

**Isolation and Identification of some
Bacteria and Fungi
Causing Ear Infection**

A Thesis Submitted

To

*The Council of The College of Science University of
Babylon*

*In Partial Fulfillment of The Requirement For The
Degree of Master of Science*

In

Biology (Microbiology)

By

Balkeas Abd Ali Abd Aun Al -Turfei

200₂

عزل وتشخيص بعض البكتريا و الفطريات

المسببة لالتهاب الأذن

رسالة مقدمة

إلى مجلس كلية العلوم جامعة بابل

وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم

في

علوم الحياة / الأحياء المجهرية

من قبل

بلقيس عبد علي عبد عون الطرفي

نيسان 2002م

صفر 1423 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ انا خلقنا الانسان من نطفة أمشاج نبتليه ﴾

﴿ فجعلناه سمياً بصيراً ﴾

بِسْمِ اللَّهِ
الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سورة الإنسان / الآية (2)

إقرار المشرفين

نشهد إن إعداد هذه الرسالة جرى تحت اشرافنا في قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة بابل وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم في علوم الحياة – احياء مجهرية

| | |
|------------------------------------|----------------------------------|
| المشرف | المشرف |
| التوقيع | التوقيع |
| الاسم : د . و داد ناجي جعفر | الاسم : د . محمد صيري عبد الرزاق |
| المرتبة العلمية : أستاذ مساعد | المرتبة العلمية : أستاذ مساعد |
| العنوان : كلية او لطب / جامعة بابل | العنوان : كلية الطب / جامعة بابل |
| التاريخ : / / 2002 | التاريخ : / / 2002 |

ملاحظة :- تتمتع الدكتورة و داد ناجي جعفر باجازة خارج القطر وقد اشرفت على الجانب العملي من الرسالة وتحفظ بحقوقها العلمية كاملة في الرسالة .

توصية رئيس القسم

إشارة إلى التوصية أعلاه المقدمة من قبل الاستاذين المشرفين ، احيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع :
الاسم : فكرت مجيد حسن
المرتبة : أستاذ مساعد
العنوان : كلية العلوم / جامعة بابل
التاريخ : / / 2002

إقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا أعضاء لجنة التقويم والمناقشة اطلعنا على هذه الرسالة ، وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وفيما له ، علاقة بها وذلك بتاريخ 2002/3/18 ووجدنا بأنها جديرة بالقبول بتقدير (جيد جدا") لنيل درجة ماجستير علوم في علوم الحياة / الأحياء المجهرية .

عضو اللجنة
الاسم : د. سامرة يونس يوسف
التوقيع :
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
التاريخ : 2002 / /

رئيس اللجنة
الاسم : د. إكرام أمين خاكي
التوقيع :
المرتبة العلمية : أستاذ
التاريخ : 2002 / /

عضو اللجنة
الاسم : د. محمد صبري عبد الرزاق
التوقيع :
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
التاريخ : 2002 / /

عضو اللجنة
الاسم : د. عبد الله كاظم هندي
التوقيع :
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
التاريخ : 2002 / /

مصادقة عميد كلية العلوم
الاسم : د. فلاح حسن حسين
التوقيع :
المرتبة العلمية : أستاذ
التاريخ : 2002 / /

الشكر والتقدير

مع انتهائي من كتابة هذه الرسالة اتقدم بالشكر الجزيل الى الدكتورة وداد ناجي جعفر
والدكتور محمد صبري عبد الرزاق لاقتراحهما موضوع البحث و إرشادهما لي طوال فترة البحث
والكتابة .

كما اتقدم بشكري وتقديري الى رئاسة جامعة بابل وعماده كلية العلوم ورئاسة قسم علوم
الحياة لأتاحتهما فرصة إكمال دراستي العليا / الماجستير .
شكري وتقديري للمقوم اللغوي الدكتور عبود جودي الحلي .
شكري وتقديري للأنة زينب علي حسين (مركز العهد للكمبيوتر) لطباعة الأطروحة .

المحتويات

| رقم الصفحة | الموضوع |
|------------|--|
| I | الخلاصة |
| IV | المحتويات |
| VIII | قائمة الرموز و الاختصارات |
| IX | قائمة الأشكال |
| X | قائمة الجداول |
| 1 | الفصل الأول – المقدمة |
| 1 | 1-1 مقدمة عامة |
| 4 | 2-1 التهاب الأذن الوسطى الحاد |
| 4 | <i>Streptococcus pneumoniae</i> 1-2-1 |
| 5 | <i>Haemophilus influenzae</i> 2-2-1 |
| 5 | <i>Moraxella catarrhalis</i> 3-2-1 |
| 6 | 4-2-1 الأحياء المجهرية الأخرى المسببة لالتهاب الأذن الوسطى الحاد |
| 6 | 3-1 التهاب الأذن الوسطى القبيحي المزمن |
| 7 | 1-3-1 البكتريا الهوائية |
| 7 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1-1-3-1 |
| 7 | <i>Staphylococcus aureus</i> 2-1-3-1 |
| 8 | <i>Proteus spp.</i> 3-1-3-1 |

| | |
|----|--|
| 8 | 4-1-3-1 مجموعة العائلة المعوية |
| 9 | 5-1-3-1 البكتريا الأخرى المسببة لالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن |
| 9 | 2-3-1 البكتريا اللاهوائية |
| 10 | 4-1 انصباب الأذن الوسطى |
| 11 | 5-1 فطريات الأذن |
| 12 | 1-5-1 الفطريات المشاركة في إصابات الأذن الوسطى |
| 13 | 2-5-1 الفطريات المشاركة في إصابات الأذن الخارجية |
| 14 | 6-1 طرق انتقال العدوى |
| 14 | 7-1 ألامراضية |
| 14 | 8-1 العوامل المهيأة للإصابة بالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن |
| 14 | 1-8-1 العمر والجنس |
| 15 | 2-8-1 العوامل البيئية |
| 16 | 3-8-1 إصابة القناة التنفسية العليا |
| 16 | 4-8-1 العوامل الوراثية |
| 17 | 5-8-1 الحساسية أمراض المناعة الذاتية |
| 17 | 6-8-1 خلل وظيفة قناة أوستاكي |
| 18 | 9-1 علاج إصابة الأذن الوسطى |
| 20 | الفصل الثاني المواد و طرائق العمل |
| 20 | 1-2 المواد |
| 20 | 1-1-2 المرضى |
| 20 | 2-1-2 الأوساط الزراعية |
| 27 | 3-1-2 الكواشف والمحاليل |
| 30 | 4-1-2 المضادات البكتيرية |
| 31 | 2-2 طرائق العمل |
| 31 | 1-2-2 جمع العينات |
| 31 | 2-2-2 الفحوصات المختبرية للعينات |
| 31 | 1-2-2-2 التلقيح |
| 31 | 2-2-2-2 الزرع المختبري |
| 32 | 3-2-2 تشخيص الاحياء المجهرية المعزولة |

| | |
|----|--|
| 32 | 1-3-2-2 الخصائص المظهرية و الزرعية |
| 33 | 2-3-2-2 الفحوصات الكيموحيوية و الفيزيولوجية |
| 37 | 4-2-2 فحص الحساسية للمضادات الحيوية |
| 38 | 5-2-2 فحص الانبوب الجرثومي |
| 38 | 6-2-2 حفظ العزلات |
| 38 | 7-2-2 التحليل الاحصائي |
| 42 | الفصل الثالث النتائج والمناقشة |
| 42 | 1-3 توزيع الإصابات الخاصة بالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن بحسب الجنس والعمر |
| 44 | 2-3 التغيرات الفصلية |
| 47 | 3-3 المسببات المرضية و المحتوى الميكروبي |
| 49 | 4-3 الإصابات المفردة و الاصابات المختلطة |
| 51 | 5-3 تكرار الأحياء المجهرية المعزولة |
| 55 | 6-3 الفطريات المشاركة في إصابة الأذن الوسطى |
| 56 | 7-3 البكتريا المعزولة من قناة السمع الخارجية |
| 59 | 8-3 الفطريات المشاركة في إصابة الأذن الخارجية |
| 62 | 9-3 توزيع العزلات البكتيرية والفطرية المسببة لالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن بحسب الفئات العمرية |
| 64 | 10-3 توزيع المرضى المصابين بفطريات الأذن الخارجية بحسب العمر والجنس |
| 65 | 11-3 توزيع العزلات الفطرية المسببة لفطريات الأذن الخارجية بحسب الفئات العمرية |
| 67 | 12-3 تأثير المضادات الحياتية على العزلات البكتيرية |
| 71 | الاستنتاجات |
| 72 | التوصيات |
| 73 | المصادر |

قائمة الرموز و الاختصارات

| المفردة الاصطلاحية | الرمز أو الاختصار |
|-----------------------------------|-----------------------|
| Ear-Nose-Throat. | ENT |
| Acute suppurative otitis media | ASOM |
| Chronic suppurative otitis media | CSOM |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | <i>H. influenzae</i> |
| <i>Moraxella catarrhalis</i> | <i>M. catarrhalis</i> |
| <i>Escherichia coli</i> | <i>E. coli</i> |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>P. aeruginosa</i> |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>S. aureus</i> |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | <i>S. epidermidis</i> |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | <i>S. pneumoniae</i> |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | <i>S. pyogenes</i> |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | <i>B. fragilis</i> |
| <i>Aspergillus niger</i> | <i>A. niger</i> |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | <i>A. fumigatus</i> |
| <i>Aspergillus terreus</i> | <i>A. terreus</i> |
| <i>Aspergillus flavus</i> | <i>A. flavus</i> |
| <i>Candida albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| Group A Streptococci | G. A. S. |
| Coagulas negative Staphlococci | C. N. S. |
| Polymerase chain reaction | P C R |

قائمة الأشكال

| رقم الشكل | العنوان | رقم الصفحة |
|-----------|--|------------|
| 1 | توزيع اصابات التهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن بحسب فصول السنة | 45 |
| 2 | توزيع الإصابات الفطرية للأذن الخارجية بحسب فصول السنة | 46 |
| 3 | نوع وتكرار الإصابة في المرضى المصابين بالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن | 50 |
| 4 | مقاومة البكتريا السالبة لصبغة غرام للمضادات الحياتية شائعة الاستعمال | 69 |
| 5 | مقاومة البكتريا الموجبة لصبغة غرام للمضادات الحياتية شائعة الاستعمال | 70 |

قائمة الجداول

| رقم الجدول | العنوان | رقم الصفحة |
|------------|---|------------|
| 1 | المضادات الحياتية المستخدمة بشكل أقراص ورمزها والتركيز بالميكرو غرام | 31 |
| 2 | الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في تشخيص البكتريا الموجبة لصبغة غرام | 40 |
| 3 | الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في تشخيص البكتريا السالبة لصبغة | 41 |

| | غرام | |
|----|---|----|
| 43 | توزيع المرضى المصابين بالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن بحسب الجنس و العمر | 4 |
| 48 | تكرار الأحياء المجهرية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن | 5 |
| 54 | توزيع الأحياء المجهرية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن موزعة بحسب الإصابات المفردة و المختلطة | 6 |
| 58 | المقارنة بين الاحياء المجهرية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن و المعزولة من الأذن الخارجية للأشخاص أصحاء | 7 |
| 60 | توزيع الفطريات المعزولة من المرضى المصابين بفطريات الاذن الخارجية بحسب الإصابات المفردة والمشاركة | 8 |
| 61 | البكتريا المشتركة مع الفطريات في إصابة الأذن الخارجية | 9 |
| 63 | توزيع الأحياء المجهرية المسببة لالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن بحسب الفئات العمرية | 10 |
| 65 | توزيع المرضى المصابين بفطريات الأذن الخارجية بحسب العمر و الجنس | 11 |
| 66 | توزيع العزلات الفطرية المشاركة في الصابات الفطرية للأذن الخارجية بحسب الفئة العمرية | 12 |

Summary

This work described in this thesis was undertaken at the University of Babylon between December 1999 and October 2000 under the supervision of Dr. Mohamed Sabri and Dr. Widad Naji Jafer . Except where indicated by reference , it is the original work of the author and has not submitted for any other degree .

The Study was included 270 patients suffering from chronic suppurative otitis media and 80 patients with Otomycosis who were attending to the Ear – Nose – Throat Department at Al-Huassinia hospital in Karbala province. Moreover, 50 swabs were collected from healthy persons as control .

The study was also included , the distribution of patients according to the age and sex .

From a total of 270 Swabs, only 315 isolates were isolated and identified . It was found that CSOM was more prevalence in females than in males (54.1 % and 45.9 % respectively) and with in the age lower than ten years old .

It was showed that the gram negative bacteria were more predominant in patients with CSOM 62 .85 % , followed by gram positive bacteria 28 .57 % and then fungi 8 .57 % .

The isolated bacteria and fungi included , *Pseudomonas aeruginosa* 20.06 % , *Proteus* 17. 57 % , *Staphylococcus aureus* 16 .1 % , *E.coli* , *A cinetobacaer* 7. 62 % , *Diphtheroidis* 5. 08% , *Klebsiella* 4 .76 % , *Moraxella catarrhalis* 3 .81 % , *Staphylococcus epidermidis* 3.81% , *Streptococcus Pneumoniae* 1. 9 % , *Streptococcus pyogenes* 0 .63 % . *Aspergillus niger* 6. 67 % and *Candida albicans* 1.9% .

The patients with Otomycosis were included 57 fungal isolates were Identified , The isolates were isolated represented *Aspergillus niger* was

the predominant 47.37% , followed by *A. fumigatus* (17.54%) *A. Flavus* 10.52 % , *penicillium* 3.5 % and *Candida albicans* 14.04 % .

On the other hand , the control group was revealed that only *S.epidermidis* and diphtheroidis were detected in the external ear.

Seasonal fluctuations in both otomycosis and CSOM was studied. It was found that CSOM was more prevalence in winter than in summer (59.3% , 40.7% respectively) where as otomycosis was more prevalence in summer than in winter (80.7% , 19.3 % respectively) .

The resistance of isolated gram positive bacteria were exhibited resistance to penicillin 80 % , Erythromycin 67.2 % Nalidixic acid 62.3%, Oxacillin 47.5 % , Tetracyclin 37.7 % , Furadantin 36.1% , Were as gram negative bacteria were showed to be resistant to penicillin 83.6 % , Oxacillin 76.5 % , Erythromycin 71.7 % , Nalidixic acid 74.9 % , Furadantin 58.8 % and Tetracyclin 52.41 % .

الخلاصة

إن العمل المنجز في هذه الرسالة قد تم في جامعة بابل للفترة من كانون الأول 1999 إلى تشرين الثاني 2000 وبإشراف الدكتور محمد صبري عبد الرزاق والدكتورة وداد ناجي جعفر . وباستثناء ما مشار إليه بمصدر معين فان المعلومات الموجودة هي من نتاج الباحث وإنما لم تقدم لنيل درجة علمية أخرى سابقاً .

شملت الدراسة 270 مريضاً يعانون من التهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن 88 مريضاً يعانون من الاصابة الفطرية للاذن الخارجية المراجعين شعبة الانف والاذن والحنجرة في المستشفى الحسيني في محافظة كربلاء . وقد تم توزيع المرضى حسب العمر والجنس وكذلك بحسب نوع المسبب المرضي المرافق لالتهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن (من البكتريا والفطريات) وكذلك فطريات الاذن الخارجية ، كما تم اخذ 50 مسحة من الاصحاء لتكون مجموعة سيطرة . تم عزل وتشخيص (315) عزلة بكتيرية وفطرية من (256) عينة اظهرت زرع موجب من المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن . وقد كانت الاصابات عند الاناث اكثر من الذكور (54.1 % ، 45.9 % على التوالي) كما ظهرت ان اعلى نسبة للاصابة هي في الفئات العمرية اقل من عشر سنوات حيث شكلت نسبة (30%).

اظهرت الدراسة سيادة العزلات البكتيرية المرافقة لاصابات الاذن الوسطى على الفطريات فقد شكلت البكتريا نسبة (91.43 %) في حين شكلت الفطريات نسبة (8.57 %) كما لوحظ ان العزلات البكتيرية السالبة لصبغة غرام هي اكثر شيوعاً من العزلات البكتيرية الموجبة لصبغة غرام واظهرت النتائج ان بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* تشكل اعلى نسبة للاصابات البكتيرية (20.06 %) تليها بكتريا *Proteus spp.* (17.63 %) ومن ثم بكتريا *Staphylococcus aureus* (16.11%) اما بقية المسببات المرضية فكانت نسبتها واطئة ، في حين شكلت بكتريا *Acinetobacter spp.* و *E.coli* (7.29%) لكل منها ، *Diphtheroidis spp.* (4.86%) وبكتريا *Klebsiella spp.* بنسبة (4.56%) وبكتريا

B

Staphylococcus epidermidis و *Moraxella catarrhalis* بنسبة (3.65%) تلتها بكتريا *Streptococcus pneumoniae* بنسبة (1.82%) و *Streptococcus pyogenes* بنسبة (0.61%) . اما بالنسبة للفطريات فقد تمثلت فقط بالعفن *Aspergillus niger* بنسبة (6.38%) وكذلك الخميرة *Candida albicans* بنسبة (1.82%) .

تضمنت الدراسة ايضا الفطريات المسببة لاصابات الاذن الخارجية حيث تم عزل وتشخيص 57 عزلة فطرية من مجموع 88 إصابة وقد أظهرت الدراسة ان العفن *Aspergillus niger* هو الاكثر شيوعاً حيث شكل نسبة (47.37%) يليه العفن *A. fumigatus* بنسبة (17.54%) و *A. flavus* بنسبة (10.53%) و *A. terreus* بنسبة (7.02%) والعفن *penicillium spp.* بنسبة (3.5%) في حين كانت خميرة *Candida albicans* تمثل (14.04%) من الاصابات الفطرية للاذن الخارجية . أما المسحات المأخوذة من الاشخاص الاصحاء بوصفها مجموعة سيطرة فقد اظهرت النتائج ان 36 مسحة فقط أعطت نتائج زرع موجبة وقد تمثلت ببكتريا *S. epidermidis* و *Diphtheroidis spp.* .

وعند دراسة التغيرات الفصلية فقد ظهر ان التهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن ينتشر في فصل الشتاء اكثر منه في فصل الصيف (59.3% ، 40.7%) على التوالي في حين نجد العكس من الاصابات الفطرية للاذن الخارجية حيث لوحظ بان نسبة انتشارها في فصل الصيف أعلى مما هو عليه في فصل الشتاء (80.7% ، 19.3%) على التوالي .

خضعت البكتريا المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن الى دراسة صفة مقاومتها للمضادات الحيوية الشائعة الاستعمال وقد وجد ان معظم العزلات الموجبة لصبغة غرام مقاومة لكل من المضاد الحيوي penicillin (80.3%) Erythromycin (67.2%) وبنسب متفاوتة لكل من المضاد الحيوي Nalidixic acid بنسبة (62.3%) و Oxacillin بنسبة (47.5%) و Tetracyclin بنسبة (37.7%) Furadantin بنسبة (36.1%) .

C

في حين أظهرت معظم العزلات السالبة لصبغة غرام مقاومة للمضاد الحياتي penicillin بنسبة (85.6%) و Oxacillin بنسبة (76.5%) و بنسب متفاوتة لكل من المضاد الحياتي alidixic acid بنسبة (74.9%) و Erythromycin بنسبة (71.7%) Furadantin بنسبة (58.8%) و Tetracyclin بنسبة (52.41%).

Chapter One الفصل الأول

1 – المقدمة Introduction

1 – 1 – مقدمة عامة General introduction

يعد مرض التهاب الاذن الوسطى (Otitis media) واحداً من الأمراض المهمة التي تصيب الأذن البشرية في الفئات العمرية كافة ولكلا الجنسين .

يعرف هذا المرض :- بأنه الاصابة التي تستهدف الطبقة المخاطية السمحاقية المبطنة لشق الاذن الوسطى (Middle ear cleft) بشكل كلي أو جزئي ، كما يتميز هذا المرض بطورين رئيسيين ، الطور الحاد (Acute) والطور المزمن (Chronic) ، وقد يصاحب هذين الطورين تدفق للسائل القيحي مما يزيد من اهمية وخطورة هذا المرض وخصوصاً في فترة الطفولة . حيث قد يؤدي الى فقدان السمع الدائم عند الطفل ، كما قد يؤثر على عملية النطق وكذلك على مستوى الذكاء (Beswick et al., 1999). وقد يؤدي التهاب الأذن الوسطى إلى العديد من التعقيدات الخطرة مثل التهاب الجيب النتوء الحلمي المزمن والتهاب السحايا (Datta et al., 1995)

إن تدفق السائل القيحي خلال الطور الحاد او المزمن من المرض يزيد من مخاطر الاصابة ولا بد من المعالجة السريعة للمرض وتحديد المسبب المرضي خصوصاً عند الاطفال دون سن الخامسة من العمر (;)

(Ahmad et al., 1995 Howie et al . , 1975) .

تتشترك عدة أنواع من الأحياء المجهرية في زيادة معدل حدوث هذا المرض ، كالفيروسات والبكتيريا والفطريات وقد يكون المسبب للمرض كائناً مجهرياً واحداً او اكثر في الإصابة نفسها

(Kenna et al.,1986;AL-Mahmood and AL- kragohli,1999).

كما تلعب العديد من العوامل دوراً مهماً في احداث الاصابة كالعمر والجنس والعرق والتغيرات الفصلية والعوامل الفسلجية وكذلك المستوى الاقتصادي والاجتماعي (Okafor , 1984 ; Browning , et al., 1988) .

وفي بعض الحالات المرضية المرافقة لالتهاب الاذن الوسطى وعلى الرغم من تدفق السائل القيحي وخصوصاً في الحالات المزمنة فان الفحوصات الزرعية تكاد لا تعطي نتيجة ايجابية على وجود مسبب مرضي معين لذلك طورت بعض التقنيات للتحري عن المسبب المرضي وذلك باستخدام تقنيات الهندسة الوراثية والتي تستخدم بشكل واسع وكبير في تشخيص الامراض المختلفة كاستخدام تقنيات التهجين الجزيئي وتفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) (Beswick et al., 1999 ; Rayner et al., 1998) .

ان الدراسات التي اجريت في العراق عن السوائل القيحية المرافقة لالتهاب الاذن الوسطى تكاد تكون قليلة ومع ذلك فان بعض الباحثين قاموا بالكشف عن بعض الفعاليات الانزيمية الموجودة في السائل القيحي خلال فترة الإصابة (Hussin, 1999) (دون اجراء تحري عن المسببات المرضية . و وقد تتعرض الأذن الخارجية إلى الإصابة بأحدى المسببات المرضية كالفطريات والبكتريا إذا ما توافرت الظروف الملائمة لإحداث الإصابة ولذلك قد لا يعاني بعض المرضى من التهاب الأذن الوسطى فقط وانما ممكن إن تصاحبه، إصابة للأذن الخارجية (Liu et al., 1975) .

من هنا جاءت اهداف هذه الدراسة والتي تضمنت الفقرات التالية :

الهدف من الدراسة

- 1 - عزل وتشخيص البكتريا المسببة لالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن ومعرفة البكتريا الأكثر شيوعاً كمسبب لهذه الالتهابات .
- 2 - عزل وتشخيص الفطريات المسببة لالتهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن ومعرفة الفطريات الأكثر شيوعاً .
- 3 - عزل وتشخيص الفطريات المسببة لالتهاب الاذن الخارجية ومعرفة الفطريات الأكثر شيوعاً.
- 4 - دراسة علاقة الجنس والعمر بالتهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن وفطريات الأذن الخارجية.
- 5- دراسة علاقة الجنس والعمر بالعزلات البكتيرية والفطرية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن وفطريات الأذن الخارجية.
- 6 - دراسة مقاومة بعض أنواع البكتريا المعزولة لبعض المضادات الحيوية .

2-1 التهاب الأذن الوسطى الحاد (AOM) Acute otitis media

يعرف التهاب الأذن الوسطى الحاد بأنه التهاب الطبقة المخاطية السمحاقية المبطنة لشق الاذن الوسطى بواسطة الكائنات الممرضة (البكتريا او الفيروسات)

منتجة سلسلة من التغيرات الالتهابية ذات الطبيعة الخطرة وهو من الامراض الشائعة في مرحلة الطفولة . وقد اجريت العديد من الدراسات المايكروبيولوجية حول التهاب الاذن الوسطى الحاد في العديد من دول العالم ، منها الدراسة التي قام بها Prellner وجماعته (1999) وكذلك الدراسة التي اجريت من قبل (Blumer, 1998) في الولايات المتحدة الامريكية والدراسة التي اجريت في فرنسا من قبل Cohen وجماعته (1994) ، وكانت نتائج هذه الدراسات متشابهة وهي إن المسببات الرئيسية لالتهاب الأذن الوسطى الحاد هي *S. pneumoniae* و *M. catarrhalis* وفي جميع الفئات العمرية .

***Streptococcus pneumoniae* 1-2-1**

بكتريا موجبة لصبغة غرام تترتب على هيئة ازواج وعادة ما تكون محاطة بالمحفظة وتحلل الدم جزئياً (نوع α) ، حساسة للـ Optochin وتسبب هذه البكتريا أمراضا في مختلف الفئات العمرية (Mulholland , 2000) . وتعزل عادة من حنجرة الاشخاص الاصحاء وتسبب التهاب الجيوب الانفية والتهاب الاذن الوسطى الحاد حيث عزلت بنسبة 50% وتعد البكتريا الأكثر شيوعاً في الإصابات الحادة في الاعمار دون الخمس سنوات (Ludman, 1988) ووجد Gehanno وجماعته (1999) إن بكتريا *S. pneumoniae* هي المسبب الرئيس الأول لالتهاب الأذن الوسطى الحاد، وقد اشر في السنوات الأخيرة ازدياد انتشار مقاومة هذه البكتريا للمضادات الحيوية بصورة خاصة للبنسلين وكذلك أظهرت مقاومة عالية لكل من Erythromycin و Cotrimoxazole وخاصة عند الأطفال المصابين بالتهاب الأذن الوسطى الحاد وان العلاج غير الناجح قد يؤدي إلى تعقيدات مرضية مثل تجرثم الدم (Bacteraemia) والتهاب السحايا (Meningitis) (Cohen, 1994) .

***Haemophilus influenzae* 2-2-1**

وهي بكتريا عصوية كروية (Coccobacilli) سالبة لصبغة غرام غير متحركة يتطلب نموها عوامل نمو خاصة كعاملتي (V و X) . وتشكل بكتريا *H. influenzae* نسبة 10% من البكتريا الطبيعية المتواجدة في البلعوم ومعظم عزلاتها منتجة لإنزيمات البييتالاكتيميز (β -Lactamase). تسبب التهاب الجيوب الانفية والتهاب السحايا في الأطفال وتسبب التهاب الاذن الوسطى الحاد وتكون سائدة في الكبار والصغار (Brook, 1987) وقد أكد (Zakzouk and Mahgoub, 1980) إن بكتريا *H. influenzae* تكون الكائن المجهرى السائد في الفئة العمرية من 1 - 3 سنوات كما أشار (poole, 1998) بان هذه البكتريا لا تسبب فقط التهاب الاذن الوسطى الحاد وانما ايضا تسبب انصباب لسائل الاذن الوسطى القيحي المزمن .

تمتلك العديد من العوامل ذات العلاقة بالا مراضية أهمها امتلاكها الأهداب التي من خلالها تستوطن القناة التنفسية العليا حيث تلتصق بواسطتها خلية البكتريا على خلايا المضيف والتي تعتبر الخطوة الاولى في حدوث العدوى وكذلك قدرتها على انتاج العديد من الانزيمات مثل انزيمات البروتيز الخارجية. وتقسم إلى ثمانية أنماط (Biotypes) وتعتبر *H. influenzae* من النمط الأول هي الأكثر شيوعاً في إصابات الأذن الوسطى الحاد بعد *S. pneumoniae* . ولكن ميكانيكية الأ مراضية التي تستعملها هذه البكتريا في إحداث الإصابة غير معروفة بصورة أساسية (Bakaletz et al.,1988) .

***Moraxella catarrhalis* 3-2-1**

بكتريا سالبة لصبغة غرام كروية بيضوية الشكل تترتب على هيئة أزواج تعد هذه البكتريا من النبيت الطبيعي الموجود في القناة التنفسية العليا وتسبب التهاب الجيوب الانفية والتهاب الحنجرة ، وقد اشارت العديد من الدراسات إلى إن بكتريا *M. catarrhalis* تعد أحد المسببات الرئيسية لالتهاب الأذن الوسطى الحاد

حيث يكون تسلسلها الثالث من حيث مساهمتها في إصابات الأذن الوسطى الحاد بعد بكتريا *S. pneumoniae* و *H. influenzae* . (Haward, et al., 1976 ; Blumer,1998 ; Prellner et al., 1999) .

4-2-1 الأحياء المجهرية الأخرى المسببة لالتهاب الأذن الوسطى الحاد

تتشترك العديد من الأحياء المجهرية الأخرى في التهاب الأذن الوسطى الحاد مثل بكتريا *E.coli* و *Klebsiella spp.* حيث لوحظ بأنها تشكل 20% من حالات التهاب الأذن الوسطى الحاد عند الصغار . (Ostfeld) . (and Rubinstein , 1980) .

كما قد تشترك فيروسات القناة التنفسية العليا في حدوث حالات التهاب الأذن الوسطى الحاد وقد وجد Buchman وجماعته (1995) إن الفيروسات المسببة لالتهاب الأذن الوسطى الحاد هي نفس الفيروسات المسببة لإصابات القناة التنفسية العليا ، ولكن آلية الإصابة بهذه الفيروسات ما يزال غير معروف بشكل دقيق ومع ذلك فقد وجد بان الفيروسات Influenza و Rhino virus هي الأكثر شيوعاً إلا إن Halsted وجماعته (1968) لاحظوا بان فيروس Para influenza type 2 قد عزل بدرجة كبيرة من المرضى المصابين بالتهاب الأذن الوسطى الحاد .

1- 3 التهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن

Chronic suppurative otitis media

عزلت العديد من المسببات المرضية لالتهاب الأذن الوسطى المزمن مقارنة مع تلك التي تشترك في التهاب الأذن الوسطى الحاد وأهمها البكتريا الهوائية واللاهوائية المخيرة مثل (*P. aeruginosa* و *S. aureus* و *Proteus spp.*) و البكتريا اللاهوائية المجبرة مثل جنس *Bacteroides* .

1-3-1 البكتريا الهوائية واللاهوائية اختياريًا

1-3-1-1 بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

بكتريا عصوية سالبة لصبغة غرام هوائية منتجة للصبغات مثل البايوسيانين والفلوريسين لذلك تسبب اخضرار القيح و تمتلك البكتريا العديد من عوامل الضراوة قسم من هذه العوامل تفرز الى خارج جسمها والقسم الاخر تكون بشكل مستضدات جسمية مرتبطة بالخلية ومن هذه العوامل الذيفان A (Toxin A) والذي يعد من اكثر العوامل سمية والانزيمات المحللة للبروتين كالايلاستيز والبروتيز القاعدي يليهما الهيمولايسين والليكوسدين.

وتتملك بكتريا *P. aeruginosa* مقاومة للعديد من المضادات الحياتية وتصيب مناطق الجسم المختلفة ومنها الاذن الوسطى والخارجية حيث عزلت بدرجة كبيرة من حالات الاذن الوسطى الملتهبة ومن تجويف جيب النتوء الحلمي الملتهب وتعد الكائن الهوائي الأكثر شيوعاً من بين البكتريا الهوائية (Brook, 1981 ; Kenna, 1994 ; Advidano, et al., 1998).

قد يصاحب التهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن الناتج عن الإصابة ببكتريا *P. aeruginosa* تدفق السائل القيحي وفي هذه الحالة يتطلب المعالجة السريعة والتي غالباً ما تفشل المضادات الحياتية في المعالجة لمقاومة البكتريا لمعظمها وهذا ما يؤدي على الأغلب إلى حصول المضاعفات والتي منها غزو بكتريا او فطريات أخرى لمنطقة الإصابة نفسها (Berman , 1995).

2-1-3-1 *Staphylococcus aureus*

بكتريا موجبة لصبغة غرام غير متحركة غير مكونة للمحفظة وغير مكونة للسبورات تنتج العديد من عوامل الضراوة كانتاجها Exfolatin هو سم معقد يسبب تلف البشرة وكذلك تنتج Enterotoxin وكما تنتج سموم حالة للفايبرين وسموم متلفة للخلايا البيضاء وان انتاج انزيم التخثر (Coagulase) وانتاج السموم الحالة للدم الهيمولايسين كلها تعد من عوامل الضراوة التي تمتلكها هذه البكتريا والتي لها علاقة كبيرة في امراضيتها (Cunningham et al.,1996).

إن هذه البكتيريا سائدة في إصابات الأنف والأذن والحنجرة حيث تسبب التهاب الاذن الخارجية والوسطى والتهاب الجيوب الانفية وكذلك في التهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن . كما عزلت من الاذن الخارجية وان وجودها في هذه المنطقة ممكن ان يعتبر مصدراً رئيسياً لإحداث الإصابة (Scott Brown's 1997) كما تتميز بكتريا *S. aureus* بمقاومتها العالية لمضادات البيتاالاكتام وذلك لقدرتها على إنتاج انزيمات البيتاالاكتيميز (Brook, 1981) .

***Proteus spp.* 3-1-3-1**

بكتريا عصوية سالبة لصبغة غرام شديدة الحركة والانتشار غير مكونة للمحفظة تضم أربعة أنواع أهمها النوع *P. mirabilis* ، تسبب العديد من الإصابات وتأتي بالمرتبة الثانية بعد بكتريا *E. coli* في إصابة الجهاز البولي وكذلك اصابات الجروح والسحايا وانتان الدم والتهاب الاذن الوسطى حيث تعد هذه البكتيريا من المسببات الرئيسية لالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن وقد اشار Sweeny وجماعته (1982) إلى إن بكتريا *Proteus spp.* هي الكائن المجهري الشائع في اصابة الاذن الوسطى المزمن كما اشار الى ذلك Ahmad وجماعته (1995) في كونها الكائن المجهري الشائع وكذلك دور هذه البكتريا في المضاعفات المرافقة لالتهاب الأذن الوسطى ومنها احداث التهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن .

4-1-3-1 مجموعة العائلة المعوية Enterobacteriaceae

أما أفراد العائلة المعوية الأخرى المشتركة في إصابات الأذن الوسطى المزمن مثل بكتريا *Klebsiella spp.* و *E. coli* و *Enterobacter spp.* فهي بكتريا سالبة لصبغة غرام هوائية او لاهوائية مخيرة ، تسبب احياناً التهاب الجيوب الانفية والتهاب الاذن الوسطى. وفي دراسة اجريت في الهند من قبل Rama Rao (1979 , and Jayakar) لاحظوا إن هذه الميكروبات من الممكن أن تصبح ممرضات انتهازية للأذن الوسطى عند انخفاض مقاومة جسم المضيف .

5-1-3-1 البكتريا الأخرى المسببة لالتهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن

هناك العديد من البكتريا قد تسبب التهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن مثل بكتريا *S. epidermidis* و *M. catarrhalis* و *Diphtheroidis spp.* وتعد هذه الانواع من الأحياء المجهرية غير الممرضة ولا تعتبر من الملوثات لقناة السمع الخارجية وانما تعتبر ميكروبات انتهازية تصبح ممرضة عند انخفاض مقاومة الجسم وتعزل بأعداد قليلة من الاذن الوسطى الملتهبة كما لوحظ إن بكتريا *S. pyogenes* لها دور ضئيل في إصابات الأذن الوسطى المزمن إلا أنها قد تشترك بنسبة أعلى في حالات التهاب الاذن الوسطى الحاد (Kaplan, 1980).

2-3-1 البكتريا اللاهوائية Anaerobic bacteria

تلعب البكتريا اللاهوائية دوراً مهماً في التهاب الاذن الوسطى ويعد (Rist 1898) أول من أشار إلى دور البكتريا اللاهوائية في اصابة الاذن الوسطى وجيب النتوء الحلمي (Mastoid) وكذلك وجد (Brisotto, 1923) إن البكتريا اللاهوائية مسببة لعشر حالات من 25 حالة اصابة مدروسة للأذن الوسطى الملتهبة حيث عزل كل من البكتريا الحلزونية والعصوية والبكتريا اللاهوائية وفي الدراسة التي قام بها Sweeney وجماعته (1982) لاحظوا ان نسبة البكتريا اللاهوائية كانت 44% من مجموع الإصابات وتعد بكتريا *Bacteroides* هي الأكثر شيوعاً من بين تلك البكتريا ، كما أشار Ashoor وجماعته (1988) إلى إن جميع البكتريا اللاهوائية المعزولة من حالات الاذن الوسطى هي بكتريا *Bacteroides* . وقد أشار إلى نفس الملاحظة Ahmad وجماعته (1995) الى ان بكتريا *Bacteroides* هي الأكثر شيوعاً والذي قد يعود ذلك إلى إن ايض الأنواع اللاهوائية المخيرة في الاصابات المختلفة يستهلك الاوكسجين الموقعي مما يوفر مناخ مناسب لنمو البكتريا اللاهوائية (Onderdok et al. , 1976) .

1-4 انصباب الاذن الوسطى Otitis media with effusion

هو تجمع السوائل كالإفرازات في الأذن الوسطى وتظهر عادة عند الأطفال كمادة غروية (Glue) وكمادة مصلية (Serous) عند الكبار وان استمرار هذا التجمع يؤدي إلى فقدان السمع وفقدان مرونة غشاء طبلة الأذن (Raman, 1988) .

أشارت معظم الدراسات المايكروبيولوجية إلى إن القيح المسحوب من انصباب الاذن الوسطى يكون عقيماً وان أي نمو بكتيري هو نتيجة التلوث البكتيري من الاذن الخارجية في حين وجد (Bluestone, 1998) انه بالإمكان عزل بعض الانواع البكتيرية من المرضى المصابين بانصباب الأذن الوسطى ، اما Liu وجماعته (1976) فقد وجدوا ان البكتريا في القيح تشكل نسبة عالية جداً في الفحص المباشر للمسحات المصبوغة بينما كانت نسبتها في الزرع الموجب هي 52% وقد يعود السبب إلى وجود بعض العوامل المضادة للبكتريا مثل IgA الافرازي واللايسوزايم (lysozym) والمضادات الترسيبية وقد لوحظ زيادة في تركيزها في حالات الزرع السالب (عدم وجود نمو بكتيري) أعلى مما في حالات الزرع الموجب (أي وجود نمو بكتيري) .

وكذلك (Kurono and Mogi, 1988) وجدوا ان IgA هو الامينوكلوبيولين السائد في الإفرازات الخارجية ويلعب دوراً مهماً في حماية المضيف من العدوى .

أما أهم الأنواع البكتيرية المعزولة فهي *S. pneumoniae* و

S. aureus و *H. influenzae* و *Diphtheroidis spp.*

وجد Pelton وجماعته (1980) إن البكتريا المسببة لانصباب الاذن الوسطى هي *S. pneumoniae* وعزلات *H. influenzae* Nontypable و Group A streptococci وان عزل أي كائن منها من انصباب الاذن الوسطى يعتبر تشخيصاً لالتهاب الأذن الوسطى. وقد وجد Rayner, وجماعته (1998) إن مسببات انصباب الاذن الوسطى هي نفسها مسببات التهاب الأذن الوسطى الحاد هي *H. influenzae* و *S. pneumoniae* و *M. catarrhalis* .

كما أوضحت بعض الدراسات ان 50% من بكتريا *S. epidermidis* المرافقة تعتبر ممرضة وتختلف عن تلك الموجودة في قناة السمع الخارجية (Riding)

S. *epidermidis* المعزولة من حالات انصباب الاذن الوسطى تأتي من منطقة الانف البلعومية وكما هو الحال في بقية الممرضات عند انخفاض المقاومة. أما (Healy and Teele , 1977) في دراسة الأحياء المجهرية المسببة لانصباب الأذن الوسطى المزمّن وجدوا إن البكتريا المعزولة هي ليست تلوثاً من قناة السمع الخارجية . ولكن Sipila وجماعته (1981) أشاروا إلى إن وجود بكتريا S. *epidermidis* في انصباب الأذن الوسطى تلوث من قناة السمع الخارجية .

5-1 فطريات الأذن

تعد الفطريات من الكائنات حقيقية النواة تتميز بوجود جدار خلوي صلب من الكاربوهيدرات مثل السليلوز والكايتين ، تتكاثر جنسياً بواسطة السبورات او لاجنسياً بواسطة الكونيديات او التبرعم . وتضم الفطريات الخمائر وهي خلايا وحيدة النواة وكذلك تضم الاعفان المكونة من كتل الخيوط المتعددة الخلايا ولكن بعض انواع الفطريات توجد بشكلين هما الخميري والخيطي اعتماداً على الوسط الزراعي الملائم وكذلك درجة الحرارة المناسبة يعد القليل من الفطريات ممرض ، ومعظمها تكتسب من البيئة او الحيوانات . (Lawrence et al., 1978).
تنتشر الفطريات في جميع البيئات ولكن يزداد انتشارها ونشاطها في المناخ الحار والرطب والمغبر للمناطق الاستوائية وشبه الاستوائية (Paulose et al., 1989) .
ازدادت اهمية الفطريات عندما ازداد معدل الاصابات التي تسببها وخصوصاً في مرضى الضعف المناعي فقد وجد بعض الباحثين إن ازدياد معدل اصابة الاذن بالفطريات يكون نتيجة الضعف في مقاومة الجسم أو انعدام التوازن الميكروبي أو نتيجة استخدام المضادات الحيوية والمثبطات المناعية (Corticosteroids) الجهازية والموضعية او استخدام المواد المضادة للسرطان وغيرها من المثبطات المناعية لذلك فان الفطريات المختلفة الموجودة في الاذن الخارجية ممكن ان تصبح انتهازية وتسبب إصابة الأذن (Maher et al.,1982 ; Kikuchi et al.,1994 ; Ibekwe et al

1997). وتعد خميرة *C. albicans* وعفن *Aspergillus spp.* هما الفطريات الأكثر شيوعاً في إصابات الأذن .

إن خميرة *C. albicans* عبارة عن خلايا كروية او بيضوية تتكاثر عن طريق التبرعم وتكون متعايشة في الغشاء المخاطي للقناة الهضمية للإنسان والحيوان . وتعتبر خميرة *C. albicans* المعزولة من معظم الإصابات هي العامل المسبب الرئيس وتحدث ما يسمى بمرض المبيضات (Candidiasis) عند مرضى الضعف المناعي كمرضى الإيدز وتعتبر أحد الممرضات الشائعة عند النساء والأطفال وتشارك في إصابات الجلد وانتان الدم والتهاب الأذن الوسطى والتهاب المجاري البولية والإسهال الدموي وغيرها من الأمراض. (McDonald and Saulsbury, 1997).

أما عفن *Aspergillus* فهو من الاعفان التي تحتوي على جدران مستعرضة ويكون خيوط فطرية متفرعة ويتكاثر بواسطة الكونيديات ومن الممكن تميز الانواع عن بعضها البعض بواسطة مظهر المستعمرات وتركيب الاعضاء التكاثرية ويضم العديد من الانواع الممرضة، واهمها *A. fumigatus* الذي يسبب التهاب الانف واصابات الانسجة .

أما الأنواع *A. niger*, *A. terreus*, و *A. nidulans* فأنها تسبب بعض الامراض الجهازية في مرضى الضعف المناعي (Scott-Browin's, 1997).

1-5-1 الفطريات المشاركة في إصابات الأذن الوسطى

تساهم الفطريات بدور مهم في التهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن وقد امكن عزل فطريات ممرضة من الاذن الوسطى الملتهبة في المناطق الحارة والرطوبة في العالم (Ibekwe et al., 1997). وقد اصبحت الفطريات مشكلة حقيقية في دراسة العلم الخاص بالأنف والأذن والحنجرة (Otolaryngology)، وقد أشار Ibekwe وجماعته (1997) إلى إن وجود ألآم في الأذن والحكة (Itching) ووجود الخيوط الفطرية تعتبر مؤشراً قوياً على وجود الإصابة الفطرية . اما Paulose وجماعته (1989) فقد وجدوا ان الفطريات لا تصيب الأذن الخارجية فقط وانما

تسبب التهاب الاذن الوسطى وجيب النتوء الحلمي لذلك يجب ان يشمل مصطلح Otomycosis إصابة الاذن الوسطى وجيب النتوء الحلمي بالفطريات وليس فطريات الاذن الخارجية فقط .

1-5-2 الفطريات المشاركة في اصابات الاذن الخارجية

يستعمل مصطلح Mycotic otitis externa او Otomycosis ليصف الالتهاب الحاد او المزمن للاذن الخارجية المتسبب بواسطة الاعفان والخمائر ، واول تقرير حول فطريات الاذن الخارجية قدم من قبل (Meyer, 1844) وأكد على إعطاء أهمية كبيرة للإصابات الفطرية للأذن ، وقد أكد (Gill, 1932) على ان الإصابة الفطرية للأذن سائدة بدرجة كبيرة ويجب ان تفحص بعناية ولكن هناك جدل حول كون الفطريات مسببات اولية في إصابة الاذن الخارجية أم هي مسببات ثانوية تشترك بعد حدوث الإصابة بالبكتريا .

وقد اعتقد (Jones , 1965) ان المرضى الذين يعانون من الإصابة المتكررة للاذن الخارجية هم في الاساس مصابون بأحد الفطريات اضافة الى وجود إصابة بكتيرية حادة ، وهذا اصبح واضحاً بعد معالجة الإصابة البكتيرية حيث يبقى المرضى يعانون من الإصابة بسبب وجود الفطريات التي تسبب الانتكاس (Relapses) .
وقد أكد (Mugliuston and Donoghue, 1985) ان فطر *Aspergillus spp.* وخميرة *Candida spp.* هي الممرضات الاكثر شيوعاً وقد اشار الى نفس الملاحظة Yehia وجماعته (1990) حيث وجدوا ان عفن *Aspergillus spp.* وخميرة *Candida spp.* هي الفطريات المرضية الشائعة في إصابة الاذن الخارجية .

1-6 طرق انتقال العدوى

تنتقل العدوى الى الاذن الوسطى عن طريق قناة اوستاكي وكذلك عن طريق الاذن الخارجية حيث تدخل المسببات المرضية الى الاذن الوسطى عند حدوث ثقب في غشاء طبلة الاذن وقد يحدث انتقال العدوى عن طريق انتنان الدم .

7-1 الأمراض Pathogenesis

يحدث التهاب الأذن الوسطى عادة في فصل الشتاء وبداية الربيع في المنطقة المعتدلة من العالم ويحدث كذلك عند حدوث إصابة القصبة التنفسية العليا بالفيروسات الذي يؤدي الى انسداد قناة اوستاكي وبالتالي تجمع السوائل داخل الاذن (Stool et al., 1998) . ان استمرار خروج القيح من الاذن الوسطى خلال الثقب الموجود في غشاء طبلة الأذن لمدة أسبوعين أو ثلاثة أسابيع فاكتر يرجع إلى حالات التهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن والذي يبدء عادة بالتهاب الاذن الوسطى الحاد او انصباب الاذن الوسطى وان اسباب الالتهاب الحاد عديدة اهمها الاصابة البكتيرية او الفيروسية (Bluestone, 1998) . وعند وجود ثقب مزمن في غشاء طبلة الأذن فان تكرار الإصابة يحدث بدخول الممرضات إلى الأذن الوسطى من منطقة الأنف البلعومي (Nasopharynx) . أو إن التهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن يحدث بدخول الممرضات مثل *P. aeruginosa* الموجودة في الماء عن طريق الثقب الموجود في غشاء طبلة الأذن خلال السباحة والاستحمام , Maran, (1988) .

8-1 العوامل المهيأة للإصابة بالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن

Predisposing factors

1-8-1 العمر والجنس Sex and age

يمثل العمر عاملاً مهماً في حدوث الإصابة بالتهاب الاذن الوسطى حيث وجد (Griffith, 1979) إن أمراض الأذن الوسطى تكون على العموم في الصغار (Infants) اكثر من الاطفال الاكبر سناً . اما Datta وجماعته (1995) فقد وجدوا إن 29.6% من إصابات الأذن الوسطى تحدث في الاعمار من 6 – 10 سنوات في حين يكون انتشاره اقل في الفئات العمرية الاكبر سناً . أما Liu وجماعته (1975) فوجدوا ان التهاب الاذن الوسطى ينتشر في الفئات العمرية الاقل من خمس سنوات اكثر من الفئات العمرية الاخرى . ويفسر بعض الباحثين ان تكرار المرض عند

الاطفال يعود لكون انبوب اوستاكي قصيراً جداً وعريضاً ومستقيماً مما يجعل منه مسلكاً سهلاً للبكتريا الموجودة في تجويف الأنف البلعومي لتصل الى الاذن الوسطى (Bluestone, 1983 ; Kalboush and Morgan, 1994) .

في حين Safwat وجماعته (1992) اشروا ان ظهور الأسنان قد يكون سبباً لحدوث وتكرار الاصابة وذلك لان ظهور الأسنان يجعل الطفل اقل مقاومة للجراثيم . أما بالنسبة لعلاقة الجنس بالاصابة بالتهاب الاذن الوسطى فأن العديد من الباحثين لم يجدوا أي فرق معنوي في الاصابة بين الذكور والإناث (Papastavrose et al ., 1986 ; Shimotakahara et al., 1989) .

2-8-1 العوامل البيئية Environmental factor

توجد علاقة مشتركة تربط بين المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن وبين المستوى الاجتماعي والاقتصادي (Socioeconomic) حيث وجد ان الأشخاص ذوي المستوى المتدني يملكون استعداداً عالياً للاصابة بالتهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن ، وقد عزي (Hinchcliffe, 1977) ذلك إلى الصحة العامة وطبيعة التغذية والازدحام داخل المنزل. وقد أكد (Okafor, 1984) ان معظم المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن يكونون من ذوي المستوى الاجتماعي المتدني وان القليل منهم من ذوي المستويات الاجتماعية العليا .

3-8-1 إصابة القناة التنفسية العليا

Upper respiratory tract infection

لم تدرس علاقة اصابة القناة التنفسية العليا بصورة وافية ، ولكن لوحظ ان القيح يظهر في الكثير من المرضى بعد اصابة القناة التنفسية العليا ويعزى السبب إلى ان الإصابة الفيروسية تؤثر على الطبقة المخاطية للاذن الوسطى جاعلاً الاذن الوسطى اقل مقاومة للميكروبات الموجودة بصورة طبيعية فيها مما يسمح بنمو غزير للبكتريا ، وكذلك وجد ان المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى المزمن

يتملكون على الاغلب مرضاً مزمناً للقناة التنفسية كالتهاب الجيوب الأنفية مثلاً . ولكن الاحتمال المقبول هو انه إذا أصيبت منطقة واحدة من القناة التنفسية فإنه من المحتمل إصابة بقية المناطق التابعة للقناة التنفسية (Scott Brown's, 1997) .

4-8-1 العوامل الوراثية Genetic factor

لم يزل دور العوامل الوراثية في إحداث إصابات الأذن الوسطى غير واضح ولكن ممكن إن تلعب الأعراق دوراً في معرفة أي السلالات هو اكثر عرضة للإصابة من السلالات الأخرى فعلى سبيل المثال لوحظ احتمالية إصابة الأمريكان البيض بالتهاب الأذن الوسطى الفيحي المزمن اكثر من احتمالية إصابة الامريكان السود (Harell *et al.* , 1982) هذا ربما يكون نتيجة للإساليب الطبية المستعملة في العلاج والمستخدمه من قبل هولاء الامريكان . ان اهمية العوامل الوراثية كانت موضوعاً للجدل منذ بداية القرن بصورة خاصة اذا كانت شدة الإصابة مرتبطة بحجم خلايا جيب التنوء الحلمي و التي تعتبر محدودة من الناحية الوراثية (Diamant, 1982) .

5-8-1 الحساسية وامراض المناعة الذاتية

Allergy and autoimmunity

أوضحت معظم الدراسات ان الاشخاص المصابين بالحساسية يكونون اكثر عرضة للإصابة بالتهاب الاذن الوسطى من الاشخاص غير المصابين بالحساسية (Chan *et al.*, 1967)

أما أمراض المناعة الذاتية فقد وجد ان الاشخاص المصابين بهذه الامراض تكون قابليتهم للإصابة بالتهاب الأذن الوسطى عالية كما في الدراسة التي اجريت حول مرض التهاب المفاصل المزمن (Scott Brown's, 1997) .

6-8-1 خلل وظيفة قناة اوستاكي Eustachian tube malfunction

يحصل انسداد لقناة اوستاكي نتيجة لتكون الخبز (Odema) في معظم حالات التهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن ، ولكن لم يزل هناك عدم وضوح إذا كانت ظاهرة انسداد قناة اوستاكي هي ظاهرة أولية أو ثانوية ، ولكن معظم الدراسات أشارت إن هناك درجات مختلفة من حدوث انسداد قناة اوستاكي أو Patulous eustachian tube و كلاهما يعتمد على اتجاه الجريان أو زيادة وانخفاض الضغط (Bluestone, 1972) وفي دراسة تجريبية أجريت من قبل Antonelli وجماعته (1994) حول علاقة قناة اوستاكي باصابة الاذن الوسطى عندما حقنوا مجموعة من القروود ببكتريا Pseudomonas عن طريق الأنف وقد وجدوا إصابة الأذن الوسطى بواسطة هذه البكتريا . وهذا يدل على حدوث الإصابة عن طريق قناة اوستاكي كما وإنها مسؤولة عن نقل العدوى .

وقد أوضح (Tarlow, 1998) إن القناة عندما تكون غير طبيعية يعتبر مؤشر واضح في قدرتها على نقل العدوى إلى الأذن الوسطى كما وجد Warrent and (Stool, 1971) إن انتقال العدوى إلى الأذن الوسطى في الاطفال يحدث عن طريق قناة اوستاكي.

9-1 علاج إصابة الأذن الوسطى

تستخدم المضادات الحيوية في علاج مختلف الاصابات البكتيرية ولكن ازدياد مقاومة البكتريا للمضادات اصبحت تشكل صعوبة بالغة في علاج الاصابات المختلفة (Sohn, 1998).

يعتمد علاج التهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن على معالجة اصابة القناة التنفسية العليا كازالة اللوزتين والزوائد اللحمية خلف الانف (Adenoid) أو علاج الجيوب . ويعتمد كذلك على العلاج الموضعي الذي يشمل تنظيف الأذن بواسطة سحب القيح من الاذن ومن ثم استعمال المضادات الحيوية كما ان اختيار المضاد الحيوي المناسب يعتمد على الزرع البكتيرولوجي . ان من اهم المضادات الحيوية المستخدمة عادة في علاج التهاب الاذن الوسطى القيحي هو Gentamycin

و Neomycin و Framycetin وعادة يقترن استعمال هذه المضادات مع الادوية القشرية (Hydrocortisone) للتخلص من حالات تفاعلات حساسية الجلد المحتملة (Maran, 1988) .

وقد أشار (Brook, 1987) إلى إن علاج التهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن بالمضادات الحيوية فقط يعد غير ناجح وقد استخدم (Brook, 1980) المضادات الحيوية Carbenicillin , Clindamycin عن طريق العضلة او الوريد في علاج الالتهاب القيحي المزمن ويقرن هذا العلاج مع Gentamycin الذي يكون فعالاً في علاج العصابات الهوائية حيث نجح هذا العلاج في ازالة الاصابة من اكثر من 50% من المرضى قيد الدراسة في حين Kenna وجماعته (1986) قاموا باستخدام المضادات الحيوية في معالجة التهاب الاذن الوسطى القيحي مع التنظيف اليومي للاذن للتخلص من البكتريا الهوائية المسببة للاصابة .

اما الدراسة التي اجراها (Brook and Bethesda, 1981) حول الأسبقية في العلاج عندما تكون الاذن الوسطى مصابة بالبكتريا الهوائية واللاهوائية فقد لاحظوا إن إزالة الإصابات بالمضادات الحيوية يجب ان يستهدف العلاج أولاً البكتريا اللاهوائية لغرض التخلص منها بشكل نهائي . أكد (Gorbach and Thadppali , 1974) إلى إن المضاد الحيوي Clindamycin عامل مؤثر جداً في علاج الاصابات الناتجة عن البكتريا اللاهوائية وقد أشار Chow وجماعته إلى نفس الملاحظة في حين Bartlet (and Gorbach, 1975) وجد إن هذا المضاد فعال جداً في علاج الاصابات الناتجة عن بكتريا Staphylococcus فقط .

وفي دراسة حول انتشار البكتريا المنتجة لأنزيم البييتالاكيتيميز المسببة لالتهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن وجد إن بكتريا *S. aureus* وبكتريا *B. fragillus* تكون مقاومة للبنسلين من خلال قدرتها على إنتاج أنزيم البييتالاكيتيميز (Brook, 1985) . وقد وجدوا Ikhe وجماعته (1993) في دراسة تم إجراءها في نيجريا إن البكتريا المعزولة ذات حساسية عالية للمضادات الحيوية Cefurorim و Ofloracillin و Gentamycin لكون هذه المضادات جديدة وغالية الثمن بينما المضادات الشائعة الاستعمال والرخيصة مثل Colistin و

Ampecillin و Erythromycin و Chloromphenicol و Ctrimoxozole فتكون ذات فعالية قليلة في فحص الحساسية في الزجاج وهذا ربما يعود للاستعمال العشوائي والسيئ لهذه المضادات من قبل معظم الناس وكذلك عدم معرفة نوع البكتريا المسببة للإصابة

أما علاج فطريات الاذن الخارجية فيتضمن اولاً تنظيف الاذن الخارجية بواسطة سحب السوائل ومن ثم استعمال المضاد للفطريات Nystatin و clotrimazole او Amphotrecin B كذلك يمكن استعمال حامض السالسليك المحضر في الكحول بنسبة 2% بصورة منتظمة لمدة ثلاثة أو أربعة أسابيع في إزالة الإصابة من الأذن (Maran , 1988) .

Chapter two الفصل الثاني

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1.2 المواد Materials

1.1.2 العينات Samples

شملت الدراسة الحالية المرضى المراجعين الى العيادة الاستشارية للأنف والأذن والحنجرة (ENT) في المستشفى الحسيني في محافظة كربلاء للفترة من كانون الاول 1999 ولغاية تشرين الثاني 2000 .

كان مجموع المرضى الذين شملتهم الدراسة والمشخصين من قبل الأطباء الأخصائيين 358 مريضاً ، 270 مريضاً منهم يعانون من التهاب الأذن الوسطى القيحي و 88 مريضاً يعانون من الاصابات الفطرية للاذن الخارجية Otomycosis تتراوح اعمارهم ما بين 5 شهر الى 80 عاماً ، تم استحصال المعلومات التالية من المرضى انفسهم او من ذويهم ، العمر و الجنس وفترة الإصابة و نوع المرض المزمن ان وجد ، وجود الحمل بالنسبة للنساء المتزوجات وعدم تناول أي مضاد حيوي خلال فترة اسبوعين قبل اخذ النموذج ، كما تم اخذ 50 مسحة من الأشخاص الأصحاء كمجموعة سيطرة .

2.1.2 الأوساط الزرعية Culture media

حضرت الأوساط الزرعية وفق تعليمات الشركة المجهزة والمصادر العلمية وعقمت بالموصدة بدرجة حرارة 121م وضغط 15 باوند / انج لمدة 15 دقيقة . أما محاليل السكريات والمواد التي تتلف بالحرارة فقد تم تعقيمها بواسطة ورق ترشيح من نوع Whatman ذو ثقوب بقطر 0.45 مايكروميتر وهذه الأوساط هي:-

1.2.1.2 وسط نقيع القلب والدماغ السائل

(OXOID) Brain – heart infusion broth

استخدم الوسط لتنمية وتنشيط وتهيئة البكتريا لإجراء التجارب وكذلك لتنشيط الفطريات .

2.2.1.2 وسط غراء الدم Blood agar medium

حضر الوسط بإضافة 5% من دم الانسان الى الوسط الاساس (OXOID) Blood agar base المعقم بالموصدة والمبرد الى 50م . استخدم الوسط لعزل البكتريا وللتحري عن قابليتها على تحلل الدم ولمعرفة نوع التحليل (Deboy II et al ., 1980) .

3.2.1.2 وسط غراء ماكونكي (OXOID) MacConkey agar

استخدم الوسط لعزل البكتريا السالبة لصبغة غرام وللكشف عن قابلية البكتريا على تخمير سكر اللاكتوز .

4.2.1.2 وسط غراء سابرويد Sabouraud agar

حضر الوسط من 20 غرام كلوكوز و 10 غرام بيتون و 15 غرام أغار و 1000ملييلتر من الماء المقطر ، ذوبت المكونات بواسطة الحمام المائي،ضبط الاس الهيدروجيني الى 5.4 وعقم الوسط بالموصدة وصب في أطباق معقمة استخدم الوسط لعزل وتشخيص الفطريات .

5.2.1.2 وسط غراء السابرويد بالمضادات الحيوية البنسلين والستربتومايسين

حضر الوسط من نفس مكونات الوسط السابق والمعقم بالموصدة والمبرد إلى 50م مع إضافة المضادات الحيوية التالية :2ملييلتر من البنسلين (Pencillin) بتركيز (20unit/ml) و 4ملييلتر من الستربتومايسين (Streptomycin) بتركيز (40µg /ml) يجانس الوسط بصورة جيدة ويصب في أطباق معقمة استخدم الوسط لعزل وتشخيص الفطريات (Collee et al .,1996).

6.2.1.2 وسط غراء الجوكليت Chocolate agar

حضر الوسط بإضافة 5% من دم الإنسان إلى الوسط الأساس (OXOID) Blood agar base المعقم بالموصدة والمبرد إلى درجة حرارة 75م° ويترك في الحمام المائي مع الرج بلطف لمدة عشر دقائق لتكسير كريات الدم الحمراء وتحول لون الوسط إلى اللون البني ، استخدم الوسط لتنشيط نمو وعزل البكتريا التي تحتاج إلى عوامل نمو خاصة (Collee *et al.*, 1996) .

7.2.1.2 وسط غراء مولر هنتون (OXOID) Mueller hinton agar

استخدم الوسط لإجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية .

8.2.1.2 الوسط المغذي الصلب (OXOID) Nutrient agar

استخدم الوسط لغرض العزل الأولى ودراسة الخواص الزرعية والمظهرية للبكتريا المعزولة .

9.2.1.2 وسط غراء الايوسين المثلين الأزرق

(MAST)Eosin methylene blue

استخدم الوسط لتفريق بكتريا *E. coli* عن البكتريا المعوية الأخرى .

10.2.1.2 وسط غراء سيمون ستريت (Biolife)Simmons citrate agar

استخدم الوسط للكشف عن قابلية البكتريا على استهلاك السترات كمصدر وحيد للكربون.

11.2.1.2 وسط المالونيت (OXOID) Malonat broth

استخدم الوسط للكشف عن قابلية البكتريا على استهلاك المالونيت كمصدر وحيد للكربون.

12.2.1.2 وسط غراء المانيتول الملحي (Biolife) Manneitol salt agar

استخدم الوسط لعزل وتشخيص المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* المخمرة لسكر المانيتول .

13.2.1.2 وسط غراء كلكر (OXOID) Kligler's iron agar

استخدم الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S وكذلك قابلية البكتريا على تخمير سكريات الكلوكوز واللاكتوز .

14.2.1.2 وسط غراء اليوريا Urea agar

حضر الوسط بإضافة 10 مليلتر من محلول اليوريا (OXOID) المحضر بتركيز 40% والمعقم بالترشيح الى 100 مليلتر من الوسط الاساس Urea agar base (OXOID) المعقم بالموصدة والمبرد الى 50 م° وبعد مجانسة الوسط وزع في انابيب اختيار نظيفة ومعقمة وترك ليتصلب بشكل مائل ، استخدم الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على انتاج انزيم اليوريز Urease .

15.2.1.2 وسط ماء البيتون Peptone water

حضر الوسط من 20 غرام بيتون و5 غرام NaCl و 1000 مليلتر ماء مقطر ذوبت المكونات بواسطة الحمام المائي ووزع في انابيب اختبار نظيفة وعقم بالموصدة . استخدم الوسط للتحري عن قدرة البكتريا على إنتاج حلقة ألاندول (Collee et al.,1996) .

16.2.1.2 وسط الفنيل الانين Phenylalanine medium

حضر الوسط وفق ما جاء في (Collee et al.,1996) بإذابة 3 غرام من مستخلص الخميرة و2 غرام من الفنيل الأنين (D – phenyl alanine) و1 غرام

فوسفات ثنائي الصوديوم الهيدروجينية Na_2HPO_4 و 5 غرام كلوريد الصوديوم و 12 غرام من الأغار في 1000 مليلتر من الماء المقطر ثم عدل الأس الهيدروجيني إلى 7.4 و وزع الوسط في أنابيب اختبار نظيفة و عقم بالموصدة وترك ليتصلب بشكل مائل (Collee et al.,1996).

استخدم الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على إفراز إنزيم Phenyl-alanine deaminase وتكوين Phenyl pyruvic acid من Phenyl-alanine .

17.2.1.2 وسط غراء الجيلاتين Gelatine agar

حضر الوسط بإذابة 4.4 غرام من الجيلاتين (OXOID) في 1000 مليلتر من الوسط المغذي الصلب Mast) Nutrient agar) و عقم بالموصدة ثم صب في أطباق معقمة (Collee et al.,1996) . استخدم الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على تحليل الجيلاتين.

18.2.1.2 وسط التخمر والأكسدة Oxidation and fermentation medium

حضر الوسط بإذابة 2 غرام بيتون و 5 غرام كلورد الصوديوم NaCl و 0.3 غرام فوسفات ثنائي البوتاسيوم الهيدروجينية K_2HPO_4 و 0.08 غرام من صبغة Bromothymol blue و 3 غرام من الاغار في 1000 مليلتر من الماء المقطر وبعد مزج المواد جيداً عدل الاس الهيدروجيني إلى 7.1 و عقم بالموصدة وترك ليبرد ثم أضيف 10 مليلتر من محلول سكر الكلوكوز المحضر بتركيز 10% والمعقم بالترشيح بعدها وزع الوسط في انابيب اختبار نظيفة ومعقمة وترك لكي يتصلب (Macfaddin, 1979) . استخدم الوسط للدلالة على استهلاك سكر الكلوكوز هوائياً أو لا هوائياً .

19.2.1.2 وسط نزع مجموعة الكربوكسيل من الأحماض الأمينية

حضر الوسط بإذابة 5 غرام بيتون و 3 غرام مستخلص الخميرة)
 (Yeast extract) و 1 غرام من الكلوكوز في 1000 مليلتر من الماء المقطر عدل
 الأس الهيدروجيني 6.7 ثم أضيف 10 مليلتر من دليل Bromothymol blue
 المحضر بتركيز 0.2% خلطت المواد جيداً عقم الوسط بالموصدة ثم اضيفت
 محاليل الاحماض الأمينية اللايسين والارجنين والمحضرة بتركيز 0.5% والمعقمة
 بالترشيح ، وزع الوسط في أنابيب اختبار نظيفة ومعقمة (Collee et al.,1996)

استخدم الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على إزالة مجموعة الكربوكسيل
 من الاحماض الأمينية .

20.2.1.2 وسط احمر المثيل والفوكس بروسكور M.R.V.P Medium

حضر الوسط بإذابة 5 غرام بيتون و 5 غرام K_2HPO_4 في 1000 مليلتر ماء
 مقطر ذوبت المكونات بواسطة الحمام المائي جيداً وعدل الاس الهيدروجيني إلى 7.6
 وعقمت بالموصدة، برد الوسط إلى 50°م ثم أضيف إليه 50 مليلتر من محلول 10%
 كلوكوز والذي عقم بالترشيح ووزع الوسط في انابيب اختبار نظيفة ومعقمة
 (Macfaddin,1979). استخدم الوسط للكشف عن التحليل الكامل أو الجزئي
 للسكريات الحامض أو الاستيل مثيل كاربون .

21.2.1.2 وسط المانيتول للحركة Mannitol motility medium

حضر الوسط بإذابة 3 غرام من خلاصة اللحم (Meat extract) و 10 غرام
 من البيتون (Difco) و 5 غرام من المانيتول (Mannitol) و 0.3 غرام من الاغار و
 0.018 غرام من دليل احمر الفينول في 1000 مليلتر من الماء المقطر ذوبت
 المكونات في الحمام المائي بصورة جيدة ، وعدل الاس الهيدروجيني إلى 7.0 وزع
 في انابيب اختبار نظيفة وعقم بالموصدة (Finegold and Martin, 1982) .
 استخدم الوسط لغرض تحديد قابلية البكتريا على الحركة .

22.2.1.2 وسط اختزال النترات Nitrate reduction medium

حضر الوسط بإذابة 0.2 غرام من نترات البوتاسيوم KNO_3 و 5 غرام بيتون في 1000 مليلتر من الماء المقطر – ذوبت المكونات بواسطة الحمام المائي ووزعت في انابيب اختبار نظيفة وعقمت بالموصدة (Collee et al., 1996).
استخدم الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على اختزال النترات إلى نترت .

23.2.1.2 وسط تخمر السكريات

Carbohydrate fermentation medium

حضر هذا الوسط وفق ما جاء في (Macfaddin,1979) من

A – الوسط الاساس Basal medium

حضرت قاعدة الوسط بإذابة 10 غرام بيتون و 1 غرام خلاصة اللحم و 5 غرام كلوريد الصوديوم (NaCl) و 0.018 غرام كاشف احمر الفينول في 1000 مليلتر من الماء المقطر ثم عدل الأس الهيدروجيني إلى 7.4 ووزع الوسط في أنابيب زجاجية نظيفة ومعقمة حاوية على انبوبة درهم (Durham tube) للتحري عن إنتاج الغاز . (يجب التأكد من ملئ أنبوبة درهم بالوسط الزرعي أي عدم وجود فقاعة هوائية فيه قبل الزرع)، ثم عقمت الأوساط بالموصدة

B – المحلول السكري Sugar solution

حضرت محاليل سكريات الكلوكوز D-glucose ، لاكتوز Lactose ، سكروز Sucrose ، فركتوز Fructosc ، زايروز Xyloze ، انوسيتول L-Inositol ، كلاكوز Galactose مانيتول Mannitole ، مالتوز Maltose .

بإذابة 1 غرام من السكر في 100 مليلتر من الماء المقطر المعقم ثم عقمت المحاليل بواسطة ورق الترشيح ، ثم اضيف 0.1 مليلتر من محلول السكر الى كل انبوبة من انابيب الفقرة A الحاوية على 5 مليلتر من قاعدة الوسط استخدم الوسط لمعرفة قدرة البكتريا على تخمير السكريات المختلفة ونتاج الغاز .

24.2.1.2 الوسط المغذي السائل (Biolife) Nutrient broth

استخدم الوسط لغرض تنمية البكتريا وحفظها

3.1.2 الكواشف والمحاليل Solution's and reagents

1.3.1.2 كاشف كوفاكس (Macfaddin, 1979) Kovac's reagent

حضر الكاشف بإذابة 5 غرام من مادة P-dimethyl aminobenzyldehyde في 75 مليلتر من الكحول الاميلي (Amylalcohol) تم أضيف 25 مليلتر من حامض الهيدروكلوريك المركز بصورة تدريجية الى المزيج ، يخزن المحلول في الثلاجة في قنينة معتمة ويرج بلطف قبل الاستعمال
استخدم للكشف عن حلقة ألا ندول .

2.3.1.2 كاشف احمر المثيل (Collee et al .,1996) Methyl red reagent

حضر الكاشف بإذابة 0.1 غرام من صبغة احمر المثيل في 300 مليلتر من 95% كحول اثيلي واكمل الحجم الى 500 مليلتر باستخدام الماء المقطر استخدم للكشف عن التحلل الكامل للسكريات .

3.3.1.2 كاشف التحلل الجزئي للسكريات

Voges – Proskauer reagent (acetoin production)

يتكون هذا الكاشف من محولين حسب ما جاء في (Collee et al .,1996)
A- كاشف الفانفتول (Alpha nepthol) الذي حضر بإذابة 5 غرام من المادة في 100 مليلتر من الكحول المطلق (Absolute ethanol) .
B- محلول هيدروكسيد البوتاسيوم الذي حضر بإذابة 40 غرام من المادة في 100 مليلتر من الماء المقطر .

4.3.1.2 كاشف الاوكسيديز (Baron et al., 1995) Oxidase reagent

حضر الكاشف فوراً وعند الحاجة بإذابة 0.1 غرام من Tetramethyl – p - Paraphenylen diaminedihydro chloride في 10 مليلتر من الماء المقطر.
استخدم للتحري عن قدرة البكتريا المرضية على إنتاج أنزيم الاوكسيديز .

5.3.1.2 كاشف اختزال النترات Nitrate reduction reagent

يتكون هذا الكاشف من محلولين حسب ما جاء في (Collee *et al.* , 1996)

A- محلول السلفانك (Sulfanilic acid)

حضر هذا المحلول بإذابة 8 غرام من حامض السلفونك في 1000 ميليتر من

محلول 5 عياري حامض الخليك (Acetic acid)

B - محلول الفانفثال أمين (Alpha- naphthyl amin)

حضر هذا المحلول بإذابة 5 غرام من ألفا - نفتال أمين في 1000 ميليتر من

محلول 5 عياري حامض الخليك (Acetic acid) .

يمزج قبل الاستعمال حجان متساويان من كلا المحلولين لتكوين الكاشف .

6.3.1.2 كاشف فرايزر Frazier's reagent (Collee *et al.* , 1996)

حضر الكاشف بإذابة 15 غرام من كلورد الزئبقيك $HgCl_2$ في 20 ميليتر

من حامض الهيدروكلوريك المركز HCl ثم أكمل الحجم إلى 100 ميليتر من الماء

المقطر، استخدم للكشف عن تحلل الجيلاتين.

7.3.1.2 كاشف كلوريد الحديدك $FeCl_3$

حضر الكاشف بإذابة 10 غرام من كلوريد الحديدك $FeCl_3$ في 100 ميليتر

من الماء المقطر (Collee *et al.* , 1996). استخدم للكشف عن أنزيم Phenyl

alanine de aminase

8.3.1.2 كاشف اختبار الكاتيليز Catalase test reagent)

(Baron *et al.* , 1995) .

حضر الكاشف بإذابة 3 غرام من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 في 100 ميليتر

من الماء المقطر المعقم وحفظ في قنينة معقمة ومعتمة . استخدم للتحري عن قدرة

البكتريا المرضية على إنتاج أنزيم الكاتيليز .

9.3.1.2 دليل ازرق اليروموثايمول **Bromothymol blue indicater**)

(Collee *et al.*,1996)

حضر الدليل بإذابة 1 غرام من المادة في 25 مليلتر من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.1 عياري ، ثم يضاف الى 475 مليلتر ماء مقطر ليعطي تركيز نهائي 0.2 .

10.3.1.2 محلول ماكفرلاند (أنبوب رقم 0.5) **Macfrland solution**

يتكون هذا المحلول وفق ما جاء في (Barry , 1976) من جزئين :

A - المحلول الاول :- حضر بإذابة 1.175 غرام من كلوريد الباريوم $BaCl_2 \cdot H_2O$ في 100 مليلتر من الماء المقطر .

B - المحلول الثاني :- حضر بإضافة 1 مليلتر من حامض الكبريتيك المركز H_2SO_4 الى 100 مليلتر من الماء المقطر .

وعند الاستعمال يتم اضافة 0.5 مليلتر من المحلول الاول الى 99.5 مليلتر من المحلول الثاني استعمل المحلول لاعطاء عدد تقريبي للخلايا البكتيرية ($10^8 \times 1.5$ خلية | مل) عند اجراء فحص الحساسية تجاه المضادات الحيوية .

11.3.1.2 المحلول الملحي الفسيولوجي **Normal saline**

حضر المحلول بإذابة 0.85 غرام من كلورد الصوديوم NaCl في 100 مليلتر من الماء المقطر وعقم بالموصدة . (Wisteriech and Lechtman,1980)

12.3.1.2 محاليل صبغة غرام **Gram stain**

حضرت هذه المحاليل بحسب ما جاء في (Wisteriech and Lechtman,1980) .

13.3.1.2 محلول هيدروكسيد البوتاسيوم **Potassium hydroxide (KOH)**

حضر المحلول بإذابة 10 غرام من هيدروكسيد البوتاسيوم في 100 مليلتر

من الماء المقطر (Emmons *et al.*,1977) .

استخدم في الفحص المجهرى المباشر للنماذج التي تحتاج الى معالجة بهذا المحلول للتحري عن وجود الفطريات.

14.3.1.2 مصل الدم

حضر المصل بسحب 5 مليلتر من دم الإنسان ووضع في أنبوبة اختبار نظيفة ومعقمة وترك بدرجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة لكي تتكون الخثرة وبواسطة العيدان الخشبية المعقمة تزال الخثرة ثم نبذ بواسطة جهاز الطرد المركزي أهمل الراسب واخذ الراشح ووضع في أنابيب اختبار نظيفة ومعقمة ووضع في الثلاجة لحين الاستعمال.

15.3.1.2 بلازما الدم

حضر المصل بسحب 5 مليلتر من دم الإنسان ووضع في أنبوبة اختبار نظيفة معقمة حاوية على سترات الصوديوم بنسبة 0.2-0.3 ونبذ بجهاز الطرد المركزي يهمل الراسب واخذ الراشح ووضع في أنابيب اختبار نظيفة ومعقمة ووضع في الثلاجة لحين الاستعمال .

4.1.2 أقراص المضادات الحيوية Antibiotics disc

استخدمت أقراص المضادات الحيوية المجهزة من شركة الرازي والمبينة تفاصيلها في جدول رقم (1) .

جدول 1 المضادات الحيوية المستخدمة بشكل اقراص ورمزها والتركيز بالميكروغرام

| التركيز (مايكروغرام)/قرص | الرمز | المضاد الحيوي |
|-----------------------------|-------|---------------------|
| 30µg | Te | Tetracycline |
| 300µg | FT | Furadantin |

| | | |
|-------|----|-----------------------|
| 10 iu | P | Penicillin |
| 15 µg | E | Erythromcin |
| 30µg | NA | Nalidixic acid |
| 5µg | OX | Oxacillin |
| 5µg | B | Bacitracin |
| 5µg | O | Optochin |

2.2 طرائق العمل Methods

1.2.2 جمع العينات

تم جمع مائتان وسبعون مسحة من المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى القيحي المزمن وذلك بعد تنظيف الاذن الخارجية أخذ النموذج بواسطة المسحات (Swabs) المعقمة من خلال ادخالها بواسطة ear speculum المعقم (Ikeh *et al.*, 1993).

تم جمع ثمانية وثمانون مسحة من المرضى المصابين بفطريات الاذن الخارجية Otomyco جمعت كذلك خمسون مسحة من الاذن الخارجية لاشخاص أصحاء للمقارنة بعد إجراء الفحص لهم للتأكد من عدم وجود اصابة .

تم جمع العينات بواسطة الأطباء الأخصائيين في استشارية الأنف والأذن والحنجرة وزرعت المسحات على وسط غراء الدم وماكونكي والجوكليت والسابرويد .

2.2.2 الفحوصات المختبرية للعينات

Laboratory examination for the samples

1.2.2.2 التلقيح Inoculation

نقلت المسحات (Swabs) مباشرة إلى المختبر ووضعت المسحات الخاصة بالفطريات في وسط نقيع القلب- الدماغ السائل ووضعت بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة لغرض تنشيط الفطريات قبل الزرع .

2.2.2.2 Laboratory culture المختبري

زرعت المسحات على الأوساط الزرعية التالية :-

- وسط غراء الدم (Blood agar) بواقع طبقين لكل مسحة الطبق الأول حضن هوائياً والطبق والآخر حضن لا هوائياً عند درجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة
- وسط غراء ماكونكي (MacConkey agar) ووسط Chocolate agar بواقع طبق واحد لكل مسحة حضنت هوائياً عند درجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة
- وسط غراء السابرويد (Sabouraud agar) بواقع طبقين لكل مسحة حضنت هوائياً، الطبق الأول عند درجة حرارة 37 م° والطبق الآخر عند درجة حرارة 28 لمدة 24 ساعة في حالة عدم ظهور نمو تترك الاطباق لمدة اسبوعين .
- وسط غراء السابرويد المضاف له البنسلين والستربتومايسين بواقع طبقين لكل مسحة حضنت هوائياً الطبق الأول عند درجة حرارة 37 م° والطبق الآخر عند درجة 28 م° لمدة 24 ساعة ، عند عدم ظهور نمو تترك لمدة اسبوعين .

3.2.2 تشخيص الأحياء المجهرية المعزولة

Identification of isolated organisms

1.3.2.2 خصائص الصفات المظهرية والزرعية

Morphological and cultural characteristics

- تم دراسة الخصائص المظهرية للإحياء المجهرية المعزولة من خلال عمل:
- مسحات مباشرة ومن الأوساط الزرعية والتي صبغت بواسطة صبغة غرام لدراسة الخصائص المظهرية للأنواع البكتيرية المعزولة .

- مسحات مباشرة ومن الأوساط الزرعية الخاصة بالفطريات صبغت بواسطة اللاكتوفينول لدراسة الخصائص المظهرية للفطريات .

كذلك درست الصفات المظهرية لكل من المستعمرات والخلايا البكتيرية النامية على الأوساط الزرعية المختلفة ، شملت دراسة المستعمرات البكتيرية من حيث اللون والشكل و القوام و الحواف و والنمو أو عدم النمو على الأوساط التفریقیة (Differential media) والانتقائية (Selective media) ، أما الصفات المظهرية للخلايا فقد شملت شكل الخلية البكتيرية ، انتظام الخلايا البكتيرية مع بعضها وطبيعة تفاعلها مع صبغة غرام ، أما الفطريات والخمائر فقد دُرس شكل المستعمرات ولون وشكل الخلايا التكاثرية وبالاعتماد على (Ellis,1994) .

2.3.2.2 الفحوصات الكيموحيوية والفزيولوجية

Biochemical and physiological tests

لغرض إجراء هذه الفحوصات تم استخدام المزروع البكتيري النامي على الوسط المغذي الصلب بعمر 24 ساعة وهذه الفحوصات تشمل:-

1- الكشف عن إنزيم الكاتيليز Catalase test

تم إجراء الفحص بنقل كمية قليلة من النمو البكتيري النامي على الوسط الزرعى بعمر 24 ساعة بواسطة العيدان الخشبية المعقمة إلى سطح شريحة زجاجية نظيفة وجافة ثم أضيف لها قطرة من 3% بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) إن ظهور الفقاعات الغازية يدل على النتيجة الموجبة (Collee et al.,1996)

2- الكشف عن انزيم الاوكسيدز Oxidase test

تم إجراء الفحص بنقل كمية من النمو البكتيري بواسطة العيدان الخشبية المعقمة الى ورقة ترشيح مشبعة بالكاشف المحضر أنياً ، تلون المستعمرات البكتيرية باللون البنفسجي يدل على النتيجة الموجبة (Collee et al ., 1996) .

3- اختيار إنزيم التجلط Coagulase test

تم إجراء الاختبار بتنمية البكتيريا في الوسط المغذي السائل بدرجة حرارة 37م لمدة 18-24 ساعة ، ثم نقل 0.1 مليلتر من المزروع الى أنبوبة اختبار نظيفة ومعقمة ، عندها اضيف له 0.5 مليلتر من بلازما دم الانسان غير المخفف ثم حضن المزيج بدرجة 37م لمدة 4 ساعات في حمام مائي مع مراعاة فحص الانبوب كل ساعة لملاحظة الخثرة لأنها قد تتحلل مرة أخرى عند تكونها . كما يجب ترك الانبوب ذو النتيجة السالبة في درجة حرارة الغرفة لمدة ليلة كاملة لملاحظة البكتريا المنتجة للخثرة ببطء (Macfaddin 2000) .

4- الكشف عن انتاج الهيمولايسين Haemolysin production

تم تنمية المزروع البكتيري على وسط غرام الدم وحضن بدرجة حرارة 37م لمدة 24-48 ساعة ، ظهور مناطق التحلل حول المستعمرات النامية يشير إلى قابلية البكتريا على إفراز سموم الهيمولايسين (Deboy *et al.* , 1980)

5 – الكشف عن كبريتيد الهيدروجين Production of hydrogen sulfite

اجري الفحص بتلقيح وسط كلكر بالمزروع البكتيري المراد فحصه وحضن بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة ، أن ظهور الراسب الاسود في الانبوبة يدل على النتيجة الموجبة (Macfaddin , 1979) .

6 – فحص اختزال النترات Nitrate reduction test

اجري الفحص بتلقيح وسط اختزال النترات بالمزروع البكتيري وحضن بدرجة حرارة 37م لمدة 96 ساعة وبعد انتهاء فترة الحضانة اضيف 1مليلتر من الكاشف المحضر في الفقرة 2-1-3-5. ظهور اللون الاحمر خلال 30 ثانية يدل على النتيجة الموجبة . (Collee *et al.* , 1996) .

7 – اختبار استهلاك السترات Citrate utilization test

اجري الفحص بتلقيح وسط السترات المائل بالمزروع البكتيري المراد فحصه وحضن بدرجة حرارة 37م لمدة 24 – 48 ساعة . ان تحول لون الوسط الاخضر الى الازرق وظهور النمو على خطوط الزرع يدل على النتيجة الموجبة (Macfaddin , 2000)

8 - اختبار قابلية الحركة Motility test

اجري الفحص بتلقيح الانابيب الحاوية على الوسط بالمزروع البكتيري ووضن بدرجة حرارة 37م لمدة 24 – 48 ساعة ، انتشار النمو خارج حدود الطعنة يدل على النتيجة الموجبة (Finegold and Martin, 1982) .

9 – فحص تخمير السكريات Carbohydrate fermentation test

لقت الأنابيب الحاوية على وسط تخمر السكريات بالمزروع البكتيري ثم حضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 2 - 5 يوم تحول لون الوسط من الاحمر الى الاصفر وظهور الفقاعات الغازية في انبوبة درهم يدل على النتيجة الموجبة (Macfaddin, 2000).

10 – النمو على وسط غراء المانيتول الملحي Growth on mannitol salt agar

اجري الفحص بتلقيح الوسط الزرعى بالمزروع البكتيري وحضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة ، ظهور المستعمرات ذات اللون الذهبي المحاطة بهالة صفراء اللون يدل على النتيجة الموجبة (Collee et al ., 1996) .

11 – الكشف عن انتاج الأندول Indol test

اجري الفحص بتلقيح الأنابيب الحاوية على الوسط الزرعى بالمزروع البكتيري حضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 18 – 24 ساعة ، عندها أضيفت بضع قطرات من كاشف كوفاكس إلى كل أنبوبة مع الرج الجيد ، ظهور حلقة حمراء في أعلى الوسط يدل على النتيجة الموجبة (Macfaddin , 1979) .

12 – اختبار احمر المثيل Methyl red test

اجري الفحص بتلقيح الأنابيب الحاوية على الوسط الزرعى M.R.V.P Medium بالمزروع البكتيري وحضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 24 – 48 ساعة عندها يتم اضافة 5 قطرات من كاشف احمر المثيل مع رج الانبوبة ظهور اللون الاحمر في الأنبوبة بعد 15 دقيقة يدل على التحلل الكامل للسكريات وانتاج الحامض (Collee et al ., 1996) .

13 – اختبار الفوكس بروسكور Voges pros kauer Test

اجري الفحص بتلقيح الوسط الزرعي MR-VP Medium بالمزرع البكتيري ، وحضن بدرجة حرارة 37م لمدة 24 – 48 ساعة بعد ذلك تم إضافة 1 مليلتر من الكاشف المحضر في الفقرة 3.3.1.2 إلى كل أنبوبة مع الرج ، ان ظهور اللون الوردي خلال 2- 5 دقيقة والذي يصبح كرزي غامق خلال 30 دقيقة من الرج المتواصل يعبر عن النتيجة الموجبة (Collee et al., 1996).

14 – الكشف عن انزيم اليوريز Urease test

يتم الكشف عن هذا الانزيم بتلقيح وسط اليوريا بالمزرع البكتيري ثم حضن بدرجة حرارة 37م لمدة تتراوح من 24 ساعة ولغاية سبعة ايام ، ظهور اللون الوردي يدل على النتيجة الموجبة .

15 – استهلاك المالونيت Malonate utilization test

اجري الفحص بتلقيح الوسط الزرعي بالمزرع البكتيري ، ثم حضنت بدرجة حرارة 37 م لمدة 2-5 يوم ، تغير لون الوسط من الأخضر إلى الأزرق يدل على النتيجة الموجبة .

16 – اختبار إزالة مجموعة الكربوكسيل Decarboxylase من الأحماض الأمينية .

اجري هذا الاختيار بتلقيح وسط الحامض الاميني بالمزرع البكتيري المراد فحصه ثم حضن بدرجة حرارة 37م لمدة 4 أيام ، فان تحول لون الوسط من الازرق الى الاصفر خلال 5-10 ساعات ، ومن ثم عودة اللون الازرق خلال 24-96 ساعة يدل على النتيجة الموجبة اما النتيجة السالبة فيستدل عليها ببقاء اللون الأصفر (Collee et al ., 1996) .

17 – الكشف عن انزيم Phenyl alanine deaminase

تم الكشف عن هذا الانزيم بتلقيح الانايبب الحاوية على وسط الفينيل الأنين بالمزرع البكتيري ، ثم حضنت عند درجة حرارة 37م لمدة 2-5 أيام عندها تم إضافة بعض قطرات من كاشف كلورد الحد يدك المحضر في الفقرة 7.3.1.2 ،

ظهور اللون الأخضر على طول السطح المائل يدل على النتيجة الموجبة (Collee *et al*.,1996).

18 – اختبار تحلل الجيلاتين Gelatin hydrolysis test

اجري الفحص بتخطيط وسط غراء الجيلاتين بالمزروع البكتيري ، ثم حضن بدرجة حرارة 37م لمدة 3 – 7 يوم بعدها غمر الطبق بكاشف فرا يزر المحضر في الفقرة 6.3.1.2 ظهور المناطق الشفافة حول المستعمرات النامية يدل على النتيجة الموجبة (Collee *et al*.,1996).

19 – اختبار التخمر والأكسدة Oxudation fermentation test

اجري الفحص بتلقيح أنبوبتين من الأنابيب الحاوية على وسط التخمر والاكسدة بالمزروع البكتيري ، ثم اضيف لاحد الانابيب 2 سم من شمع البرافين المعقم لتوفير ظروف لاهوائية عندها حضنت الانابيب بدرجة حرارة 37 م لمدة 24-48 ، تحول لون الوسط في الانبوب المغطى من اللون الأحمر إلى الأصفر يدل على تخمر السكريات . أما تحول لون الوسط في الأنبوب غير المغطى فقط من الأحمر إلى الأصفر يدل على أكسدة السكريات (Macfaddin,1979) .

20 – اختبار الحساسية للباستراسين Bacitracin sensitivy test

اجري الفحص بوضع قرص (Oxoid Bacitracin) على وسط غراء الدم بعد نشر عالق البكتريا المراد فحصها عليه ثم حضن بدرجة حرارة 37م لمدة 24 – 48 ساعة ، ان تثبيط نمو البكتريا حول القرص ويقطر 12 ملليمتر يدل على النتيجة الموجبة . (Collee *et al*., 1996) .

21 – اختبار الحساسية للـ Optochin sensitivity test

اجري هذا الفحص بوضع قرص (Oxoid Optochin) على وسط غراء الدم بعد نشر عالق البكتريا المراد فحصها عليه ثم حضن بدرجة حرارة 37م تحت ظروف لا هوائية 10 – 5% CO₂ لمدة 24 – 48 ساعة ، ان تثبيط النمو حول القرص وبقطر لا يقل عن 15 ملليمتر يدل على النتيجة الموجبة .

4-2-2 فحص الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic sensitivity test

اجري الفحص باستخدام طريقة Bauer - Kirby (Bauer *et al* .,1966) method وذلك بأخذ 4 – 5 مستعمرات نقية باستعمال عروة الناقل إلى أنابيب اختبار حاوية على 5 مليلتر من الوسط المغذي السائل ، وحضنت الانابيب بدرجة حرارة 37 م° لمدة 2-8 ساعة او لحين ظهور العكورة عندها تم مقارنة الأنابيب مع أنبوبة ماكفرلاند القياسية (0.5) .

باستخدام المحلول الملحي الفسيولوجي المعقم تم تعديل كثافة الانابيب حتى تساوى كثافة أنبوبة ماكفرلاند و باستعمال ماسحة قطنية معقمة نشرت البكتريا على وسط غراء مولر هنتون بالتساوي و تركت لمدة 15 دقيقة لتجف الأطباق عندها وزعت أقراص المضادات الحيوية بواقع 6 أقراص للطبق الواحد و بواسطة ملقط معقم حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة . ثم قرأت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط و مقارنتها بالجداول القياسية المحددة من قبل

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) 1991.,

Barry, 1976 .

لتحديد البكتريا المقاومة او الحساسة .

5-2-2 تشخيص خميرة *C. albicans* بواسطة فحص الأنبوب الجرثومي

. Germ tubes test

لقح 0.5 مليلتر من مصل الانسان بالخميرة المراد تشخيصها وحضن بدرجة حرارة 37 م° لمدة 2-3 ساعة ، حضرت شريحة زجاجية من المصل و فحص تحت المجهر ، وجود الانبوب الجرثومي يدل على النتيجة الموجبة. يستخدم هذا الفحص لتشخيص المبيضات *C. albicans* و يعتبر هذا الفحص تأكيدي لهذه الخميرة .

6-2-2 حفظ العزلات Presenvation of isolation

تم حفظ العزلات البكتيرية بنقل النمو البكتيري بعمر (18-24) ساعة إلى الوسط المغذي السائل المضاف له 5% كليسيرول و خلط جيدا ووضع في المجمدة بدرجة حرارة -20 م (Cruick Shank, 1972) .

7-2-2 التحليل الإحصائي Statistical analysis

اجريت التحليلات الإحصائية باستخدام اختبار مربع كاي (X^2) لتحليل البيانات احصائيا و تحديد الفروقات المعنوية على مستوى احتمال $p > 0.05$ اعتمادا على (الراوي , 1984) للتحليلات الاحصائية .

جدول رقم 2 الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في تشخيص البكتريا
الموجبة لصبغة غرام

| <i>S.pyogenes</i> | <i>S.pneumoniae</i> | <i>S.epidermidis</i> | <i>S.aureus</i> | الاختبارات |
|-------------------|---------------------|----------------------|-----------------|---|
| + | + | + | + | صبغة غرام |
| - | - | - | - | فحص الاوكسيديز |
| - | - | + | + | فحص الكاتيليز |
| β | α | - | β | إنتاج الهيمولابسين |
| - | - | - | + | النمو على وسط غراء المانيتول الملحي |
| - | - | - | + | إنتاج إنزيم التجلط |
| - | - | + | + | تحلل الجيلاتين |
| - | - | + | + | اختزال النترات |
| - | - | - | - | قابلية الحركة |
| ت | ت | ت | ت | فحص التخمر والأكسدة |
| + | + | + | + | تخمير سكر الكلوكوز |
| + | + | + | + | لاكتوز |
| - | + | + | + | سكروز |
| - | <u>+</u> | - | + | مانيتول |
| + | - | - | - | فحص الحساسية للبيستراسين |
| - | + | - | - | فحص الحساسية Optochin |

β = تحلل الدم نوع بيتا

+ = النتيجة الموجبة

- = النتيجة السالبة

ت = تخمر

المعلومات أعلاه مأخوذة من (Holt et al., 1994 ; Baron et al.,1995)

جدول رقم 3 الفحوصات الكيموحيوية المستخدمة في تشخيص البكتريا السالبة
لصبغة غرام

| <i>M. catarrhalis</i> | <i>Klebsiellas</i> <i>pp.</i> | <i>E. coli</i> | <i>Acinetobacter</i> <i>spp.</i> | <i>Proteus</i> <i>spp.</i> | <i>P. aeruginosa</i> | الاختبارات |
|-----------------------|----------------------------------|----------------|-------------------------------------|-------------------------------|----------------------|--|
| - | - | - | - | - | - | صبغة غرام |
| + | - | - | - | - | + | فحص الاوksيديز |
| + | + | + | + | + | + | فحص الكاتيليز |
| - | - | + / - | - | | + / - | إنتاج الهيمولايسين |
| - | - / + | + | - | - / + | - | إنتاج الأندول |
| | - | + | - | + | - | اختبار احمر المثيل |
| | + | - | + | - | - | اختبار الفوكس بروسكور |
| - | + | - | + | - | + | استهلاك السترات |
| + | + | - | ± | - | - | استهلاك المالونيت |
| - | + | - | - | + | + | تحليل اليوريا |
| | ح / ح | ح / ح | ق / ق | ق / ح | ق / ق | النمو على وسط غراء كلكلر |
| - | - | - | - | + | - | إنتاج H2S |
| | + | + | - | - | - | نزع مجموعة الكاربوكسيل من اللايسين |
| | - | - | ± | - | + | الأرجنين |
| ± | - | - | - | + | + | تحليل الجيلاتين |
| - | - | + | - | + | + | قابلية الحركة |
| + | | + | - | + | + | اختزال النترات |
| - | - | - | - | + | - | الكشف عن إنزيم الفنيل دي الأئين |
| | ت | ت | ت | أ | أ | فحص التخمر والأكسدة |
| | + | + | ± | + | + | تخمير سكر الكلوكوز |
| - | - | - | - | + | + | فركتوز |
| - | - | - | + | + | - | كلاكتوز |
| - | + | + | + | + | - | زايلوز |
| | + | - | - | - | - | انوسيتول |
| - | + | + | + | ± | - | سكروز |
| - | + | + | + | ± | - | مالتوز |
| - | + | + | + | - | - | لاكتوز |
| - | + | + | + | - | - | مانيتول |

ح = حامض ، ق = قاعدي ، أ = أكسدة

(Holt et al., 1994 ; Baron et al., 1995) المعلومات أعلاه مأخوذة من

- Advidano, M. A. ; C. S. Cetter ; S. P. Stringer ; G. S. Schultz. 1998. Analysis of protease activity in human otitis media . Otolaryngol.. – Head – Neck –Surg. 119 (4): 346 – 351 .
- Ahmad, M.; M. Amjad, and A. Hameed .1995 . Microflora in chronic suppurative otitis media. Pakistan's J. Med. Sci. 12 (1) : 19-22.
- Al- Karagholi, A. A.(1994). Otomycosis amicrobiological and clinical study. (Thesis of PhD) . Dept. of Microbiology, College of Medicine University of Baghdad , Iraq.
- Al-Mahmood, N. M. and A. A. Al. Karagohli . 1999. Isolation and identification of bacteria in CSOM using pre-Reduced middle ear swab . Iraqi . J. Comm. Med. , 12(2) :130-132 .
- Antonelli, P.J. ; S. K. Juhn ; C-T. Le, and G.S. Giebink .1994 . Acute otitis media increases middle ear susceptibilty to nasal injection of *P.aeruginosa* . Otolaryngol-Head-Neck-Surg. 110(1): 115-21 .
- Arya, S. C, and L.N. Mohapatra . 1966. Bacterial and Mycotic flora in cases of chronic suppurative otitis media. J. India . Med . Associa. .47(8) : 372. Cited by Rama Rao, M. V., and P. A. Jayakar.1979 . Bacteriological study of CSOM .J. Ind. M. A. 75(2) : 30-33 .
- Ashoor, A. Z ; Frachartz ; K. Twun-Danso ; M. F. Baraka and E. Dawalatty 1988. Anaerobic bacteria in COM. Ann. Saudia, Med. 8 (4) : 279-282 .
- Bakaletz, L. O. ; B. M. Tallan ; T. F. Demaria ; H. G. Birck and D. T. Lim. 1988 . Frequency of fimbriation of non typable *H. influenzae* and its ability to adhere to chinchilla and human respiratory epithelium . Infect. and Immun . 56 (2) :331-335 .
- Baron, E.J.; Peterson L. R. and Finegold S. M. (1995) . Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 9th ed., the C.V. Mosby company, USA.

- Barry, A. L. (1976). The antimicrobial susceptibility test : principles and practice . Lea and Febiger, Philadelphia, USA .
- Bartlett, J. B. and S. L. Gorbach .1975 . Treatment of aspiration pneumoniae and primary lung abscess. penicillin G. VS. clindamycin. J. of Am. Med. Asso. 234 : 935 – 937.
- Bassiony, A. ; T. Kamel ; M. K. Moawad, and D. S. Hindawy .1986 . Broad spectrum antifungal agent in otomycosis. The Journal of Laryngol. and Otol . 100(8) : 867-873 .
- Bauer, A. W. ; kirby, W. M. ; Sherris, J. C. and Turck, M.1966 . Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol . 45 (4) : 493 - 496 .
- Berman, S. 1995. Otitis media in Developing countries . Pediatr. 96 (1) : 126 - 131 .
- Bernstein, J. ; D. Dryja ; E. Neter .1982. The role of coagulase negative Staphylococci in chronic otitis media with effusion . Otolaryngol Head-Neck-Surg.90:837.
- Beswick, A. J. ; B. Lauely ; A. P. Fraises ; A. L. Pahor and N. L. Brown. 1999. Detection of *Alloiococcus otitis* in mixed bacteria Population from middle ear effusion of Patients with otitis media. The Lancets. 354 (31): 386 – 388.
- Blumer, J. L.1998. Pharmacokinetics and phrmacodynamic of new and old antimicrobial agents for AOM PEDIATER. Infect. Dis. J. 17(11) : 1070-1075 .
- Bluestone, C.D.1998. Epidemiology and Pathogenesis of CSOM implications for prevention and treatment . Int. J. of Pediatr. Otorhinolaryngol . 42 : 207-223 .
- Bluestone, C. D. ; J. L. Paradise and Q. C. Beery. 1972. Symposium on prophylaxis and treatment of middle ear effusious . Laryngoscope. 82(9): 1654 – 1670 .

- Bluestone, C. D. 1983. Eustachian tube function : Physiology, pathophysiology and role of allergy in pathogenesis of otitis media. *J. Allergy Clin. Immunol.* 72(3) : 242-251.
- Bluestone, C. D. and Stool S. G. (1983) . *Pediatric Otolaryngology*. W. P. Saunders Co. Philadelphia. PP 370 – 527 .
- Brisotto, P. 1923 . *Dei. Germi anaerobic in otologia dia lcume ricerche batteriologiche sull'ozona* : *Rifarma Med* 39 : 769. Cited by Fulghum R. S.; H. J. Daniel, and J. C. Yarborough. 1977. Anaerobic bacteria in OM. *Ann. Of Otol. and Lary.* 86(2). 196-203.
- Brook, I. 1979 . Bacteriology and treatment of COM. *Laryngoscope*. 89(7) : 1129 - 1134 .
- Brook, I. 1980 . Clindamycin in treatment of chronic recurrent suppurative otitis media in children. *The J. of Lary and Otol* . 94(6pt2) : 607-615.
- Brook, I . 1981. Microbiological studies of the Bacterial flora of the External auditory canal in children. *Acta Otolaryngol* . 91.285-287
- Brook, I. 1985. Prevalence of Beta - Lactamase producing bacteria in CSOM . *AJDC* . 139 : 280 - 283 .
- Brook, I. 1987. The role of anaerobic bacteria in otitis media *Am. J. Otolaryngol* . 8 (2) : 109 - 117 .
- Brook, I. and L. Bethesda. 1981. Aerobic and anaerobic bacteriology of cholesteatoma. *The Laryngoscope* . 91(1-3) : 250-253 .
- Brook, I. and S. M. Finegold . 1979 . Bacteriology of COM. *JAMA* 241 (5) : 487- 488 .
- Brook, I. And A. Pelton . 1980. Otitis media in children : A prospective study of aerobic and anaerobic bacteriology. *Laryngoscope*. 84.(42).
- Brook, I. and P. Yocum. 1989. Quantitative Bacterial cultures and Beta-Lactamase Activity in CSOM. *Ann. Otol. Rhinal . Lary.* 98. (4pt1) : 293 - 296 .
- Brook, I. and P. Yocum. 1989. In vitro protection of group A beta-hemolytic streptococci from Penicillin and Cephalothin by *Bacteroides fragilis* . *Chemother.* 29:18-23.

- Browning, G. G. ; S. Gatehouse and T. Calder .1988 . Medical management of active COM. A controlled study. The J. of Lary and Otol. 102. 6 : 491- 495 .
- Buchman, C. A. ; W. J. Doyle ; D. P. Skoner ; J. C. Post ; C. M. Alper ; J. T. Seroky ; K. Anderson ; R. A. Drestol ; F.G. Hayden ; P. Fireman and G. D. Shrlach . 1995 . Influnza A virus – induced AOM. The J. of Inf. Dis.172(5): 1348-1351.
- Chan, J. C. M. ; G. B. Logan ; J. M. Mcbean, and R. Minn .1967. Serous otitis media and allergy. Am. J. Dis. Child. 114:
- Chander, J.; Main, S.; Subrahmanyam, S. and Handa, A. (1996). Otomycosis-a clinico-mycological study and efficacy of mercurochrome in treatment. Mycopathol. 135(1): 9-12.
- Chhangani, D. L.,and O. P. Goyol. 1970 . Ibid, 28 : 41. Cited by Rama Rao and Jayakar. 1979 . Bacteriological study of CSOM. J. India M. A. 75 (2) : 30 - 33 .
- Cohen, R. ; F. Delaraque ; M. Boucherat ;C. Doit ; E. Bingen, and P. Geslin .1994. Treatment failure in otitis media an analysis. J. of Chemother. 6(spp.4). 17-22 .
- Chow, A. W.; J. A. Montogmerie, and L. B.Guze. 1974 . Parenteral clindamycin therapy for severe anaerobic infection. Arch. of Int. Med. 134 : 78-82 .
- Cisse, M. F. ; A. I. Sow ; D. R. Adjovi, and A. Samb. 1995 . Bacteriological study of purulent otitis media in children in CHU in the tropical zone. Arch-pediatr. 2 (1) : 29-33 .
- Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmian, B. P. and Simmons, A .(1996) . Mackie and McCartney. Practical Medical Microbiology. 14th ed. The churchill livingstone Inc., USA .
- Cotter.C.S. ; M. A. Avidano ; S.P. Stringer and G.S. Schultz. 1996. Inhibition of proteases in Pseudomonas otitis media in chichillas. Otol.Head and Neck –Surgery. 115 (4) :342-351.

- Cruickshank, R. (1972). *Medical Microbiology*. 11thed., Churchill Livingstone Edinburgh and London .
- Cunningham, R. ; A. Cockayne, and H. Humphreys. 1996 . Clinical and molecular aspects of the pathogenesis of *S. aureus* . bone and Joint infection. *J. Med. Microbiol.* , 44 : 157 . 164 .
- Datta, P.G. ; R. K. Das-chowdhury ; V. E. Newton, and M. N. Amin. 1995. Epidemiological survey of CSOM in Bangladesh specialist . Pakistan's. *J. Med. Sci.* 12(1) , 31-37 .
- Deboy II, J. M. ; I. K. Wachsmuth, and B. R. Davis . 1980 . Hemolytic activity in enterotoxigenic and non enterotoxigenic strain of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microb.* 12(2) : 193-198 .
- Desai, B. ; M. Hussain, and B. R. Panhorta. 1985 . CSOM. *Indian pediatrician*. 226-417.
- de-Uzeda, M. and E. R. Rocha. 1989 . Bacteriology of COM affecting children living in Rio de Janeiro . *Ear-Nose-Throat* . 68 : 448-459 .
- Diamant, M. 1982. Mastoid pneumatization and cholesteatoma the genetic question in cholesteatoma and mastoid Surgery. *Proceedings of the 2nd International conference*. Edited by J. Sade . Amsterdam Kugler. P 105-110.
- Dincer, A. D ; A. Tekeli ; K. S. Oztur, and S. Turgut. 1992. Microorganism, Isolated from CSOM and their antimicrobial sensitivities. *Mikrobiyol - Bu.* 26 (2) : 131 -8.
- Ellis, D. H. (1994). *Clinical mycology .The Human opportunistic mycosis*. Pfizer, New York .
- Emmons, C. W.; Binford C. H. ; UTZJ P. and Kwon. Chung, K. O. (1977) . *Medical Mycology* 3rd
- Fairbanks, D. N. F. 1981 . Antimicrobial therapy for CSOM ; *Ann. Otol. Rhinol. and Laryngol.* 90 (Sppl. 84) . 56-62 .
- Falser, N. ; H. Mittermayer, and H. Weuta. 1988 . Antibacterial treatment of otitis and sinusitis with ciprofloxacin and penicillin V. A. Comparison . *Inf.* 16 (sup. 1) s51 - s54.

- Finegold, S. M. and Martin, W. J. (1982). Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 6th ed. The C. V. Mosby Company, USA.
- Fulghum, R. S. ; H. J. Daniel, and J. C. Yarborough. 1977. Anaerobic bacteria in OM. Ann. of Otol. and Lary. 86. (2) . 196-203 .
- Gehanno, p. ; L. Nguyen ; B. Barry ; M. Derriennic ; F. Pichon ; J. M. Goehrs, and P. Perche. 1999 . Eradication by ceftriaxone of *S.pneumoniae* isolates with increased resistance to penicillin in cases of AOM. Antimicrob. agents and chemother. 43(1) 16-20 .
- Giebink, G.S.1987. Infection of the middle and inner ear. Springer-Verlag New York Berlin Heidelberg. London. 95 : 64 –77.
- Gill, F. K. 1932 . Otitis externa. Treatment of otomycosis. Cited by Mahar, A.; A. Bassiouny; M.K. Moawady, and D.S. Henedawy. 1982. Otomycosis: An experimental evaluation of six antimycotic agents. The J. of Lary. and Otol. 96(3): 205-213.
- Gorbach, S. L. and H. Thadepalli. 1974 . Clostridia in the treatment of pure and mixed anaerobic infection. Arch.of Int. Med. 134 : 87-92 .
- Griffith, T. E. 1979 . Epidemiology of otitis media. An interracial study. The Laryngoscope. 89(1) : 22-28 .
- Halsted, C. ; M. L. Lepow ; N. Balassanian ; J. Emmerich, and E. Wolinsky. 1968 . Clinical observation microbiology and evaluation of therapy . Amer. J. Dis. Child. 115: 542-551 .
- Harell, M.; F. R. Pennington, and W. V. Morrison . 1982 . Prevalence of cholesteatoma in black Americans in cholesteatoma and Mastoid surgery . proceedings of the 2nd international conference . Edited by J. Sade Amsterdam. Kugler . pp 97 . 104.
- Haward, J. E. ; J.D, Nelson ; J. Clahsen, and L. H. Jackson 1976 . Otitis media of infancy and early childhood, Am. J. Dis . Child 130 (pt3) : 965-970 .

- Healy, C. B., and W. D. Teele. 1977 . The microbiology of chronic middle ear effusion in children . *The Laryngoscope* .87(9) : 1472-1478 .
- Hinchcliffe, R. 1977 . Cholesteatoma epidemiological and quantitative aspects in cholesteatoma proceeding of the first international convece. edited by McCabe. J. Sade and M. Abramson Al abama : Aessculapius. pp. 277-286.
- Holt, J. G. ; krieg, N. R. ; Sneath, P. H. ; Staley, J. T. and Williams S. T. (1994) . Berge's manuals of determinative bactriology 9th ed. Williams and Wilkins , Baltimore , USA .
- Howie, V. M. ; J. H. Ploussard, and J. Sloyer. 1975 . The otitis prone condition . *Am. J. Dis. Child.* 129(4) : 676- .
- Hussin, S. 1999 . Detection on phosphatase, β . Galactosidase and proteas activities in the scretory fluids associated with persistant otitis media. *Tech. J. Iraq.*
- Ibekwe,A. O. ; Z. Alshareef, and A. Benoy. 1997 . Anaerobic and fungi in CSOM *Ann. of Otol. , Rhinol and Laryngol.* 106(8) : 649 -652.
- Ikeh, E. I. ; E. O. Adebayo ; H. O. Okuonoghae, and I. S. Ighogboja. 1993. Bacteriology of chronic discharig ear in children of Jos, northern Nigeria . *Nigerian Med. practitioner* .26(1-2):2-4
- Indudharan, R. and J. A. Haq. 1999 . Use of pre-reduced swabs in bacteriology of CSOM .*The J. of Lary and Otol* . 110 : 950-951 .
- James, J., 1999 .The mechanisms and the spread of antibiotic resistance. *Pediatr. Annl* . 28 (7) : 446-452 .
- Jones, E. H. (1965) . External otitis, diagnostic and treatment. C. Thomas (Publishers). Springfield Illinois, USA. pp. 50-51.Ctied by Paulose, K.O.; S. Al-Khalifa; P. Shenoy, and R.K. Sharma. 1989. Mycotic infection of ear (otomycosis). A prospective study. *The J. of Lar. And Otol.* 103(1)30-35..1989 .
- Kalboush, S. A. and M. Morgan. 1994 . Bacterial prevalence in Neonatal otitis media. *New Egypt. J. of Med.* 10(4) : 1832-1834 .

- Kaplan, E. L. 1980 . The group "A" streptococcal upper respiratory tract carrier state : An enigma. *J. of Pediatr.* 97(3) : 337-343 .
- Karma, P. ; Jokipii ; K. Ojala, and A. M. M. Jokipii. 1978 . Bacteriology of the chronically discharging middle ear. *Acta Otolaryngol* 86 : 110-114 .
- Kenna, M. A. 1994 . Treatment of chronic suppurative otitis media . *Otolaryngol . Clin-North- Am.* 27(3) : 457-72 .
- Kenna, M. A.; C. D. Bluestone, and J. S. Reilly. 1986 . Medical management of CSOM without cholesteatoma in children. *Laryngoscope* 96 (2): 146
- Kikuchi, A. ; T. Funakubo, and H. Kohsyu. 1994 . A study of fungal infection in otorhinolaryngology. *Acta Otolaryngol (Stockh).* 511 : 224-227.
- Kurono, Y. and G. Mogi. 1988. Otitis media with effusion and nasopharynx. *Acta Otol. (Stockh).* 454: 214-217.
- Lawrence, T. L. ; L.W. Ayer , and W. H. Saunder. 1978. Drug therapy in otomycosis : An invitro study. *Laryngoscope* 88 (11) : 1755-1760.
- Liu, Y. S. ; R. Lang ; D. J. Lim, and H. G. Birck. 1976 . Microorganism in COME . *The Ann. of Otol. Rhino. and Lary.* 85 .(2) :45-249 .
- Liu, Y. S. ; D. J. Lim ; R. Lang, and H. G. Birck 1975 . Chronic middle ear effusions. Immunochemical and bacteriological investigations. *Arch. Otolaryngol.* 101(5) : 278 – 286 .
- Lorente, L. ; P. Quesada ; M. Garcia ; J. Serra ; I. Lopez-de-Argumed ; J. L. Quesada, and F. perello. 1997 . Microbiological and auditory analysis before and after topical treatment of CSOM with out cholesteatoma. *Ann. Otorrinolaryngol. Ibero –Am.* 24(6) : 581-92 .
- Ludman, H. (1988) . Otitis media in mowson diseases of the ear. 5th ed Edward Arnold London PP. : 402-473 .
- Macfaddin, J. F. (1979) . Biochemical test for identification of medical bacteria. 1st ed. The Williams and Wilkins – Baltimor USA.

- Macfaddin, J. F. (2000) . Biochemical test for identification of medical bacteria. 3^{ed} ed. The Williams and Wilkins – Baltimor USA.
- Maher, A.; A. Bassiouny ; M. K. Moawady, and D. S. Henedawy. 1982. Otomycosis : An experimental evaluation of six antimycotic agent . The J. of Lary. and Otol. 96(3) : 205-213 .
- Mak, D. ; A. Dipr ; A. Mnckendrick ; S. Weeks ; A. J. plant, and H. M.P.H. 2000 . middle ear disease in remote Aboriginal Australia a field assessment of surgical outcomes . The J. of Lary. and Otol. 114(1): 26-32.
- Maran, A. D. (1988).Anatomy and physiology .In-Logan Turners diseases of the Nose, Throat and Ear. 10th ed. Wright-London P. 273 .
- Mawson, S. R. (1984). Acute inflammation of the middle ear cleft in Scott Brown's disease of Ear , nose and throat 4th ed. J. Grpves Londen , Butter Worth P. 175-180 .
- McDonald,J. A., and F. T. Saulsbury. 1997 . Chronic candida albicans otitis media in children with immunodeficiency. The Pediatr. Infect. Des. J. 6(5) : 529 – 530 .
- Mclaurin, J. W. ; T. P.Raggio, and M. Simmons. 1965.Persistent external otitis. Laryngoscope. 75: 1699-1707.
- Meyer, A. 1844. Beobachtung vorcysten mit fadenpilzen ausdem- aussern gehorgange eines Madchens. Arch. Anat Physiol . Cited by Maher,A.; A. Bassiouny; M.K. Moawady, and D.S. Henedawy. 1982. Otomycosis: An experimental evaluation of six antimycotic agent. The J. of Lary. And Otol. 96(3): 205-213..
- Mugliston, T., and G. ODonoghue. 1985. Otomycosis acontinting problem. J. of Lary. and Otol . 99(4) : 327-333 .
- Mulholland , K. 2000 . Strategies for the control of pneumococcal diseases. Vaccine. 30 (17 suppl 1) s79-84 .
- NCCLS (1991). Performance standards for antimicrobial disc susceptibility test, tentative standard. 4th ed. Villanora. PA. USA.

- Okafor, B. C. 1984 .The chronic discharging ear in Nigeria .The J. of Laryng. and Otol . 98 . 113-119 .
- Onderdok, A. B. ; J.G. Bartlett ; T. Louie ; N. Sullivansiegler, and S. L. Gorebach. 1976 . Inexperimental intra-abdominal abscess infection. Microb. Syner.in Immun. 13 : 22-26 .
- Ostfeld, E., and E. Rubinstein .1980 . Acute gram negative bacillary infections of middle ear and mastoid . Ann. Otol. Rhinol. Lary. 89. (1) : 33-43 .
- Papastavros, T. ; H. Giamarellov, and S. varlejides. 1986. The role of aerobic and anaerobic Microorganism in CSOM. Laryngoscop. 96(4):438 -442.
- Paulose, K. O. ; S. Al-khalifa ; P. Shenoy, and R. K. Sharma .1989. Mycotic infection of ear (otomycosis) . Aprospective study .The J. of Lar. and Otol. 103(1) 30-35 .
- Pelton, S. I. ; D. W. Teele ; P. A. Schurin, and J. O. Klein.1980 . Disparate cultures of middle ear fluids. Am. J. Child. 134(10):951-953 .
- Poole, M. D. 1998 . Implications of drug resistant *S. Pneumoniae* For otitis media. Pediatr . Infect . Dis. J., (17-10) : 953-956.
- Prellner, K. ; G. Kahimeter ; P. Marchisio, and G. S. Giebing. 1999 . Update of microbial problems in pediatric otorhinolaryngology plenary session. Int. J. of Pediatr. Otorhinolaryngol. 49(Suppl. 1) : s31-s33 .
- Raju, K.G. ; P. Unnykrishnan ; R. C. Nayar ; S. Dutt , and R. Macaden. 1990 . Reliability of conventional ear swabs in tubotympanic CSOM. J. Laryngol. and Otol. 104(6) : 460-2.
- Rama Rao, M. V., and P. A. Jayakar.1979 . Bacteriological study of CSOM .J. Ind. M. A. 75(2) : 30-33 .
- Raman, R. 1988 . Middle ear effusion – A thearetical neuro mechanical hypotheses . The J. of Laryngol. and Otol . 102 : 10-13.

- Rayner, M. G. ; Y. Zhang ; M. C. Gorry ; Y. Chen ; J. C. Post ; C. D. Ehrlich .1998 . Evidence of Bacteria metabolic Activity in culture Negative OME .JAMA. 279(4) : 296-299.
- Riding, K. H. ; C. D. Blueston ; R. H. Michaels ; E. I. Cantekin ; W. J. Doyle, and C. S. Poziviak .1978 . Microbiology of recurrent and chronic Otitis media with effusion . The J. of Pediatr.,93(5): 739-43.
- Rist, E. (1898). Etudies Bacteriologiquise sur les infections D'origine otique, these pour le Doctorate in Medecine . Faculte de medicine de-paris. Cited by Fulghum, *et al.*,(1977).
- Rosebury, T. (1962). Microorganism indigenous to man McGraw Hill Book co, New York. Cited by Brook, I. (1981) .
- Safwat, F. ; A. Alan ; O. Gonar ; H. Negm, and M. Hegaz. 1992 . Discharging ear and teething . New Egypt. J. of Med. .6(6):1712-1725 .
- Schwartz, R.H. (1981). Bacteriology of otology . Areview . Otolaryngology . Head – Neck- Surg. 89: 444 .
- Scotts Brown's Otolaryngology, Otolaryngology (1997). Edited by Booth J.B. 6th ed. Vol.3.
- Scotts Brown's Otolaryngology, Otolaryngology (1997). Edited by Michael Gleeson 6th ed. Vol. 5 .
- Senturia, B. H. 1957 . Disease of the external ear springfield III. Cited by Muglston and Odonoghue (1985) .
- Shimotakahara, S. G. ;R. F. Ruby, and H. B. Lanpe. 1989 . Otitis media with effusion in the adult. J. of Otol. Rhino. And Lary . 18(3):85-88.
- Sipila, P. ; A. M. Jokipii ; I. Jokipii, and P. Karma. 1981 . Bacteria in the middle ear and ear canal of patient with secretory otitis media. and with non inflamed ears. Acta Otolaryngol. 92(1-2) : 123-130 .
- Sohn, Y. M. 1998 . Use of vaccine in the era antimicrobial resistance need of effective pneumococcal vaccines, Yonsei med. J. 39(6) : 611-618 .

- Stool, S. ; C. Johnson, and A. Stark. 1998 . Diagnostic and Managemtt of OM. *Pediatr. in review* . 19 (12) : 1-7 .
- Sweeney, G. ; G. L. Picozzi, and G. G. Browning . 1982 . Aquantitative study of aerobic and anaerobic bacteria in CSOM .*J. of infect.* 5(1) : 47-55 .
- Talwar, P. ; A. Chakrabarti ; P. Kaur ; R. K. Pahwa ; A. Mittal , and Y. N. Mehra. 1988 . Fungal infection of the ear with special reference to CSOM . *Mycopathologia* 104(1) : 47-50 .
- Tarlow, M. 1998 . Otitis media pathogenesis and medical sequelae . *Ear – Nose - Throat* . 77(6 suppl) : 3-6.
- Thorp, M. A. ; S. P. Oliver ; J. Kruger, and C. A. J. prescott .2000. Burow’s solution in the treatment of active mucosal CSOM determination an effective dilution. *The J. of laryngol. and otol.* 114 (6) : 432-436 .
- Tisner, J.; Millen, J.; Rivas, P.; Adiego, I.; A. Castellote, and H. Valles, 1995. Otomycosis and topical application of thimerosal. Study of 152 cases. *Acta-Otorrinol-ESP.* 46(2): 85-9.
- Vaishnar, S. K.,and D. L. Chnangani. 1981 . Evaluation of bacteriological status in CSOM Laocasel – Indian. *J. Pathol. Mirobiol*, 24 : 113 .
- Vartiainen, E. ,and J. Vartiainen. 1996 . Effect of aerobic bacteriology and treatment results of CSOM.*The J. of Larg. and Otol.* 110(4)315-318.
- Warrent, W.S. , and S. E. Stool .1971 . Otitis media in low birth weight infants. *J. Pediatr.* 79: 740-743 .
- Williamson, H. A. ; J. R. Depra, and I. A. Sulzerger. 1991 . Lack of seasonal variability for recurrent otitis media in very young children . *J. of family practice* , 33 : 489-493.
- Wisteriech, G. A. and Lechtman, M. D. (1980). *Laboratory execrcises in Microbiology* . 14 tned. Glencoe Publningco. U S A .
- Wright, I. 1970. The bacteriology of Ear –Nose - Throat diseases . *The J. of Laryngol. and Otol.* 84 .(1) 283-308 .

- Yagi, H . I. 1990 . Chronic suppurative otitis media in Sudanese patients,
East – Afr – Mead – J . 67(1) ; 4-8 .
- Yehia, M. M. ; H. M. Al- Habib, and N. M. Shehab. 1990 . Otomycosis ;
Acommon problem in North Iraq. J. Laryngol– Otol–104(5):387.
- Yuen, A. R. ; P. Y. Chau, and W. I. Wei. 1995 . Bacteriology of CSOM.
Ofloxacin susceptiblity .J . Otolaryngol. 24 (3) : 206 –8 .
- Zakzouk, S. M. , and E. Mahgoub. 1980 . Otitis media in Saudi Arabia
Bacteriological and clinical study. Saudi. Med. J. 1(6) S17.

جدول رقم (9) البكتريا المشتركة مع الفطريات في اصابة الاذن الخارجية

| المجموع | <i>Diphtheroidis</i> <i>spp.</i> | <i>Proteus</i> <i>spp.</i> | <i>Klebsiella</i> <i>Spp.</i> | <i>S. pneumoniae</i> | <i>S. epidermidis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>P. aeruginosa</i> | العزلات البكتيرية العزلات الفطرية |
|---------|-------------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|----------------------|-----------------------|------------------|----------------------|--------------------------------------|
| 7 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 2 | <i>A. niger</i> |
| 4 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | <i>A. fumigatus</i> |
| 3 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | <i>A. flavus</i> |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | <i>A. terreus</i> |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | <i>Penicillium spp.</i> |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | <i>C. albicans</i> |
| 18 | 2 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 6 | المجموع |

جدول رقم (2) الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في تشخيص البكتريا الموجبة لصبغة غرام

| <i>S.pyogenes</i> | <i>S.pneumoniae</i> | <i>S.epidermidis</i> | <i>S.aureus</i> | الاختبارات |
|-------------------|---------------------|----------------------|-----------------|-------------------------------------|
| + | + | + | + | صبغة غرام |
| - | - | - | - | فحص الأوكسيديز |
| - | - | + | + | فحص الكاتيليز |
| β | αααααααααα α | α- | β | انتاج الهيمولابسين |
| - | - | - | + | النمو على وسط غراء المانيتول الملحي |
| - | - | - | + | انتاج انزيم التجلط |
| - | | + | + | تحلل الجيلاتين |
| - | | + | + | اختزال النترات |
| - | - | - | - | قابلية الحركة |
| ت | | ت | ت | فحص التخمر والاكسدة |
| + | + | + | + | تخمير سكر الكلوكوز |
| + | + | + | + | لاكتوز |
| - | + | + | + | سكروز |
| - | + | - | + | ماينتول |
| + | - | - | - | فحص الحساسية للبيستراسين |
| - | + | - | - | فحص الحساسية optochin |

جدول رقم (3) الفحوصات الكيموحيوية المستخدمة في تشخيص البكتريا السالبة لصبغة غرام

| <i>M. catarrhalis</i> | <i>Klebsiella</i> | <i>E. coli</i> | <i>Acinetobacter</i> | <i>Proteus</i> | <i>P. aeruginosa</i> | الاختبارات |
|-----------------------|-------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|--------------------|
| - | - | - | - | - | - | صبغة غرام |
| + | - | - | - | - | + | فحص الأوكسيديز |
| + | + | + | + | + | + | فحص الكاتيليز |
| - | | - / β | | | - / β | انتاج الهيمولابسين |

| | | | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|---|
| - | -/+ | + | - | -/+ | - | انتاج الاندول |
| | - | + | - | + | - | اختبار احمر المثيل |
| | + | - | + | - | - | اختبار الفوكس بروسكور |
| - | + | - | + | | + | استهلاك السترات |
| + | + | - | + | - | + | استهلاك المألونيت |
| - | + | - | - | + | - | تحليل اليوريا |
| | ح/ح | ح/ح | ح/ح | ق/ق | ق/ق | النمو علوسط غراء كلكلر |
| - | - | - | - | + | + | انتاج H2S |
| | + | + | + | - | - | نزع مجموعة الكارايوكسيل من اللايسين |
| | - | - | - | - | + | الأرجنين |
| - | - | + | - | + | + | تحليل الجيلاتين |
| - | - | + | - | + | + | قابلية الحركة |
| + | | + | + | + | + | اختزال النترات |
| - | - | - | - | + | - | الكشف عن انزيم الفنيل دي الأنين |
| | | | | | + | فحص التخمر والاكسدة تخمر سكر الكلوكوز |
| - | | - | | | + | فركتوز |
| - | | - | ح | ح | - | كلاكتوز |
| - | | + | A | | - | زايلوز |
| | | - | - | | - | انوسيتول |
| - | | + | A | | - | نكروز |
| - | | + | A | | - | مالتوز |
| - | | + | A | | - | لاكتوز |
| - | | + | A | | - | ماننتبول |