

دراسة تأثير حامض الخليك على أنواع مختلفة من البكتيريا المسببة لالتهاب الأذن الوسطى المزمن

م.د. رنا مجاهد عبد الله ، قسم علوم الحياة / كلية التربية ابن الهيثم / جامعة بغداد
أروى مجاهد الشويخ/قسم الأحياء المجهرية / كلية الطب / جامعة النهرين

المستخلص:

هدف الدراسة :- دراسة تأثير حامض الخليك على أنواع المختلفة من البكتيريا المسببة لالتهاب الأذن الوسطى المزمن.

طريقة الدراسة :- تم الحصول على (٨٠) عزلة من مجموع (١٢٠) مسحة أذن من مرضى يعانون من التهاب الأذن الوسطى المزمن ، زرعت العينات على الأوساط الزرعية الاغناوية والتفريقية لغرض عزل المسببات البكتيرية والفطرية ، ومن ثم أخضعت المزارع البكتيرية الى الفحوصات المجهرية والبايوكيميائية لغرض تشخيصها . تم استخدام عدة التشخيص api20E لغرض التشخيص النهائي للبكتيريا السالبة لصبغة كرام .

النتائج :- كانت بكتريا *Pseudomonas aeruginos* الممرض السائد في التهابات الأذن الوسطى المزمنة اذا عزل (48) عزلة منها بنسبة (40%) ، تليها كل من بكتريا *Proteus mirabilis* و *Staphylococcus aureus* إذا كان عدد العزلات 17 (14.17%) و 15 عزلة (12.5%) وعلى التوالي. أظهرت العزلات تباينا واضحا وبنسب مختلفة في مقاومتها للمضادات الحيوية فكانت اغلبها مقاومة لمضادات الامبسلين والاموكسسلين والبيراسلين والسيوفوتاكسيم والجنتاميسين والتوبرمايسين بينما اظهرت اغلب العزلات حساسية لمضادات الاميكاسين والسبروفلوكساسين والافلوكساسين . أظهرت نسبة (100%) من العزلات المحلية المسببة لالتهابات الأذن الوسطى المزمنة حساسيتها لحامض الخليك بتركيز 2% و 3% .
الاستنتاج:- أظهرت الدراسة ان حامض الخليك أعطى فعالية عالية لعلاج إصابات هذه البكتيريا.
مفتاح الكلمات:-التهاب الأذن الوسطى المزمن ،المقاومة للمضادات الحيوية ،حامض الخليك.

Studying the Effect of Acetic Acid against Different Types of Bacteria Causing Chronic Otitis Media

Dr. Rana Mujahid. Abdullah Department of Biology /College of Education Ibn Al-Haitham/ University of Baghdad.

Arwa Mujahid Al-shwaikh ssistance Lecturer Department of Microbiology/ College of Medicine / University of Al_ Nahrain

Abstract

Objective:-Studying the effect of acetic acid against different types of bacteria causing chronic otitis media.

Methods:-Eighty isolates were obtained from (120) ear swab samples suppurative otitis media. They were inoculated directly onto enrichment and selective media for the isolation of the causative microorganisms (bacteria and fungi).The isolates were identified using

different microscopically and cultural characteristics and biochemical tests. Final identification of some gram negative bacteria were performed by using api 20 E system.

Results: - *Pseudomonas aeruginosa* was the most common isolated bacteria 48 isolates (40%), followed by *Proteus mirabilis* and *Staphylococcus aureus*. which constituted 17 (14.17%) and 15 (12.5%) of the total isolates respectively. Sensitivity of the isolates to antibiotic leveled high resistance to Ampicillin, Amoxicillin, Piperacillin, cefotaxime, Gentamicin and Tobramycin. To less extent was the resistance to Amikacin, Ofloxacin and Ciprofloxacin. All the isolates of pathogenic bacteria were found to be highly sensitive to 2% and 3% of acetic acid solutions.

Conclusion: - The study shows that acetic acid has higher effect as a treatment to these bacteria.

Key words: - chronic otitis media, resistance of antibiotic, acetic acid.

المقدمة:

يعد التهاب الأذن الوسطى المزمن من المشاكل الصحية الخطيرة والشائعة بين المراجعين للعيادات الطبية ، وقد يؤدي في النهاية الى حدوث ثقب في غشاء الطبلة (ثقب في طبلة الأذن أو القناة السمعية) ويؤدي الى حدوث سيلان الأذن Otorrhea (١). قد يحدث الالتهاب في أذن واحدة أو في كليهما. يكون التهاب الأذن الوسطى اكثر شيوعا في الأطفال، ويصيب الكبار البالغين ويزداد عدد المرضى في فصل الشتاء وأشهر الربيع مقارنة ببقية فصول السنة. ان هذا المرض يعد من الأمراض المهمة التي تسبب مشاكل كثيرة بين أفراد المجتمع وضمن الفئات العمرية ويكون الرضع والأطفال اكثر عرضة للإصابة بالتهابات الأذن الوسطى من الكبار لانهم اكثر عرضة للجراثيم المسببة لالتهابات الأذن الوسطى وذلك لوجود اختلاف في تركيب الأذن بين الصغار والكبار كما وأن المناعة ضد الجراثيم لدى الرضع تكون قليلة. وقد يسبب المرض إصابات بأمراض اخرى كنزلات البرد Common Cold والتهابات الجيوب الأنفية Sinusitis والتهاب الحنجرة Sore throats خاصة في السنين الأولى من حياة الطفل. ان تطور هذا المرض قد يؤدي الى شلل الوجه ، خراج الدماغ ، التهاب الأذن الداخلية ، الصمم الكامل ، قلة السمع وأحيانا يؤدي الى فقدانه في الأطفال والرضع مما يقلل من فرصتهم للنطق والتعلم في هذه المرحلة المبكرة من أعمارهم (٢). ان من أهم المسببات للمرض هي بكتريا *P. aeruginosa* و *S. aureus* و *Streptococcus spp.* ، أضافه الى أنواع عديدة من عائلة *Enterobacteraceae* ولاسيما بكتريا *Proteus mirabilis* ، *E. coli* وقد يشترك قسم من البكتريا اللاهوائية في إحداث هذا المرض إضافة لبعض الفطريات

المسببة للمرض ومنها *Candida albicans* spp. *Aspergillus* وقد تتسبب الفايروسات في إحداث المرض (٣).

ان ازدياد مقاومة هذه البكتريا للمضادات الحيوية التي كانت حساسة لها في السابق، وظهور سلالات تمتاز بكونها متعددة المقاومة لعدة أنواع من المضادات الحيوية، جعل من الضروري التحري عن علاجات جديدة لهذه الأنواع من البكتريا المقاومة يفضل مع إعطاء العلاج بالمضادات للمصابين بالتهاب الأذن الوسطى، اجراء تنظيف للأذن على يد كادر طبي متخصص (٤). ويتم التنظيف عن طريق سحب الخراج من الأذن والقناة السمعية وبعدها توصف المضادات الحيوية الموضعية *topical antibiotics*، وفي الحالات المزمنة لالتهابات الأذن الوسطى قد يحصل تداخل جراحي وخاصة تلك الإصابات المتسببة عنها بكتريا *P. aeruginosa* (٥). ومن المواد الأخرى التي تستعمل لعلاج التهابات الأذن الوسطى المزمن مواد معقمة موضعية ذات فائدة علاجية كبيرة وذلك لأنها تجعل منطقة الأذن الوسطى حامضية وغير ملائمة لنمو اغلب الأنواع البكتيرية التي لا تفضل النمو في هذه الظروف، ومن هذه المواد المستعملة قطرات الفينول *Phenol*، خلات الألمنيوم *Aluminum acetate*، حامض البوريك *Boric acid* إضافة الى استعمال حامض الخليك *Acetic acid* لهذا الغرض، وقد وجد العديد من البحوث التي بينت استعمال حامض الخليك بتركيز مختلفة لوحده او خلطه مع الكحول، من اجل منع نمو البكتريا والفطريات التي قد تسبب التهاب الاذن الوسطى والخارجية، اذ ان حامض الخليك يعمل كعامل مساعد مع المضادات الحيوية لعلاج الالتهاب ولا يستعمل لوحده في العلاج، لان فعالية الحامض هي في تغيير المحيط الخارجي لقناة الاذن مما يجعله غير ملائم لنمو البكتريا او الفطريات المسببة للمرض (٦).

طرائق العمل :

جمعت العينات التي تناولتها الدراسة عن طريق اخذ (120) مسحة أذن (تحت الإشراف الطبي) من المرضى الذين يعانون من التهابات الأذن الوسطى المزمن والذين يراجعون العيادة الخارجية والاستشارية للأنف والأذن والحنجرة في مستشفى الكاظمية التعليمي . لعزل وتشخيص البكتريا المأخوذة من العينات زرعت كل مسحة على وسط اكار الدم المغذي ووسط اكار الماكونكي ، زرعت العينات كذلك على وسط اكار الساببيرويد لغرض عزل وتشخيص الفطريات التي يحتمل ان تتواجد.ومن ثم اخضعت العزلات البكتيرية الى الفحوصات المجهرية والبايوكيميائية لغرض تشخيصها حيث استعمل فحص الكاتاليز وانزيم مخثر للبلازما والاكسديز واليوريز والاندول والمثل الاحمر والفوكس بروسكاور واستهلاك السترات. تم استعمال عدة

التشخيص api20E لغرض التشخيص النهائي للبكتريا السالبة لصبغة كرام (Bio Merieux France) ، اما عن المضادات الحيوية المستخدمة في فحص الحساسية فقد اسستعمل كل من : Amikacin(AK)30µg ، Ofloxacin(OFX)10µg ، Ampicillin (AM) 10µg ، Amoxicillin(AMX)10µg ، Ciprofloxacin(CIP)5µg ، Cefotaxime(CTX)30µg Gentamicin (CN)10µg ، Tobramycin (TOB)10µg Piperacillin(PIP)100µg واعتمادا على طريقة Kirby Bauer المذكورة في (7).

ولاختبار تأثير الفعالية التضادية لحمض الخليك Acetic Acid على نمو البكتريا اتبعت طريقة الانتشار بالاكار بواسطة الحفر The agar Well Diffusion Method لدراسة تأثير حامض الخليك في بعض العزلات من البكتريا المرضية قيد الدراسة . حيث لقع سطح أطباق تحتوي على اكار مولر هنتون Muller Hinton و بواسطة مسحة معقمة (Sterile Swab) من العالق البكتيري. عملت حفر بقطر (5) ملم على سطح الوسط الزرعى بواسطة الناقب الفليني المعقم ثم وضعت التراكيث المحضرة لحمض الخليك (١ ، 2 ، 3%) في كل حفرة مع بقاء حفرة سيطرة تحتوي على ماء مقطر معقم. حضنت الأطباق بدرجة (37 م°) مدة (24) ساعة ، ثم حددت فعالية حامض الخليك بقياس منطقة التثبيط للبكتريا حول كل حفرة (8). استخدام اختبار Chi-square (X2) لغرض اختبار معنوية الإصابة بانواع البكتريا المرضية. أظهرت النتائج ان اكثر الأنواع المسببة لالتهابات الأذن الوسطى كانت بكتريا P. aeruginosa ، إذ ظهرت (48) عزلة تعود لهذا النوع أي نسبة (٤٠%). تليها بكتريا Proteus mirabilis التي مثلت (17) عزلة أي نسبة (14.17%). أما في المرتبة الثالثة كانت بكتريا S. aureus ومثلت (١٥) عزلة أي نسبة (١٢,٥%). أوضح التحليل الإحصائي باستعمال مربع كأي ان هنالك فروقا معنوية ($P < 0.001$) بالنسبة للأنواع البكتيرية المسببة للمرض إذ كانت أعلى نسبة إصابة ببكتريا P. aeruginosa تليها بكتريا P. mirabilis وجاءت بعدها بكتريا S. aureus. عزلت بكتريا S. epidermidis اذ كانت (12) عزلة بنسبة (١٠%). عزلت بعض أنواع الفطريات من الحالات المرضية وكانت اكثر الأنواع المعزولة تعود الى الفطريات Aspergillus spp. و Candida spp. والتي شكلت نسبة (3.33%) و(1.67%) وعلى التوالي من أعداد المسحات البالغة (120) مسحة. يعتبر هذان الجنسان من الفطريات من اكثر أنواع الفطريات التي تسبب في حدوث الإصابة بالتهابات الأذن ، ولم يبحث فيها في الدراسة الحالية وإنما تركت لدراسات مستقبلية. وجد في هذه الدراسة (18) حالة (15%) لم يظهر في المسحات المزروعة أي نمو بكتيري أو فطري على الرغم من وجود التهاب مستمر لدى المرضى وكما موضح في شكل (١).

أظهرت النتائج ان هنالك تباينا واضحا في تأثير المضادات الحيوية على أنواع البكتريا المختلفة حتى ضمن النوع البكتيري الواحد. اظهرت بكتريا *P. aeruginosa* مقاومة عالية لمضادات (Ampicillin ، Amoxicillin) بنسبة (100%) لكل منهم. أما عزلات بكتريا *Proteus mirabilis* فكانت مقاومتها لمضادات Ampicillin و Amoxicillin بنسبة (70.5%). أما بالنسبة لبكتريا *S. aureus* فكانت مقاومتها لمضادات Ampicillin ، Amoxicillin كآلاتي (100%)، (80%) على التوالي. أما بالنسبة لمضاد Piperacillin فكانت مقاومة بكتريا *P. aeruginosa* له بنسبة (85.4%) أما *Proteus mirabilis* فكانت (76.47%). أما النسبة لبكتريا *S. aureus* فكانت نسبة المقاومة (66.6%). أما مضاد Cefotaxime من مجموعة البييتالاكتام فكانت مقاومة بكتريا *P. aeruginosa* و *Proteus mirabilis* و *S. aureus* له بنسبة (75%) ، (47.05%) ، (33.3%) على التوالي .

أما اكثر المضادات الحيوية التي أظهرت تأثيرا واضحا على العزلات البكتيرية كانت لمضادي Ciprofloxacin و Ofloxacin فكانت نسبة المقاومة لهما لجميع انواع البكتريا المعزولة .

أما عن فعالية مضادات مجموعة الامينوكلاوسايد ضد العزلات المرضية ، فكانت فعالية مضاد Amikacin عالية على بكتريا *P. aeruginosa* و أظهرت نسبة مقاومة واطئة (6.25%). أما عزلات كل من *Proteus mirabilis* و *S. aureus* فقد أظهرت حساسية عالية تجاه هذا المضاد حيث كانت نسبة الحساسية (100%) لكل منهم .أما بالنسبة لمضادي Gentamicin و Tobramycin فكانت مقاومة *P. aeruginosa* بنسبة (41.6%) ، (29.16%) على التوالي . أما بكتريا *Proteus mirabilis* فكانت نسبة مقاومتها لمضاد Gentamicin (35.29%) ولمضاد Tobramycin (11.76%). أما بكتريا *S. aureus* فلم تظهر أية مقاومة لمضاد Tobramycin، في حين كانت مقاومتها لمضاد Gentamicin واطئة (20%) ، وكما موضح في جدول (١).

اختبرت حساسية العزلات لحامض الخليك acetic acid وذلك باستعمال طريقة الحفر في الاكار The agar well diffusion method . إذ استخدمت ثلاثة تراكيز مختلفة (1%) ، (٢%) ، (3%) من الحامض . قيست منطقة تثبيط نمو البكتريا لملاحظة حساسية عزلات *P. aeruginosa* ، *Proteus mirabilis* ، *S. aureus* لحامض الخليك وقد قورنت النتائج مع حفرة حارية على الماء المقطر المعقم كسيطرة سالبة ، اختبرت خمس عزلات تابعة لكل من بكتريا *P. aeruginosa* ، *Proteus mirabilis* ولبكتريا *S. aureus* وكانت هذه العزلات الأكثر مقاومة لأنواع مختلفة من المضادات الحيوية. أظهرت النتائج وجود مناطق تثبيط لنمو عزلات البكتريا الثلاث إذ كان قطر منطقة التثبيط للتركيز (1%) يتراوح بين

(10) و(15) ملم ، ولتركيز(2%) كان قطر منطقة التثبيط يتراوح بين (14) و(20) ملم. أما التركيز (3%) فكان قطر منطقة التثبيط له يتراوح بين(١٨) و(30) ملم و كانت هذه النتائج لأنواع الثلاثة من البكتريا قيد الدراسة متقاربة. يبين جدول (2) وشكل (2) أقطار ومناطق التثبيط للتراكيز الثلاثة المستعملة للحامض للعزلات المسببة لالتهابات الأذن الوسطى .

المناقشة :

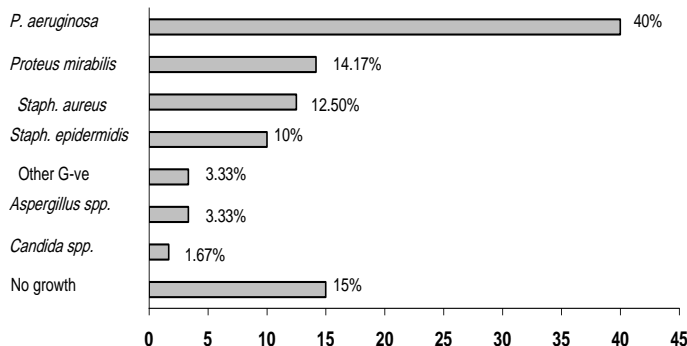
أظهرت النتائج ان اكثر الأنواع السائدة والمسببة لالتهابات الأذن الوسطى كانت بكتريا *P. aeruginosa* تليها بكتريا *Proteus mirabilis* و *S. aureus* وهذه النتائج جاءت متفقة مع الكثير من الباحثين الذين بينوا ان المسبب الرئيسي لالتهابات الأذن الوسطى هي بكتريا *P. aeruginosa* وتسجل أعلى نسبة لأحداث المرض بين الأنواع الأخرى من البكتريا (٩). اوضح التحليل الاحصائي باستعمال مربع كاي ان هنالك فروقا معنوية ($P < 0.001$) بالنسبة للأنواع البكتيرية المسببة للمرض .

بينت العديد من الدراسات ان اكثر الأنواع البكتيرية أظهرت مقاومة عالية لمضادات البيتاالاكتام اذا وجد(١٠) ان نسبة (70 %) من بكتريا *aeruginosa* كانت مقاومة لمضادات البيتاالاكتام. أما بالنسبة لأنواع البكتريا العائدة لعائلة *Enterobacteraceae* فكانت حساسيتها واطئة لمضاد *Ampicillin* وكانت بنسبة(24.5%) . ويعود سبب مقاومة البكتريا الى عدة أسباب منها: إنتاجها لإنزيمات البيتاالاكتاميز التي يشفر عنها جين محمول على الكروموسوم أو البلازميد، أما وجود بعض العزلات في هذه الدراسة غير المنتجة لإنزيمات البيتاالاكتاميز إلا أنها كانت مقاومة لمضادات البيتاالاكتام فقد يعود سبب ذلك الى وجود آليات اخرى للمقاومة مثل قابلية البكتريا على تغيير نفاذية الغشاء الخارجي لها أو تغيير موقع هدف عمل هذه المضادات وغيرها.

أما اكثر المضادات الحيوية التي أظهرت تأثيرا واضحا على العزلات البكتيرية فكانت لمضادي *Ciprofloxacin* و *Ofloxacin* اذا كانت جميع العزلات في هذه الدراسة حساسة لهذين المضادين وبنسبة (100 %). جاءت هذه النتائج متفقة مع نتائج (١١) الذين وجدوا فعالية عالية لهذين المضادين على العزلات المرضية من بكتريا *P.aeruginosa* ، *Proteus mirabilis* و *S. aureus* . بين (١٢) ان حساسية أنواع البكتريا المعزولة من التهابات الأذن الوسطى المزمدة مثل بكتريا *P.aeruginosa* ، *Proteus mirabilis* و *S. aureus* لمضاد *Ciprofloxacin* كانت (95 %). وقد أشار العديد من الباحثون الى أن مضادات الكينولينات من افضل العلاجات المستخدمة في حالات التهابات الأذن الوسطى المزمدة (١٣).

اما بالنسبة لمضادات الامينوكلايكوسايد فكانت فعالية مضاد Amikacin عالية على بكتريا *P. aeruginosa* وتقترب نتائجنا هذه مع نتائج الذين ذكروا ان حساسية عزلاتهم من بكتريا *P.aeruginosa* ، *Proteus mirabilis* و *S. aureus* المعزولة من التهابات الأذن الوسطى المزمدة لمضاد Amikacin كانت عالية (93.9%). اما بالنسبة لمضاد Gentamicin فجاءت النتائج متفقة مع ما ذكره (١٤) الذين وجدوا ان عزلاتهم لبكتريا *P. aeruginosa* ، *Proteus mirabilis* و *S. aureus* المسببة لالتهابات الأذن الوسطى أظهرت حساسية عالية لمضاد Gentamicin، أما بالنسبة لمضاد Tobramycin فقد كانت مقاومة كل من بكتريا *P. aeruginosa* و *Proteus mirabilis* في الدراسة الحالية بنسبة (29.16%) و (11.76%) وعلى التوالي. أما بكتريا *S. aureus* فلم تظهر أي مقاومة لهذا المضاد ، وفي الدراسات التي ذكرها الباحثون ، أشاروا الى ان مضاد Tobramycin يعد من اكثر الأدوية فعالية لعلاج التهابات الأذن الوسطى المزمدة لذا يمكن التوصية باستعمال هذا المضاد لمعالجة حالات التهابات الأذن المتسببة عن بكتريا العنقوديات الذهبية.

اختبرت حساسية العزلات لحامض الخليك اذا أظهرت النتائج وجود مناطق تثبيط لنمو عزلات البكتريا الثلاث وجاءت نتائجنا مشابهة لنتائج الذين وجدوا كفاءة استعمال حامض الخليك في حالات التهابات الأذن الوسطى المزمدة لتثبيط نمو الأحياء المجهرية (١٥) ، وقد بين انه من الضروري استخدام التركيز الملائم لحامض الخليك عند استخدامه في العلاج وان إعطاء هذا المحلول علاجا موضعيا لالتهابات الأذن الوسطى المزمدة والتهابات الاذن الخارجية حيث تنخفض الب pH لقناة الأذن فيؤدي الى تغيير في محيط الاذن يعمل على زيادة الحموضة acidification وبالتالي تصبح بيئة غير ملائمة لنمو البكتريا في محيط الاذن الذي اصبح حامضيا (١٦)، وهنا يأتي دور حامض الخليك الذي يعمل كعامل مساعد مهم للقضاء على الأنواع البكتيرية المسببة للمرض ولاسيما تلك البكتريا التي تظهر مقاومة عالية للمضادات اضافة الى انواع الفطريات التي تسبب المرض ايضا (١٧). وقد وجد في دراسة انه يمكن استعمال حامض الخليك مع الكحول كقطرات موضعية ٣-٤ قطرات لمدة اربعة مرات يوميا من اجل علاج التهاب الاذن الوسطى والخارجية مع اعطاء المضادات الحيوية (١٨).



شكل (١) توزيع الأحياء المجهرية والنسبة المئوية للإصابة بالتهابات الأذن الوسطى المزمن.

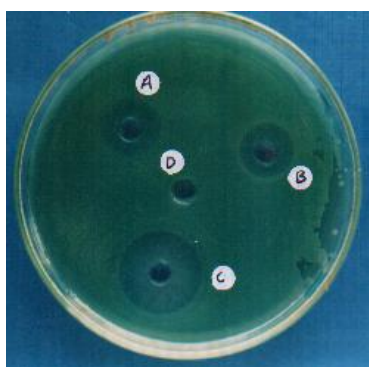
جدول (١) عدد العزلات والنسبة المئوية للمقاومة البكتريا لأنواع مختلفة من المضادات الحيوية .

عدد عزلات البكتريا (النسبة المئوية للمقاومة %)			المضاد المستخدم
<i>S. aureus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	
15 (100)	12 (70.5)	48 (100)	Ampicillin
12 (80)	12 (70.5)	48 (100)	Amoxicillin
0	0	3 (6.25)	Amikacin
5 (33.33)	8 (47.05)	36 (75)	Cefotaxime
0	0	0	Ciprofloxacin
3 (20)	6 (35.29)	20 (41.6)	Gentamicin
0	2 (11.76)	14 (29.16)	Tobramycin
0	0	0	Ofloxacin
10 (66.6)	13 (76.47)	41 (85.4)	Piperacillin

جدول (٢) تأثير استعمال حامض الخليك على تثبيط النمو للبكتريا المعزولة.

تراكيز حامض الخليك (قطر منطقة التثبيط مقاسه بالملم)			رقم العزلة البكتيرية
3 %	2 %	1%	
22	20	15	COMPs10
25	20	13	COMPs13
30	15	10	COMPs14
24	16	14	COMPs17
24	17	15	COMPs34
21	18	14	COMPm49
22	16	15	COMPm50
22	16	15	COMPm54
22	17	15	COMPm55
21	18	15	COMPm62
23	20	12	COMSa67
22	14	13	COMSa68
25	15	14	COMSa76
18	17	14	COMSa78
24	15	13	COMSa80

S. aureus =COMSa ، *Proteus mirabilis* =COMPm ، *P. aeruginosa* = COMPs*



* A = يمثل تركيز 1 % ، B = يمثل تركيز 2 % ، C = يمثل تركيز 3 % ، D = يمثل السيطرة السالبة.
شكل (٢) يوضح مناطق التثبيط لتراكيز مختلفة من حامض الخليك لبكتريا *P. aeruginosa*.

Reference

1. Kenna, M. A.; Bluestone, C. D.; Reilly, J. S. and Lusk, R. P.(1986).Medical management of chronic suppurative otitis media without cholesteatoma in children. *Laryngoscope* .96 (4): 146 – 151.
2. Abolfotouh, M. A. and Badawi, I. A. (1995). Hearing loss and other ear problems among school boys in Abha, Saudi Arabia. *Annals of Saudi Medicine*. 15 (4) : 323 – 326
3. Sumitsawan, Y.; Prawatmuang, W.; Tharavichitkul, P.; Ingsuwan, B. and Sriburi, P. (1995). Ofloxacin otic solution as treatment of chronic suppurative otitis media and diffuse bacterial otitis externa. *J. Med. Thai*. 78 (9): 455 – 459.
4. Wilde, A. D.; England, J. and Jones, A. S. (1995). An alternative to regular dressings for otitis externa and chronic suppurative otitis media? *The Journal of Laryngology and Otology*. 109 (9): 101 –103.
5. Vartiainen, E. and Vartiainen, J. (1996). Effect of aerobic bacteriology on the clinical presentation and treatment results of chronic suppurative otitis media. *The Journal of Laryngology and Otology*. 110 (4): 315 – 318.
6. Fairbanks, D. N. F. (1984). Antibiotic ear – drop use in the non – intact typanic membrane. *Pediatric Annals*. 13: 411 – 415.
7. Vandepitte, J.; Engbaek, K.; Piot, P. and Heuck, C. C. (1991).Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. WHO. Geneva. PP. 78 – 95.
8. Mahmoud, M. J. ; Jawad, A. Y.; Hussain, A. M. ; AL-Omari, M. and AL-Naib, A. (1984). In vitro antimicrobial activity of *salsola rosmarinus* and *adiantum capillus veneris*. *Int. J. Crnde Drug Res.*, Vol. 27: 14 – 16.
9. الصكر، رباب قاسم .(2000). دراسة عن بعض البكتيريا الهوائية المقاومة للمضادات الحيوية المعزولة من المرضى المصابين بالتهابات الأذن الوسطى. رسالة ماجستير- كلية العلوم- جامعة بغداد .
10. Shawar , R. M. ; Macleod , D. L. ; Garber , R. L. ; Burns , J. L. ; Stapp , J. R. ; Clausen, C. R. and Tanaka, S. K. (1999). Activities of tobramycin and six other antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*. 43 (12): 2877 – 2880.

11. Algun, U.; Arisoy, A.; Gunduz, T. and Ozbakkaloglu, B. (2004). The resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains to fluoroquinolone group of antibiotics. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 22 (Issue 2): 112-114.
12. Lorente , J. ; Sabater , F. ; Maristany , M. ; Jimenez , R. ; Menem , J. ; Vinas , J. ; Quesada, P.; Traserra , J.; Dicenta , M.; Abello, P. and Villar, E. (1994). Multi-centre study comparing the efficacy and tolerance of topical ciprofloxacin (0.3 %) versus topical gentamicin (0.3 %) in the treatment of simple non-cholesteatomatous chronic otitis media in the suppurative phase. *An. Otorrinolaringol Lbero. Am.* 22 (5): 521 – 533.
13. Neuhauser , M.M. ; Weinstein , R.A. ; Rydman , R. ; Danziger ,L. H. ; Karam, G. and Quinn , J.P. (2003) . Antibiotic resistance among Gram-negative Bacilli in US Intensive Care Units. *JAMA*. 289(7): 885-888.
14. AL-Faris, E. A.; Abdulghani, H.; Mukdomi, G. J.; Kambal, A. and AL-Muhaimeed, H. S. (1998). Microbiology and antimicrobial sensitivity of suppurative otitis media. *Saudi Medical Journal*. 19 (4): 417- 422.
15. Craig Griffin, D.V.M. (2006). Standards of Care (How I Treat) *Pseudomonas Otitis*. *World Congress WSAVA*. 99-100.
16. Jakobsson, B.; Hjelte, L. and Nystrom, B. (2000). Low level of bacterial contamination of mist tents used in home treatment of cystic fibrosis patients. *J. Hosp. Infect.* 44 (1): 37 – 41.
17. Osguthorpe, J. D. and Nielsen, D.R. (2006). *Otitis Externa: Review and Clinical Update*. *American Family Physician*. 74 (9), 1510-1516.
18. Gray, A. (2008). Review of essential medicine priorities in ear, nose and throat conditions in children. *Gray ENT priorities draft*. Geneva.