----- مجلة علوم الرافدين، المجلد17، العدد9، خاص بعلوم الحياة، ص 251-262، 2006-----

التصنيف العددي بالتحليل العنقودي لمجموعة الجراثيم الهوائية العصويةالسالبة لصبغة كرام غير المخمرة المعزولة سريرياً

باسمة احمد عبد الله
قسم علوم الحياة
كلية العلوم
جامعة الموصل

ندى فاضل الراوي
فرع الاحياء المجهرية
كلية طب نينوى
جامعة الموصل

اسراء غانم السماك
قسم علوم الحياة
كلية العلوم
جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2006/1/24 ، تاريخ القبول 2006/4/24)

الملخص

اشتملت الدراسة عزل وتشخيص مجموعة الجراثيم الهوائية العصوية السالبة لصبغة كرام غير المخمرة من عينات سريرية مختلفة (قيح ، ادرار ، قشع) وتصنيفها تصنيفاً عددياً (Numerical Taxonomy) اعتماداً على الاختلافات الشكلية والكيموحيوية والفسلجية والجزيئية ، باستخدام التحليل العنقودي وبطريقة الربط المنفرد للمجاور الاقرب وحددت النسب المئوية للتشابه والتماثل بين الانواع باستخدام معامل التشابه البسيط (Ssm) .

تم الحصول على خمسة عناقيد (A ، B ، C ، D ، E) إذ تجمعت العزلات التابعة لجنس *Achromobacter* عند مستوى تشابه 92 % ولجنس *Alcaligenes* عند مستوى تشابه 92 %، ولجنس *Pseudomonas* عند مستوى تشابه 88 % ولجنس *Moraxella* عند مستوى تشابه 92 % ولجنس *Acinetobacter* عند مستوى تشابه 88 % .

Numerical Classification by Cluster Analysis of Gram Negative Non-fermentative Aerobic Bacillifrom Clinical Specimens

Basima A. Abdulla
Department of Biology
College of Science

Nada F. Al-Rawi
Department of Microbiology
College of Nineva Medeicin
Mosul University

Issra G. Al-Sammak
Department ofBiology
College of Science

ABSTRACT

The study includes isolation, diagnosis and classification of non _fermentative gram negative bacilli from clinical specimens (pus, urine, sputum) .

Classification based upon the morphological, biochemical, physiological and molecular biologcal characteristics using conventional numerical taxonomy, cluster analysis and nearest neighbour single linkage methods (NNSLM) .

The similarity levels between genera were determined and compared using (NNSLM) and simple matching coefficient (Ssm).

The study distinguishes 5 clusters (A , B , C , D , E) , The isolates belong to each genus are linked and determined at similarity level as follows : *Achromobacter* (92%) , *Alcaligenes*(92%), *Moraxella* (92%), *Pseudomonas* (88%), *Acinetobacter* (88%) .

المقدمة

تضم مجموعة الجراثيم الهوائية العصوية او المكورة غير المخمرة وحدة تصنيفية كبيرة والعديد من العوائل اهمها Acetobacteriaceae ، Legionellaceae ، Azotobacteriaceae ، Pseudomonadaceae ، Neisseriaceae ، Halobacteriaceae وغيرها. بعض اجناسها غير معروفة Uncertain afflication عصوية هوائية سالبة الكرام وممرضة مهمة للانسان وتعد انتهازية حقيقية ومسؤولة عن معظم حالات الاصابة المكتسبة في المستشفى (Seifert et al., 1997)، كما وتسهم في احداث العديد من حالات التهاب المجاري البولية والتهابات الحروق كانعكاس لقلة الدفاعات المناعية لدى المصاب، فضلاً عن حالات ذات الرئة وانتان الدم للمرضى الذين يعانون من خلل في وظيفة الخلايا الملتهمة (Coenye et al., 2003; Chaparro et al., 2001).

تعد جراثيم *Pseudomonas aeruginosa* أهم أنواعها في هذا المجال، فضلاً عن جراثيم *Acinetobacter* spp. (Ruimy et al., 2001; Pantophlet et al., 2000).

يصعب السيطرة على هذه الجراثيم بسبب تعدد المقاومة(Nemec et al., 2004; Segal et al., 2004; Towner, 1997). لذا حاولت الدراسة تصنيف بعض الاجناس العصوية المعزولة سريرياً تصنيفها عددياً وباستخدام التحليل العنقودي وصولاً الى تصنيف سهل عملي مقبول وذلك باستخدام اكبر عدد ممكن من الاختبارات الكيموحيوية والمظهرية والجزيئية لايجاد العلاقة واوجه التشابه والاختلاف والحصول على مفتاح تشخيصي ثابت وحقيقي للاجناس المهمة سريرياً لهذه المجموعة قيد الدراسة .

المواد وطرق العمل

جمعت 250 عزلة من حالات مرضية مختلفة من استشارية ومستشفى الزهراوي التعليمي ومستشفى السلام العام في الموصل للفترة من ايلول 2003 لغاية كانون الاول 2004، أخذت نماذج القيح من الخراجات وجروح العمليات والحروق والتهابات العين والانف والاذن والحنجرة والقشع والادرار. زرعت العينات على اكار الماكونكي واكار الدم، اما مسحات الانف والعين فقد زرعت على الاكار

المغذي المضاف اليه مصل الانسان المسخن الى درجة (56) °م لمدة نصف ساعة، شخصت افراد المجموعة باجراء عدد من الاختبارات الاتية :

- صبغة كرام لغرض التأكد من انها سالبة لهذه الصبغة .
- اختبار انزيم سايتوكروم اوكسيديز، لان جميع افراد هذه المجموعة تظهر فعالية لهذا الانزيم ماعدا افراد جنس *Acinetobacter* .
- عدم قدرة العزلة على النمو على اكار الماكونكي ماعدا افراد*Pseudomonas* ، *Achromobacter* ،*Alcaligenes* *baumannii* ،spp
- اختبار تخمر سكر الكلوكوز وذلك لان افراد هذه المجموعة سالبة لهذا الاختبار .

كما تم التمييز بين افراد هذه المجموعة باجراء عدد من الاختبارات الاضافية التأكيدية، بالاعتماد على (Koneman et al., 1997; Collee et al., 1996; Holt et al., 1994) .

اختبرت حساسية العزلات للمضادات الحيوية المجهزة من شركة Oxoid ومعمل أدوية سامراء. وشملت الاختبارات الجزيئية ما يأتي :

الهجرة الكهربائية باستخدام هلام متعدد الاكلايلامايد مع (SDS)

حضرت البروتينات الكلية للجراثيم حسب طريقة الباحثان Robyte و White (1987)، ومتعدد السكريد الدهني، وبروتينات الغشاء الخارجي للجراثيم. إذ فصل البروتين الكلي للجراثيم ومتعدد السكرايد الدهني وبروتينات الغشاء الخارجي بتقنية الهجرة الكهربائية وباستخدام هلام متعدد الاكريلامايد بتركيز (7.5 %) للبروتين الكلي و (12.5 %) لمتعدد السكرايد الدهني وبروتينات الغشاء الخارجي (Tateda et al., 1994).

أجريت هذه التقنية باستخدام طريقة Xing و Richard سنة (1996).

قياس فعالية عدد من الانزيمات المهمة للمجموعة

حضر المستخلص البروتيني وقدرت كمية البروتين الكلية (Lowry et al., 1951) وقدرت فعالية عدد من الانزيمات التي تؤدي دوراً في امراضية جراثيم المجموعة مثل انزيم الفوسفاتيز الحامضي (Hassan and Coombs, 1987)، وانزيم اسيتايل كولين استريز (Mohammad et al., 1997)، وانزيم الليستيز واللايبيز (Collee et al., 1996) .

كما قدرت فعالية عدد من انزيمات التنفس لهذه المجموعة مثل انزيم الايسوستريت ديهيدروجنيز (Vives–Rego et al., 1980)، وانزيم الماليت ديهيدروجنيز(Kitto, 1969).

استخدم في هذه الدراسة التصنيف العددي لافراد المجموعة، وباتباع نظام التحليل العنقودي باستخدام طريقة الربط المنفرد للمجاور الاقرب ومعاملة التشابه البسيط للبرنامج الاحصائي SPSS (عبد الله، 1996)، والذي يعد اكثر شيوعاً في تصنيف الجراثيم .

النتائج

تجمعت السلالات التابعة لجنس *Achromobacter* في عنقود (A) عند مستوى تشابه (92 %) كما موضح في المخطط الهرمي الشجري حيث ان عزلاتها كانت سالبة لانتاج غاز H_2S والاندول وموجبة للحركة واختزال النترات ومقاومة للمضادات Chloramphenicol ، Trimethoprim و Ampicillin، في حين اجتمعت السلالات التابعة لجنس *Alcaligenes* في عنقود (B) عند مستوى تشابه (92 %) حيث انها كانت سالبة للـ H_2S والاندول ومتحركة ومحللة للجلاتين ومقاومة لاغلب المضادات الحيوية قيد الدراسة كما في الجدول (1) .

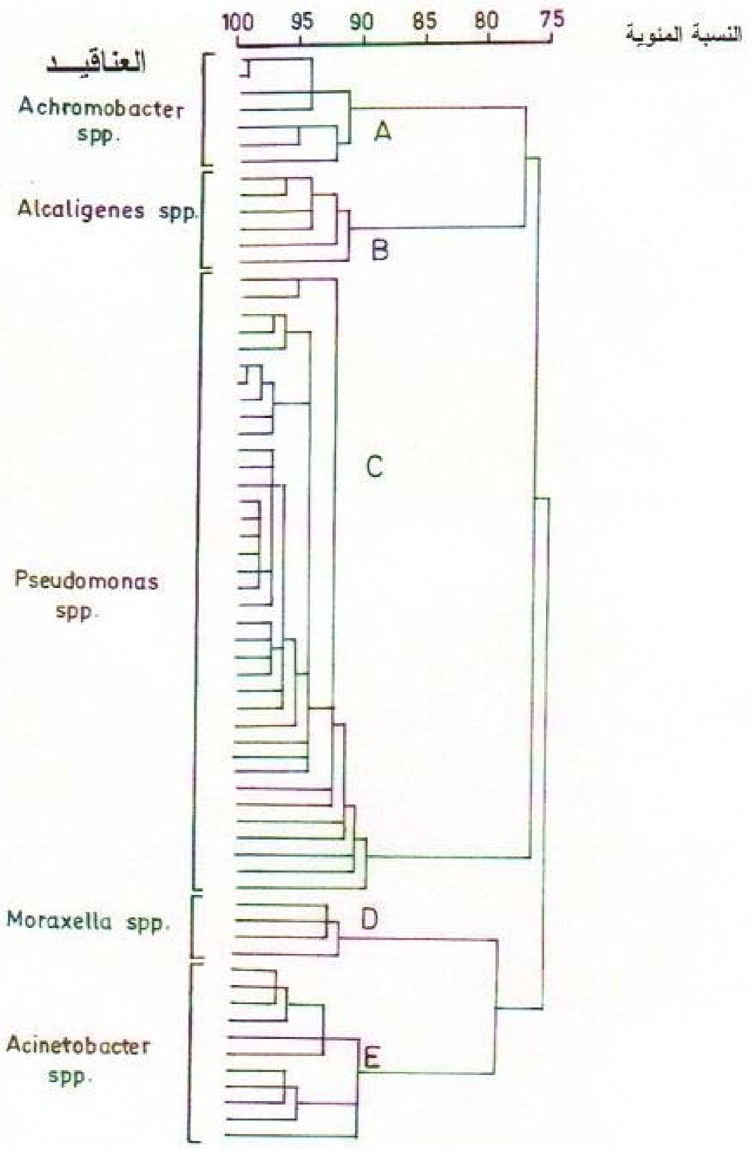
كما تجمعت السلالات التابعة لجنس *Pseudomonas* في عناقيد (C) متقاربة عند مستويات تشابه (88 %) ولم يكن هناك فرق في تجمعها مع بعضها باختلاف موقع الاصابة التي اخذت منها .

تجمعت سلالات *Moraxella* في عنقود (D) عند مستوى تشابه (92 %) كما تجمعت سلالات *Acinetobacter* في عنقود (E) عند مستوى تشابه (88 %) وانفصلا في عنقودين مختلفين بسبب كون *Moraxella* موجبة للاوكسديز والنترات والجيلاتين وتحتاج المصل للنمو، بينما كانت الـ *Acinetobacter* سالبة للاوكسديز والنترات والجيلاتين ولاتحتاج المصل في نموها .

اختلفت سلالات *Pseudomonas* عن *Achromobacter* بكمية البروتين وعدد من الصفات، كما اختلفت *Pseudomonas* عن *Alcaligenes* بكونها مؤكسدة للكلوكوز (O) O/F واختلفت ايضاً في كمية البروتين الكلية وباقي الصفات .

واختلفت *Pseudomonas* عن *Acinetobacter* بكونها موجبة للاوكسيدز ومتحركة وكلاهما مقاوم للـ Erythromycin ، Clindamycin، Trimethoprim ، Ampicillin كما اختلفتا في كمية البروتين وباقي الصفات .

كما أظهرت كل العناقيد اختلافاً في كمية البروتين الكلية واظهار نشاط انزيمات Acid phosphatase ، Acetylcholine esterase ، Lecithinase و Isocitrate dehydrogenase وكما مبين في الجدول (1 و2).



الشكل يمثل التعنقد الهرمي الشجري للأنواع قيد الدراسة باستخدام طريقة الربط المنفرد للمجاور الأقرب ومعامل التشابه البسيط

الجدول 1 : النسب المئوية لفعالية العزلات قيد الدراسة للاختبارات الشكلية والكيموحيوية والفسلجية

E	D	C	B	A	الأجناس وعددها / الصفات	
Acinetobacter spp. 11	*Moraxella* spp. 4	*Pseudomonas* spp. 36	*Alcaligens* spp. 6	*Achromobacter* spp. 7		
100	0.0	100	0.0	100	Lipase	
100	0.0	100	0.0	100	Lecithinase	
0.0	0.0	100	100	100	Polar Flagella	
0.0	0.0	0.0	100	100	Peripheral Flagella	
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	Ornithin	decarboxylation
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	Lysine	decarboxylation
0.0	0.0	91.8	0.0	14.2	Arginine	decarboxylation
0.0	100	0.0	0.0	0.0	Serum for growth	
81.8	25	18.9	83.3	100	growth in MacConkey	
0.0	100	0.0	0.0	28.5	ONPG	
0.0	100	0.0	0.0	0.0	Ampicillin	
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	Trimethoprim	
36.3 MS 9.0	0.0	2.7 MS 10.8	16.6	0.0	Chloramphenicol	
36.3	0.0	10.8 MS 35.1	16.6 MS 33.3	14.2 MS 42.8	Tetracycline	
72.7	25 MS 25	40.5 MS 18.9	33.3	0.0	Pipracillin	
36.3	25 MS 25	70.2 MS 16.2	0.0	42.8	Carbencillin	
54.5	50 MS 25	81.0 MS 5.4	50	42.8 28.5	Aroux	
72.7	50 MS 25	89.1	100	57.1 MS 42.8	Amikacin	
9.0 MS 9.0	0.0	5.4 MS 29.7	0.0	42.8	Gentamycin	
18.0	0.0	10.8	0.0	0.0	Streptomycin	
54.5 MS 9.0	75	72.9 MS 5.4	83.3	71.4 MS 28.5	Norfloxacin	

تتمة الجدول 1

E	D	C	B	A	الأجناس وعددها / الصفات	
Acinetobacter spp. 11	*Moraxella* spp. 4	*Pseudomonas* spp. 36	*Alcaligens* spp. 6	*Achromobacter* spp. 7		
27.2	0.0	8.1 MS 10.8	16.6	28.5	Roxithromycin	
63.6	75	10.8 MS 29.7	33.3 MS 16.6	14.2	Cefotaxime	
100	100	83.7 MS 2.7	100	85.7	Ciprofloxacin	
9.0	25.0	2.7 MS 10.8	0.0	14.2	Clindamycin	
0.0	0.0	24.3	0.0	14.2	Erythromycin	
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	F	Xylose
0.0	0.0	0.0	0.0	85.7	O	
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	F	Glucose
100	0.0	100	0.0	71.4	O	
9.0	25.0	0.0	16.6	14.2	VP	
18.0	100	54.0	0.0	0.0	Gelatin Hydrolized	
9.0	100	51.3	50	100	Nitrat reduction	
0.0	0.0	100	100	100	Motility	
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	Indol	
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	H_2S	
63.6	50	100	33.3	71.4	Citrate	
0.0	0.0	2.7	0.0	100	Urease	
100	100	100	100	100	Catalase	
00	100	100	100	100	Oxidase	

الجدول 2 : كمية البروتين وفعالية عدد من انزيمات جراثيم المجموعة ، وعدد الحزم المفصولة بطريقة التوصيل الكهربائي لعدد من التراكيب الجزيئية لها .

الأنواع		A *Achromobacter* spp.	B *Alcaligenes* spp.	C *Pseudomonas*	D *Moraxella*	E *Acinetobacter*
كمية البروتين مايكروغرام/ملغم وزن جاف		177	247	170	187	243
فعالية انزيم	الفوسفاتيز الحامضي نانومول/دقيقة/ملغم بروتين	20.4	14.0	170	26.5	20.5
	اسيتايل كولين استريز Δ pH /30 دقيقة	0.09	0.041	0.192	0.209	0.282
	الايسوستريت ديهايدروجينيز نانومول/دقيقة/ملغم بروتين	200.6	158.3	154	114.6	74.9
	الماليت ديهايدروجينيز نانومول/دقيقة/ملغم بروتين	200.6	128.1	193	84.8	79.3
عدد الحزم المفصولة بطريقة التوصيل الكهربائي	للبروتين الكلي	3	2	4	2	1
	لبروتينات الغشاء الخارجي	1	3	1	2	2
	لمتعدد السكرايد الدهني	2	2	3	2	2

المناقشة

تناولت هذه الدراسة التصنيف العددي باستخدام الحاسوب لافراد مجموعة العصيات السالبة لصبغة كرام غير المخمرة الذي له دور مهم في تصنيف العديد من الجراثيم . إذ استخدمت تقنيات حديثة في دراسة تركيبها على المستوى الجزيئي، ساعد في الوصول الى تصانيف دقيقة لها (Vela et al., 2003; Harmsen et al., 2002; Prieto et al., 1992; Rossau et al., 1991) .

كما اوصت دراسات تحليل تتابع نيوكليوتيدات الحامض النووي الرايبوزي (rRNA) لجنس *Pseudomonas* بضرورة اعادة تقسيم هذا الجنس (Anzai et al., 2000) وكما كان لدراسة مكونات سطح الخلية الاثر في زيادة توضيح التغاير ضمن هذا الجنس (Lamont and Martin, 2003 ; Meyer et al., 2002) .

درست الصفات التركيبية والمصلية لمتعدد السكرايد الدهني لجنس *Acinetobacter* من اجل تمييز افراد هذا الجنس اذ كانت هناك دراسات مستفيضة في هذا المجال (Vinogradov et al., 2002; Pantophlet et al., 2002; Hasely et al., 1998) .

كما لعبت الوراثة دوراً كبيراً في تمييز افراد هذا الجنس (Beceiro et al., 2004 ; Liu et al., 1999) .

ولايجاد العلاقة بين جسم الانسان والنوع *Moraxella catarrhalis* درست التداخلات البروتينية او مايسمى بمواقع ارتباط بروتين الجرثومة على مستقبلات خاصة في جسم الانسان (Sims and Schryvers, 2003) .

ان الاهمية الطبية لافراد هذه المجموعة ومشاركتها في احداث العديد من الحالات المرضية كانت مدعاة للدخول في الدراسة الحالية، لذا تم اختيار التصنيف العددي لافرادها وايجاد مستويات التشابه فيما بينها من اجل الوصول الى ابسط الطرق في تمييز افرادها، حيث له دور كبير في حل المشاكل المتعلقة بتشخيص هذه المجموعة لعدم توفر طرق قياسية في التشخيص حيث يعمل التصنيف العددي على ايجاد جداول تشخيصية ثابتة ومقبولة اعتماداً على الصفات المظهرية والجينية ان امكن، كما تعد الصفات المظهرية انعكاساً لصفات الجين (Austin and Priest, 1986) . وحسب موسوعة بيركي العالمية فقد وضع الجنسين *Achromobacter* و *Alcaligens* ضمن عائلة *Alcaligenaceae* والجنس *Pseudomonas* ضمن عائلة Pseudomondaceae والجنسين *Acinetobacter* و *Moraxella* ضمن عائلة Moraxellaceae وهذا مشابه لما حصلنا عليه في دراستنا (Sneath et al., 1986) .

المصادر العربية

عبد الله، باسمة احمد، 1996. التصنيف العددي بالتحليل العنقودي لجراثيم اشباه القولونيات. اطروحة دكتوراه، جامعة الموصل.

المصادر الاجنبية

Anzai, Y., Kim, H., Park, J., Wakabayashi, H. and Oyaizu, H., 2000. Phylogenic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50 : pp.1563-1589.

Austin, B. and Priest, F., 1986. Modern Bacterial Taxonomy. Billing and sons Ltd., Worcestor, London .

Beceiro, A., Dominguez, L., Ribera, A., vila, J., Molina, F., Villanueva, R., Eiros, J. and Bou, G., 2004. Molecular Characterization of the gene encoding a new ampC (beta) lactamase in a clinical strain of *Acinetobacter* genomic species 3. Antimicrob. Agents Chemother. 48 : pp.1374-1378.

Chaparro, C., Maurer, J., Gutierrez, C., Krajden, M., Chan, C., Winston, T., Keshavjee, S., Scavuzzo, M., Tullis, E., Hutcheon, M. and Kesten, S., 2001. Infection with *Burkholderia cepacia* in cystic fibrosis: outcome following lung transplantation. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 163 : pp.43-48.

Coenye, T., Vancanneyt, M., Falsen, E., Swing, J. and Vandamme, P., 2003. *Alcaligenes insolitus* sp. Nov. and *Alcaligenes spanius* sp. nov., from humman clinical samples. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53 (6): pp.1819-1824.

Collee, J.G., Fraser, A.G., Marmion, B.P. and Simmons, A., 1996. Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology. 14th ed. Churchill Livingstone Inc., New York , U.S.A.

Harmsen, D., Rothganger, J., Frosch, M. and Albert, J., 2002. Ridom: Ribosomal differentiation of medical microorganisms database. Nucleic Acids Res. 30: pp.416-417.

Haseley, S., Holst, O. and Brade, H., 1998. Structural studis of the O antigen isolated from the phenol-soluble lipopolysaccharide of *Acinetobacter baumannii* (DNA group2) strains 9. Eur. J. Biochem. 251: pp.189-194.

Hassan, H. and Coombs, G., 1987. Phosphomonoesterase of leishmania mexicana and other flagellates. Mol. Biochem . Parasitol., 23, pp.285 – 296.

Holt, J.G., Krieg, NR., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Williams and Wilkins Comp., U.S.A. Baltimore.

Kitto, G.B., 1969. Intra– and extramitochondrial malate dehydrogenase from chiken and tuna heart. Methods Enzymol., 13: pp.106 – 116.

Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C. and Jr. W.C.W., 1997. Color Atlas and Text Book of Dignostic Microbiology. 5th ed. J.B. Lippincott-Raben Publishers , Philadelphia., pp.253 - 318 .

Liu, S., Schryvers, K., Sanderson, K. and Johnston, R., 1999. Bacterial phylogenetic clusters revealed by genome structure J. Bacteriol. 181: pp.6747-6755.

Lamont, I.L. and Martin, L.W., 2003. Identification and characterization of novel pyoverdine synthesis genes in *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiology 149: pp.833-842.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L.R. and all, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: pp.265 – 275. Lui, A. Becejac, S., Krvavica, S. and Coric, D., 1963. On the activity and localization of cholinesterase in Ascaris summ (Goeze). Veterinarski Arhiv., 33: pp.307 – 312.

Meyer, J.M., Geoffroy, V.A., Baida, N., Gardan, L., Izard, D., Lemanceau , P., Achouak , W. and Palleroni, N.J., 2002. Siderophore typing, a powerful tool for the identification of fluorescent and nonfluorescent pseudomonads. Applied and Environmental Microbiology, 68, (6), pp.2745-2753.

Mohammad, F.K., Faris, G.A.M. and Al–Kassim, N.A., 1997. A modified electrometric method for measurement of erythrocyte Acetylcholine activity in sheep. Vet Human Toxicol 39: pp.337 – 339.

Nemec, A., Dijkshoom, L. and van der Reijden, T., 2004. Long-term predominance of two pan- Europran clones among multi-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in the Gech Republic. J. Med. Microbiol. 53: pp.147-153.

Pantophlet, R., Seifert, H., Brade, L. and Brade, H., 2000. Antibody response to lipopolysaccharide in patients colonized or infected with an endemic strain et *Acinetobacter* genomic species 13 sensu tyernberg and ursing. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 7: pp.293-295.

Pantophlet, R., Severin, J., Nemec, A., Brade, I., Dijkshoorn, L. and Brade, H., 2002. Identification of Acinetobacter isolates from species belonging to the *Acinetobacter calcoaceticus Acinetobacter baumannii* complex with monoclonal antibodies specific for O antigens of their Lipopolysaccharides. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 9 : pp.60-65.

Prieto, M., Garcia-Armesto, M.R., Gareia-Lopez, M.L., Otero, A. and Moreno, B., 1992. Numerical taxonomy of gram-negative, non-motile, nonfermentative bacteria isolated during chilled storage of lamb carcasses. Appl. Environ. Microbiol., 58(7), pp.2245-2249.

Robyte, J.F. and White, B.J., 1987. Biochemical Techniques, Theory and Practice , 1st ed. Brooks / Cole, Montery, California U.S.A..

Rossau, R., van Landschoot, A., Gillis, M. and de Ley, J., 1991. Taxonomy of Moraxllaceae fam. Nov. a new bacterial family to accommaclate the genera Moraxella, Acinetobacter and Psychrobacter and related organisms. Int. J. Syst. Bacteriol. 41: pp.310-319.

Ruimy, R., Genauzeau, E., Barnabe, C., Beaulieu, A., Tibayrenc, M. and Andremont, A., 2001. Genetic diversity of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from ventilated patients with nosocamial pneumonia, cancer patients with bacteremia and environmental water. Infect Immunol. 69: pp.584-588.

Segal, H., Nelson, E. and Elisha, B., 2004. Genetic environment and transcription of ampC in an *Acinetobacter baumannii* clinical isolate. Antimicrob. Agents Chemother. 48: pp.612-614.

Seifert, H., Dijkshoorn, L., Gerner-Smidt, P., Pelzer, N., Jjernbery, I. and Vaneechoutte, M., 1997. Distribution of Acinetobacter species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. J. Clin. Microbiol. 35: 2819-2825.

Sims, K.L., and Schryvers, A.B., 2003. Peptide- peptide interactions between human transferrin and transferrin -binding protein B from *Moraxella catarrhalis*. J. Bacteriol. 185: pp.2603-2610.

Sneath, P.H.A., Mair, N.S.S. and Holt, J.G., 1986. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 2 Williams and Wilkins Baltimore USA. Waverly press Inc.

Tateda, K., Ishii, Y., Hirakata, Y., Matsumoto, T., Ohno, A. and Yamaguchi, K., 1994. Profiles of outer membrane proteins and Lipopolysaccharides of *Pseudomonas aeruginosa* grown in the presence of sub – MICs of macrolide antibiotics and their relation to enhanced serum sensitivity . Journal of Antimicrobial Chemotheropy , 34 : pp.931 – 942.

Towner, K., 1997. Clinical importance and antibiotic resistance of *Acinetobacter* spp. J. Med. Microbiol. 46 : pp.721-746.

Vela, A.I., Collins, M.D., Latre, M.V., Mateos, A., Moreno, M.A., Hutson, R., Dominguez, L., Fernandez-Garayzabal, J.F., 2003. Psychrobacter pulmonis sp. Nov., isolated from the lungs of lambs. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53 : pp415-419.

Vinogradov, E., Duus, O., Brade, H. and Holst, O., 2002. The structure of the carbohydrate backbone of the lipopolysaccharide from *Acinetobacter baumannii* strains ATCC 19606. Eur. J. Biochem. 269(2): pp.422-430.

Viver–Rego, J., Juarez, A., Imperial, J. and Pares, R., 1980. Correlation between isocitrate dehydrogenase activity and glumate excretion by citrobacter intermedius C_3 . Journal of General Microbiology , 122 : pp.167 – 170.

Xing, J.Z. and Richards, R.M.E., 1996. Determination of peptidoglycan associated protein in Escherichia coli NCIB 8545 by capillary zone electrophoresis. J. Chromatog., 740 (A): pp.273 – 278.