من حيث شكلها، لونها قطر ها.  
- الفحص المجهرى Microscopic test : فحصت مجهرىا باخذ جزء صغير من المستعمرة ووضعت على شريحة زجاجية وصبغت بصبغة اللاكتوفينول الازرق مع وضع غطاء الشريحة وتركت لمدة قليلة لتتسبع بالصبغة وفحصت تحت المجهر بقوة تكبير (40x).

\* **اختبار حساسية الفطريات المعزولة لبعض المضادات الفطرية:** استخدم ثلاثة أنواع من أكثر انواع المضادات الفطرية استخداماً لمعالجة حالات التهاب الإذن Nystatin، Econazole، Clotrimazole (Sigma USD) وبعد تحضير المحاليل القياسية لها مزجت مع الوسط المستخدم وبثلاث تراكيز 0.25%، 1%، 3% لكل مضاد فطري وحسب طريقة (11).

### النتائج

أظهرت نتائج البحث عزل بعض انواع فطر *Aspergillus spp.* وكما موضح في جدول (1).

جدول (1) يوضح نوع وعدد العزلات الموجبة المعزولة من حالات التهاب الاذن في الانسان

نوع العزلة	عدد العزلات الموجبة	نسبة الإصابة%
<i>Aspergillus niger</i>	14	38.88
<i>Aspergillus fumigatus</i>	11	30.55
<i>Aspergillus flavus</i>	8	22.22
<i>Aspergillus terreus</i>	3	8.33
المجموع	36	100

كما وأظهرت النتائج ان ارتفاع درجات الحرارة والرطوبة اثرت بشكل واضح على زيادة معدلات الإصابة، وتبين ان اكثر نسبة للإصابة كانت عند الاطفال والمراهقين بينما الاعمار الكبيرة كانت اقل نسبة للإصابة، وكذلك اظهرت النتائج ان إصابة الان بالفطريات تصيب كلا من الاناث والذكور الا ان نسبة إصابة الذكور اكثر من الاناث وكما مبين في الجدول (2).

جدول (2) يوضح يوضح الفئات العمرية الأكثر إصابة مع نسبة الإصابة المئوية للذكور والاناث وتاريخ الحالة المرضية

تاريخ الحالة المرضية والملاحظات العامة	الاناث		الذكور		الفئات العمرية (سنة)
	نسبة الإصابة %	عدد النماذج الموجبة	نسبة الإصابة %	عدد النماذج الموجبة	
الارتياح للمسابح مع استخدام عيدان تنظيف الاذن باستمرار	20	2	26.92	7	10 - 1
	50	5	34.61	9	20 - 11
اصابة جهازية بالفطريات	-	-	3.84	1	30 - 21
اصابة بمرض السكري واصابة مهبلية	20	2	7.69	2	40 - 31
بعضهم مصاب بالسكري والبعض الآخر يتعاطى ادوية مثبطة للمناعة والقسم الاخر يتناولون المضادات الحيوية لفترات طويلة	10	1	19.23	5	50 - 41
	-	-	7.69	2	60 - 51
المجموع	100	10	100	26	

- نتائج فحص الحساسية للمضادات الفطرية: اعتمدت النتائج على قياس قطر المستعمرة النامية باختلاف تراكيز المضاد الفطري.
- نتائج حساسية أنواع عفد *Aspergillus spp.* للمضادات الفطرية: لوحظ حساسية عالية جدا للمضادين Clotrimazole و Econazole خاصة في التراكيز العالية بحيث لم يظهر نمو في الاطباق على العكس من قلة حساسية للمضاد الفطري Nystatin فقد كان اقل حساسية وكما موضح في الجدول (3).

جدول (3) يوضح اقطار المستعمرات ب(ملم) بعد إضافة المضادات الفطرية الثلاثة المستعملة للوسط الزراعي بثلاث تراكيز مختلفة

اطباق سيطرة ملم	تراكيز Nystatin			تراكيز Clotrimazole			تراكيز Econazole			نوع العزلة
	%3	%1	%0.25	%3	%1	%0.25	%3	%1	%0.25	
45	27	36	40	0	7	21	0	2	18	<i>Aspergillus niger</i>
49	29	38	43	0	6	24	0	3	22	<i>Aspergillus fumigatus</i>
42	23	31	38	0	8	19	0	3	15	<i>Aspergillus flavus</i>
47	26	34	41	0	9	22	0	5	17	<i>Aspergillus terrus</i>

### المناقشة

يعتبر التهاب الإذن الفطري من الامراض الشائعة الحدوث، فقد لوحظ زيادة الإصابة بالمرض في موسم الصيف وذلك لرغبة الناس على ارتياد المسابح او استخدام المسابح في المنزل ونتيجة لارتفاع درجات الحرارة والرطوبة العاليتين والتي تعتبر من العوامل المهيئة للإصابة، فقد تحدث الإصابة نتيجة دخول الماء للاذن بينما (3، 4) وجد ان زيادة نسبة الإصابة لدى الذكور الاطفال منهم والمراهقين عنه في الاناث وذلك لرغبة الذكور في هذه الاعمار على السباحة اكثر من الاناث خاصة في مجتمعاتنا، فيما كانت الاعمار الاكثر سناً اي ما بين 30 فما فوق هم الاقل نسبة للإصابة وذلك لقلّة اقبالهم على المسابح او استخدامها منزلياً . وأوضحت نتائج هذا البحث عن زيادة نسبة الإصابة لدى الاشخاص المصابين بمرض السكري وكذلك الاشخاص المتناولين لعلاجات تؤدي لاضطرابات مناعية وهذا ما بينه (1، 4) الذ ي أكد ان من العوامل المهمة التي تؤدي الى زيادة الإصابة بالمرض

هي الإصابة بمرض السكري وأكد عند استخدام العلاج لهؤلاء الأشخاص يجب ان تحدد نسبة السكر في الدم لمعرفة اختيار العلاج المناسب لمثل هذا الالتهاب، وأوضح (2) ان المصابين بأمراض مناعية او المتناولين لعلاجات تؤدي الى اضطرابات او تثبيط مناعي تلاحظ عندهم زيادة في نسبة الإصابة بالمرض. ومن خلال هذا البحث ايضا تبين ان الاستخدام المفرط للمسحات القطنية (عيدان تنظيف الأذن) إزالة شمع الإذن بشكل مستمر يؤدي الى زيادة الإصابة وذلك كون ان شمع الاذن ويقايا الأنسجة الظهارية الميتة لجلد قناة الاذن يعتبران حماية لها من الإصابة بالفطريات او الجراثيم الاخرى مما يؤدي الى تغير في الاس الهيدروجيني الوسط حيث يعتبر الشمع وسط حامضي يقتل او يقلل من فرصة نمو الفطريات والجراثيم الأخرى، فعند تغير الاس الهيدروجيني يؤدي الى زيادة احتمالية نمو الفطريات أكثر (3، 6)، كذلك الإصابة بالأمراض الجلدية مثل الاكزما او الإصابة بالتهاب الجيوب الانفية التحسسي وكذلك الكلم تؤدي جميعها لزيادة نسبة الإصابة وكما بيناه وأوضحه (1، 10)، الذي اعتبر هذه الاصابات اعلاه من العوامل التي تساعد في حدوث وزيادة الإصابة الفطرية لذلك ووضحت الدراسة ايضا ان زيادة نسبة الإصابة تكون واضحة اكثر لدى الأشخاص المتعاطين للمركبات الاستيرويدية وللمضادات الحيوية ولفترات طويلة وقد بين (2، 9) من ان استخدام هذه العلاجات لفترات زمنية طويلة تؤدي لزيادة الإصابة الفطرية لذلك كونها قد تقلل من مناعة الجسم.

وبينت النتائج عزل انواع من فطر *Aspergillus spp.* من اللتهاب الإذن، حيث كانت نسبة الإصابة بفطر *Aspergillus niger* أكثر حدوثاً ثم *Aspergillus fumigatus* ثم *Aspergillus flavus* ويليهما فطر *Aspergillus terreus* وهذا ما أكده (7، 8)، حيث لاحظ نمو الخيوط الفطرية على او بين شمع الاذن وكذلك على الجلد المبطن لقناة الإذن.

فيما يخص اختبار الحساسية فقد استخدمت ثلاثة من اهم انواع المضادات الفطرية على شكل حبوب والاكثر شيوعاً في علاج حالات التهاب الإذن، فقد كان المضاد الفطري Econazole هو الاكثر تأثيراً على فطر *Aspergillus spp.* في التراكيز الواطنة وذلك لتركيبه الكيميائي كونه ينتمي لمجموعة Azoles التي تعمل على تثبيط سايتوكروم الخلية الفطرية ويثبط الانزيم المسؤول عن تصنيع الاركوستيروول ergosterol لغشاء الخلية ويساعد على تراكم الدهون الفوسفاتية داخل الخلية الفطرية مما يؤدي الى موتها (12، 13)، بينما كان تأثير Clotrimazole على فطر *Aspergillus spp.* اقل من النوع الأول ويعود سبب هذا الاختلاف في التثبيط الى قلة التركيز المطلوب لتقليل نمو وقتل الفطر بالرغم من كونه ينتمي لمجموعة Azoles (13)، اما Nystatin فقد كان اقل تأثيراً وقد يعود السبب الى قلة التركيز المطلوب في تثبيط نمو الفطر على الرغم من كون هذا المضاد يرتبط مع الاركوستيروول ergosterol لغشاء الخلية الفطرية مما يؤدي الى تغير النفوذية وتسريب محتويات الخلية الى الخارج ثم موت الخلية (3، 13).

### المصادر

1. Kaur, R.; Mittal, N.; Kakkar, M.; Aggarwal, A. K. & Mathur, M. D. (2005). Otomycosis: A clinicomycologic study. Ear Nose Throat J., 79:606-609.
2. Chander, J.; Maini, S. & Subrahmanyam, S. (2004). Otomycosis clinicomycological study and efficacy of mercurochrome in its treatment. Mycopathologia, 35: 9-12.
3. Garry, J. P. (2008). Otitis externa. Clinics in Dermatology, 15:22-25.
4. Irina & Vennewald. (2008). Otomycosis. Clinics in Dermatology., 23:565-571.
5. Stern; J. C.; Shah; M. K. & Lucente, F. E. (2001). In vitro effectiveness of 13 agents in otomycosis and review of the literature. Laryngoscope., 98:1173-1177.

6. Amigot, S.; Gomez, C. R.; Luque, A. G. & Ebner, G. (2003). Microbiological study of otitis in Rosario City, Argentina. *Mycoses.*, 46: 312–315.
7. Supiyaphun, P.; Sampatanukul, P. & Sukumalpaiboon, P. (2007). *Aspergillus* Colonization in ear. *Otolaryngol Head Neck Surg.*, 125:281- 282.
8. Bellini, C.; Antonini, P. & Ermanni, S. (2007). Otitis due to *Aspergillus spp.* *Scand J. Infect Dis.*, 35:284-288.
9. Rowlands, S.; Devalia, H. & Smith, C. I. (2007). Otitis in UK . *Br J Gen Pract.* Jul;51(468):533-538.
10. Vennewald, I.; Schfnlebe, J. & Klemm, E. (2003). Mycological and histological investigations in humans with ear infections. *Mycoses.*, 46:8-12.
11. الجبوري، سيناء وليد. (2000). دراسة خمج الفطريات الانتقالية في الردهات الباطنية في مستشفى اليرموك التعليمي. رسالة ماجستير في الاحياء المجهرية، كلية الطب- الجامعة المستنصرية.
12. Ho, T.; Vrabec, J. T. & Yoo, D. I. (2006). Otomycosis: clinical features and treatment implications. *Otolaryngol Head Neck Surg.* Nov;135(5):787-791.
13. Bassiouny, A.; Kamel, T.; Moawad, M. K. & Hindawy, D. S. (2007). Broad spectrum antifungal agents in otomycosis. *J. Laryngol Otol.*, 100:867-873.