

University of Mosul
College of Education
for pure Science



Direct Identification of Bacteria Causing Otitis Media by Real Time PCR Comparing With Other Methods

Amena Sami Ahmed Shab

M.Sc Thesis

Biology

Supervised by

Assistant Professor

Dr. Jassim Fatehi Ali

2024 A.D

1446 A.H

Abstract:

140 swabs were collected from people with middle ear infections arriving at the ENT consultation at: Al-Salam Teaching Hospital, Al-Jumhuriyya Teaching Hospital, and Ibn Al-Atheer Teaching Hospital, whose ages ranged from 5 months - 80 years. Duration time 1 October, 2023 to 1 March, 2024

100 samples were used for traditional culture and biochemical tests, and 40 swabs were used for direct DNA extraction for direct molecular diagnosis. The study showed the predominance of gram-negative bacteria at a rate of 53.45% over gram-positive bacteria at a rate of 46.55%. As for molecular diagnostic smears, they showed a predominance of gram-positive bacteria at a rate of 34% On Gram-negative bacteria at a rate of 24.5%.

The results of the study showed that there are some factors that influence and help in its occurrence and spread Infection. the rate of infection among children was higher than that of adults. The geographical region also has an impact on the incidence of infection, so the percentage of infected people in rural areas was higher by 51%. of urbanized areas by 49%. Smoking also has a significant impact on causing infection. The results showed that the infection rate among smokers reached 17%, and the rate increased among people exposed to passive smoking by 22%.

The males were more affected than females by 55.29%, and the highest incidence was among the age group 16-45 years.

The most effective antibiotic recorded in the study was Imipenem with a rate of 86.84%, and the least effective antibiotic recorded in the study was Ceftriaxime with a rate of 40.78%

The results of the study showed that there is a difference between the results of bacteria diagnosed by culture methods and biochemical

tests, and the bacteria diagnosed by direct molecular diagnosis. The results showed Culture methods: The bacteria causing otitis media is *Pseudomonase aeruginosa* at a rate of 32.29%, *Staphlococcus aureus* 11.76%, *Staphlococcus epidermidis* at a rate of 10.58%, *Proteus mirabilis* 9.41%, *klebsiella pneumonia* 7.05%, 4.70%, while the results of direct molecular diagnosis without culture showed that the bacteria causing otitis media are *Streptococcus pneumoniae* 87.5%, *Staphlococcus aureus* 82.5%, *Pseudomonase aeruginosa* 80%, *Haemophilus influenza* 22.5%, *Moraxella catarrhalis* 22%, which both are did not appear at all in the culture diagnosis.

there is a difference in the results of the molecular diagnosis itself. The results of the diagnosis using qPCR showed the presence of most of the bacteria that cause otitis media, in numbers very close to the numbers known in other studies, while the results of the PCR showed an almost absence of pathogens from the isolated samples despite the presence of DNA of pathogenic bacteria. The reason for this is that the qPCR technology can detect very small concentrations of nucleic acids, unlike the PCR technology, which requires high concentrations of nucleic acids and cannot detect low concentrations.

الخلاصة:

لقد تم جمع 140 مسحة من المصابين بالتهاب الأذن الوسطى من الوافدين الى استشارية ENT بمستشفى السلام التعليمي، مستشفى ابن الأثير التعليمي، مستشفى الجمهوري التعليمي، والذين تراوحت أعمارهم بين (5 أشهر - 80 سنة).

لقد تم استخدام 100 مسحة في عزل البكتيريا باستخدام الزرع والأختبارات البايوكيميائية التقليدية، و 40 مسحة أُستُخدمت في العزل المباشر DNA والتشخيص الجزيئي المباشر.

لقد أظهرت نتائج الدراسة تفوق البكتيريا السالبة لصيغة كرام على البكتيريا الموجبة لصيغة كرام في التشخيص الزرع والأختبارات البايوكيميائية بنسبة 45.53% للبكتيريا السالبة لصيغة كرام.

كما أظهرت نتائج الدراسة تفوق البكتيريا الموجبة لصيغة كرام على البكتيريا السالبة لصيغة كرام بنسبة 34% للموجبة و 24.5% للسالبة في التشخيص الجزيئي المباشر

وأظهرت نتائج الدراسة أن هناك بعض العوامل المؤثرة والهامة في إحداث وانتشار الإصابة، فعلى سبيل المثال كانت نسبة إصابة الأطفال أعلى من البالغين؛ وذلك بسبب ضعف المناعة لديهم وقصر انبوب اوستاكي وكونه بزواوية افقية مما يسهل انتقال الممرضات من البلعوم الانفي الى الاذن واحداث الاصابة، بالاضافة الى البيئة الجغرافية التي تلعب دوراً كبيراً في عدد من الاصابة وانتشارها فقد كانت نسبة الاصابة في المناطق الريفية 51% ، بينما كانت نسبة الاصابة في المناطق المتحضرة 49%. كما أن المستوى التعليمي له دور كبير في حدوث الاصابات، وكذلك عامل التدخين الذي يعتبر من العوامل الاساسية في إحداث وانتشار الاصابة؛ فقد اثبتت الدراسة أن 17% من المصابين هم من فئة المدخنين وازدادت النسبة عند تعرض المريض للتدخين السلبي الى 22%.

لقد اظهرت الدراسة ان الذكور اعلى اصابة من الاناث بنسبة 55.29%، ونسبة عالية وللفئة العمرية 16-45 سنة

لقد اثبتت الدراسة ان افضل مضاد حيوي فعالية تم تسجيله في الدراسة هو Imipenem بنسبة 86.84%، واقل مضاد حيوي فعالية تم تسجيله في الدراسة هو Cieftidizim بنسبة 40.78%.

لقد أظهرت الدراسة أن هناك إختلاف بين البكتيريا المشخصة بالطرق الزرعية والاختبارات البايوكيميائية التقليدية ، وطرق التشخيص الجزيئي. فقد اثبتت الدراسة أن البكتيريا المشخصة بالطرق الزرعية هي:

بنسبة *Staphylococcus aureus*، 32.29% ، *Pseudomonase aeruginosa* بنسبة 11.76% ، *Staphylococcus epidermidis* بنسبة 10.58% ، *Proteus mirabilis* بنسبة 9.41% ، *klbsiella.pneumonia* بنسبة 7.05% ، *E.coli* بنسبة 4.70% . اما نتائج التشخيص الجزيئي المباشر فقد كانت *Streptococcus pneumoniae* بنسبة 87.5% ، *Staphylococcus aureus* بنسبة 82.5% ، *Pseudomonase aeruginosa* بنسبة 80% ، *Haemophilus influenza* بنسبة 22.5% ، *Moraxella catarrhalis* بنسبة 22% ، اللتان لم تظهرا ابد في التشخيص الزرعي.

ولاول مرة في الدراسات العالمية اثبتت دراستنا ان هناك اختلاف بين طرق التشخيص الجزيئي نفسه ، فقد اثبتت طريقة التشخيص المباشر باستخدام تقنية qPCR ان اغلب البكتريا المسببة لالتهاب الاذن الوسطى تم تشخيصها واثبت وجودها بهذه التقنية بنسب مشابهة ومقاربة للدراسات العالمية التي اثبتتها طرق الزرع التقليدية ، اما طريقة التشخيص الجزيئي المباشر باستخدام تقنية PCR التقليدي فقد شخضت عدد قليل جدا من البكتريا المسببة لالتهاب الاذن الوسطى ، ويعود السبب في ذلك الى ان ال DNA المستخلص من العينات البكتيرية مباشرة يكون تركيز المادة الوراثية فيه قليل جدا ولا يمكن الكشف عنها بواسطة تقنية PCR على عكس تقنية qPCR التي تستطيع الكشف عن تراكيز قليلة جدا من المادة الوراثية.



جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

التشخيص المباشر للبكتريا المسببة لالتهاب الاذن الوسطى
باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل في الوقت الحقيقي بالمقارنة
مع طرق اخرى

آمنة سامي احمد شهاب

رسالة ماجستير

قسم علوم الحياة

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور جاسم فتحي علي