**Isolation & Identification of Bacteria from Patients with Dry Eye Syndrome, Study Resistance to Antimicrobials and Effect of Eye Tear on Bacterial Isolates.**

**عزل وتشخيص الجراثيم من مرضى متلازمة جفاف العين، دراسة مقاومتها للمضادات الحياتية وتأثير دمع العين على العزلات الجرثومية.**

عصام جاسم الخليفاوي

قسم علوم الحياة –كلية التربية –ابن الهيثم، جامعة بغداد

|  |
| --- |
| **الخلاصة Summary** أجريت الدراسة للفترة من حزيران الى تشرين الثاني 2012 في مستشفى ابن الهيثم التخصصي للعيون (بغداد)، تم خلال هذه الدراسة عزل الجراثيم من عيون مرضى متلازمة جفاف العين. شملت الدراسة 160 حالة يعانون من متلازمة جفاف العين، بلغ عدد الذكور 50 (31%) وبلغ عدد الإناث 110 (69%). أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن اعلى نسبة عزل في الذكور 9% للفئة العمرية 45-55 سنة واقل نسبة عزل من الذكور كانت 1% للفئة العمرية 5-15 سنة. أما في الإناث فأن اعلى نسبة عزل كانت 25% للفئة العمرية 55-65 سنة، واقل نسبة عزل في الإناث كانت 2% للفئة العمرية 5-15 سنة. تم في هذه الدراسة تشخيص 86 عزلة جرثومية، 36 عزلة من الذكور شكلت نسبة (42%) و50 عزلة من الاناث شكلت نسبة (58%). كان عدد العزلات الموجبة جرام هو السائد مقارنة بتلك السالبة جرام، حيث بلغ عددها 53 عزلة شكلت نسبة (62%). في حين كان عدد الجراثيم السالبة جرام 33 شكلت نسبة (38%). اظهر اختبار الحساسية للمضادات الحيوية زيادة مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية الشائعة الاستخدام، حيث كانت معظم العزلات مقاومة للمضادات الحيوية (Ampicillin ، Chloramphenicol Base و Erythromycin ) وحساسة للمضادات الحيوية (ُ Cephalothin ، Ciprofloxacin ، Gentamicin ، Norfloxacin ، Levofloxacin ، Ofloxacin و Tobramycin ) مع وجود بعض الاستثناءات. اظهر اختبار الحساسية للمكورات العنقودية تجاه المضاد الحياتي Oxacillin سيادة المكورات العنقودية الحساسة لأوكزاسيلين حيث بلغت نسبتها 88% في حين بلغت المكورات العنقودية المقاومة لأوكزاسيلين 12%. بين اختبار تأثير دمع العين على 86 عزلة فعالية الدمع الفائقة على العزلات المختلفة، حيث ادى الى تثبيط 79 عزلة شكلت نسبة (92%) ولم يؤثر على 7 عزلات شكلت نسبة (8%). حيث كان للدمع تأثير مثبط لجميع العزلات الموجبة جرام. أما تأثيره على الجراثيم السالبة جرام فتباين بتباين العزلات. الكلمات المفتاحية: متلازمة جفاف العين، مضادات حيوية، دمع العين. **Abstract** This Study was conducted from June to November 2012 at Ebn-Alhetham Specials eye Hospital, Baghdad. In this study Pathogenic bacteria Isolated from Dry Eye Syndrome Patients. 160 cases were collected which include 50 Male Formed (31%) and 110 Female Formed (69%). The result of the recent study shows that the highest percentage of Male was 9% for 45-55year ages and the lowest percentage was 1% for 5-15 year ages. In Female the highest percentage was 25% for 55-65 year ages and the lowest percentage was 2% for 5-15 year ages. In this study Eighty Six isolated were Identified, the number of Gram Positive Bacteria was Predominant compared with Gram Negative Bacteria. The number of Gram Positive Bacteria was 53 isolated which formed (62%) whereas the number of Gram Negative Bacteria was 33 formed (38%).  The Antimicrobial Susceptility test to commonly used Antimicrobial shows that the most isolate Bacteria were sensitive to Antimicrobial (CIP,GM,KF,LEV,NOR,OFX and TOB) and Resistance to (AMP,C and E) with some exception. The Antimicrobial Susceptility test of Staphylococcus spp. to Oxacillin showed the predominant of Oxacillin-Sensitive Staphylococcuswhich form 88% whereas the percentage of Oxacillin -Resistant Staphylococcus was 12%. The effect of eye tear on 86 isolates exhibited strong antimicrobial activities against almost isolates were inhibited 79 isolates which formed (92%) and exhibited no effect on 7 isolated which formed (8%). Eye tear inhibited all gram positive bacteria. Whereas the effect of eye tear on gram negative differs by different isolated. Key Words: Dry Eye Syndrome, Antimicrobials, Eye Tear.  |

**المقدمة** **Introduction**

 تعد متلازمة جفاف العيون Dry Eye Syndrome (DES) من مشاكل البصر الشائعة. وهو معرف من قبل مركز جفاف العيون العالمي سنة 2007 بكونه مرض متعدد العوامل لدمع العين وسطح العين والذي يتسبب في الاعراض التالية، أظطراب الرؤية، أخلال بالرؤية، عدم ثبات أو استقرار دمع العين، مع احتمال ضررلسطح البصر. وهو يترافق بزيادة اوزمولارتي دمع العين وإلتهاب سطح البصر [1].

 ان مدى انتشار مرض جفاف العيون يتراوح ما بين 5% الى 30% للأعمار فوق 50 سنة [2]. أما بخصوص مدى انتشار مرض جفاف العيون بأنواعه الثلاثة، فبالنسبة للنوعين المتوسط والحاد فهما اقل حدوثا بينما النوع المعتدل فهو اكثر تقديرا [3]. لذى فأن أغلب الناس مصابون بجفاف العين الهادىء، التي لاتلاحظ خلاله أعراض مرض جفاف العين والتي تشمل الجفاف، الأحمرار، الشعور بوجود اجسام غريبة في العين، الحرقة واخيرا الحكة [4]. ان عدم استقرار الدمع وزيادة الاوزمولارتي هي جوهر ميكانيكية جفاف العين. ان زيادة الاوزمولارتي لدمع العين يسبب زيادة الاوزمولارتي للخلايا الطلائية لسطح العين ويحفز مراحل الالتهاب والتي تشمل ميكانيكية بروتين منشط المايتوجين Mitogen-Activated Protein (MAP) kinases وأشارة بدء طريق عمل العامل النووي كابا بي Nuclear Factor kappa B (NFkB) signaling pathways [5] وتكوين حركي خلوي الالتهاب Inflammatory cytokines (interleukin-1) ، عامل الفا للتنخر الورميTumor Necrosis Factor alpha (TNF-α) ومادة الميتالوبروتينيز Metalloproteinases (MMP-9) بالأضافة الى تغير تراكيز انزيم اللايسوزايم واللاكتوفيرين في دموع مرضى جفاف العين (DES) [6].

 اشار Murube الى ان هناك مصطلحت كثيرة استخدمت للتعبير عن متلازمة جفاف العين مثل مصطلح ***Keratoconjunctivitis sicca*** (KCS) وهو مصطلح لاتيني يشير الى جفاف والتهاب القرنية والملتحمة [7]. ولقد وصف هذا المرض لأول مرة من قبل عالم العيون السويدي Henrik Sjögren سنة 1933 وتكريما له اطلق على المرض أسم Sjögren Syndrome Dry Eye وحاليا فأن مصطلح (KCS) يستخدم عوضا عن مصطلح (DES). كذلك يستخدم المصطلح ***Xerophthalmia*** وبالاغريقية فأن كلمة ***Xeros***  تعني جفاف، وهو مرض بصري ذو جانبين يحدث بسبب نقص فيتامين A ،وهو يتميز بعشو الليل Night Blindness ، جفاف سطح العين و Keratomalacina ، طراوة و malformation القرنية . اقترحت مجموعة دلفي [8] استعمال المصطلح ***Dysfunctional Tear Syndrome*** (DTS) عوضا عن مصطلح جفاف العين وذلك للوصف الدقيق للفشل في المحافظة على رطوبة السطح البصري.

 ذكرفي المصدر [9] انه يوجد نوعان رئيسيان من متلازمة جفاف العين (DES)، هما( ADDE) والذي يشير الى جفاف العين الناتج من نقص الدمع المائي Aqueous Tear-Deficient Dry Eye وجفاف العين التبخري Evaporative Dry Eye ويختصر (EDE ) والذي يحدث نتيجة ارتفاع درجة حرارة سطح العين وخلل في مكونات الدمع.

 إن متلازمة جفاف العين مرتبطة مع الأمراض التالية Anterior Blepharitis، Meibomian gland disease ، Keratitis و Ocular rosacea. إن هذه الامراض ناتجة عن العديد من الجراثيم الموجبة جرام والسالبة جرام والتي تشمل Coagulase negative Staphylococci ، *Staphylococcus aureus* ،*Streptococcus sp*. ، *Bacillus subtilis* ، *Rhodococcus sp*. ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Haemophilus influenzae* ، *Haemophilus aegyptius* و *Klebsiella sp*. [10 و 11].

**المواد الطبية البديلة Alternative Medicine**

**دمع العين or Tear Film Eye Tear**

هو إفراز ينظف ويزيت العين، إن مصطلح Lacrimation or Lachrymation مشتق من اللغة اللاتينية *Lacrima* تعني Tear، وهو إفراز أو ذرف الدموع [12]. أن العواطف القوية مثل الحزن، الزهو، الخوف، السرور، تهيج العيون، الضحك والتثاوب ربما تقود الى زيادة إنتاج الدمع أو البكاء [13]. في الإنسان فان الدمع يغطي العين ويعرف بالغشاء فوق القرنية وهو يتكون من ثلاثة طبقات مميزة ويكون ترتيبها من الخارج الى الداخل كالأتي، طبقة الدهن Lipid Layer ومكوناتها الزيت وهي تفرز من غدة Meibomian Glands or Tarsal Glands وظيفتها تغطي الطبقة المائية وهي توفر حاجز كاره للماء وهي تغطي الدمع وتمنع إراقته فوق الخد [14]. الطبقة المائية Aqueous Layer ومكوناتها الماء ومواد أخرى مثل البروتينات (Lipocalin ، Lactoferrin، Lysozyme و Lacritin ) وهي تفرز من غدة Lacrimal Glands، وظيفتها تسهل انتشار غشاء الدمع، تنجح السيطرة على عوامل الإصابة وتنجح تنظيم الأزموزية [15]. الطبقة المخاطية Mucous Layer ومكوناتها الميوسين Mucin وهي تفرز من خلايا Conjunctival Goblet Cells، وظيفتها تغطي القرنية، وهي تكون طبقة محبة للماء مما تسمح بانتشار غشاء الدمع دائما وتغطية القرنية [16]. أن الحماية ضد الجراثيم تنسب الى المتمم Complement، اللايسوزايم Lysozyme، الدفينسين Defensin، اللاكتوفيرين Lactoferrin، الفوسفولايبيزA2 Phospholipase A2 و الأجسام المضادة نوع IgA. أشارت العديد من الدراسات الى دور المواد المضادة للجراثيم الموجودة في الدمع في القضاء على مسببات التهابات العين المختلفة، فلقد درس هانك وجماعته فعالية β-Defensin 2 بوجود دمع العين في القضاء على جرثومة ***Pseudomonas aeruginosa*** والتي تعتبر من المسببات الرئيسية في التهاب القرنية، أظهرت نتائج الدراسة امتلاك β-Defensin 2 فعالية مضادة للجراثيم [17]. أختبر فلكنكر وجماعته فعالية Lipocalin الموجود بالدمع المضادة للجراثيم، حيث أدى إضافة هذه المادة الى تثبيط نمو الجراثيم ***Escherichia coli*** ، ***Pseudomonas aeruginosa*** و ***P. nidulans*** [18]. أظهرت الدراستان [19 و20] فعالية Lactoferrin و Lysozyme المضادة للمكورات العنقودية Staphylococci والتي تعتبر المسبب الرئيسي في التهابات العيون. أشار ولكوكس وجماعته الى دور المتمم الموجود في دمع العين في حماية العين من المسببات المرضية [21]. لاحظ جيريز وجماعته فعالية Phospholipase A2 في القضاء على جرثومة ***Staphylococcus aur***eus المسببة لالتهاب القرنية [22]. ذكر جيريز دور أنزيم Lysozyme الموجود في الدمع في القضاء على الجراثيم الموجبة جرام وبعض الجراثيم السالبة جرام الحساسة للأنزيم [23]. أشارت العديد من الدراسات الى دور الأجسام المضادة IgA الموجودة في الدمع في القضاء على معظم الجراثيم المسببة للالتهابات العيون [24، 25 و 26].

 تهدف الدراسة الحالية معرفة مدى انتشار مرض جفاف العيون بين فئات المجتمع في مدينة بغداد، لما تمتاز به المدينة من ظروف اجتماعية ونفسية وظروف مناخية تؤثر على العين، ودراسة دور الدمع في حمايتها.

**المواد وطرائق العمل Materials & Methods**

اتبعت طريقة العمل المستخدمة في المصدر [ 27] .

●- أخذت مسحات معقمة وتم بوساطتها دلك الجزء الملتهب من العين لمرضى جفاف العين والذي تم تحديدهم وفق المعايير المتبعة والتي شملت تأريخ المرض History ، اختبار توقف تدفق الدمع Tear break up test [28] واختبار شرمر Schirmer test [29] من قبل الطبيب المختص.

●- تم زرع المسحات على الأوساط المغذي الصلب و الدم الصلب بطريقة التخطيط وحضنها بظروف هوائية أما وسط الجوكليت الصلب فيحضن في عبوة حاوية على شمعة، بدرجة حرارة 37 ْم لمدة 24- 48 ساعة.

●- تم تشخيص العزلات بوساطة اختبار الحركة ، صبغة جرام ، صفات المستعمرات وإنتاج الصبغات ، تحلل الدم ،الاختبارات الكيموحياتية بما فيها ( الإنزيمات Catalase, Coagulase, Urease و Oxidase) ، استخدام العدة ابي API Kits نوع NH ونوع STAPH شركة BioMeriux وأخيرا استخدام جهاز Vitek 2 شركة BioMeriux [30].

●- تم إجراء اختبار الحساسية باستعمال طريقة كربي - باور للأقراص المنتشرة Kirby-Bauer disc diffusion method)) استخدمت المضادات التالية Ampicillin 10 ، Cephalothin 30 ، Chloramphenicol Base 30 ،Enrofloxacin 5 ، Erythromycin 15 ،Gentamicin 10، Levofloxacin 5, Norfloxacin 10 ، Ofloxacin 5 و Tobramycin 10 [31] . استخدم المضاد الحيوي Oxacillin 1 لتصنيف المكورات العنقودية المقاومة والحساسة الاوكزاسيلين [32].

●- تم اختبار فعالية دمع العين على 86 عزلة جرثومية شملت *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus epidermidis*، *Staphylococcus hominis*، *Staphylococcus leutus* ، *Staphylococcus cohnii،* *Haemophilus influenza* ، *Streptococcus pneumoniae* ، *Streptococcus viridans*، *Bacillus cereus* ، *Bacillus subtilis*، *Corynebacterium xerosis*، *Corynebacterium strsitus* ، *Pseudomonas aeruginosa ، Pseudomonas putidia* ، *Moraxella catarrhalis* و *Escherichia coli* حسب طريقة [18].

**النتائج Results**

 شملت الدراسة 160 حالة يعانون من عارض جفاف العين، بلغ عدد الذكور 50 (31%) وبلغ عدد الإناث 110 (69%). أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن اعلى نسبة عزل في الذكور 9% للفئة العمرية 45-55 سنة واقل نسبة عزل من الذكور كانت 1% للفئة العمرية 5-15 سنة. أما في الإناث فأن اعلى نسبة عزل كانت 25% للفئة العمرية 55-65 سنة، واقل نسبة عزل في الإناث كانت 2% للفئة العمرية 5-15 سنة جدول (1).

جدول (1) نسبة الإصابة وفقا للفئة العمرية والجنس.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| الفئة العمرية | ذكور | النسبة المئوية | إناث | النسبة المئوية | المجموع | النسبة المئوية |
| 5-15 سنة | 1 | 1 | 3 | 2 | 4 | 3 |
| 15-25 سنة | 4 | 2 | 7 | 4 | 11 | 7 |
| 25-35 سنة | 6 | 4 | 10 | 6 | 16 | 10 |
| 35-45 سنة | 9 | 6 | 25 | 16 | 34 | 21 |
| 45-55 سنة | 15 | 9 | 20 | 13 | 35 | 22 |
| 55-65 سنة | 10 | 6 | 40 | 25 | 50 | 31 |
| 65-75 سنة | 5 | 3 | 5 | 3 | 10 | 6 |
| المجموع | 50 | 31 | 110 | 69 | 160 | 100 |

 تم في هذه الدراسة تشخيص 86 عزلة جرثومية، 36 عزلة من الذكور شكلت نسبة (42%) و50 عزلة من الاناث شكلت نسبة (58%). كان عدد العزلات الموجبة جرام هو السائد مقارنة بتلك السالبة جرام، حيث بلغ عددها 53 عزلة شكلت نسبة (62%). في حين كان عدد الجراثيم السالبة جرام 33 شكلت نسبة (38%). 4 منها كانت جراثيم *Bacillus cereus* شكلت نسبة (7%) من مجموع العزلات الجرثومية ، 4 عزلات جرثومية هي *Bacillus subtilis* شكلت نسبة ( 5%) ، 5 عزلات من الجرثومة *Corynebacterium Strsitus* شكلت نسبة ( 6%)، 3عزلات من الجرثومة *Corynebacterium xerosis* شكلت نسبة (3%). 3 عزلات من الجرثومة *Escherichia coli* شكلت نسبة (3%)، 5 عزلات من الجرثومة *Haemophilus influenzae* شكلت نسبة (6%). 5 عزلات من الجرثومة *Moraxella catarrhalis* شكلت نسبة (6%)، 7 عزلات من الجرثومة *Pseudomonas* *aeruginosa* شكلت نسبة (8%)، 5 عزلات من الجرثومة *Pseudomonas putidia* شكلت نسبة (6%). 10 عزلات من الجرثومة *Staphylococcus aureus* شكلت نسبة (11%)، 4 عزلات من الجرثومة *Staphylococcus cohnii* شكلت نسبة (5%)، 8 عزلات من الجرثومة *Staphylococcus* *epidermidis* شكلت نسبة (9%)، 5 عزلات من الجرثومة *Staphylococcus hominis* و الجرثومة *Staphylococcus leutus* شكلت نسبة (6%) على التوالي. 4 عزلات من الجرثومة *Streptococcus* *pneumoniae* شكلت نسبة (5%) واخيرا 7 عزلات من الجرثومة *Streptococcus viridans* شكلت نسبة (8%) جدول (2).

جدول (2 ) عدد ونوع والنسبة المؤية للعزلات الجرثومية من الذكور والإناث.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| العزلات | الذكورالعدد النسبة المئوية | الإناثالعدد النسبة المئوية | المجموعالعدد النسبة المئوية |
| *Bacillus cereus* | 2 2.3 | 4 5 | 6 7 |
| *Bacillus subtilis* | 1 1 | 3 3.4 | 4 5 |
| *Corynebacterium strsitus* | 2 2.3 | 3 3 | 5 6 |
| *Corynebacterium xerosis* | 1 1 | 2 2.3 | 3 3 |
| *Escherichia coli* | 2 2.3 | 1 1 | 3 3 |
| *Haemophilus influenzae* | 2 2.3 | 3 3.4 | 5 6 |
| *Moraxella catarrhalis* | 3 3.4 | 2 2.3 | 5 6 |
| *Pseudomonas aeruginosa* | 3 3.4 | 4 5 | 7 8 |
| *Pseudomonas putidia* | 2 2.3 | 3 3.4 | 5 6 |
| *Staphylococcus aureus* | 4 5 | 6 7 | 10 11 |
| *Staphylococcus cohnii* | 2 2.3 | 2 2.3 | 4 5 |
| *Staphylococcus epidermidis* | 4 5 | 4 5 | 8 9 |
| *Staphylococcus hominis* | 1 1 | 4 5 | 5 6 |
| *Staphylococcus leutus* | 2 2.3 | 3 3.4 | 5 6 |
| *Streptococcus pneumoniae* | 2 2.3 | 2 2.3 | 4 5 |
| *Streptococcus viridans* | 3 3.4 | 4 5 | 7 8 |
| المجموع | 36 42 | 50 58 | 86 100 |

 اظهر اختبار الحساسية للمضادات الحيوية زيادة مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية الشائعة الاستخدام، حيث كانت معظم العزلات مقاومة للمضادات الحيوية (AMP ، C و E) وحساسة للمضادات الحيوية (CIP ، GM ، KF ، LEV ، NOR ، OFX و TM ) مع وجود بعض الاستثناءات جدول (3).

جدول ( 3 ) اختبار الحساسية للمضادات الحياتية الشائعة الاستخدام.

|  |  |
| --- | --- |
| Resistance in percentage | No |
| TM | OFX | NOR | LEV | KF | GM | E | CIP | C | AMP |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 83 | 0 | 83 | 83 | *1* |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 50 | 0 | 100 | 100 | *2* |
| 40 | 0 | 0 | 0 | 55 | 20 | 67 | 0 | 80 | 80 | *3* |
| 40 | 0 | 0 | 0 | 60 | 40 | 70 | 0 | 70 | 77 | *4* |
| 33 | 0 | 0 | 0 | 67 | 33 | 67 | 0 | 33 | 33 | *5* |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 20 | 20 | 80 | 0 | 80 | 80 | *6* |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 20 | 20 | 80 | 0 | 80 | 80 | *7* |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 20 | 20 | 80 | 0 | 80 | 80 | *8* |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 20 | 20 | 80 | 0 | 80 | 80 | *9* |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 50 | 0 | 100 | 100 | *10* |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 50 | 0 | 100 | 100 | *11* |

*1*- *Bacillus cereus,2- Bacillus subtilis,3 Corynebacterium strsitus,4- Corynebacterium xerosis 5- Escherichia coli,6- Haemophilus influenzae,7- Moraxella catarrhalis,8- Pseudomonas aeruginosa,9- Pseudomonas putidia,10-Streptococcus pneumoniae,11-Streptococcus viridans.*

 أظهر اختبار الحساسية للمكورات العنقودية تجاه المضاد الحيوي الاوكزاسيلين Oxacillin سيادة المكورات العنقودية الحساسة لأوكزاسيلين حيث بلغت نسبتها 88% في حين بلغت المكورات العنقودية المقاومة لأوكزاسيلين 12% من مجموع المكورات العنقودية المعزولة جدول (4).

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| جدول (4) اختبار الحساسية للمكورات العنقودية تجاه المضاد الحيوي Oxacillin.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| العزلات الجرثومية | Oxacillin Antibiotics(1µg/disc) | المجموعالعدد النسبة المئوية |
| حساسةالعدد النسبة المئوية | مقاومةالعدد النسبة المئوية |  |
| *Staphylococcus aureus* | 6 19 | 4 12 | 10 31 |
| *Staphylococcus cohnii* | 4 12 | 0 0 | 4 12 |
| *Staphylococcus epidermidis* | 8 25 | 0 0 | 8 25 |
| *Staphylococcus hominis* | 5 16 | 0 0 | 5 16 |
| *Staphylococcus leutus* | 5 16 | 0 0 | 5 16 |
| المجموع | 28 88 | 4 12 | 32 100 |

بين اختبار تأثير دمع العين على 86 عزلة فعالية الدمع الفائقة على العزلات المختلفة، حيث ادى الى تثبيط 79 عزلة شكلت نسبة (92%) ولم يؤثر على 7 عزلات شكلت نسبة (8%). حيث كان للدمع تأثير مثبط لجميع العزلات الموجبة جرام. أما تأثيره على الجراثيم السالبة جرام فتباين بتباين العزلات فكانت نسبة التثبيط (2.3%) لجرثومة *Corynebacterium strsitus* وجرثومة *Haemophilus influenzae*  وجرثومة *Moraxella catarrhalis*. وبلغت نسبة التثبيط (1%) للجرثومة *Corynebacterium xerosis* جدول (5).جدول (5) تأثير دمع العين على العزلات الجرثومية. |
| العزلات | حساسةالعدد النسبة المئوية | مقاومةالعدد النسبة المئوية |
| *Bacillus cereus* | 6 7 | 0 0 |
| *Bacillus subtilis* | 4 5 | 0 0 |
| *Corynebacterium strsitus* | 3 3.4 | 2 2.3 |
| *Corynebacterium xerosis* | 2 2 | 1 1 |
| *Escherichia coli* | 3 3.4 | 0 0 |
| *Haemophilus influenzae* | 3 3.4 | 2 2.3 |
| *Moraxella catarrhalis* | 3 3.4 | 2 2.3 |
| *Pseudomonas aeruginosa* | 7 8 | 0 0 |
| *Pseudomonas putidia* | 5 6 | 0 0 |
| *Staphylococcus aureus* | 10 12 | 0 0 |
| *Staphylococcus cohnii* | 4 5 | 0 0 |
| *Staphylococcus epidermidis* | 8 9 | 0 0 |
| *Staphylococcus hominis* | 5 6 | 0 0 |
| *Staphylococcus leutus* | 5 6 | 0 0 |
| *Streptococcus pneumoniae* | 4 5 | 0 0 |
| *Streptococcus viridans* | 7 8 | 0 0 |
| المجموع | 79 92 | 7 8 |

 |

 |

**المناقشة Discussion**

 ان متلازمة جفاف العين يحدث لأسباب عديدة يتم تصنيفها تحت بابين رئيسين هما التبخر Evaporative والنقص المائي Aqueous deficient ولكل باب اسبابه، فالتبخر يصنف الى خارجي Extrinsic وينتج عن نقص فيتامين A ، استخدام الأدوية الموضعية، مرض سطحي مثل الحساسية و استخدام العدسات اللاصقة [37]. وتبخر داخلي Intrinsic ينتج عن نقص الملبم Melbum ، اضطراب جفن العين، انخفاض معدل الرمشة و استخدام الأدوية [33]. اما الباب الثاني فهو نقص مائي ويصنف الى عارض Sjögren Syndrome Dry Eye ويقسم الى أولي وثانوي. وعارض Non-Sjögren Dry Eye وينتج عن نقص الدمع، غلق الانفعال Reflex block ، انسداد قناة الدمع و استخدام الأدوية [34].

 أن ما يحدث من تغيرات مناخية وخصوصا ارتفاع درجة الحرارة حيث وصلت درجة الحرارة في صيف هذا العام الى ما فوق 50 ْم ترك اثار سلبية على البيئة وعلى صحة الانسان. وان من اكثر الاعضاء تاثرا بهذه التغيرات هي العين. هذا بالاضافة الى ان بعض الاعمال التي تقوم بها المرأة مثل الطبخ وعمل الخبز تجعل العين عرضة للحرارة المباشرة وهناك مهن تجعل الشخص اكثر عرضة للحرارة مثل العمل في المخابز وافران الزجاج وافران صبغ السيرات والحدادة. إضافة الى التعرض الى الاشعة المنبعثة من شاشات التلفاز والكومبيوتر والاي باد واي فون والموبايل، أيضا العمل في مونتاج الفيدو والفحص بالمجهر كل هذه الاجهزة تبعث اشعة ترفع حرارة العين خصوصا عند التعرض لها لفترات طويلة. ارتفاع حرارة العين هذا يؤدي الى زيادة التبخر وبالتالي جفاف العين وما يصاحبه من تاثيرات جانبية [35]. ومن هذه التأثرات هو أختزال معدل الرمشات إن طول الفترة يجعل سطح العين عرضة لفقدان الماء قبل الرمشة التالية [33]. كما شاع في الاونة الاخيرة استعمال العدسات اللاصقة التي تمنع دخول الهواء الى القرنية وبالتالي تزيد من حرارة العين وجفافها، إن عدد الذي يرتدون العدسات اللاصقة بلغ 35 مليون في الولايات المتحدة الامريكية سنة 2000 [36]. إن حوالي 50% من مرتدي العدسات اللاصقة يعانون من عارض جفاف العين[37]. ان مرتدي العدسات اللاصقة عرضة 12 مرة اكثر من مرتدي القناع الواقي للوجه وخمس مرات اكثر من مرتدي النظارات لعارض جفاف العين[38]. ومما يجدر ذكره هو ثلوث هذه العدسات بالجراثيم وتلوث سوائل حفظ هذه العدسات وبتالي تعمل هذه العدسات كوسائل لإصابات العين بالجراثيم [39]. شملت الدراسة 160 حالة يعانون من عارض جفاف العين، بلغ عدد الذكور 50 (31%) وبلغ عدد الإناث 110 (69%) وأن اعلى نسبة عزل في الذكور 9% للفئة العمرية 45-55 سنة واقل نسبة عزل من الذكور كانت 1% للفئة العمرية 5-15 سنة. أما في الإناث فأن اعلى نسبة عزل كانت 25% للفئة العمرية 55-65 سنة، واقل نسبة عزل في الإناث كانت 2% للفئة العمرية 5-15 سنة وهذا يتفق مع نتائج العديد من الدراسات[1، 2 و3] التي ذكرت ان مدى انتشار مرض جفاف العيون يتراوح ما بين 5% الى 30% للأعمار فوق 50 سنة ويعزى ذلك الى تعرض القنوات الدمعية الى الانسداد بسبب تكرار اصابتها بالمايكروبات والاضرار الناتجة من حك وفرك العين بشدة ومن الاسباب الاخرى التي تزيد عارض جفاف العين هو ان 30% من مرضى التهاب المفاصل الرثوي يعانون من عارض جفاف العين، ولأن مرض التهاب المفاصل الرثوي يصيب 2-3% من المجتمع في العالم وخصوصا كبار السن لذا فأن عارض جفاف العين يعتبر مشكلة طبية كبيرة [40]. اما بخصوص الجنس فتبين ان إصابة النساء ضعف اصابة الذكور وهذا يتفق مع ما توصل له [ 2 ، 4 و 5 ] الذي ذكر أن مرض جفاف العين يصيب كلا من الرجال والنساء وعند كل عمر وهو أكثر شيوعا ضمن النساء حوالي (80%) وخصوصا بعد سن اليأس ( قبل سن اليأس 36% و 64% عند او بعد سن اليأس). إن الاسباب غير معروفة والأحتمالية الاكثر بسبب التغيرات الهرمونية.

 تم الحصول على 86 عزلة جرثومية ، كان عدد العزلات الموجبة جرام هو السائد مقارنة بتلك السالبة جرام. حيث بلغ عدد الجراثيم الموجبة جرام 53 عزلة شكلت نسبة (62%) من مجموع العزلات. في حين كان عدد الجراثيم السالبة جرام 33 شكلت نسبة (38%) من مجموع العزلات.وهذا يتفق مع الدراسة [41] التي تم فيها مقارنة نسبة الجراثيم الموجبة جرام والجراثيم السالبة جرام المسببة لالتهاب ملتحمة العين لمدة 12 سنة من عام 1997 الى 2008 وفي جميع السنوات كانت الجراثيم الموجبة جرام هي السائدة. فيما يخص العزلات الموجبة جرام فقد شملت عدة اجناس كانت السيادة فيها للمكورات العنقودية **Staphylococcus****spp*.*** والتي شكلت نسبة (23%) من مجموع العزلات. وضمن المكورات العنقودية فأن السيادة كانت للمكورات العنقودية الذهبية ***S. aureus*** وهذا يتفق مع ما توصل له [42] الذي أشار الى سيادة جراثيم المكورات العنقودية المعزولة من اصابات العيون. أما المكورات السبحية **Streptococcus spp.** فأنها تأتي بالمرتبة الثانية حيث شكلت نسبة (13%) من مجموع العصيات والتي شكلت نسبة (13%) من مجموع العزلات وهذا يتفق مع نتائج الدراسة [43] التي تم خلالها عزل الجرثومة ***B. cereus*** من إلتهاب قرنية العين. كما تم عزل جراثيم **Corynebacterium spp**. وبنوعين هما ***C. xerosis*** و ***C. strsitus*** وهذا يتفق مع نتائج الدراسة [44] التي تم فيها عزل الجراثيم **Nondiphtherial Corynebacterium spp**. من التهاب ملتحمة العين. أما الجراثيم السالبة جرام فقد كانت السيادة لجراثيم **Pseudomonas spp**. والتي شملت النوعين ***P. aeruginosa***و***P. putidia*** وهذا يتفق مع ما توصل له [11] الذي نوهه الى دور الزائفات في التهاب قرنية العين. كذلك تم عزل الجراثيم ***H. influenzae*** في الدراسة الحالية وهذا يتفق مع ما توصل له [45] حول دور جرثومة***H. influenzae***في التهابات العيون. كذلك تم عزل جرثومة ***E. coli*** وهذا يتفق مع ما ذكره [46] حول دور هذه الجرثومة في التهاب ملتحمة العين .أخيرا تم عزل جرثومة ***M. catarrhalis***وهذا يتفق مع ما توصل له [47] الذي اشار الى عزل جرثومة ***M. catarrhalis***من المرضى الذين يعانون من التهاب جفن العيون.

 تم إجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية الشائعة الاستخدام لعلاج الجراثيم المسببة لالتهابات العين، اظهر اختبار الحساسية للمضادات الحيوية زيادة مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية الشائعة الاستخدام، حيث كانت معظم العزلات مقاومة للمضادات الحيوية (AMP، C وE) وحساسة للمضادات الحيوية (TOB, OFX, NOR, LEV, KF, GM, CIP) مع وجود بعض الاستثناءات، وهذا يتفق مع نتائج العديد من الدراسات التي أشارت الى المقاومة العالية للجراثيم المسببة لالتهابات العين [41 و48].

 بخصوص عزلات المكورات العنقودية الذهبية أظهرت الدراسة إن 88% من هذه العزلات كانت حساسة لأوكزاسيلين و 12% من العزلات كانت مقاومة لأوكزاسيلين هذا يتفق مع الدراسة التي قام بها [32] حيث وجد أن السيادة كانت للجراثيم الحساسة للمثيسيلين.

بين اختبار تأثير دمع العين على 86 عزلة فعالية الدمع الفائقة، حيث كان للدمع تأثير مثبط لجميع العزلات الموجبة جرام وهذا يتفق مع العديد من الدراسة التي قام بها العالم فلمنك مكتشف البنسلين ومكتشف انزيم اللايسوزايم، حيث أثبت هذا العالم ان تركيز هذا الانزيم في الدمع اكثر بالف مرة من تركيزه بالمصل [49]. وكما هو معروف فأن هذا الانزيم يهاجم الاصرة β-1,4 Linkage التي تربط سلاسل طبقة الببتيدوكلايكان التي يرجع لها الفضل في قوة الجدار الخلوي للجراثيم. فتحطيم هذه الاواصر يؤدي الى تحطيم الجدار الخلوي وقتل الجراثيم [19 ، 20 و21]. كذلك يعزى تثبيط جراثيم المكورات العنقودية بوساطة الدمع الى احتواء الدمع على عوامل مضادة للمكورات العنقودية Antistaphylococcus Factors وهذا ما ذكره[19 و20 ]. لاحظ [22] فعالية Phospholipase A2 في القضاء على جرثومة ***S. aur*eus** المسببة لالتهاب القرنية.

 اما فعالية الدمع تجاه الجراثيم السالبة جرام فكانت اقل منها للموجبة جرام وهذا يعزى الى ان معظم المسببات لإصابات العيون تعود للجراثيم الموجبة جرام وما يتم عزله من جراثيم سالبة هي قد تكون ملوثات عرضية ناتجة من مس العيون باليد الملوثة أو اي أداة اخرى تستخدم بالقرب من العين مثل العدسات اللاصقة، النظارات الطبية والشمسية ونظارات الشاشات الثلاثية الابعاد والهواتف النقالة، كل هذه الادوات زادت من فرص تلوث العيون وهذا يتفق مع ما ذكره [50]. ومع ذلك فان الدمع كان فعالا تجاه هذه الجراثيم وادى اضافته الى تثبيط الجراثيم السالبة جرام بنسب مقبولة وهي نسب مشجع فيما اخذت فعاليتة تجاه الجراثيم الموجبة جرام. وتعود فعالية الدمع تجاه الجراثيم السالبة الى احتوائه على العديد من المواد المضادة للجراثيم وهذا يتفق مع ما توصل له [17] الذي أشار الى أن تثبيط جراثيم  ***P. aeruginosa***يعزى الى احتواء الدمع على مادة β-Defensin 2 ، ومادة Lipocalin [18]. إن لدمع العين دورا كبيرا في حماية العين من الاصابة بالجراثيم وهذا ما أثبتته الدراسة الحالية.

 في نهاية دراستنا نستنتج ان لدمع العين دور كبير في حماية العين من الماكيروبات الموجودة في الهواء الملامس للعين وان التغيرات في درجات الحرارة وما رافقه من زيادة حالات جفاف العين دليلا قاطعا على الدور الفعال للدمع في حماية العين ، لذى نوصي بمزيد من الدراسات حول فعالية دمع العين.

**References**

**1-**Chia, E.M; P. Mitchell; E. Rochtchina; A.J. Lee; R. Maroun; and J.J. Wang, (2003). Revalence and associations of dry eye syndrome in an older population: the Blue Mountains Eye Study. *Clin Experiment Ophthal*; **31**:229-32.

**2-**Moss, S.E; R. Klein; and B.E. Klein, (2008). Long-term incidence of dry eye in an older population. *Optom Vis Sci*; **85**:668-74.

**3-** Schaumberg D.A; D.A. Sullivan; J.E. Buring; and M.R. Dana, (2003). Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthal;* **136**:318-26.

**4-** Li, D.Q; Z. Chen; X.J. Song; L. Luo; and S.C. Pflugfelder, (2004). Stimulation of matrix metalloproteinases by hyperosmolarity via a JNK pathway in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthal. Vis Sci*; **45**:4302-11.

**5-**Lemp, M.A., (1995). Report of the National Eye Institute/Industry workshop on clinical trials in dry eyes. *CLAO J*; **21**:221-32.

**6-** Murube, J; J. Németh; H. Höh; P. Kaynak-Hekimhan; J. Horwath-Winter; and G. Van Setten, (2005). The triple classification of dry eye for practical clinical use. *Eur J Ophthal*; **15**:660-7.

**7-** Murube, J., (2008). Triple classification of diagnosis of dry eyes. *Ocul Surf*; **6**:61-9.

**8-** Behrens A; J.J. Doyle; L. Stern; R.S. Chuck; P.J. McDonnell; and S.C. Yiu, (2006). Dysfunctional tear syndrome: A Delphi approach to treatment recommendations. *Cornea*;**25**:900-7.

**9-** Lopin, E; T. Deveney; and P.A. Asbell, (2009). Impression cytology: recent advances and applications in dry eye disease. *Ocul Surf*; **7**:93-110.

**10-**Seal, D. V; J. I. McGill; I. A. Mackie; G. M. Liakos; P. Jacobs; and N. J. Goulding, (1985). Bacteriology and Tear protein profiles of the dry eye. *Brit. J. Ophthalmol*; **70**: 122-125.

**11-** Graham,J.E;J.E.Moore;X.Jiru; E. A. Goodall; J. S.G. Dooley; V. E. A. Hayes; D. A. Dartt; C. S. Downes; and T. C. B. Moore, (2007). Ocular Pathogen or Commensal: A PCR-Based Study of Surface Bacterial Flora in Normal and Dry Eyes.*Invest.Ophthalmol. Visual Sci*; 48 (12): 5616-5623.

**12-** Zhou, L; R. W. Beuerman; Y. Foo; S. Liu; L. P.K. Ang; and D. T. H. Tan, (2006). Characterisation of Human Tear Proteins Using High-Resolution Mass Spectrometry. *Ann. Acad. Med. Singapore*; **35**: 400-7.

**13-**Provine, R. R., (2009). Tearing: Breakthrough in Human Emotional Signaling.*Evolutionary Psychology*; 7(**1**): 52-56.

**14-** McCulley,J. P; and W. E. Shine, (2002). The Lipid Layer: The Outer Surface of the Ocular Surface Tear Film. *Bioscience Reports;* 21(4):407-418.

**15-**McGill, J. I; G. M. Liakos; N. Goulding; and D. V. Seal, (1984). Normal Tear Protein Profiles and Age-Related Changea. *Brit. J. Opthal*; **68**: 316-320.

**16-**Sack, R. A; K. O. Tan; and A. Tan, (1992). Diurnal Tear Cycle: Evidence for a Nocturnal Inflammatory Constitutive Tear Fluid. *Invest. Ophthal. Vis. Sci*; 33(**3**): 626- 640.

**17-**Huang, L. C; R. L. Redfern; S. Narayanan; R. Y. Reins; and A. M. McDermott, (2007). In Vitro Activity of Human β-Defensin 2 against Pseudomonas aeruginosa in the Presence of Tear Fluid. *Antimicrob. Agents and Chemother*; 51(**11**): 3853-3860.

**18-**Fluckinger, M; H. Haas; P. Merschak; B. J. Glasgow; and B. Redl, (2004). Human Tear Lipocalin Exhibits Antimicrobial Activity by Scavenging Microbial Siderphores. *Antimicrob. Agents and Chemother*; 48(**9**): 3367-3372.

**19-**Leitch, E. C; and M. D. P. Willcox, (1998). Synergic Antistaphylococcal Properties of Lactoferrin and Lysozyme. *J. Med. Microbiol*; **47**: 837-842.

**20-**eidem, (1999). Elucidation of the Antistaphylococcus Action of Lactoferrin and Lysozyme. ibid; **48**: 867-871.

**21-**Willcox,M.P;C.A.Morris;A.Thakur; R. A. Sach; J. Wickson; and W. Boey, (1997). Complement and Complement Regulatory Proteins in Human Tears. *Invest. Ophthal. Vis. Sci*; 38(**1)**:1-8.

**22-**Giris, D. O; J. J. Dajcs; and R. J. OGallagban, (2003). Phospholipase A2 Activity in Normal and Staphylococcus aureus-Infected Rabbit Eyes. *Invest. Ophthal. Vis. Sci*; 44(**1**): 197-202.

**23-**eidem,(1982). Immunoassay of Lysozyme in Conjunctival Diseases. *Brit. J. Opthal*; **66**:732-735.

**24-**Sen, D. K; G. S. Sarin; K. Mani; and K. Saha, (1976). Immunoglobulins in Tear of Normal Indian People. ibid; **60**:302-304.

**25-** Sen, D. K; and G. S. Sarin, (1979). Immunoglobulin Concentration in Human Tears in Ocular Diseases. ibid; **63**: 297-300.

**26-**Coyle, P. K; and P. A. Sibony, (1986). Tear Immunoglobulins Measured by ELISA. *Invest. Ophthal. Vis. Sci*; **27**: 622-625.

**27-**Norina, T. J; S. Raihan; S. Bakiah; M. Ezanee; A. T. Liza-Sharmini; and W. H. Wan Hazzabah, (2008). Microbial keratitis: aetiological Diagnosis and clinical features in patients admitted to Hospital University Sains Malaysia. *Singapore Med J*; 49 (**1**): 67-71.

**28-**Abelson, M. S; G. W. Ousler; and L. A. Nally, (2002). Alternative reference values for tear film break up time in normal and dry eye populations. *Adv. Exp. Med. Biol*; **506**: 121-125.

**29-**Kwon, O. Y; S. H. Kim; and J.H. Kim, (1994). Schirmer test in Parkinson’s disease. *J. Korean Med. Sci*; 9: 239-242.

**30-**Frebourg, N. B; D. Nouet; L. Lemee; E. Martin; and J. F. Lemeland, (1998). Comparison of ATB staph, rapid ATB staph, Vitek, and E-test methods for detection of oxacillin heteroresistance in Staphylococci possessing mecA. *J. of Clinic. Microbiol*; **36**: 52-57.

**31-**Furtado, G. L; and A. A. Medeiros, (1980). Single-Disk Diffusion Testing (Kirby-Bauer) of Susceptibility of Proteus mirabilis to Chloramphenicol: Significance of the Intermediate Category. ibid; **4**: 550-553.

**32-**Brown, D. F. J., (2001). Detection of Methicillin/Oxacillin Resistance in Staphylococci. *J. of Antimicrob. Chemother*; **48**: 65-70.

**33-**Nakamori, K; M. Odawara; T. Nakajima; T. Mizutani; and K. Tsubota, (1997). Blinking is controlled primarily by ocular surface conditions. *Am. J. Ophthalmol*; **124**: 24-30.

**34-**Bron, A.J; and G.N. Foulk, (2007). The Definition and Classification of Dry Eye Disease. *The Ocular Surface*; 5(**2**): 75-92.

**35-**Goto, E; K. Endo; and A. Suzuki, (2003). Tear evaporation dynamics in normal subjects and subjects with obstructive meibomian gland dysfunction. *Invest. Ophthamol. Vis. Sci*; **44**:533-9.

**36-**McMahon, T. T; and K. Zadnik, (2000). Twenty-five years of contact lenses: the impact on low dose anesthetic a case report. *Cornea*; **19**: 730-40.

**37-**Thai, L. C; A. Tomlinson; and M. G. Doane, (2004). Effect of refractive contact lens materials on tear physiology. *Optom. Vis. Sci*; 81: 194-204.

**38-**Nichols, J. J; C. Ziegler; G. L. Mitchell; and K.K. Nichols, (2005). Self-reported dry eye disease refractive modalities. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*; 46: 1911-4.

**39-**Micallef, C; and P. Cuschieri, (2001). Ocular Infections due to Contaminated Solution. *Ophthalmologica*; **215**: 337.

**40-** Dawson, I. J; J. Stanbury; and N. Venn, (2006). Antimuscarinic antibodies in primary Sjogren's syndrome reversibly inhibit the mechanism of fluid secretion by human submandibular salivary acinar cells. *Arthritis Rheum*; **54**; 1165-8.

**41-** Adebayo, A; J. G. Parikh; S. A. McCormick; M. K. Shah; R. S. Huerto; G. Yu; and T. Milman, (2011). Shifting trends in *in vitro* antibiotic susceptibilities for common bacterial conjunctival isolates in the last decade at the New York Eye and Ear Infirmary. *Graefes Arch Clin Exp Ophthal*; **249**:111–119.

**42-**Ubani, U. A., (2009). Common Bacteria Isolates from Infected Eyes. *JNOA*; **15**: 40-47.

**43-** Salvador, R; E. E. Muller; J. C. de Freitas; J. H. Leonhadt; L. G. Pretto-Giordano; and J. A. Dias, (2005). Isolation and characterization of Streptococcus spp. group B in Nile tilapias (Oreochromis niloticus) reared in hapas nets and earth nurseries in the northern region of Parana State, Brazil. *Ciência Rural, Santa Maria*; 35(6): 1374-1378.

**44-**Camello, T. C. F;A. L. M. Guaraldi; L.C.D. Formiga; and E.A.Marques, (2003). Nondiphtherial Corynebacterium Species Isolated from Clinical Specimens of Patients in a University Hospital, Rio De Janeiro, Brazil. *Braz. J. of Microbiol*; **34**:39-44.

**45-**Myerowitz,R. L; R. Klaw; and B. Johnson, (1976). Experimental Endogenous Endophthalmitis Caused by *Haemophilus influenzae* Type b. *Infect. And Immun;* 14(**4**): 1043-1051.

**46-**Chern, K. C; S. K. Shrestha; V. Cevallos; H. L. Dhami; P. Tiwari; L. Chern; J. P. Whitcher; and T. M. Lietman, (1999). Alterations in the conjunctival bacterial flora following a single dose of azithromycin in a Trachoma endemic area. *Br. J. Ophthal*; **83**:1332–1335.

**47-**Seal, D. V; S. P. Barrett; and J. I. McGill, (1982). Aetiology and treatment of acute bacterial infection of the external eye. ibid; **66**: 357-360.

**48-**Drew,W. L; A. L. Barry; R.'Toole; and J. C. Sherris, (1972). Reliability of the Kirby-Bauer Disc Diffusion Method for Detecting Methicillin-Resistant Strains of Staphylococcus aureus. *Applied Microbiol*; 24(**2**): 240-247.

**49-**Mackie, I. A; and D. V. Seal, (1976). Quantitave Tear Lysozyme Assay in Units of Activity per Microlitre. *Brit. J. Ophthal*; **60**:70-74.

**50-** Bright, K. R; S. A. Boone; and C. P. Gerba, (2009). Occurrence of Bacteria and Viruses on Elementary Classroom Surfaces and the Potential Role of Classroom Hygiene in the Spread of Infectious Diseases. *JOSN*; **10**: 1-9.