مرضى الربو والمدخنين: دراسة بكتريولوجية مقارنة

عدنان نعمه عبد الرضا/ جامعة ديالى / كلية التربية (الرازي) / قسم علوم الحياة

تاريخ استلام البحث:2011/3/6 - تاريخ قبول النشر: 2011/4/5

Abstract

The study includes isolation and identification of bacteria from sputum of three groups :the first (85 patients with asthma) ; the second (85 smokers) and the third (50 persons Healthy in appearance); a control group for the period from 1/1/2008 to 1/1/2009 in Baquba Hospital . The results show that Streptococcus pneumonia bacteria are dominant in the first and second groups with ratio %32.9 in comparison with the healthy group% 8 and Streptococcus viridians bacteria which presents %30 in the same group. The bacterial isolations differ in their sensitivity and resistance to some antibiotics; it was found that most of them were sensitive to Ciprofloxacin and Augmentin and resistant toAmpicillin Gentamycin.

الخلاصة

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص البكتريا في قشع ثلاثة مجاميع ,الاولى (85مرضيا مصابا بالربو) والثانية(85مدخنا) والثالثة (50شخصا من الاصحاء ظاهريا) كمجموعة سيطرة,للفترة الممتدة بين 1/1/ 2008 لغاية 1 /1/ 2009 في مستشفى بعقوبة التعليمي. تشير النتائج الى ان بكتريا Streptococcus pneumonia هي السائدة في المجموعة الأولى والثانية وبنسبة 32,9%, مقارنة بمجموعة الاصحاء والبالغة 8% وتمثيل بكتريا Streptococcus viridians نسبة30% في نفس المجموعة,تباينت العزلات البكتيرية في حساسيتها ومقاومتها اتجاه بعض مضادات الحياة , وجد ان اغلبها حساسا أتجاه المضاد Ciprofloxacinو Augmentin و مقاوما أتجاه Ampicillinو Gentamycin.

مرضى الربو والمدخنين: دراسة بكتريولوجية مقارنة

عدنان نعمه عبد الرضا

المقدمة

يعد الربو(Asthma)من بين الامراض التنفسية المزمنة يتباين في مسبباته (Etiology) وامراضيتة(Pathogenecity) وشدته (Sensitivity) واستجابته للعلاج وهو بمثابة أضطرابات التهابية مزمنة في الممرات الهوائية تشترك فيها العديد من الخلايا والعناصر الخلوية وخاصة الخلايا البدينة (Mast Cells) وخلايا الحمضة (Eosinophilis) والخلايا التائية (T-Cells) و خلايا البلعم الكبرى (Macrophages) و خلايا العدلة (Neutrophilis) وا لخلايا الظهارية (Epithelial Cells) (1) .يؤدي استنشاق دخان السكائر حث الممرات الهوائية للأشخاص المصابين بالربو (2) ويكون دخان السكائر مسئولا عن أكثر من نصف حالات الربو لدى الاشخاص الذين تفوق اعمارهم عن 40 سنة.أن تدخين السكائر يسبب التهاب القصبات المزمن وخلل في حركة الاهداب في المجرى التنفسي ويثبط الخلايا البلعمية السنخية (Alveolar Macrophage), وكذلك الالتهاب الحاد والتهيج القصبي(3). إن النيكوتين يغير من الدفاع الرئوي للمضيف (4)ويكبح الفعالية المضادة للميكروبات (5) .تعد البكتريا من المسببات المرضية المسئولة عن أخماج الجهاز التنفس السفلي بعد الفيروسات (6), وتؤدي الاخماج البكتيرية إلى تفاقم حدة نوبات الربو ,سواء كانت البكتريا مرضية أو متعايشة في القنوات التنفسية لها القدرة على حرير العديد من الوسائط منها الهستامين التي تسبب تحطيم الخلايا الطلائية للممرات الهوائية مما تؤدي الى فرط التحسس والتي تمهد لحصول نوبات ربو (Asthma attack) (8;7). كما تنعكس أهمية هذه البكتريا من خلال الدور الذي تلعبه كمصدر للمستأرجات (Source of allergens) .

أن الاخماج البكتيرية تشارك في تحوير الاستجابة لدى مرضى الربو وتلعب دورا مهما في حدوث الازيز مما قد يزيدمن سوءالحالة المرضية لديهم(9).تعد الذيفانات الخارجية والداخلية التي تفرزها البكتريا المرضية من العوامل المرضية المسببة للارجحية (10) .اظهرت دراسات عديدة دور المستأرجات البكتيرية في احداث الربو الأرجي فهي بحد ذاتها تشارك كمستأرجات تثير أرجية الجهاز التنفسي وفرط التحسس كتلك العائدة لبكتريا :- Strepto. pyogens وaureus Staphylococcus و Heamophilus influenza وMoraxella caterrhalis) و Streptococcus pneummonia (11،12).أشار بعض الباحثين إن لمضادات الحياة دورا مهما في القضاء على مستأرجات البكتيرية وتحجيم دورها من خلال التقليل من مستويات الهستامين الذي تطلقة الى الممرات الهوائية(13). تهدف الدراسة الحالية تشخيص البكتريا في قشع المجاميع (مجموعة المرضى المصابين بالربو ومجموعة المدخنين ومجموعة الأصحاء ظاهريا) ودورها في إحداث الخمج وتفاقم نوبات الربو واجراء مقارنة للاخماج البكتيرية المشخصة بين تلك المجاميع.

المواد وطرق العمل

1- مجاميع المرضى والسيطرة (Patients and Control Groups) شملت الدراسة 85 مريضا مصابا بالربو (49 من الذكور و 36 من الأناث) تراوحت اعمارهم بين 5-75 سنة , وامتدت الدراسة ا لتشمل 85 مدخننا(64 من الذكور و21 من الاناث) تراوحت اعمارهم بين 17-78 سنة.شخصت الاصابة بالربو من قبل الكادر الطبي في المركز الاستشاري لأمراض الحساسية والربو في بعقوبة وذلك بالأعتماد على الأعراض السريرية (Clinical Symptoms), فضلا عن المعلومات الخاصة بتأريخ المرض والتأريخ العائلي للأصابة بأمراض الحساسية ,فضلا عن أخماج الجهاز التنفسي السفلي وفق استمارة بحثيةأعدت لهذا الغرض. استمرت الدراسة من 2008/1/1 لغاية 2009/1/1 .

2- جمع نماذج القشع(Sputum Samples)وزرعها وعزل وتشخيص البكتريا

أعتمدت نماذج القشع الصباحي ,أذ جمعت في عبوات معقمة .استخدمت اوساط زرعية لغرض العزل والتشخيص, كما موضح في الجدول (1).

جدول (1):- الاوساط الزرعية Culture Media .

الاوساط الزرعية Culture Media	اسم الشركة ومنشأها Company and Nation
Blood Agar Base	Oxoid (ENGLAND)
Mannitol Salt Agar	Oxoid (ENGLAND)
MacConkey Agar	Oxoid (ENGLAND)
Muller-Hintone Agar	Oxoid (ENGLAND)
Nutrient Broth	Oxoid (ENGLAND)
TripleSugar Iron Agar	Oxoid (ENGLAND)
Simmon Citrate Agar	Oxoid (ENGLAND)
Urea Agar Base	Oxoid (ENGLAND)

Oxoid (ENGLAND)	Pepton Medium
Mast Diagnostic(ENGLAND)	Brain –Heart Infusion Broth
Oxoid (ENGLAND)	Methyl Red VogesProskaur Media
Oxoid (ENGLAND)	Eiosin Methylene Blue

كذلك استعملت الاقراص التشخيصية والتفريقية Differential and Diagnostic Discs والمجهزة من شركة Oxoid(England) والتي تشمل على Bacitracin differential disc و Optochin differential disc .
بعد جمع نماذج القشع ,نقلت العينات الى المختبر مباشرة وزرعت بطريقة التخطيط على Blood Agar Base وMacConkey Agar و Chocolate Agarوحضنت تحت الظروف الهوائية على درجة حرارة 37 º م لمدة 24-48 ساعة اما اطباق Chocolate Agar حضنت في مرطبات الشمع (Candle Jar) لتوفير 5-10% CO2 على درجة حرارة 37 م ولمدة 24-48ساعة.بعد اجراء سلسلة من عمليات التنقية والتأكد من نقاوة العزلات ,تم تشخيصها اعتمادا على كلا من (14 ، 15 ، 16) اضافة الى الصفات الزرعية الظاهرية واختبار الحركة(Motility Test) وتفاعلها مع صبغة كرام تم تشخيصها اعتمادا على مدى استجابتها من عدمة للأختبارات الكيمياحيوية(Biochemical tests), والمبينة في جدول(2).

جول (2) الاختبارات الكيمياحيوية التي اجريت على العزلات البكتيرية تحت الدراسة.

التسلسل	اسم الاختبار
1	اختبار انظيم الاوكسيديزOxidase Test
2	اختبار انظيم الكاتليزCatalase Test
3	اختبار النمو على سكر المانيتول الملحي Growth on Mannitol Salt Agar
4	اختبار المخثر Coagulase Test يمكن اجراء هذا الفحص بطريقتين ا- طريقة الشريحة ب- طريقة الانبوب
5	اختبار الحساسية للاوبتوكين Optochin Sensitivity Test
6	اختبار الذوبان بأملاح الصفراء Bile Solubility Test
7	اختبار الحساسية للباستراسينBacitracin Test
8	اختبار احتياج البكتريا لعوامل النمو X و V
9	اختبار تخمر السكريات Sugar Fermentation Test
10	اختبار الاندول Indol Test
11	اختبار المثيل الاحمر Methyl Red Test
12	اختبار الفوكس بروسكاورVoges- Proskaur Test
13	اختبار استهلاك السترات Citrate Utilization Test
14	اختبار النمو على وسط اغار ازرق المثلين والايوسينEusin Methylene Blue
15	اختبار اليوريز Urease Test
16	اختبار انتاج البايوسيانينPyocyanin Test

3- اختبار الحساسية لمضادات الحياة Antibiotics Sensitivity Test
لغرض دراسة حساسية العزلات أتجاه مضادات الحياة تم استخدام المضادات المبينة في الجدول(3) .
جدول (3) يبن اقراص مضادات الحياة وتراكيزها والشركات المجهزة لها .

اسم الشركة ومنشأها Company and Nation	تركيز المضاد في القرص Concentration	الرمز Symbol	اسم المضادات الحيوية Antibiotics Discs
Bioanalyse (Turkey)	10 mg	S	Streptomycin
Al-Raze (Iraq)	20 amoxicillin + 10 cluvanicacid	Au	Augmentin
Bioanalyse (Turkey)	30 mg	VA	Vancomycin
Bioanalyse (Turkey)	10 mg	Am	Ampicillin
Bioanalyse (Turkey)	5 mg	CIP	Ciprofloxacin
Bioanalyse (Turkey)	30 mg	TE	Tetracyclin
Bioanalyse (Turkey)	10 mg	GN	Gentamycin
Bioanalyse (Turkey)	5 mg	TMP	Trimethoprim
Bioanalyse (Turkey)	15 mg	E	Erythromycin
Bioanalyse (Turkey)	30 mg	SDI	Nalidixic acid

تم أجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية المثبتة في الجدول (3) والمجهزة بشكل اقراص وبحسب الطريقة الموصوفة في (17)تعد البكتريا حساسة (Sensitive) او مقاومة (Resistant) بالاعتماد على ماورد من مواصفات في تلك الطريقة. حللت النتائج إحصائيا باستخدام البرنامج الإحصائي (SPSS ver,7.0) وكذلك تم استخدام اختبار التباين باتجاه واحد (ANOVA one way test) ولغرض البحث عن وجود فروق معنوية من عدمها أجريت المقارنات الفردية بواسطة مقياس اقل فرق معنوي (Least Significant Difference) على مستوى معنوية 0.01 (18).

النتائج والمناقشة

تشير نتائج الأشخاص المرضى بالربو والمدخنين و الأصحاء إلى عزل 85 عزلة تعود الى أجناس مختلفة من البكتريا في المجموعة الاولى والثانية و50عزلة في المجموعة الثالثة وكما مبين في الجدول(4) و(5).

جدول (4) العدد والنسب المئوية للأنواع البكتيرية المعزولة من قشع الاشخاص الاصحاء ومرضى الربو.

الانواع البكتيرية المعزولة	مرضى الربو (85)مريضا		السيطرة (50) شخصا	
	العدد	النسبةالمؤية	العدد	النسبة المؤية
Streptococcus pneumoniae	28	32.9	4	8
Streptococcus pyogenes	16	18.9	0	0
Streptococcus viridans	6	7.1	15	30
Staphylococcus aureus	11	12.9	6	12
Moraxella cattarrhalis	5	5.9	0	0
Proteus mirabilis	5	5.9	0	0
Pseudomonas aeruginosa	4	4.9	0	0
Heamophilis influenza	3	3.5	3	0.06
Escherichia coli	0	0	0	0
Staphylococcus epidermidis	7	8.2	22	44

عند مقارنة العزلات البكتيرية بين مرضى الربو ومجموعة الأصحاء , إن بكتريا Streptococcus pneumoniae تمثل النسبة الاعلى لدى المرضى المصابين بالربو 32.9%مقارنة بمجموعة الأصحاء تصل 8%, تليها بكتريا Streptococcus pyogenesالتي تمثل نسبة 18.9% لدى المرضى المصابين بالربو وعدم عزلها من مجموعة الأصحاء. أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية (P>0.01)في نسب البكتريا المعزولة من مرضى الربو مقارنة بمجموعة الأصحاء .كما يلاحظ إن 44% من العزلات (22 عزلة)لدى مجموعة الأصحاء تعود إلى Staphylococcus epidermidis تليها Streptococcus viridans بنسبة 30 % وستة عزلات من بكتريا Staphylococcus (aureus) و ذلك لم يتم عزل كلا من البكتريا و Moraxella cattarrhalis و Proteus mirabilis و Pseudomonas aeruginosa من قشع مجموعة الأصحاء مقارنة بمجموعة مرضى الربو فقد تم عزلها وبالنسب الاتية 5,9% ,5,9% ,4,9% على التوالي (جدول4),و عدم ظهور بكتريا Esherichia coli في كلا المجموعتين

.وجود بكتريا Streptococcus viridians في مجاميع الأصحاء يعد أمرا طبيعيا في المسالك التنفسية العليا ,بمعنى اخر ان هذه الانواع من المتعايشات الطبيعية في الجزء العلوي التنفسي العلوي من الجهاز التنفسي (19) .على الرغم من الخصائص المرضية لبكتريا المكورات الرئوية إلا أنها عزلت من (20،16).

يتضح من نتائج زراعة قشع المدخنين ومقارنتها بمجموعة الاصحاء (جدول 5)الى تكرار بكتريا Streptococcus pneumonia عند المدخنين بنسبة 32,9% مقارنةبمجموعة الاصحاء (8%) وبفارق معنوي P>0.01.

جدول (5) العدد والنسب المئوية للأنواع البكتيرية المعزولة من قشع الاشخاص الاصحاء المدخنين.

الانواع البكتيرية المعزولة	المدخنين (85) مدخننا		السيطرة (50) شخصا	
	العدد	النسبة المؤية	العدد	النسبة المؤية
Streptococcus pneumonia	28	32.9	4	8
Streptococcus Pyogenes	6	7.1	0	0
Streptococcus viridans	11	12.9	15	30
Staphylococcus aureus	17	20	6	12
Moraxella cattarrhalis	0	0	0	0
Proteus mirabilis	0	0	0	0
Pseudomonas aeruginosa	3	3.5	0	0
Heamophilis influenza	10	11.8	3	6
Esherichia coli	4	4.7	0	0
Staphylococcus epidermidis	6	7.1	22	44

يلاحظ تكرار بكتريا Streptococcus Pyogenes و Pseudomonas aeruginosa وEsherichia coli عند مجموعة المدخنين وبا لنسب التالية 7,1% و 3.5% و 4,7% على التوالي وعدم عزلها من مجموعة الأصحاء، كما إن بكتريا Staphylococcus epidermidis و Streptococcus viridans أكثر تكرارا عند مجموعة السيطرة وبنسبة (44%) و (30%) على التوالي مقارنة بجموعة المدخنين وبالنسبة (12,9%) و (7,1%)على التوالي وعدم عزل كلا من بكتريا Moraxella cattarrhalis وProteus mirabililsمن كلا المجموعتين وكذلك تباين تكرار بكتريا Staphylococcus aureus وHeamophilis influenza اذ تمثل نسبة 17% و 10% عند مجموعة المدخنين على التوالي ونسبة 6% و3% عند مجموعة السيطرة على التوالي.إن الإصابات البكتيرية تلعب دورا مهما في حصول الازيز لدى مرضى الربو(21) وتساهم البكتريا بنسبة 12.1% من تهيج نوبات الربو(9)، ومن الجدير بالذكر ان اغلب العزلات التي تم عزلها توجد طبيعيا في القناة التنفسية العليا والبعض منها يصبح فعالا ونشطا عند تعرض الجهاز التنفسي للرواشح والبكتريا وخاصة البكتريا الانتهازية (9).

أجري اختبار حساسية البكتريا المعزولة من مرضى الربو لعدد من المضادات الحيوية (جدول -6), تشير النتائج تباينا واضحا في مقاومة العزلات البكتيرية , فقد اظهرت بكتريا Streptococcus pneumoniae مقاومة عالية

جدول(6)النسبة المؤية لمقاومة بعض العزلات البكتيرية (المعزولة من مرضى الربو) اتجاه عدد من مضادات الحياة .

نوع البكتريا	النسبة المؤوية لمقاومة البكتريا لمضادات الحياة									
	S	AU	VA	AM	CIP	TE	GN	TMP	E	SDI
Streptococcus pneumoniae	10.70	10.70	7.10	82.10	17.8	71.4	57.1	14.28	82.10	42.80
Streptococcus pyogenes	12.50	18.75	37.50	12.50	81.25	93.75	81.25	75.00	93.75	81.25
Streptococcus viridans	0.00	0.00	16.60	83.3	0.00	33.30	33.30	0.00	0.00	50.00
Staphylococcus aureus	18.10	9.00	27.20	90.9	9.00	54.50	63.60	54.50	27.20	90.90
Staphylococcus epidermidis	0.00	42.85	14.28	71.4	14.28	14.28	57.1	0.00	14.28	14.28
Moraxella cattarrhalis	60.00	20.00	40.00	80.00	20.00	40.00	40.00	80.00	60.00	80.00
Proteus mirabilis	80.00	80.00	80.00	100	40.00	100	80.00	80.00	100	100
Pseudomonas aeruginosa	25.00	25.00	50.00	100	25.00	100 و	50.00	50.00	75.00	75.00
Heamophilis influenza	33.30	0.00	66.60	100	0.00	33.30	66.60	66.60	33.30	66.60

اتجاه Ampicillin(AM) ، Tetracycline(TE) ، Gentamycin(GN) ، Erythromycin (E) و Nalidixic Acid (SDI)بالنسب التالية 82,1% , 71,4 % , 57,1 % , 82,1% , 42,8% على التوالي , في حين انخفضت نسبة المقاومة اتجاه كل من Streptomycin(S) و Augmentin(AU) و Vancomycin (VA) و Ciprofloxacin(CIP) وTrimethroprim(TMP) الى 10,7% , 10,7 % و7,1 %, 17,8% , 14,28 % على التوالي . كما اظهرت بكتريا Streptococcus pyogenes مقاومة 100% اتجاه (AM) في حين تساوت اتجاه (TE) و(E) و بنسبة 93.75% بينما بلغت اتجاه المضاد (TMP) 75% وابدت انخفاضا متباينا في مقاومتها اتجاه بقية المضادات .اما بكتريا Streptococcus viridans لم تبد اي مقاومة اتجاه كلامن (S) و (AU) و(CIP)و (TMP) و (E) ولكن كانت عالية اتجاه (AM) وبنسبة 83,3% ومقاومة اقل مع بقية المضادات الاخرى .تباينت كلا من بكتريا Staphylococcus aureus و Staphylococcus epidermidis من انعدام المقاومة الى المقاومة العالية فالمنخفضة (جدول- 6) وينطبق هذا على البكتريا Moraxella cattarrhalis ، Proteus mirabilis ، Pseudomonas aeruginosa ، Heamophilis influenza . على الرغم من تباين العزلات الخاضعة للأختبار في مقاومتها للمضادات الحيوية ألا انها أظهرت تشابها واضحا في حساسيتها لكل من Ciprofloxacin و Augmentinوقد يعود سبب ذلك الى طبيعة تأثير هذه المضادات وقلة وجود جينات المقاومة المشفرة على بلازميدات مقترنة أو قابلة للانتقال مما يحول دون انتشار مثل هذه المقاومة او قد يكون السبب عدم استعمال تلك المضادات على نطاق واسع (22).من بين المشاكل والصعوبات في علاج اصابة المسالك التنفسية هي وجود أكثر من نوع بكتيري في موقع الاصابة تتباين في حساسيتها للمضادات الحيوية الا انها قد تبدي مقاومة مشتركة لمضاد ما بفعل انتقال بلازميدات المقاومة فيما بينهما(23) لذلك فأن العلاج بالمضادات الحيوية له دور محدد بالسيطرة على فرط التحسس الذي يحدث في الممرات الهوائية خلال الاصابة البكتيرية للجهاز التنفسي عند مرضى الربو (13) ولهذا السبب يعد عمل اختبار فحص الحساسية ضروريا لتحديد المضاد المناسب للعلاج , لأن المضاد الحيوي لا يؤثر فقط في حيوية البكتريا وإنما يعمل على تقليل مستويات الهستامين البكتيري داخل المسالك الهوائية (24).

المصادر

1-Robine Green,(2008). .ASTHMA,University Medical Centre .Department of Pulmonology NETER Lands,117:708-713.

2-American Academy Of Allergy, Asthma and immunology (2000).The allergy report .Over-view of Allergic Diseases :Management ,and Barriers Care ,(1).Milwaukee,Wis. American Academy Of Allergy . Asthma and immunology,INC : 1-97.

3 -Harris,R.H.;Mackenze, T.D. ;Leeman,-Castillo,B.(2003).Optimizing antibiotic prescribing for acute respiratory tract infections in an urban urgert Care Clinical.J.Gen.Intern.Med., 18: 326-334.

4- Matsunago,K.;klein,T.W.; Friedman,H.&Yamamoto,Y.(2001).The alveolar macrophage cell line MH-S is Valuable as in vitro model for Legionella pneumophila infection AM.J.Respir.Cell.Mol.Biol.24:326.

5- Ofulue,A.F.&KO ,M.(1999).Effect of depletion of neutrophils or macrophages on develop-ment of cigarette smok-induced emphysema .Am.J.Physiol.277:97-105.

6- Tyler,K.I. &Filds,BN,(1996).Pathogenic of viral infection .In :Field virology 93rd.ed.Field BN (editors) Lippin-Cott-Raven.

7- Isaacs,DandJoshi,P.(2002).Respiratory infection and asthma .MJA.177:50-51.

8- Von,H.L.(2002).Role of persistent infection in the control and severity of asthma.Eur. Respir. J.19:546-556.

9- Kraft,M.(2000).The role of bacteria infection in asthma.Clin.Chest.Med.,21:301-313.

10- Melish,M.E.(1992)Staphlococcal infection in Feigin, R.D.&Cherry,j.d.(ed.):Text book of Pediatric infection Diswases.3rd.9vol.2-W.B.Saunders.Philadelphia.

11- Platts-Mills,T.A.E.,Wheatley,L.M.&Alaberse,R.C.(1998).Indoor versus outdoor allerge-nsin. In allergic respiratory disease.Current Opinion in Immunology,10:634-639

12- Strickland,I; Trumble,A. E.;Picker,L. J.& Leung D.Y. M.(1999).Evidence forsuperrntigeninv-

Olvement in skin homing of T –Cell in atopic dermatitis.j.invest .Dermatol.,112:249-253

13- Cazzola,M.;Matera,M.G.&Rossi,F.(1991).Bronchial hyper responsiveness and bacterial Respiratory infection.Clin.Ther.,13:157-171.

14- Cruickshank,R.;Duguid,J.P.;Marmion,B.P&Swain,R.H.(1975).Medicamicrobiology12th (ed.) Volume11,ChurchillLivingstone,London .

15- Baron,E.G.;Peterson,L.R.;Finggold,S.M.(1994).Bailey, and Scotts diagnostic microbiology

9th edition .Mosby year book.Inc.

16- Brooks,G.F.; Butel,J.S. &Mores,S.A.(1998).Medical Microbiology ,21sted.Middle EAST Appleton & Lang .Norwalk ,:180-316.

17- National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS)(1988).Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically .Approved standard M7-AZ-Villanova.PA,NCCLS.

18- Danile,w.(1995).Hypothesis testing relative risk, odds ratio and the M-H Statistic .n Bio-statistic a found for analysis in the Health New York.pp.201-226,542-548.sciences . 6th ed.JOHN Willy and Sons INC.

19- Al-Taee,K.S,C.(2003).Immunological and Microbiological study for asthmatic patients . Ph.D.thesis, Cll.Sci. Uni. Al-Mustansiriyah:184pp.(in Arabic).

20- Plouffe,J.;Brieman,R.&Facklam,R.(1996).Bacteraemia with Streptococcus pneumonia implication for therapy &prevenattion.J.A.MA.273:194-198

21- Clarke,C.W.(1979).Relationship of bacterial and viral infection to exacerbation of asthma. Thorax,34:344-347.

22- Rice,L.B.(2002).Combined mechanisms of resistance to betalamas. Program and abstract From 40th Annual Meeting of IDSA,Chicago.24-27.

23- Brooks,G.F.; Butel,J.S. &Mores,S.A.(2001).Jawetz, Meliner,andadelbers medical. Middle east ed. Appleton and Lange Norwalk, Connecticut Sanmateo ,California. 22(ed).

24- Ochling, A.K.(1999)Bacterial infection as an important trigging factor in bronchial asthma. J.Invest.Allergy Clin.Immunol.9:6-13