

قدرة البكتريا *Alcaligenes* على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية لتجويف الفم وعلاقتها بقابليتها على أحداث التلازن الدموي لكريات الدم الحمر

زياد ذنون داؤد الرسام
كلية العلوم - جامعة الموصل

تاريخ تسليم البحث : 2009/5/17 ؛ تاريخ قبول النشر : 2009/6/24

ملخص البحث :

تمت دراسة قدرة البكتريا *Alcaligenes* على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية لبطانة فم الإنسان ، وقد أظهرت النتائج وجود فرق معنوي في قدرة عزلات تحت النوع (A.x.x) على الالتصاق مقارنة مع كل من النوع *A.faecalis* وتحت النوع (A.x.d) اللذين لم تسجل الدراسة وجود فرق معنوي بينهما . كما اظهرت الدراسة قدرة عزلات تحت النوع (A.x.x) في احداث التلازن لكريات الدم الحمر للفصائل المختلفة من دم الانسان و دم الارانب والدجاج وقد اتسمت هذه القابلية بالمحدودية إذ تراكمت مع التراكيز العالية للبكتريا، ولم تسجل الدراسة ايضا وجود فروقات في هذه الفعالية لانواع فصائل دم الانسان ، كما فشل النوع *A.faecalis* و تحت النوع (A.x.d) في احداث التلازن مع كريات الدم الحمر المأخوذة من الفصائل المختلفة لدم الانسان ، في حين اظهرا تلازنا ضعيفا مع كريات الدم الحمر المأخوذة من دم الأرانب والدجاج، وقد ارتبطت هذه القدرة مع التراكيز العالية للبكتريا، وكذلك تميز تحت النوع (A.x.x) بقدرته على احداث التلازن مع كريات الدم الحمر للأرانب اذ استمر التلازن حتى تركيز 0.375×10^8 خلية بكتيرية / سم³ ، في حين اختفت قدرة النوع *A.faecalis* و تحت النوع (A.x.d) على احداث التلازن في التخفيف الأعلى من 1.50×10^8 خلية بكتيرية / سم³. ولم تستطع جميع عزلات بكتريا *Alcaligenes* قيد الدراسة على تحليل الدم في الاطباق الحاوية على وسط أكار دم الإنسان والأرانب .

الاستنتاجات : تبين من نتائج الدراسة امتلاك البكتريا *Alcaligenes* لملزونات كريات

الدم الحمر لانواع من فصائل الدم ، والتي تعد عاملا مهما من عوامل ضراوة البكتريا .

The Ability Of *Alcaligenes* To Adhere To The Epithelial Cells And Its Relation With The Ability To Agglutinate RBCs .

Al-Rassam, Z.T.

College of Science - University of Mosul

Abstract:

This study deals with the ability of the bacteria '*Alcaligenes*' to adhere to the surface of the mouth epithelial cells . The results showed a significant difference in the ability of the subspecies (A.x.x) compared with species *A.faecalis* and the subspecies (A.x.d) which don't show a significant difference among them.

The study also detected the ability of the isolates of (A.x.x) to agglutinate red blood cells of the different human blood groups and rabbit and chicken blood cells. This ability was restricted and accompanied with the high concentration of bacteria . The study didn't record any difference in this ability with the different blood groups, the species *A.faecalis* and the subspecies (A.x.d) were unable to agglutinate the different groups of RBC while both showed weakly agglutinate rabbit and chicken RBCs which occur high bacterial concentration. The subspecies (A.x.x) were characterized by their ability to agglutinate rabbit RBCs which continued to the bacterial conc. of 0.375×10^8 cells/ml , while this ability disappeared for *A.faecalis* and the subspecies (A.x.d) at bacterial concentration of more than 1.50×10^8 cells/ml . All the isolates of *Alcaligenes* under study are unable to lyse blood on blood agar plates prepared from human and rabbit blood .

Conclusion: The study showed the ability of the bacteria *Alcaligenes* to agglutinate the different types of RBCs and it was considered as one of its virulence factors.

المقدمة:

يضم جنس *Alcaligenes* أنواعا عديدة مهمة سريريا، منها النوع *A. xylooxidans* الذي يضم تحت النوع (*A.x.x*) *A. xylooxidans* subsp. *Xylooxidans* والمعروف سابقا باسم *Achromobacter xylooxidans* ، وقد اعيد استخدام هذه التسمية في الاونة الاخيرة ، وتحت النوع (*A.x.d*) *A. xylooxidans* subsp. *denitrificans* [1, 2] . كما يضم هذا الجنس النوع *A. piechaudii* والنوع *A. faecalis* المعروف سابقا باسم *Alcaligenes odorans* [3,4] . يعد تحت النوع (*A.x.x*) مهما من الناحية السريرية بالرغم من تواجده بشكل طبيعي في الأذن والقناة الهضمية والمجري التنفسية للأصحاء [5]. فقد برز ملوثا للسوائل والمحاليل الطبية المستخدمة في المستشفيات ، واعتبر المسؤول عن الإصابات المرتبطة بها [2, 3] . وقد تنوعت الإصابات الناجمة عن هذه البكتريا إذ عزلت من السائل الشوكي وسائل البريتون وسائل الجنب ومن إفرازات الجهاز التنفسي والجروح المتقيحة ومن دم المرضى المصابين بتجرثم الدم الذي أعقب القنطرة الوريدية والعمليات الجراحية للقلب والأوعية الدموية [6] . وعدة أفراد هذا الجنس انتهازية ترافق البكتريا الممرضة [7] . وقد أشارت العديد من الدراسات إلى دور تحت النوع (*A.x.x*) في رفع نسبة الوفيات لدى مرضى التليف الحويصلي الراقدين في المستشفيات لاصابتهم بالتهاب الرئة وجراثمة الدم [8,9] . فضلا عن التسبب بالتهاب البريتون المزمن لدى مرضى الفشل الكلوي الذي يعقب عملية الديليزة [10] . كما تسببت هذه البكتريا بالتهاب سحايا الدماغ وذات الرئة والتهاب نخاع العظم لدى مرضى التهاب الكبد الفيروسي ، والايديز والسرطان ومرضى نقل الأعضاء المستخدمين للعقاقير المثبطة للمناعة [11,12] . وقد ارتبطت الاصابة بهذه البكتريا بالتنشيط واستعداد المريض للاصابة [7] . في حين أشار [3] إلى انتقال إصابة المجاري التنفسية المتسببة عن بكتريا (*A.x.x*) من إلام إلى طفلها. فضلا عن عزل بكتريا (*A.x.x*) من اشقاء يعانون من اصابة المجاري التنفسية [13] . كما عزلت بكتريا (*A.x.x*) من قرحة القرنية المزمن لمريضة أخضعت لاستئصال القرحة بعد الفشل في علاجها بالمضادات الحيوية الذي استمر ثلاثة اشهر [14]. وقد اعتبرت هذه البكتريا جراثوما كامنا قادرا على إحداث اصابات مزمنة للأصحاء [15] . وتكمن خطورة هذه البكتريا في امتلاكها للمقاومة المتعددة والنموذجية للعديد من المضادات الحيوية [16,1]. ولعدم وجود دراسة مستفيضة حول امراضية انواع البكتريا *Alcaligenes* فقد صممت هذه الدراسة لتحديد قدرة انواعها على الالتصاق واحداث التلازن لانواع من كريات الدم الحمر .

المواد وطرائق العمل العزلات:

أجريت الدراسة على (9) عزلات لبكتريا *Alcaligenes* . (3) لتحت النوع (A.x.x)،
(3) من تحت النوع (A.x.d) و (3) *A.faecalis* والتي تم الحصول عليها من [17]
والمعزولة من عينات سريرية .

الاختبارات: القدرة على تحليل الدم

لقت العزلات قيد الدراسة على أطباق حاوية على وسط اكار دم الانسان والارانب
وحضنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة وسجلت النتائج .

اختبار التلازن الدموي

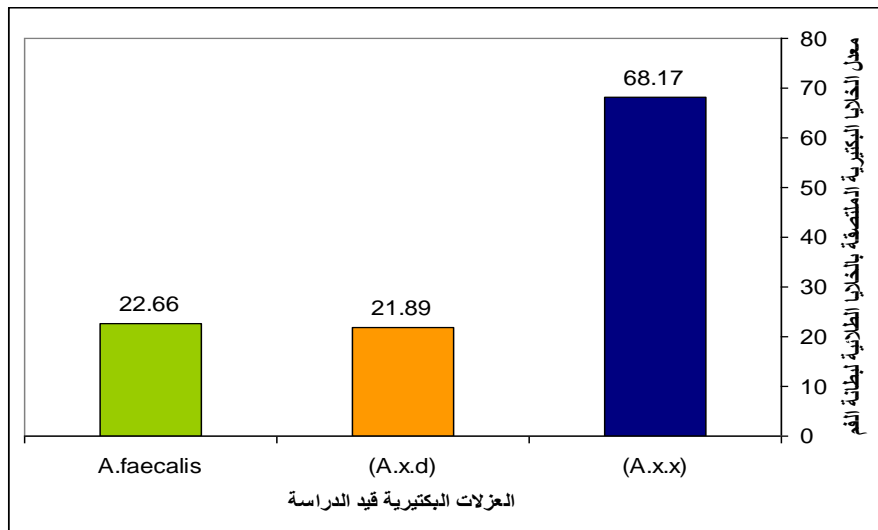
اجري الاختبار بتحضير المعلق البكتيري وذلك بنقل مستعمرات البكتريا النامية على
وسط اكار الدم الى انبوب حاو على محلول الملح الفسيولوجي الدارئ المعقم
(PBS) -PH 7.2 phosphate buffered saline، غسلت الخلايا البكتيرية مرتين وعلقت
بمحلول (PBS) و بتركيز 1.2×10^9 خلية / سم³ مقارنة بمقياس ماكفرلاند الانبوب الرابع
(McFarland Standard No.4). حضر معلق كريات الدم الحمر اذ جمعت عينات دم
الانسان من متبرعين أصحاء لفصائل O^+ , O^- , AB^+ , AB^- , B^+ , B^- , A^+ , A^-
ومن دم الأرناب والدجاج ووضعت في انابيب معقمة حاوية على مادة EDTA. فصلت كريات
الدم الحمر وغسلت مرتين بمحلول (PBS) ثم علقت بنفس المحلول بتركيز 2% (حجم/حجم) .
أجري الاختبار بإضافة 50 مايكروليترا من محلول (PBS) الى حفر شريحة البوليسترين وابتداء
من الحفرة الثانية ، أضيف 50 مايكروليترا من المعلق البكتيري المحضر الى كل من الحفرة
الاولى و الثانية في كل عمود ابتداء من العمود A ثم أجريت سلسلة من التخفيف بنقل 50
مايكروليترا من المعلق البكتيري من الحفرة الثانية الى الثالثة وهكذا وصولا الحفرة رقم 11 .
اضيف 50 مايكروليتر من معلق كريات الدم الحمر لفصيلة الدم A^+ الى كل حفر العمود A^+
وهكذا لباقي فصائل الدم ، وبذلك تصبح الحفرة رقم 12 عينة سيطرة سالبة ، رجت الشريحة برفق
، تركت بدرجة حرارة الغرفة، قرئت النتائج بعد مرور ساعة من إجراء الاختبار [18] .

اختبار الالتصاق على الخلايا الظهارية للفم

جمعت الخلايا الظهارية من تجويف فم الانسان (human buccal cavity) بوساطة مسحة قطنية معقمة ،غسلت الخلايا ثلاث مرات بمحلول (PBS) باستخدام جهاز الطرد المركزي وبسرعة 1500 دورة / الدقيقة ولمدة (10) دقائق ثم علق الراسب بالمحلول نفسه. رشح المعلق خلال ورقة ترشيح (Whatman No.1) حيث توزع الخلايا بشكل عشوائي على سطح ورقة الترشيح ، نقلت الخلايا الى أغطية شرائح (microscope slide covers) ضغط غطاء الشريحة على سطح ورقة الترشيح ، وتركت الاغطية لتجف مدة (15) دقيقة ، بعدها وضعت اغطية الشرائح الزجاجية في اطباق زجاجية معقمة و فارغة . أضيف المعلق الجرثومي المحضر في الفقرة السابقة و بحجم (5) سم³ لكل طبق تقريبا، حضنت الاطباق باستخدام حاضنة هزازة لمدة ساعة واحدة وبدرجة حرارة 37 م° . ثم غسلت اغطية الشرائح مرتين بمحلول الفوسفات المنظم ، ثبتت هذه الخلايا بالميثانول Methanol لمدة (15) دقيقة، غسلت مرتين بمحلول الفوسفات المنظم وصبغت بصبغة كمزا Giemsa لمدة (20) دقيقة ثم غسلت الشرائح بالماء المقطر ، وتركت لتجف. ثبتت الأغطية على الشرائح الزجاجية وفحصت الشرائح باستخدام المجهر الضوئي ، تم احتساب عدد البكتريا الملتصقة بـ (50) خلية ظهارية اختيرت بشكل عشوائي ، وتم اهمال العدد الاقل من (10) خلايا بكتيرية لكل خلية ظهارية ، واجري التحليل الاحصائي [19] .

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج الموضحة في الشكل (1) قدرة جميع عزلات البكتريا قيد الدراسة على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية المعزولة من تجويف الفم ، صورة (1) .



الشكل (1) معدل التصاق العزلات البكتيرية قيد الدراسة بسطوح الخلايا الظهارية المعزولة من تجويف الفم .



الصورة (1) قدرة العزلات قيد الدراسة على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية المعزولة من تجويف الفم . قوة التكبير $1000 \times$ ، الصبغة كمز *Giemsa*

وقد تباينت هذه القابلية بين الانواع اذ اظهر تحت النوع (A.x.x) وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية $p < 0.05$ في قدرته على الالتصاق مقارنة مع تحت النوع (A.x.d) والنوع *A.faecalis* اللذان لم تسجل الدراسة وجود فرق معنوي بينهما، الجدول (1) .

الجدول (1) قدرة عزلات البكتريا *Alcaligenes* على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية المعزولة من تجويف الفم .

مستويات اختبار دنكن	معدل الالتصاق \pm الانحراف المعياري	البكتريا
A	16.89 ± 68.17	تحت النوع (A.x.x)
B	7.96 ± 21.89	تحت النوع (A.x.d)
B	8.19 ± 22.66	النوع <i>A.faecalis</i>

المعدلات ذات الحروف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية $p < 0.05$ حسب اختبار دنكن

تعد القابلية على الالتصاق من عوامل الضراوة المهمة للبكتريا إذ تتمكن البكتريا خلالها من إيصال السموم و الانزيمات الحالة إلى خلايا المضيف ، كما يساعد الالتصاق في تغلب الخلايا البكتيرية على فعاليات المضيف الميكانيكية لإزالة البكتريا ، فضلا عن كونه مدخلا لاختراق أنسجة المضيف [20] ، و يعد الفرق المعنوي الذي أظهره تحت النوع (A.x.x) في قدرته

على الالتصاق مقارنة ببقية الأنواع متفقا مع نتائج العديد من الدراسات التي اعتبرت تحت النوع (A.x.x) هو الأكثر ضراوة من بقية الأنواع إذ تتسبب أفراده بالعديد من الإصابات لمرضى التثبيط المناعي ومرضى السرطان والأشخاص الأصحاء [16,15,14,12,11]. فضلا عن ذلك فقد بينت نتائج الدراسة الحالية ان مستعمرات النوع *A.faecalis* وتحت النوع (A.x.d) المنماة على وسط اكار الدم اتسمت بملمس لزج عند لمسها بحلقة التلقيح ، على العكس من مستعمرات تحت النوع (A.x.x) التي كانت اقل لزوجة، و قد تفسر محدودية التصاق النوع *A.faecalis* وتحت النوع (A.x.d) الى إنتاجهما للمادة المخاطية التي تشبه المحفظة في بعض خصائصها . تظهر العزلات غير المنتجة للمحفظة قدرة على الالتصاق تفوق ما تظهره العزلات المنتجة لها [21] . وهذا لا يقلل من خطورة النوع *A.faecalis* وتحت النوع (A.x.d) ، إذ أشار [22] إلى قدرة النوع *A.faecalis* في إحداث تغيرات خلوية في المزرعة النسيجية المحضرة من القصبه الهوائية للديك الحبشي . كما أشار [23] إلى ان القابلية على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية لم ترتبط بوجود *Fimbriae* إذ ثبت وجودها في عزلات البكتريا *Bordetella avium* القادرة وغير القادرة على الالتصاق ، انما ارتبطت مع الاختلاف في مكونات الغشاء الخارجي للبكتريا اذ ثبت وجود نقص في خمسة أو أكثر من بروتينات الغشاء في عزلات بكتريا *Bordetella avium* غير القادرة على الالتصاق مقارنة بالعزلات الاخرى.

أظهرت نتائج الدراسة قدرة جميع عزلات تحت النوع (A.x.x) على التلازن مع كريات الدم الحمر المأخوذة من فصائل الدم المختلفة للإنسان و مع كريات الدم الحمر للأرانب والدجاج، و قد اتسمت هذه القدرة بالمحدودية وترافقت مع التراكيز العالية للبكتريا، اذ ظهر التلازن مع كريات الدم الحمر لكل من الانسان والدجاج في الحفر رقم 1 و 2 عند التراكيز $10^6 \times 3$ و 10^8 خلية بكتيرية / سم³ على الترتيب ، في حين استمر التلازن مع كريات الدم الحمر للارانب الى الحفرة رقم 5 ذات تركيز $10^8 \times 0.375$ خلية بكتيرية / سم³ جدول (2) .

الجدول (2) قدرة عزلات تحت النوع (A.x.x) على التلازن مع كريات الدم الحمر المأخوذة من فصائل الدم المختلفة للإنسان ومع كريات الدم الحمر للأرانب والدجاج

رقم الحفرة	تركيز البكتريا 10^8 خلية بكتيرية / سم ³	التلازن مع كريات الدم الحمر المأخوذة من فصائل دم الانسان							
		O-	O+	AB-	AB+	B-	B+	A-	A+
1	6	+	+	+	+	+	+	+	+
2	3	+	+	+	+	+	+	+	+
3	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0.75	-	-	-	-	-	-	-	-
5	0.375	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0.1875	-	-	-	-	-	-	-	-
7	0.0937	-	-	-	-	-	-	-	-
8	0.0468	-	-	-	-	-	-	-	-
9	0.0234	-	-	-	-	-	-	-	-
10	0.0117	-	-	-	-	-	-	-	-
11	0.0058	-	-	-	-	-	-	-	-
12	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-

+ النتيجة الموجبة لاختبار التلازن، - النتيجة السالبة لاختبار التلازن

في حين لم تظهر أية من عزلات النوع *A.faecalis* و تحت النوع (A.x.d) القدرة على التلازن مع كريات الدم الحمر للفصائل المختلفة للإنسان ، الا انهما اظهرا قابلية محدودة على التلازن مع كريات الدم الحمر للدجاج والارانب وترافقت مع التراكيز العالية للبكتريا ايضا اذ ظهر التلازن مع كريات الدم الحمر للدجاج فقط في الحفرة رقم 1 عند التراكيز $10^8 \times 6$ خلية بكتيرية / سم³ في حين استمر التلازن مع كريات الدم الحمر للارانب الى الحفرة رقم 3 ذات تركيز $10^8 \times 1.50$ خلية بكتيرية / سم³ الجدول (3) .

الجدول (3) قدرة عزلات تحت النوع (A.x.d) والنوع *A.faecalis* على التلازن مع كريات الدم الحمر لفصائل الدم المختلفة للإنسان ومع كريات الدم الحمر للأرانب والدجاج

رقم العذبة	تركيز البكتريا 10^8 خلية بكتيرية / سم ³	التلازن مع كريات الدم الحمر المأخوذة من فصائل دم الانسان							
		O-	O+	AB-	AB+	B-	B+	A-	A+
1	6	-	-	-	-	-	-	-	-
2	3	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0.75	-	-	-	-	-	-	-	-
5	0.375	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0.1875	-	-	-	-	-	-	-	-
7	0.0937	-	-	-	-	-	-	-	-
8	0.0468	-	-	-	-	-	-	-	-
9	0.0234	-	-	-	-	-	-	-	-
10	0.0117	-	-	-	-	-	-	-	-
11	0.0058	-	-	-	-	-	-	-	-
12	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-

+ النتيجة الموجبة لاختبار التلازن، - النتيجة السالبة لاختبار التلازن

تبين النتائج الموضحة في الجدول (3) عدم وجود اختلاف في نوع وأعداد المستقبلات الموجودة على سطوح كريات الدم الحمر المأخوذة من الفصائل المختلفة لدم الانسان ، وقد تبدو القدرة على التلازن التي أظهرها تحت النوع (A.x.x) مع كريات الدم الحمر للانسان ضعيفة ومحدودة إلا أنها ارتبطت مع نتيجة اختبار الالتصاق على سطوح الخلايا الظهارية لتجوييف الفم في الدراسة الحالية ، كما تميزت عزلات تحت النوع (A.x.x) عن عزلات النوع *A.faecalis* و تحت النوع (A.x.d) في قدرته على التلازن مع كريات الدم الحمر للدجاج والأرانب . اذ تعد القدرة على احداث التلازن مع كريات الدم الحمر مؤشرا لامراضية الجراثيم [24] . وقد أشار [25] إلى امتلاك النوع *A.faecalis* المعزولة من الطيور المصابة بالتهابات الجهاز التنفسي القدرة على إحداث التلازن لكريات الدم الحمر لخنازير غينيا في حين لم تتمكن *A.faecalis* المعزولة من الطيور السليمة ظاهريا من إحداث التلازن بالرغم من استيطانها للقصبه الهوائية للطيور . وقد أشار [26] إلى عدم وجود ارتباط بين ضراوة البكتريا *A.faecalis* وقدرتها على إحداث التلازن لكريات الدم الحمر و ان ليس للاهداب pilli دورا فيها . وهو ما أكده [27] بأن عزلات البكتريا *A.faecalis* المسببة لإصابات الجهاز التنفسي للطيور لم تظهر القدرة على إحداث التلازن لكريات الدم الحمر . قد تعتبر قدرة البكتريا على إحداث التلازن مؤشرا للامراضية وقد لا ترتبط مع عوامل الضراوة الأخرى كقدرتها على الالتصاق بسطوح الخلايا [19] .

وقد فشلت جميع عزلات البكتريا قيد الدراسة من تحليل الدم عند تنميتها على الاطباق الحاوية على وسط اكار دم الانسان و دم الارنب . بالرغم من ان القدرة على تحليل الدم هي من عوامل الضراوة المهمة التي تمتلكها البكتريا إلا أن هذا التفسير قد لا يعد صائبا في تحديد امراضية البكتريا حيث وجد ان الأنواع المحللة وغير المحللة لدم الإنسان من جنس *Streptococcus* مثل *S. mutans* و *S. pyogenes* هي ممرضة للإنسان ، وان عزلات بكتريا *Alcaligenes. latus* غير المحللة للدم ممرضة أيضا ولا تقل ضراوة عن العزلات المحللة للدم [28] . كما أكدت دراسة [29] أن قدرة البكتريا على تحليل الدم تعود لامتلاكها جينات محمولة على بلازميدات خاصة قابلة للانتقال . لذلك فان القدرة على تحليل الدم قد تكتسبها أو تفقدها البكتريا مع احتفاظها بباقي عوامل الضراوة الاخرى . وبما ان اغلب الجينات المسؤولة عن عوامل الضراوة هي محمولة على بلازميدات الضراوة Virulence plasmids [30] . فقد تكتسب بكتريا *Alcaligenes* المتواجدة بشكل طبيعي في الجهاز التنفسي و سطح الجلد بلازميدات الضراوة من بكتريا اخرى قريبة الصلة بها لتتحول الى بكتريا ضارية مسببة للمرض [26] .

المصادر :

1. Neuwirth, C. ; Freby, C. ; Desserry, A. ; Martin, S.P. ; Houzel, A. ; Pechinot, A. ; Duez, J.M. ; Huet, F. and Siebor, E. (2006) . VEB- 1 in *Achromobacter xylosoxidans* from cystic fibrosis patient, France . *Emerging infectious Dis.* 12 (11): 1737-1739.
2. Lin, L. ; Loenye. T. ; Burns, J. L. , Whitby, P. W. ; Stull, T. L. and Lipuma. J. J. (2002). Ribosomal DNA-Directed PCP for identification of *Achromobacter (Alcaligenes) xylosoxidans* Recovered from sputum samples from cystic fibrosis patients. *American Society for microbiology.* 40 (4): 1210-1213 .
3. Roselle, G. (2001). *Alcoligenes xylosoxidans* . *infectious Diseases.* University of Cincinnati. Ohio USA. www.netwellness.org.
4. Dupon, M. (1993). *Achromobacter Xylosoxidans (Alcaliyenes xylosoxidans subspecies xylosoxidans)* bacteremia after liver transplantation. *J. Intensive care medicine.* 19 (8): 481.
5. Wiatr, M. ; Morawska, A. ; Skl.aziel, J. and Kebdzierska, J. (2005). *Alcaligenes xylosoxidans* a pathogen of chronic ear infection .*Otolary. ngol. Pol .* 59 : 277-280 .
6. Weitkamp, J. ; Tanq, Y. ; Haas, D.W. ; Midha, N.K. and Crowe, J.E. (2000) .Recurrent *Achromobacter xylosoxidans* bacteremia associated with persistent lymph node infection in a patient with Hyper – Immunoglobulin M syndrome .*Infection Diseases Society of America .* 31 (5): 1183- 1187 .
7. Rodriguez, C. ; Garcia, A. ; Pastran, B. ; Meijmil, P. ; Jimenez, I. ; Rodriguez-Morales, A. J. (2006) . *Achromobacter xylosoxidans* Microbiological characteristics of isolates from A General Hospital in western Caracas, Venezuela. 12th International congress on infections Diseases. Lisbon, Portugal ISE, 027, P. 7.

8. Coenye, T ; Goris, J. ; Spilker, T. ; Vandmme, P. and Lipuma, J. J. (2002). Characterization of unusual Bacteria isolated from Respiratory Secretions of cystic fibrosis Patients and Description of inquilinus limosus gen. Nov., sp. Nov. American Society for microbiology. 40 (6): 2062 – 2069.
9. Tan, K. ; Conway, S.P. ; Brownlee, K.G.; Etherington, C. and Peckham, D.G. (2002) .Alcaligenes infection in cystic fibrosis . Pediatric Pulmonology , Wiley- Liss, inc . 34 (2): 101-104 .
- 10.Ogutmen, B. ; Albaz, M. ; Akoglu, E. and Ozener. C. (2005). Peritonitis caused by Alcaligenes xylosoxidans Sp. Xylosoxidanse in A continuous ambulatory peritoneal dialysis patient. Marmora medical Journal. 18 (2) : 90-92.
- 11.Gomez, F. G. ; Sanchez, O. A. N. ; Melnikov, V. ; Gonzalez, O. V. and Unrau, J. (2007). Meningitis Caused by Alcaligeness. xylosoxidans in a patients with HIV / AIDS. Brazilian Journal of infectious Diseases . 11 (6) : 603 – 604 .
- 12.Aisenberg, G. ; Rolston, K.V. and Safdar, A. (2004) . Bacteremia caused by Achromobacter and Alcaligenes Species in 46 patients with cancer (1989-2003) . American Cancer Society .101 (9): 2134 – 2140 .
- 13.Liacsahuanga, H. P. ; Haase, G. and Kentrup, H. (1998). Persistent Airway colonization with Alcaligenes xylosoxidans in two Brothers with cystic fibrosis. European J. of Clinical microbiology and Infectious Diseases. 17 (2): 132-134.
- 14.Huany, Z. ; Chen, Y. ; Chang, S. ; Lin, K. and Hsiao, C. (2005). Recurrent Alcaligenes xylosoxidons keratitis. CORNEA. 24 (4): 489-490 .
- 15.Rush, R. and Friedlander, M. (2007). Alcaligenes xylosoxidans conjunctivitis. CORNEA. 26 (7): 868-869.

16. Beringer, P. M. ; Pharm, D. and Appleman, M. (2000). Unusual respiratory bacterial flora in cystic fibrosis : microbiologic and clinical features cystic fibrosis. *Current opinion in pulmonary medicine* 6 (6) : 545-550.
17. Al-Rassam, Z. T. (2004). Urinary Tract Infections Caused By *Alcaligenes* Spp. And its Relation to Immune Suppression In Diabetic Patients. MSC Thesis, Bio.Dept. , College of Science , University of Mosul , Iraq .
18. Pearson, M. M. ; Lafontaine, E. R. ; Wagner, N. J. ; Geme , J.W. and Hansen, E. J. (2002) . A hag Mutant of *Moraxella catarrhalis* Strain O35E Is Deficient in Hemagglutination, Auto agglutination, and Immunoglobulin D-Binding Activities . *Infection and Immunity*. 70 (8): 4523-4533.
19. [Fitzgerald, M.](#); [Murphy ,S.](#); [Mulcahy ,R.](#); [Keane ,C.](#); [Coakley, D.](#) and [Scott, T.](#) (1999). Tissue culture adherence and haemagglutination characteristics of *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*. [FEMS Immunol Med Microbiol](#). 24(1):105-14 .
20. Tarr, P.I. ; Bilge, S.S ; Vary, J.C. ; Jelacic, S. ; Habeeb, R.L. ; Ward, T.R. ; Baylor, M.R. and Besser, T.E. (2000) . Iha : a Novel *Escherichia coli* 0157:H7 Adherence – conferring molecule encoded on a recently acquired chromosomal Island of conserved structure . *American Society for Microbiology* . 68 (3): 1400-1407 .
21. Harper, J. J. ; McCormack J. G. and Tilse, M. H. (1995). Adherence of *Haemophilus influenzae* to dacron fibres: significance of capsule and biotype . [J. Microbiological Methods](#) . 24(2) : 101-110.
22. Hell wig, D.H. ; Arp, L.H. and Fagerland, J.A. (1988). Acomparision of outer membrane protein and surface characteristics of Adhesive and Non – adhesive phenotypes of *Bordetella avium* . *Avian Diseases* .32 (4): 787 – 792 .

- 23.Herman, A. B. and Gerald, D. R. (1984). Differentiation of Alcaligenes-Like Bacteria of Avian Origin and Comparison with Alcaligenes Spp. Reference Strains. J. Clinical Microbiology. 19 (4) : 477- 481.
- 24.Jackwood, M.W. ; Saif, Y.M. ; Moorhead, P.D. and Dearth, R.N. (1985) . Further characterization of the agent causing coryza in Turkeys . Avian Dis. 29 (3): 690-705 .
- 25.Simmons, D.G. ; Rose, L.P. ; Brogden, K.A. and Rimler, R.B. (1984) Partial characterization of the hemagglutinin of Alcaligenes faecalis . Avian Diseases . 28 (3): 700- 709 .
- 26.Rimler, R. B. and Simmons, D. G. (1982). Differentiation Among Bacteria Isolated from Turkeys With Coryza. AVIAN DISEASES. 27 (2): 491-500.
- 27.Chang. C. I. ; Liu, W. Y. and Shyu, C. Z. (2000). Use of Prawn Blood Agar Hemolysis to Screen for bacteria pathogenic to cultured tiger prawns penaeus monodon. diseases of Aquatic organisms. 43 (14): 152-157.
- 28.Stevens, S. X. ; Jensen, H. G. ; Jett, B. D. and Gilmore, M. S. ; (1992). A hemolysin-encoding plasmid contributes to bacterial virulence in experimental Enterococcus faecalis endophthalmitis. Invest Ophthalmol Vis. Sci. 33 : 1650-1656.
- 29.Willey, J. M.; Sherwood, L. M. and Woolverton, C. J. (2008). Microbiology. Prescott, Harley, and Klein's . Seventh Edition McGraw-Hill , p.53-54.