دراسة بعض عوامل الضراوة لبكتريا *Salmonella typhi* , *Pseudomonas aeruginosa, Micrococcus luteus* و *Staphylococcus aureus*

رنا إبراهيم محمد السبعاوي

قسم علوم الحياة / كلية التربية للبنات

جامعة الموصل

القبول	الاستلام
٠٢ / ٠٣ / ٢٠١١	١٠ / ٠١ / ٢٠١١

Abstract

This study includes the ability of the four types of bacteria to adhere to the surface of the mouth epithelial cells and the results showed a significant difference in the ability of adherence among the species.

The adherence on the epithelial cell is strong for *Salmonella typhi* and *Pseudomonas aeruginosa,* while the *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus luteus* showed less ability of adhesion than the first two species.

Also, this study revealed the capability of *Salmonella typhi* and *Pseudomonas aeruginosa* to agglutinate all types of blood groups that used in the study, while the *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus luteus* do not agglutinate any one of human blood groups.

الخلاصة

تضمنت الدراسة قدرة الأنواع البكتيرية الأربعة على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية المبطنة للفم وأظهرت النتائج أن قابلية الالتصاق كانت مختلفة بين نوع وآخر حيث كان التصاق بكتريا *Salmonella typhi* على سطوح الخلايا الظهارية بدرجة كبيرة وكذلك الحال بالنسبة لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في حين أظهرت *Staphylococcus aureus* وكذلك *Micrococcus luteus* اقل قابلية مقارنة للنوعين الأوليين، كما بينت الدراسة قابلية كل من بكتريا *Salmonella typhi* و *Pseudomonas aeruginosa* على إحداث التلازن الدموي مع جميع أنواع فصائل الدم المستخدمة في الدراسة في حين بكتريا *Staphylococcus*

aureus و*Micrococcus luteus* لم تحدث أي تلازن مع اي نوع من أنواع فصائل دم الإنسان الأربعة.

الكلمات الدالة : virulence factors of *staphylococcus aureus and micrococcus luteus and salmonella typhi and pseudomonas aeruginosa Adhesion and Heamagglutination to staphylococcus aureus and micrococcus luteus and salmonella typhi and pseudomonas aeruginosa*

المقدمة

المكورات العنقودية الذهبية هي أكثر الأنواع المسببة للإصابات المرضية وتوجد بصورة طبيعية على الجلد والأنف (1) وتسبب أمراض عديدة مثل الإصابات الجلدية كالتقرحات والدمامل وإصابات الرئة والتهاب السحايا والتهاب العظام والتهاب القلب وتجرثم الدم والتهابات الجروح وتبقى احد المسببات الخمسة لإصابات الأنف (2) كما وتمتاز بقابليتها على إفراز بعض الصبغات والإنزيمات والتي تزيد من امراضيتها(3) وهي مسؤولة عن معظم حالات تسمم الغذاء من خلال إنتاج سموم داخلية وإنتاج بعض الإنزيمات (4) وبينت دراسات مسؤوليتها لإحداث أمراض شديدة في الجلد للأطفال (5) كما تستطيع هذه الجرثومة الانتشار عبر الملامسة بالقيح من الجروح والانتقال من شخص إلى آخر بالملامسة(6) ويعود هذا النوع إلى جنس المكورات ضمن عائلة *Staphylococcaceae* والذي يقع ضمن رتبة *Bacillales* ضمن صنف *Bacilli* ضمن شعبة *Firmicutes* من مملكة البكتريا الحقيقية (7).

أما البكتريا *Micrococcus luteus* فإنها تتواجد في التربة والغبار والماء والهواء وتعتبر من الفلورا الطبيعية المتواجدة في جلد اللبائن كما وتوجد في فم الإنسان والأغشية المخاطية والحنجرة وفي الجهاز التنفسي العلوي واعتبرت مصدر للتلوث في الأشخاص المصابين وهي مقاومة للجفاف والتراكيز العالية للملح وهي ليست شديدة الامراضية (10;9;8)

ويصنف هذا النوع ضمن الجنس *Micrococcus* الذي يقع ضمن عائلة *Micrococcaceae* ضمن رتبة الخيطيات *Actinomycetales* ضمن شعبة *Actinobacteria* (11).

وتعد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* احد المسببات للأمراض الشائعة في الإنسان والحيوان وتوجد في الماء والتربة وتعد فلورا طبيعية في الجلد وتسبب أضرارا للأنسجة للمثبطين مناعيا وتسبب التهابات عامة وتقرحات وتصيب الرئتين والجهاز البولي والكلى وقد يسبب عجزها (12) وتعتبر احد المسببات الشائعة لالتهابات الحروق وإصابات العين الخارجية والتهابات الأذن الخارجية (13) كما وتسبب التهابات الرئة وتسبب أيضا إصابات جلدية

وإصابات ما بعد العمليات وتسبب تقرحات والتهابات العظام وتمتلك توكسينات خارجية مثل السم -A- الذي يسبب اضطرابات في الاستجابة المناعية وتفرز إنزيمات خارجية مثل (Exo) الذي يحلل الغشاء البلازمي لحقيقية النواة وتفرز السموم المعوية (14) وتمتاز بمقاومتها للمضادات الحيوية (15) كما وعزلت هذه الجرثومة من الدم والعظام (16).

ويصنف النوع *Pseudomonas aeruginosa* ضمن جنس الزوائف*Pseudomonas* في عائلة Pseudomonadaceae ضمن رتبة *Pseudomonadales* الذي يقع ضمن الصف *Gamma proteobacteria* في شعبة *proteobacteria* (7).

أما بكتريا *Salmonella typhi* فتعد من الأنواع المرضية التي تصيب الإنسان فقط وعندما يكون الإنسان حامل لها فقد تتركز في المرارة وهي تدخل الجسم عن طريق الفم مع الغذاء والماء الملوث وتخترق جدار الأمعاء وتتضاعف باللمف مسببة تعفن الدم (Septicemia) وإصابات جهازية تظهر أعراض الإصابة بعد ١٠-١٤ يوم من الحضانة حيث تسبب حمى التايفوئيد والالتهاب المعوي الحاد (7).

وتنتشر بكتريا التايفوئيد من الأمعاء إلى مجرى الدم وبقية مواضع الجسم وربما تسبب الموت إذا لم يتم العلاج بالمضادات الحيوية، ويكون الأطفال حديثي الولادة والمسنين أكثر عرضة للإصابة وكذلك المصابون بالتهاب المفاصل (17) وتنتقل مباشرة عن طريق التلوث بفضلات الإنسان (18).

تصنف بكتريا *Salmonella typhi* ضمن عائلة *Enterobacteriaceae* في رتبة *Enterobacteriales* والذي ضمن الصف *Gamma proteobacteria* (19).

لكي تبدأ الإصابة وظهور المرض لابد من التصاق البكتريا بشده وإلا فانه يحدث تخفيف لتركيز epithelial surface بسطح الخلايا البكتيرية بواسطة الافرازات أو الحركة الهدبية ciliary علاوة على وجود المستقبلات في معظم انسجه الإنسان Receptors والتي تسمح بالتلامس والالتصاق مع بكتريا خاصة (معينه). فبعض هذه المستقبلات تكون خاصة بنوع وجنس واحد من أنواع البكتريا المختلفة علاوة على وجود المسرتقبلات الأخرى التي قد تسمح بالتصاق العديد من الكائنات الحية الدقيقة الأخرى كما إن وجود المستقبلات وامكانية تكوين الروابط تعد من ضمن المحددات الرئيسية لقابلية الإصابة ومهاجمة البكتيريا لأنسجه خاصة.

كي تحدث العدوى، يجب على العديد من البكتريا أن تلتصق أولاً إلى الأسطح المخاطيةِ. على سبيل المثال، يتم بشكل مستمر تنظيف الجهاز المعوي عن طريق إفراز المخاط من خلايا خاصة (Goblet cells) و كذلك عن طريق الحركة المستمرة لمحتويات الجهاز المعوي على الطبقة الطلائيةِ. و بصورة شبيهة، فإن الخلايا المهدب ة في الجهاز التنفسي تعمل ع لى كنس

المخاط و البكتريا إلى أعلى . إضافة لذلك، فإن معدل التخلص من الخلايا الطلائي ة عند هذه الأسطح مرتفع بشكل ملحوظ.

الطبقة الطلائية أحادية الخلايا للأمعاء يتم إستبدالها بصورة مستمر ة و يتم دفع الخلايا و التخلص منها حوالي كل ٤٨ ساعة. كي تحدث العدوى في مثل هذ ه المواقع يجب على البكتريا أن تلتصق إلى الطبقة الطلائي ة و التضاعف قبل أن يتم التخلص من المخاط و الخلايا الطلائية. و لإنجاز هذه المهمة، فإن البكتريا طورت آليات إلتصاق مثل الزوائد الخلويه (Pili ،Fimbriae) التي تمتلك قدره التعرف على خلايا العائل و الإلتصاق بها.

عوامل الإستعمار، كما تسمى عادة، يتم إنتاجها من قبل العديد من البكتريا الممرض ة و تمثل جزء هام من الآليات المرضية لهذه البكتريا. أحد الأمثلة على البكتريا التي تمتلك الزوائد الخلوية و لديها القدرة على الإلتصاق إلى أسطح الخلايا هي بكتريا الكوليرا *Vibrio cholera* و بكتريا القولون *Escherichia coli* و كذلك أنواع السالمونيلا Salmonella و بكتريا السيلان *Neisseria gonorrheae* و بكتريا إلتهاب السحايا *Neisseria meningitides* وبكتريا *Streptococcus pyogenes*. (20)

المواد وطرائق العمل

العزلات:

تم استخدام أربعة أنواع بكتيرية وهي *Staphylococcus aureus*، *Micrococcus luteus*، *Salmonella typhi* و *Pseudomonas aeruginosa* والتي تم الحصول عليها من كلية العلوم / قسم علوم الحياة بعد أن تم التأكد من تشخيصها باستخدام الاختبارات التشخيصية (21).

الاختبارات:

<u>اختبار الالتصاق</u> (Adherence Test)

جمعت الخلايا الظهارية من تجويف فم الانسان (Human buccal cavity) حيث تم الحصول عليها بواسطة مسحة قطنية معقمة ونقلت المسحة الى انبوبة حاوية على Phosphate buffered saline-pH 7.2 (PBS) وغسلت ثلاث مرات بمحلول (PBS) وأجريت عملية الطرد المركزي بسرعة 1500 دورة/ دقيقة ولمدة 10 دقائق ثم علق الراسب بالمحلول نفسه وتم ترشيحه خلال ورقة ترشيح ونقلت الخلايا على أغطية الشرائح وضغط غطاء الشريحة على سطح ورقة الترشيح وتركت لتجف لمدة 15 دقيقة وبعدها وضعت أغطية الشرائح الزجاجية في أطباق زجاجية معقمة وفارغة وتم اضافة المعلق الجرثومي المحضر من تنمية البكتريا على

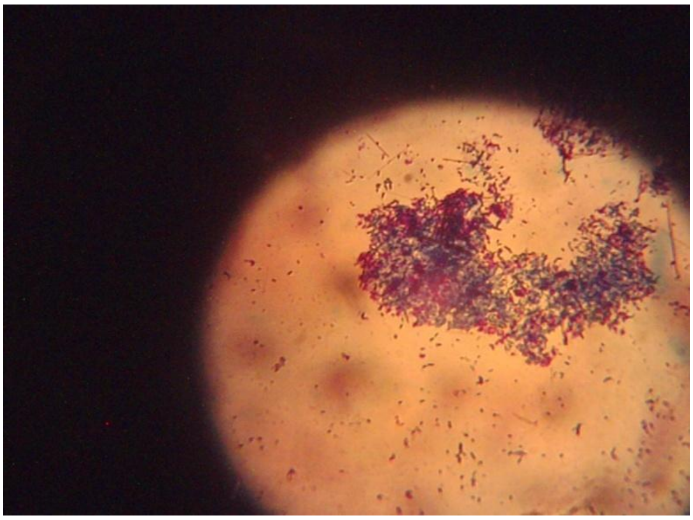
وسط اكار الدم وتم تحضير معلق من البكتريا النامية في محلول دارئ الفوسفات الملحي وبأس هيدروجيني (pH=7.2) وغسلت مرتين وعلقت بالمحلول نفسه بتركيز 10^8 خلية/سم٣ وذلك بالمقارنة مع مقياس ماكفرلاند الانبوب الرابع (Mcfarland standard No.4) وحضنت الاطباق بحاضنة هزازة (140 دورة/دقيقة) لمدة ساعة بدرجة 37°م ثم غسلت أغطية الشرائح مرتين بمحلول الفوسفات المنظم وثبتت الخلايا بالميثانول لمدة 15 دقيقة وغسلت مرتين بمحلول الفوسفات المنظم وصبغت بصبغة كيمزا لمدة 20 دقيقة ثم غسلت الاغطية بالماء المقطر وتركت لتجف وثبتت الاغطية على الشرائح الزجاجية وفحصت باستخدام المجهر الضوئي وتم احتساب عدد البكتريا الملتصقة لـ 50 خلية ظهارية وأهمل العدد الأقل من 10 خلايا بكتيرية لكل خلية ظهارية (22).

اختبار التلازن الدموي (Heamagglutination Test)

أجري الاختبار بتحضير المعلق البكتيري بنقل المستعمرات البكتيرية النامية على وسط اكار الدم الى انبوب حاوي على محلول الملح الفسيولوجي الدارئ المعقم Phosphate buffered saline pH= 7.2 ثم غسلت الخلايا البكتيرية مرتين وعلقت بالمحلول (PBS) وبتركيز 1.2×10^9 خلية/سم٣ مقارنة بمقياس ماكفرلاند الانبوب الرابع (Mcfarland standard No.4) ثم حضر معلق كريات الدم الحمر اذ جمعت عينات دم الانسان من متبرعين أصحاء للفصائل A^+، A^- ، B^+، B^- ، AB^+، AB^- ، O^+ ، O^- ووضعت في أنابيب معقمة حاوية مادة Ethylene Diamine Tetra Acetic acid (EDTA) وفصلت كريات الدم الحمر وغسلت مرتين بمحلول (PBS) ثم علقت بنفس المحلول وحضر معلق كريات الدم بتركيز 0.5% باضافة 0.5 سم٣ من راسب كريات الدم الحمراء الى 99.5سم٣ من محلول دارئ الفوسفات الملحي وأجري الاختبار باضافة 50 مايكروليتر من محلول (PBS) الى حفر شريحة التلازن وابتداء من الحفرة الثانية اضيف 50 مايكروليتر من المعلق البكتيري المحضر وأجريت سلسلة من التخافيف المضاعفة بنقل 50 مايكروليتر من المعلق البكتيري من الحفرة الثانية والى الثالثة للوصول الى اخر حفرة وأضيف 50 مايكروليتر معلق كريات الدم لفصيلة الدم A^+ الى كل الحفر وهكذا لباقي فصائل الدم وتم اضافة 50 مايكروليتر من محلول (PBS) الى حفرة السيطرة مع 50 مايكروليتر من معلق كريات الدم الحمر بدون إضافة معلق بكتيري ورجت الشريحة لمدة دقيقة وحضنت بدرجة حرارة 37°م وسجلت النتائج بعد ساعتين (23).

النتائج والمناقشة

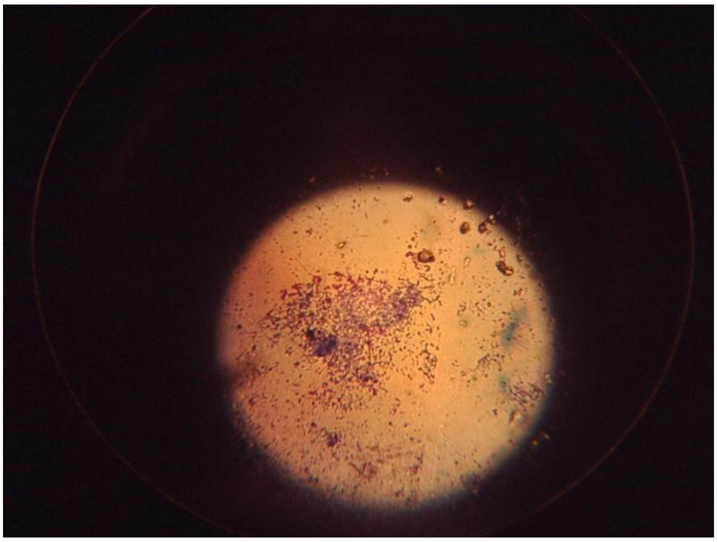
أظهرت النتائج قدرة بكتريا *Salmonella typhi* على الالتصاق على سطوح الخلايا الطلائية للفم وهي أول خطوة من خطوات الامراضية (24) كما في الشكل رقم (1).



الشكل (1): قدرة بكتريا *Salmonella typhi* على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية المعزولة من الفم

وفي دراسة (25) تبين أيضا قدرة بكتريا التايفوئيد على الالتصاق على خلايا الأمعاء كخطوة أولى للامراضية وهذا ما بينته دراسة (26) حيث وضحت قدرة *Salmonella typhimurium* على الالتصاق على أسطح الخلايا الطلائية.

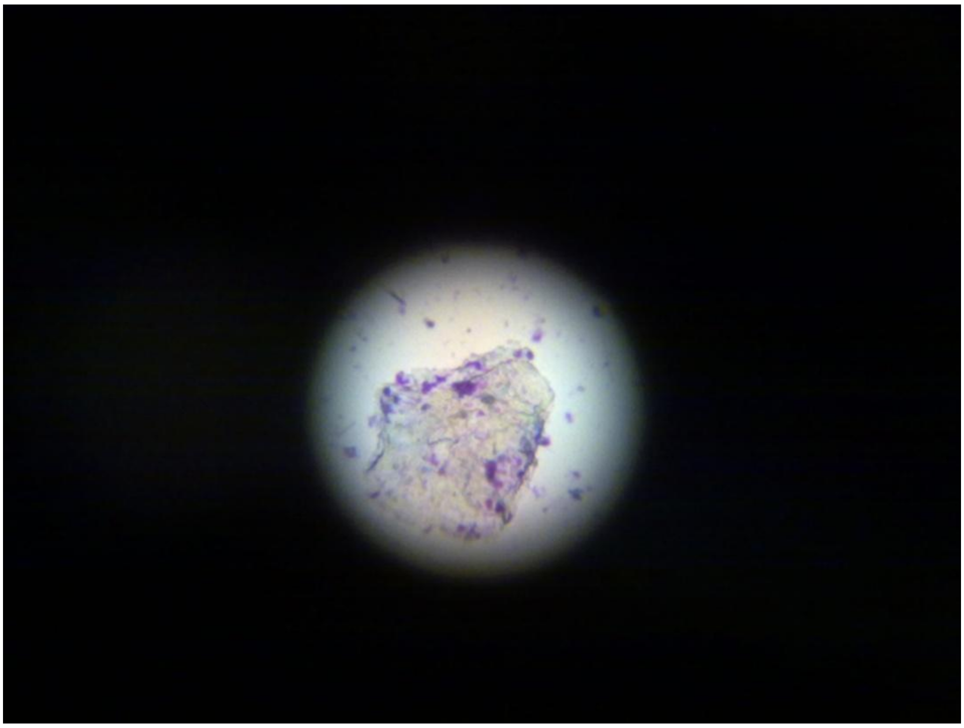
كما وأظهرت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* أيضا القابلية العالية للالتصاق على سطوح الخلايا الطلائية كما موضح في الشكل رقم (2).



الشكل (2): قدرة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية المعزولة من الفم

حيث تحوي هذه البكتريا على الأهداب التي قد تساعدها على الالتصاق وإحداث الامراضية (20 ;28 ;27) وفي دراسة (29) بينت قدرة هذه البكتريا على التسبب بالتهابات العيون من خلال قدرتها على الالتصاق كخطوة أولى للامراضية وفي دراسة وفي دراسة (30) تبين قدرة هذه البكتريا على الالتصاق على الخلايا الطلائية للجهاز التنفسي .

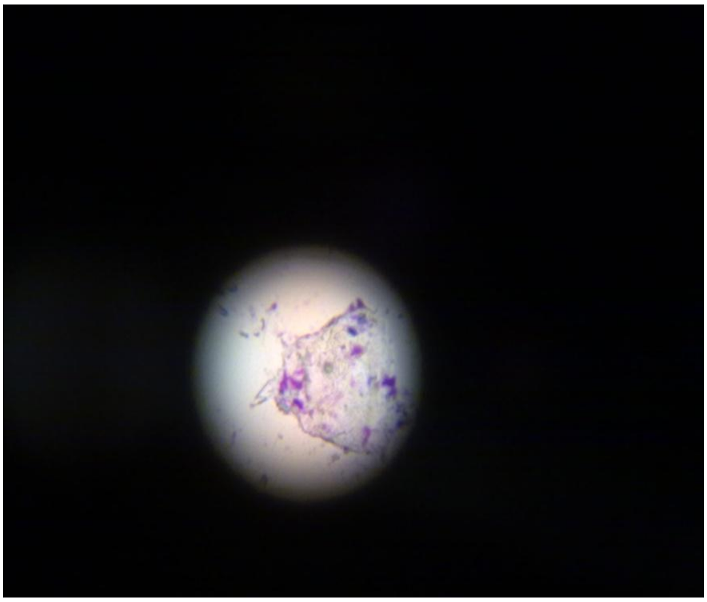
أما بالنسبة لبكتريا *Staphylococcus aureus* فأظهرت التصاقا على أسطح الخلايا الطلائية لكن بدرجة أقل مما في النوعين المذكورين كما في الشكل رقم (3).



الشكل (3): قدرة بكتريا *Staphylococcus aureus* على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية المعزولة من الفم

حيث في دراسة (29) بينت التصاق هذه البكتريا وتسببها بالتهابات العيون ولكن التصاقها كان بدرجة اقل من *Pseudomonas aeruginosa*.

وكذلك بالنسبة لبكتريا *Micrococcus luteus* أظهرت التصاقا ضعيفا على أسطح الخلايا الطلائية كما في الشكل رقم (4).



الشكل (4): قدرة بكتريا *Micrococcus luteus* على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية المعزولة من الفم

وأظهرت نتائج الدراسة قدرة بكتريا *Salmonella typhi* على احداث التلازن الدموي مع جميع فصائل الدم وهذا ربما يكون د لالة لوجود المستقبلات على سطح الخلايا الدموية حيث كانت النتائج موجبة عند التراكيز $\frac{1}{2}$ و $\frac{1}{4}$ وهذا ما أكده Goldha سنة 1994 في دراسته وكذلك في دراسات أخرى بينوا قابلية هذه البكتريا على الالتصاق والتلازن مع كريات الدم (31;32;33) كذلك فان وجود الـ (Fimbrial) وعدم وجودها لم يؤثر على التلازن لذلك فان صفتي الالتصاق والتلازن هي من المراحل المهمة لإحداث الإصابة (34).

كذلك فقد وجد في دراسة Qadri سنة 1991 أن تركيب جدار البكتريا له دور في حدوث التلازن الدموي حيث أن وجود مادة (Polysaccharide) في البكتويا المعوية يساعد على احداث التلازن لذا تعتبر مادة (Lipopolysaccharide) عامل مهم لحدوث التلازن وفقدانه يثبط عملية التلازن (35).

كما وأظهرت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* أيضا قابلية التلازن الدموي مع جميع فصائل الدم أيضا في التراكيز $\frac{1}{2}$ و $\frac{1}{4}$ وربما يعود السبب لوجود مادة (Polysaccharide) في جدار الخلية التي لها دور في إحداث الامراضية (36) وفي دراسة اثبت حدوث التلازن الدموي لهذه البكتريا لفصائل دم الانسان (38 ;37).

أما بالنسبة لبكتريا *Staphylococcus aureus* فلم تظهر تلازن دموي مع أي فصيلة من فصائل الدم وعند جميع التراكيز وكذلك الحال بالنسبة لبكتريا *Micrococcus luteus* اذ أظهرت نتيجة سالبة مع جميع فصائل الدم في صفيحة التلازن كما في الجدول الموضح أدناه .

الجدول (١): قدرة الأنواع البكتيرية على التلازن مع كريات الدم الحمر المأخوذة من فصائل الدم المختلفة للإنسان

نوع البكتريا	A^+	A^-	B^+	B^-	AB^+	AB^-	O^+	O^-
Salmonella typhi	+	+	+	+	+	+	+	+
Pseudomonas aeruginosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Staphylococcus aureus	−	−	−	−	−	−	−	−
Micrococcus luteus	−	−	−	−	−	−	−	−

+ النتيجة الموجبة لاختبار التلازن ، − النتيجة السالبة لاختبار التلازن

الاستنتاجات:

بينت نتائج الدراسة قدرة البكتريا *Salmonella typhi* و *Pseudomonas aeruginosa* على الالتصاق والتلازن وهذا دليل على امراضيتها بينما بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Micrococcus luteus* كان التصاقها بدرجة اقل كما وانها لم تحدث اي تلازن مع كريات الدم اي ان امراضية النوعين الاخيرين اقل من النوعين الاوليين ويعد القدرة على الالتصاق للبكتريا الخطوة الاولى لحدوث الامراضية اي ان شدة الامراضية بين الانواع البكتيرية غير مقاسة فقط بدرجة الالتصاق.

المصادر

1) Kluytmans, J.; VanBelkum, A.; Verbrugh, H.Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms and associated risks. *Clin. Microbiol.Rev.*, 10(3):505-520 (1997).

2) Ogston, A. On Abscesses, classics in infectious diseases. J..*Rev. Infect. Dis.*, 6(1):122-128. (1984).

3) Ryan, K.; Ray, C. "Sherris Medical Microbiology" 4th ed., McGraw Hill (2004).

4) Whitt, T.; Dixie, D.; Salyers; Abigail, A. "Bacterial Pathogenesis: Amolecular Approach" 2nd ed., USA. ASM. Press (2002).

5) Curran, J.; Alsalihi, F. Neonatal staphylococcal scalded skin syndrome:massive out break due to an unusual phage type. J.*Ped.*, 66(2): 285-290(1980).

6) Cenci-Goga, B.; Karama, M.; Rossitto, P.; Morgante, R.; Cullor, J. Entexotoxin production by *staphylococcus aureus* isolated from mastitic cows. *J. food prot.*, 66(9):1693-1696 (2003).

7) Todar' s, K. Text book of Bacteriology "The Good,the bad and the Deadly". Science magazine, 304:421(2004).

8) Kao, C.; Sequeiral, L. Agene cluster required for coordinated biosynthesis of lipopolysaccharide and extracellular polysaccharide also affects virulence of *Pseudomonas solanacearum. J. Bacteriol.*, 173(24):7841-7847 (1991).

9) Dekimpe, S.; Kengatharan, M.; Thiemermann, C.; Vane, J. The cell wall components peptidoglycan and lipotechoic acid from *Saphylococcus aureus* act in synergy to cause shock and multiple orang failure. proceedings of the national Academic of sciences of the united states of America, 92:10359-10363 (1995).

10) Greenblat, C.; Baum, J.; Klein, B.; Nachshon, S.; Koltunov, V.; Cano, R. *Micrococcus luteus* survival in amber. J.*Microbial. Ecol.*, 48(1):120-127 (2004).

11) Smith, K.; Neafie, R.; Yeager, J.; Skelton, H. Micrococcus folliculitis in HIV-1disease. British. J. Dermatol., 141(3):558-561 (1999).

12) Balcht; Aldona & Smith; Raymond. *Pseudomonas aeruginosa*: Infection and treatment. *Informa. Health.Care*., pp.83-84(1994).

13) Fine, M. J.; Smith, M. A.; Carson, C. A. Prognosis and outcomes of patients with community acquired pneumonia. J. *Am.eta-analysis. Jama.*, 275(2):134-141 (1996).

14) Prithiviraj, B.; Bais, H.; Weir, T.; Suresh, B.Najarro, E.; Dayakar, B.; Schweizer, H.; Vivanco, J. Down regulation of virulence factors of *pseudomoas aeruginosa* by salicylic acid attenuates its virulence on Arabidopsis thaliana and caenorhabditis elegans. *J. Infect. Immun.*, 73(9):5319-5328 (2005).

15) Cornelis, p. "pseudomonas: Genomics and Molecular Biology" 1st ed., caister Academic press (2008).

16) Wright, A.; Hawkins, C. Anggard, E.; Harper, D. Acontrolled clinical trial of atherapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic–resistant *pseudomonas aeruginosa* apreliminary report of efficacy. J. *clin. otolaryngol. surg.*, 34(4): 349-357 (2009).

17) McGhie, E.; Brawn, L.; Hume, P.; Reys, D.; Koronakis, V. Salmonella takes controle :effective or driven manipulation of the host. *J. Curr.opin Microbiol.*, 12(1):117-124 (2009).

18) Dworkin, M.; Shoemaker, P.; Goldoft, M.; Kobayashi, J. Reactive arthritis and reiters syndrome following anout break of gastroenteritis caused by *Salmonella enteritidis. J. Clin. Infect. Dis*., 33*(7)*:1010-1014 (2001).

19) Dengw; Lious, R.; Plunkett, G.; Mayhew, G.; Rose, D.; Burland, V.; Kodoyianni, V.; Schwartz, D.; Blattner, F. Comparative genomics of Salmonella enterica serovar typhi strainstTy2 and CT18. *J. Bacteriol.*,185:2330-2337(2003).

20) Ramphal, R.; Koo, L.; Ishimoto, K.; Totten, P.; Canolara, J.; Lory, S. Adhesion of *pseudomonas aeruginosa* pillin-Deficient Mutants to Mucin. J. *Infect. Immun.,* 4(59):1307-1311(1991)

21) Koneman, E. W.; Allen, S. D.; Janda, W. M.; Screckenberger, P. C; Winn, W.C.W. "Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology" 5^{th} Ed. Lippincott-Raven publishers, Philadelphia, USA (1997).

22) Fitzgeraled, M.; Murphy, S.; Mulcahy, R.; Keane, C.; Coakley, D.; Scott, T. Tissue culture adherence and hemagglutination *characteristic of Moraxella catarrhalis J..FEMS Immunol. Med. Microbiol*., 24(1):105-114(1999)

23) Pearson, M.; Lafontaine, E.; Wagner, N.; Geme, J.; Hansen, E. Ahag mutant of *Moraxella catarrhalis* strain O35E is deficient in hemagglutination, Autoagglutination, and Immunoglobulin D-binding activities *J..Infect. & Immun*.,70(8):4523-4533(2002).

24) Beachey, E. Bacterial adherence: adhesion receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. *J.Infect.Dis.*,143:325-345(1981).

25) Finlay, B. B.; Falkow, S. Common the mesin microbial pathogenicity revisited. J. Microbiol. Mol. Bio. Rev., 61(2): 136-169 (1997)

26) Korhonen, T.K.; Leffle, R.H.; Svanborg, C. Binding specificity of piliated strains of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* to epithelial cells, *Saccharomyces cerevisiae* cella, and erythrocytes. J.infect. Immun., 32(2):796-804 (1981)

27) Ishimoto, K.; Lory, S. Formation of pilin in *pseudomonas aeruginosa* requires the alternative sigma factor of RNA polymerase.J.proc.Natl.Acad.Sci.USA.,86:1954-1957(1989).

28) Totten, P.; Lara, J.; Lory, S. The rpoNgene product of *pseudomonas aeruginosa* is required for expression of diverse genes, including the flagellin gene.*J.Bacteriol.*,172:381-396(1990).

29) Anon, D.D. "Contact Lenses Manufacture & Uses". 5^{th} Ed. Liver pool university press, Great Britain. P.202 (1990).

30) Doig,P.; Todd, T. Sastrg, P.A.; Lee, K.K.; Hodges, R.S.; paranchych, W.; Irvin, R.T. Role of pili in adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* to human respiratory epithelial cells. J. Infect. Immun., 56(6): 1641-1646 (1988).

31) Goldha, J. Bactrial lectinlike adhesions: determination and specifity. J.Methods enzymol., 236:211-229 (1994).

32) Gilboa-Garber, N.; Avichezer, N.; Garber, D. "Bacterial Lectins: Properties, Structure, Effects, Function and Applications". Chapman & Itall, London (1997).

33) Klemm, P.; Schembri, M. Bacterial adhesion: function and structure. J. *Int.Med.Microbiol*., 290:27-35(2000).

34) Ewen, S.; Naughton, P.; Grant, G. Salmonella enterica var typhimurium and salmonella enterica var enteritidis expression type 1 fimbriae in the rat in vivo. *J. FEMS. Immunol. Med. Microbiol*., 18:185-192(1997).

35) Qadri, F.; Haq, S.; Hossain, A; Ciznar, I.; Tzipori, S. The association of hemagglutination and adhesion with lipopolysaccharide of *Shigella dysenteria* serotype1. *J. Med. Microbiol*., 34:259-264(1991).

36) Rahme, L. G.; Stevens, E. J.; Wolfort, S. F.; Shao, J.; Tompkins, R. G.; Ausubel, F. M. Common virulence factors for bacterial pathogenicity in plants and animals. *J.Science*., 268(5219):1899-1902(1995).

37) Garber, N.; Sharon, N.; Shohet, J.; Lam, S.; Doyle, J. Contribution of hydrophobicity to hemagglutination reactions of *pseudomonas aeruginosaJ.. Infect.Immun*.,50:336-337(1985).

38) Glick, J.; Garber, N.; Shohet, D. Surface hemagglutination activity of *pseudomonas aeruginosa*. J.*Microbiol*., 50:69-80(1987).