دراسة لبعض عوامل الفوعه للمسببات الجرثومية لخمج الاذن الوسطى وتاثير المادة الشمعية للاذن

بروج محمد رزوقي ، عدويه فاضل عباس ، عباس عبود فرحان

كلية الطب / جامعة ديالى ، كلية الطب / جامعة ديالى ،كلية التربية / جامعة ديالى

الخلاصة

لفية الدراسة : يعد خمج الاذن الوسطى احد الامراض المهمة التي تصيب الفئات العمرية كافة ولكلا الجنسين. اذ يعد السبب الرئيسي لفقدان السمع لدى الاطفال مما يؤثر على عملية النطق وتعلم اللغة ومستوى ذكاء الطفل .هدف الدراسة : تهدف هذه الدراسة الى تشخيص المسببات الجرثومية لخمج الاذن الوسطى ومقارنة تلك المسببات للحالات الحادة والمزمنة. وكذلك دراسة بعض عوامل الفوعة وتأثير المادة الشمعية كمادة مثبطة لنمو الجراثيم . طريقة العمل : تضمنت الدراسة جمع (180) مسحة اذن من مرضى مصابين بخمج الاذن الوسطى المراجعين الى العيادة الاستشارية/ شعبة الاذن والانف والحنجرة في مستشفى عام بعقوبة/ محافظة ديالى ، خلال المدة من 2004/11/1 ولغاية 2005 /5/30 توزعت الحالات بين 94 (52.2 %) من الذكور و 86 (47.8 %) من الاناث . وشخصت العزلات المسببة للخمج حسب الطرائق القياسية المعتمدة وتم اجراء الدراسات الاخرى كدراسة عوامل الفوعة ودراسة تاثير المادة الشمعية للاذن . النتائج : اظهرت النتائج ان جرثومة Pseudomonas aeruginosa كانت المسبب الاكثر شيوعا في خمج الاذن الوسطى اذ تم عزل 52(30.6%) من الحالات تليها كل من Proteus mirabilis و Staphylococcus aureus إذ بلغ عدد العزلات 30(17.64%) و24(14%) على التوالي. اظهرت 17 (70.83%) من عزلات S. aureus قدرتها على انتاج انزيم البيتالاكتاز، تليها جرثومة Proteus mirabilis اذ اظهرت 18 (60%) من العزلات قدرتها على انتاج انزيم البيتالاكتاز وجاءت جرثومة P.

aeruginosa بالمرتبة الثالثة اذ بلغت نسبة العزلات المنتجة للانزيم (59.6%).ظهرت 22 (91.7%) من عزلات S. aureus و44 (84.6%) من عزلات P. aeruginosa قدرتها على انتاج الهيمولايسين، وجاءت Proteus mirabilis بالمرتبة الثالثة اذ بلغت نسبة العزلات المنتجة للهيمولايسين (80%). ظهرت 25 (83.3%) من عزلات Proteus mirabilis 41 (78.8%) من عزلات p. aeruginosa قابلية الالتصاق بالخلايا الظهارية للانسان، واظهرت 9 (37.5%) من عزلات S. aureus قابلية الالتصاق بالخلايا الظهارية للانسان اظهرت النتائج تاثيرا مثبطا للمادة الشمعية التي تفرزها الاذن على نمو 9(45%) من عزلات P. aeruginosa فيما لم تظهر 11 (55%) أي تأثر بتلك المادة .الاستنتاجات : وجد ان جرثومة Pseudomonas aeruginosa كانت اكثر المسببات الجرثومية شيوعا" في خمج الاذن الوسطى المزمن في حين ظهرت streptococcuse spp . اكثر تكرارا" في الخمج الحاد . كما اظهرت العزلات قابليتها على انتاج واحد او اكثر من عوامل الفوعة وعوامل الالتصاق ، ولوحظ وجود تأثير المادة الشمعية المفرزة من الاذن على نمو الجراثيم المسببة للخمج .

مفتاح الكلمات : عوامل الفوعة ، خمج الاذن الوسطى ، شمع الاذن .

المقدمة

يعد خمج الاذن الوسطى من الامراض المهمة التي تصيب الاذن البشرية بفعل الاصابة بالاحياء المجهرية (الجراثيم والحمات والفطريات). وهو من الامراض الشائعة والمتكررة في مرحلة الطفولة، اذ يعد ثاني اكثر مرض يصيب الاطفال بعد الرشح العادي. ويحدث ضمن الفئات العمرية الاخرى الا انه اكثر شيوعاً بين الاطفال اذ تظهر اعلى معدلات للاصابة خلال السنتين الاولى من عمر الطفل [1] . وعزا بعض الباحثين تكرار المرض عند الاطفال الى طبيعة ومواصفات قناة اوستاكي، إذ يتزامن المرض عادةً مع امراض المسالك التنفسية العليا [2] . واشارت احدى الدراسات الى ان الاطفال اكثر عرضة للاصابة بخمج الاذن الوسطى القيحي في السنة الاولى من العمر[3] . ويعد السبب الرئيس لفقدان السمع لدى هؤلاء مما يؤثر على عملية النطق وتعلم اللغة ومستوى ذكاء الطفل [4] . ان معظم الاطفال الذين يعانون من هذا المرض هم ممن يعانون من اصابة سابقة في الجهاز التنفسي، وقد أستدل بعض الباحثين على ذلك من كون الجراثيم التي تشترك في خمج الاذن الوسطى هي التي تستعمر في المسالك التنفسية العليا [5] . وقد يؤدي عدم الاهتمام والاسراع بالمعالجة الى تطور الخمج وانتقاله الى

اماكن اخرى كالاذن الباطنة والجمجمة، او تحول الخمج من الاذن الوسطى الى الاذن الباطنة الذي يسبب اختلال التوازن وذلك بدخول القيح الى جهاز التوازن في الاذن. وقد يحدث فقدان دائم للسمع [6] .تسهم الجراثيم بشكل اساسي باحداث خمج الاذن الوسطى ، وتكون اكثر المسببات الجرثومية من النوع المقاوم للمضادات الحياة لذا لا يكون العلاج فعالاً بسبب التطور السريع في مقاومة الجراثيم للمضادات المستعملة في العلاج [7] .وتعد مضادات البيتالاكتاز من اكثر المضادات اهمية من الناحية الطبية والاكثر استخداما في العلاج السريري منذ اكتشاف البنسلينات ولحد الان. ولكن الاستخدام العشوائي لهذه المضادات ادى الى ظهور سلالات جرثومية مقاومة لها. اذ ان الانتاج العالي لانزيمات البيتالاكتاز هو احد الاسباب المهمة التي جعلت الجراثيم اكثر مقاومة لمضادات البيتالاكتاز [8] .

وتعد انزيمات البيتالاكتاز احد الانزيمات الدفاعية التي لها القدرة على تكسير اصرة الامايد الحلقية في حلقة البيتالاكتاز الموجودة في نواتي البنسلينات والسيفالوسبورينات، جاعلا اياها جزيئات غير فعالة بايولوجيا وهي احد اسباب فشل حالات العلاج [9] .كما يعد الهيمولايسين عامل فوعة مهم في الجراثيم المنتجة له وذلك لارتباطه بالعزلات المرضية ، وهو عبارة عن انزيم ذو طبيعة بروتينية يفرز خارج الخلية من قبل اعداد كبيرة من لجراثيم السالبة والموجبة لصبغة كرام [10] .تعد المادة الشمعية (Cerumen) المتكونة داخل الاذن البشرية عاملا مهما ومؤثرا في حماية الاذن من غزو الجراثيم ولا سيما وان هذه المادة ذات تركيبة قاتلة للجراثيم والفطريات. وتعود هذه الخاصية الى احتواء هذه المادة على عدد من الاحماض الدهنية المشبعة وكلوبيولينات مناعية واجسام حالة فضلا عن انخفاض الرقم الهيدروجيني[11] .

طرائق العمل

شملت الدراسة جمع مسحات الاذن من المرضى المراجعين الى العيادة الاستشارية/ شعبة الاذن والانف والحنجرة في مستشفى عام بعقوبة/ محافظة ديالى للمدة من 2004/11/1 ولغاية 2005/5/30 ، اذ بلغ عدد العينات (180) مسحة اذن من المرضى المصابين بخمج الاذن الوسطى و نقلت المسحات الى المختبر لعزل وتشخيص الجراثيم المسببة للخمج وحسب الطرائق القياسية المعتمدة ومن ثم دراسة بعض عوامل الفوعة وتأثير المادة الشمعية للاذن .أُستنبتت المسحات التي اخذت من

المرضى مباشرة على الاوساط الزرعية الملائمة لنمو الجراثيم والتي شملت وسط اكار الدم (Blood agar) بواقع طبقين لكل مسحة، الطبق الاول حضن هوائيا والطبق الاخر حضن لاهوائيا عند درجة حرارة (37) م لمدة (24) ساعة، ووسط اكار الماكونكي (MacConkey agar) ووسط (Chocolate agar) بواقع طبقين لكل مسحة حضن هوائيا ولا هوائيا" عند درجة حرارة (37) م لمدة (24) ساعة، واجري التشخيص حسب الطرائق القياسية المتبعة من قبل Collee (1996) [12].

1- اختبار التحري عن انتاج انزيم البيتالاكتاز

استخدمت طريقة اليود القياسية السريعة (Rapid Iodometric method) للتحري عن قابلية العزلات على انتاج انزيم البيتالاكتاز في عزلات P. aeruginosa ، Proteus mirabilis ، S. aureas وحسب ما جاء في WHO(1978) [13] .

2- اختبار التحري عن انتاج الهيمولايسين نوعياً

تم التحري عن قابلية العزلات الجرثومية P.aeruginosa، Proteus mirabilis ، S. aureas التي تم عزلها وتشخيصها من مسحات الاذن الوسطى على انتاج الهيمولايسين. اذ زرعت العزلات على اوساط اكار الدم المحضر في اطباق بتري معقمة، وقد اضيفت مادة اكار اكار للوسط بنسبة (3%) في بعض الاطباق وذلك لغرض الحد من الحركة التموجية لجرثومة Proteus mirabilis والحصول على مستعمرات منفردة لهذه الجراثيم. ثم حضنت الاطباق بعد التلقيح بحرارة (37)م لمدة (18-24) ساعة وقرأت النتائج التي تعتمد على ظهور او عدم ظهور مناطق تحلل (هالة شفافة) تحيط بالمستعمرات [12].

3- اختبار التحري عن قابلية العزلات على الالتصاق بالخلايا الظهارية .

وتم التحري عن قابلية العزلات على الاتصاق بالخلايا الظهارية للانسان وحسب ما قام به Iwahi (1983) [13]. تم تحوير طريقة Wells Method لدراسة تاثير المادة الشمعية على نمو (20) عزلة لجرثومة P. aeruginosa، تبعا" Vignolo(1993) [15].

النتائج والمناقشة

تم عزل وتشخيص (170) عزلة جرثومية من مجموع (180) مسحة اذن من مرضى مصابين بخمج الاذن الوسطى . اذ اظهرت 96 (53.3 %) حالة خمج مزمن و84 (46.7 %) حالة خمج حاد . ولم يشر التحليل الاحصائي باستخدام (اختبار مربع كاي) الى وجود فرق معنوي ($P > 0.05$) بنسبة الخمج الحاد والمزمن ، وقد يعود تكرار حالات الخمج المزمن مقارنة مع حالات الخمج الحاد الى عدة اسباب منها سوء استخدام المضادات في العلاج اذ ان الاستخدام الواسع للمضادات ادى الى ظهور سلالات جرثومية مقاومة للعلاج المستخدم . واهمال المرض وعدم الاسراع بمعالجته في المراحل المبكرة من الخمج [16]. وتظهر بعض المسببات الجرثومية ذات الفوعه العالية والمقاومة المتعددة لمضادات الحياة اكثر شيوعا" في خمج الاذن الوسطى المزمن وكما مبين في جدول (1) اذ تظهر جرثومة P. aeruginosa بنسبة 40 (76.92 %) في الخمج المزمن تليها جرثومة Proteus mirabilis و S. aureas اذ تشكل 22 (73.3 %) و 16 (66.7 %) على التوالي في الخمج المزمن . اشار التحليل الاحصائي باستخدام (اختبار Z) الى وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) بنسبة عزلات P. aeruginosa المسببة للخمج المزمن مقارنة مع الخمج الحاد في حين لم تظهر المسببات الجرثومية الاخرى فرقا" معنويا" بنسبها في الخمج المزمن مقارنة مع الخمج الحاد . اتفقت النتائج الحالية مع الكثير من الدراسات التي وجد فيها ان جرثومة P. aeruginosa هي المسبب الرئيس لخمج الاذن الوسطى المزمن [17 ، 18] كما تظهر نتائج الدراسة شيوع كلا" من جرثومة streptococcus spp . Escherichia coli و klebsiella spp. و في الخمج الحاد اذ مثلت 10 (71.4%) و 6 (75%) و 8 (66.7) على التوالي .

اتفقت النتائج الحالية مع الكثير من الدراسات السابقة التي وثقت سيادة جرثومة Streptococcus spp. في خمج الاذن الوسطى الحاد والتي يكون مصدرها على الاغلب مجرى البلعوم الانفي اذ تعتبر من المسببات الجرثومية المهمة لاصابة المسالك التنفسية العليا [19 ، 20] . وتبين نتائج الدراسة ان 32 (17.7 %) مسحة اذن لم تظهر أي نمو رغم وجود الخمج لدى المرض ، ويعتقد ان السبب قد يعود هذا الى وجود مسببات مرضية اخرى كالحمات [21] .

الجدول رقم (1) : اعداد ونسب الجراثيم المسببة لخمج الاذن الوسطى المعزولة خلال مدة الدراسة .

الجراثيم	عدد العزلات	النسبة المئوية

30.6	52	P.aeruginosa
17.64	30	Proteus mirabilis
2.4	4	Proteus vulgaris
14	24	S. aureus
8.23	14	S.epidermidis
8.23	14	Streptococcus spp.
7.1	12	Escherichia coli
4.7	8	Klebsiella spp.
4.7	8	Enterobacter spp.
2.4	4	M. catarrhalis
100	170	المجموع

($P < 0.05$)

استخدمت طريقة اليود القياسية السريعة للكشف عن انزيم البيتالاكتاز المنتج من قبل العزلات ، اذ استخدم البنسلين (ج) ركيزة لهذا الاختبار، وتعد هذه الطريقة من الطرائق السهلة والسريعة التطبيق [13] .

تبين نتائج الدراسة الجدول (2) ان 66(62.3%) عزلة جرثومية كانت منتجة لانزيم البيتالاكتاز. واعطت بعض العزلات نتائج سريعة لانتاج الانزيم اذ ظهرت النتيجة الموجبة خلال ثواني من اضافة الكاشف المتمثل بـ (النشأ_اليود). وقد يعود سبب اعطاء بعض العزلات نتيجة سريعة الى امتلاكها انزيم البيتالاكتاز بكميات كافية في الفسح البيربلازمية مما يؤدي الى اختزال سريع لليود [22] . ومن ناحية اخرى وجد ان بعض العزلات لم تكن قادرة على انتاج انزيم البيتالاكتاز التي بلغت 40(37.7%) على الرغم من مقاومة هذه العزلات لمضادات البيتالاكتاز واعزي ذلك الى امتلاكها اليات اخرى للمقاومة كحدوث تغير في موقع الهدف للمضاد او عن طريق امتلاكها لحاجز النفاذية [23]وظهرت اعلى نسبة لانتاج انزيم البيتالاكتاز من قبل جرثومةS. aureus والتي مثلت 17(70.83%) عزلة منتجة اذ تاتي المكورات الذهبية في مقدمة الجراثيم الموجبة لصبغة كرام والمنتجة لانزيم البيتالاكتاز وجاءت جرثومة proteus mirabilis بالمرتبة الثانية اذ مثلت 18(60%) عزلة تليها جرثومة p. aeruginosa والتي مثلت 31(59.6%) عزلة جاءت هذه النتائج مقاربة لما وجده عبد الرزاق , اذ

وجد ان عزلات p.aeruginosa المعزولة من خمج الاذن الوسطى المزمن المنتجة لانزيم البيتالاكتاز قد بلغت (52)% [18]

.

جدول (2) : العدد والنسبة المئوية للعزلات المنتجة لانزيم البيتالاكتاز والمسببة لخمج الاذن الوسطى

الجراثيم	عدد العزلات	منتجة للانزيم		غير منتجة للانزيم	
		العدد	%	العدد	%
p.aeruginosa	52	31	59.6	21	40.4
Proteus mirabilis	30	18	60	12	40
S. aureus	24	17	70.83	7	29.17
المجموع	106	66	62.3	40	37.7

تم التحري عن قدرة العزلات الجرثومية على انتاج الهيمولايسين باعتباره من عوامل الفوعة المهمة لكل من p.aeruginosa و proteus mirabilis و S. aureus اذ زرعت العزلات الجرثومية على وسط اكار الدم الحاوي على (5%) دم بشري صنف (AB) لكونه يعطي اوضح مناطق لتحلل الدم. تبين النتائج في جدول (3) ان 90(84.9%) عزلة كانت منتجة للهيمولايسين واظهرت عزلات S. aureus اعلى نسبة لانتاج الهيمولايسين اذ مثلت 22(91.7%) تليها جرثومة p.aeruginoa التي مثلت 44 (84.6) ويعد نمط تحلل الدم تحللا كاملا (β-hemolysis) هو النمط السائد في اغلب عزلات S. aureus و p.aeruginosa. وجاءت proteus mirabilis بالمرتبة الثالثة اذ مثلت 24(80%) عزلة منتجة للهيمولايسين ولم توافق النتائج ما توصل اليه عبد الرزاق الذي وجد ان 48 % من عزلات p.aeruginosa المعزولة من

الخمج المزمن كانت منتجة للهيمولايسين . وتبين نتائج الدرسة الحالية الى 16 (15.1)% عزلة جرثومية لم تكن منتجة للهيمولايسين واعزي ذلك الى امتلاك هذه العزلات انظمة اخرى خاصة لسحب الحديد وهضمه وتمثيله في الانسجة وقد يعود السبب الى انتاج الهيمولايسين بكميات قليلة لايمكن ملاحظة تأثيرها [24] .

الجدول (3) : العدد والنسبة المئوية للعزلات المنتجة للهيمولايسين نوعيا والمسببة لخمج الاذن الوسطى

الجراثيم	عدد العزلات	منتجة للهيمولايسين				غير منتجة للهيمولايسين	
		العدد	بيتا	الفا	%	العدد	%
p.aeruginosa	52	44	28	16	84.6	8	15.4
Proteus mirabilis	30	24	19	5	80	6	20
S. aureus	24	22	22	-	91.7	2	8.3
المجموع	106	90	64	21	84.9	16	15.1

تم التحري عن قدرة العزلات S. aureus و p.aeruginosa و proteus mirabilis على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية Epithelial cell للانسان التي تعد الخطوة الاولى في احداث الخمج.

ويوضح جدول (4) ان 75(70.7%) من العزلات اظهرت قابلية الالتصاق بالخلايا الظهارية للانسان. واظهرت عزلات Proteus mirabilis اعلى نسبة للالتصاق بالخلايا الظهارية والتي مثلت 25(83.3%) تليها جرثومة p.aeruginosa التي مثلت 41(78.8%) ثم S. aureus والتي مثلت 9(37.5%) . بين بعض الباحثين ان التصاق عزلات p.aeruginosa و proteus mirabilis يعود الى وجود الاهداب التي لها دور كبير في زيادة فوعة الجراثيم المرضية [25] فضلا" عن متعدد السكرايد الخارجي الذي يعمل كجسر بين الخلايا الجرثومية المنتجة له والمستقبلات الموجودة على سطح الخلايا الظهارية

وعزى find hine التصاق عزلات S. aureus بالخلايا الظهارية للمضيف إلى مجموعة العوامل السطحية منها collagen binding protein , protein A , capsnlar poly sccharide [26] .

الجدول (4) : نسبة التصاق العزلات المسببة لخمج الاذن الوسطى بالخلايا الظهارية للانسان

الجراثيم	عدد العزلات	الخلايا الملتصقة	
		العدد	%
p.aeruginosa	52	41	78.8
Proteus mirabilis	30	25	83.3
S. aureus	24	9	37.5
المجموع	106	75	70.7

تم اختبار تاثير المادة الشمعية للاذن في نمو بعض عزلات p.aeruginosa وذلك لانها تشكل اعلى نسبة في خمج الإذن الوسطى مقارنة مع المسببات الاخرى، وكذلك امتلاكها العديد من عوامل الفوعة ومقاومتها للمضادات اظهرت النتائج تاثير المادة الشمعية في نمو عزلات p.aeruginosa وبنسبة (45%) اذ اظهرت تسع عزلات مناطق تثبيط للنمو بلغت اقطارها (14، 13، 12، 12، 10، 10، 13، 15، 14) ملمتر على التوالي. فيما لم تؤثر هذه المادة على نمو الجراثيم بنسبة (55%) اذ لم تظهر (11) عزلة مناطق تثبيط للنمو بوجود هذه المادة . واعزي هذا التثبيط الى ما تحتويه هذه المادة من المواد الدهنية والبروتينية الفعالة في تثبيط نمو الجراثيم، فضلا عن طبيعة هذه الافرازات الحامضية التي تجعل الاذن غير ملائمة لنمو اغلب الاحياء المجهرية [11]

المصادر

1. Groenen, P.; Crul, T.; Maassen, B. and VanBon, W. Perception of voicing cause by children with early otitis media with or without language impairment. J. Speech. Hear

Res. 1996 ; 39(6):43-54.

2. Hemlin, C.; Brauner, A.; Carenfelt, C. and Wrerlind, B. Nasopharyngeal flora in otitis media with effusion: Acomarative semi quantitative analysis. Acta. Otolaryngol. 1994 ; 111(3):556-56.
3. Paradise, J. L.; Feldman, H. M.; Colborn, D. K.; Camphell, T. F.; Dollaghan, C. A. and Rockette, H. E. Parental stress and parent-rated child behavior in relation to otitis media in the first three years of life. Pediatrics , 1999; 104(12):1264-37.
4. Rovers, M. M.; Krabble, P. F.; Straatman, H.; Lngel, K.; Vanderwilt, G. J. and Zielhuis, G. M. . Randomized controlled trail of ventilation tubes (grommets) on quality of life at age 1-2 years. Arch . Dis . child : 2001 ; 84 : 45 – 49 .
5. Faden, H.; Duffy, L.; Wasielewski, R.; Wolf, J.; Krystofik, D. and Tung, Y. Relationship between nasopharyngeal colonization and the development of otitis media in children. Pediatr. Infect. Dis. J. 1997 ; 175:1440-1445.
6. Hoberman, A. and Paradise, I. L. Acute otitis media: diagnosis and management in the year 2000. Pediatr. Ann. 2000 ; 29(6):609-20.
7. Jacoby, G. A.. Genetics of extended-spectrum β- Lactamase. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1994 ; 1:2-11.
8. Piglansky, L.; Leibovitz, E.; Raiz, S.; Greenberg, D.; Press, J.; Leiberman, A. and Dagan, R. Bacteriologic and clinical efficacy of high dose amoxicillin for therapy of acute otitis media in children. Pediatr. Infect. Dis. J. 2003 ; 22(10):936-7
9. Lyobe, S.; Tsunoda, M. and Mitsuhashi, S.. Cloning and expression in Enterobacteriaceae of extended spectrum β- Lactamase gene from pseudomonas aeruginosa plasmid. FEMS Microbiology (Letters) , 1994 ; 121:175-180.
10. Piccini, C. D.; Barbe, F. M. and Legnani-Fajardo, C. L. Identification of iron-regulated outer membrane proteins in uropathogenic proteus mirabilis and its relationship with heme uptake. Fam. Microb. Lett. 1998 ; 15(6):243-8.
11. Pata, Y. S.; Ozturk, C. and Akas, Y. Has cerumen a protective role in recurrent external otitis. Am. J. Otolaryngol. . 2003 ; 24(6):209-212 .
12. Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmian, B. P. and Simmons, A.. Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology. 14th Eed. 1996 . Chuirchill Livingstone . pp .

13. WHO. Techniques for the detection of β - Lactamase producing strains of Neisseria gonorrhoeae. 1978 ; 616:137-143.
14. Iwahi, T.; Abe, R.; Nako, N.; Mado, A. Role of type 1 fimbriae in the pathogensis of ascending UTI by E. coli in mice. Infect. Immun. 1983 ; 39(12):1307-1315.
15. Vignolo, G. M.; Suriani, F.; Holgado, A. P. and Oliver, G. Antibacterial activity of Lactobacillus strains isolated from dry fermented sausage. J. App . Bacteriol. 1993 ; 75(12):344-349.
16. Pool , M .D . (1995) .Otitis media complications and treatment failures : Implications of pneumococcal resistance .Peediatr . Infect .Dis . J. 14(4):23- 6 .
17. Vartiainen, E. Otitis media with effusion in children with congenital or early-onset hearing impairment. J. Otolaryngol. 2000 ; 29(6):221-223 .
18. Moshi, N. H.; Minja, B. M.; Ole-Lengine, L. and Mwakagile, D. S. Bacteriology of chronic otitis media in Dares Salaam, Tanzonia. East Afr. Med. J. 2000 ; 77(1):20-2.
19. Abdul-Razak, A.AEffect of some B-Lactamase inhibitors and combined action of some antibiotic on pseudomonas aeruginosa resistant to antibiotics and some heavy metals isolated from otitis media: Genetic study. M.S.C. Thesis AL-Mustansiriya University-Baghdad, Iraq 2000 .
20. Arguedas , A . : Dagan , R . ; Soley , C . ; Loaiza , C ; Kundsen , K . ; Porat , N . ; Perez , A . ; Brilla , E . and Herrera , M . L . (2003) . Microbiology of Otitis media in Costa Rican children , 1999 through 2001 . Pediatr Infect . Dis .J. 22 (12) : 106-8 .
21. Kuckowski . J .; Samet , A . and Brzoznowski , W . (2000) . Bacteriologic evaluation of otitis externa and chronicotitis media . Otolaryngol . Pol . 54(5):551 – 6 .
22. Medeiros , A . A . (1997) .Evolution and dissemination of β – Lactam antibiotics . Clin . Infect . Dis . 24 (1) : 19 – 45 .
23. Danziger , L.H. and Pendland , S . L . (1995) . Bacterial resistance to B – Lactam antibiotics . Am . J . Health Systpharm . 52(6) : 35 – 85 .
24. Opal , S . M .; Cross , A . S . ; Genski , P . and Lyhte , L . W . (1990) . Aerobactin and hemolysin as virulence determinants in Escherichia Coli isolated from human blood , urine and stool . J . Infect . Dis .161 (1) : 794-296 .
25. Jones , B . D . ; Lockatell , C . V .; Johnson , D . E . and Mobley , H . L . (1994) .

Construction of aurease – negative mutants of proteus mirabils . Infect . Immun. 58(6) : 1120 – 1123

26. Findhine , D . : Perkins , S . ; Francois , P .; Vaudaux , P .; Hook , M . and Foster , T . J . (1998) . Clumping Factor B a new surface located fibrinogen binding adhesion of Staphylococcus aureus . Med . Microbiol . 30(12) :245 – 257 .