جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة القادسية/ كلية العلوم

دراسة بكتريولوجية لعزل وتشخيص بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية والمعزولة من عينات سريرية مختلفة في مستشفى الشامية العام

بحث مقدم الى
مجلس كلية العلوم/ جامعة القادسية/ قسم علوم الحياة و هو احد متطلبات نيل شهادة البكالوريوس علوم في علوم الحياة

باشراف الاستاذة
م.م. ضحى مهدي جابر

من قبل الطالب
عبدالهادي علاوي حسون

1438 هـ 2017 م

بسم الله الرحمن الرحيم

((نرفع درجات من نشاء وفوق كل ذي علم عليم))

صدق الله العلي العظيم

(يوسف ٧٦)

الاهـــــــــداء

الى من بلغ الرسالة وادي الامانة... ونصح الامة.. الى نبي الرحمة و نور العالمين..
سيدنا محمد (صلى الله عليه و اله وسلم)
الى من كلله الله بالهيبة والوقار, الى من علمني العطاء بدون انتظار, الى من احمل اسمه
بكل افتخار ,والـدي العزيـز..

الى معنى الحب , و الى معنى الحنان و التفاني , الى بسمة الحياة و سر الوجود, الى من كان
دعائها سر نجاحي و حنانها بلسم جراحي, امــي الحبـيبة..

الى من بها اكبر و عليها اعتمد, الى شمعة متقدة تنير ظلمة حياتي..
الى من بوجودها اكتسب قوة و محبة لا حدود لها , اخــتي . وكذلك الى اخوتي و جميع اصدقائي..

الى توأم روحي و رفيقة دربي ..الى صاحبة القلب الطيب و النوايا الصادقة.. زوجتي العزيزة.

الى شعلة الذكاء و النور.. الى الوجه المفعم بالبراءة ..ابـني علــي .

الى من شرفوني برداء العلم و الاخلاق .. اساتذتي الكرام بالأخص الاستاذة الفاضلة (ضحى مهدي جابر)

كلمـــــــــــة شكـــــــــــر و تقديـــــــــــــــــــر

لابد لنا و نحن نخطو خطواتنا الاخيرة في الحياة الجامعية من وقفة نعود الى اعوام قضيناها في رحاب الجامعة مع اساتذتنا الكرام الذين قدموا لنا الكثير باذلين بذلك جهودا كبيرة في بناء جيل الغد لتبعث الامة من جديد ..

و قبل نمضي نقدم اسمى آيات الشكر و الامتنان و التقدير و المحبة الى حملوا اقدس رسالة في الحياة ..

الى الذين مهدوا لنا طريق العلم و المعرفة .. الى جميع اساتذتنا الافاضل ..و بالأخص
الاستاذة الفاضلة (ضحى مهدي جابر)
على ما بذلته من جهود متواصلة و توجيهات قيمة و متابعة مستمرة طول فترة البحث..

الخلاصة

Summery

الخلاصة Summery

أجريت هذه الدراسة من خلال جمع ١٠٠ نموذج من عينات سريرية مختلفة تضمنت عينات (الإدرار، الجروح،الأذن، حب الشباب) من المرضى المراجعين لمستشفى الشامية العام في قضاء الشامية\ محافظة الديوانية ٤٥ عينة من هذه العينات تبين بأنها كانت من نوع المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*).

وقد سجلت هذه البكتريا أعلى نسبة لها في العينات المأخوذة من التهابات الجروح حيث كانت النسبة ٦٨% ثم تلتها عينات حب الشباب ، الأذن والإدرار حيث كانت نسبة العزل(٥٢%، ٤٠%، ٢٠%) على التوالي.

وباستخدام الفحوص الكيموحيوية وجد انه معظم عزلات المكورات العنقودية الذهبية الموجبة لأنزيم التجلط كانت منتجة للهيمولايسين حيث كانت النسبة حوالي ٩٢,٨% . حيث يعد إنتاج الهيمولايسين وقابلية البكتريا على تخثر البلازما من أهم عوامل الضراوة لهذه البكتريا.

كما أظهرت نتائج اختبار حساسية المضادات الحيوية بان اغلب هذه العزلات كانت مقاومة جـــداً(النسبة المئوية للمقاومة من 50 -100%) للمضادات الحيوية المستعملة ، هذه العزلات عرفت فيما بعد بأنها *S. aureus* المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية (MDR).

المقدمة

Introduction

المقدمة Introduction

١-١ لمحة تاريخية

ان تاريخ بكتريا ***Staphylococcus aures*** يعود الى سنة ١٨٧٨ واكتشفها في صديد الالتهابات الجلدية وقد عرفها لويس باستور سنة 1880 في أوساط زرعية سائلة من اصابات قيمة اذ وجدها مكورات متجمعة كالعناقيد لذلك سميت المكورات العنقودية ***Staphylococcus pyogenes*** ثم لوحظ فيما بعد ان هنالك نوعين من المكورات الخارجية احدهما ذهبي اللون سمي albus ولتخفيف الاسم حذفت **pyogenes** من الاسم العلمي .
وتنتشر العنقوديات الذهبية بصورة عامة في الصبغة وتتكاثر كبقية الانواع الاخرى من الرميات وتعتبر طفيليات اختيارية على الانسان والحيوان وتكون العنقوديات الذهبية متكيفة للمعيشة بصورة طفيلية ولا تتنافس مع الانواع الاخرى الموجودة طبيعيا .
يعتبر الانسان المصدر الرئيسي للعنقوديات والمخزن الرئيسي لها وتلعب الحيوانات دورا مهما في تلوث الطبيعة.(العاني فاروق 1989).
ان اصابة الانسان بمكورات العنقودية تتصف بتكوين قيح موضعي ضمن خراج طوق او محصور في البشرة او في الانسجة تحت الجلد .
في حالة الاصابة الشديدة ب ***Staphylococcus aureus*** ممكن ان تسبب نقل الخراج الى الاعضاء .الكلية .الدماغ .الانسجة القلبية وقد تسبب التهاب العظام الحاد. ان اصابة الحيوانات بهذه البكتريا ينتج عنه التهاب الثدي في البقر والماعز وكذلك الكلاب . من الواضح ان بكتريا المكورات العنقودية الذهبية طفيلي ناجح جدا حيث يمكنها البقاء على سطوح الاجسام الحية ولها قدرة ملموسة جدا على غزو الانسجة الموضعية اضافة لما تحتويه من مواد وقدرات على احداث المرض لها القابلية على ان تكيف نفسها لتغير الحالات التي تتعرض لها .
وتعتبر اكثر انواع البكتريا انتشارا في جسم الانسان والحيوان حيث تؤلف جزءا كبيرا من الكائنات الطبيعية في الجسم وتتواجد العنقوديات الذهبية في الانسان والحيوان والاغذية لذلك تعتبر المصادر الرئيسية لانتشارها. لاحظ عدد كبير من الباحثين وجود انواع مختلفة من السموم في راشح مزروع العنقوديات الذهبية ولهذه السموم تأثيرات متباينة على انسجة الجسم وبعض مركبات الدم خصوصا الكريات الدموية الحمراء والبيضاء حيث تنتشر السموم في الدم في اثناء الدورة (الشبيب اسفار 1989).

و تعد المكورات العنقودية staphylococci من الممرضات المهمة للإنسان إضافة إلى كونها من العوامل الملوثة الواسعة الانتشار في المستشفيات . حيث إن قابلية بعض أنواع هذه المجموعة على اختراق دفاعات الجسم وغزو أنسجة الجسم وامتلاكها العوامل التي تزيد من ضراوته (virulence)ومقاومتها العالية للمضادات الحيوية جعلها سبباً للعديد من الإصابات في الإنسان , لذا فقد ازداد الاهتمام بدراسة هذه المجموعة من المكورات العنقودية للوقوف على وبائيتها ومقاومتها للمضادات الحيوية ، ومن أهم الحالات المرضية التي تسببها هذه البكتريا

للإنسان هي:- أخماج القناة البولية (urinary tract infection) (UTI) إصابات أنظمة نقل السوائل التهابات بطانة القلب، التجرثم الدموي (Bacteremia) متلازمة العدسات السمية (Toxic lens syndrome)بعد وضع العدسات اللاصقة، خراج الجلد (abscesses skin) إصابات العين والإذن والتهاب صمام القلب الولادي (kloos and Bannermarr 1995)

أن من أهم المشكلات التي تواجه مختبرات الأحياء المجهرية هي التمييز بين العزلات الممرضة والعزلات الملوثة من المكورات العنقودية إضافة إلى ذلك ظهور عزلات مقاومة للمضادات الحيوية.

تعتبر أنواع جنس المكورات العنقودية موجبة لصبغة كرام. قطر الخلية(0.5- 1.5) مايكروميتر توجد بشكل خلايا مفردة أو مزدوجة أو رباعيات أو على شكل سلاسل قصيرة . ولكن بشكل عام فإنها توجد على هيأة عناقيد غير منتظمة تشبه عناقيد العنب (Grape-like shape) ومن مميزاتها أيضا إنها غير متحركة وغير مكونة للابواغ، عادةً موجبة لأنزيم الكاتليز، غير مكونة للمحفظة أو إنها تكون بشكل محدود . يعتبر جنس المكورات العنقودية من الأجناس الواسعة الانتشار في الطبيعة فهي غالباً ما توجد على الجلد والغدد الجلدية والأغشية المخاطية للبائن والطيور، وأحياناً توجد في الفم والمناخر والدم وغدد الثدي والاقنية المعوية والبولية و التناسلية(kloos and Bannermarr 1994).

أظهرت المكورات العنقودية مقاومة عالية للعديد من المضادات الحيوية المستخدمة في علاج الإصابات الناتجة عن هذه البكتريا وان المحاولات التي قام بها العديد من الباحثين لتحوير المضادات الحيوية أو لإنتاج أنواع جديدة منها لاقت نجاحاً محدوداً حيث إن جميع أنواع المكورات العنقودية أبدت مقاومة عالية للمضادات الحيوية Erythromycin و penicillin و Tetracycline (kloos , 1990) ووجد (Jenssen et al. ,1987) في دراسته لـ 151 عزلة من المكورات العنقودية والتي اختبرت حساسيتها للمضاد الحيوي Erythromycin إن 53 عزلة منها مقاومة لهذا المضاد في حين 25 عزلة منها مقاومة بالتحفيز للـ Erythromycin و streptomycin في حين تناقضت حساسيتها لمضادات الـ Quinolone (kloos and Bannerman , 1994) .

اهداف الدراسة Goals of the Study

اجريت هذه الدراسة للأهداف التالية:
١- لتحديد نسبة وجود بكتريا ال S. aureus في العينات السريرية المأخوذة من مصادر سريرية مختلفة.
٢- لتحديد نسبة وجود بكتريا ال S. aureus المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية (MDR) والمعزولة من مصادر سريرية مختلفة.

المواد والاجهزة و طرائق العمل

Materials and Methods

المواد وطرائق العمل: Materials and Methods

2الاجهزة والمواد:-

2-1 الاجهزة المستخدمة :

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة
1	حاضنة incubator	Heraeus
2	موصدة Autoclave	Diakyo
3	المجهر الضوئي Light microscope	Olympus
4	فرن Oven	Gallen kamp

2-1-2المحاليل المستخدمة:

المحلول الفسلجي Normal saline يستخدم لترطيب السوابات اثناء جمع العينات .

2-1-3اقراص المضادات الحيوية Antibiotic discs

حيث استخدمت ٨ اقراص من المضادات الحيوية وهي مضاد.

اللنكومايسين ، نيومايسين، بنسلين ، اموكسلين ، تتراسايكلين، ازثرومايسين، ارثرومايسين، ازتريونام

2-2المواد المستخدمة Materials

2-2-1الاوساط الزرعية Culture media :

ت	اسم الوسط الزرعي	الاستخدام	الشركة المصنعة
1	الاغار المغذي Nutrient agar	حفظ العزلات البكتيرية وادامتها وفحص الحساسية الدوائية	Oxoid
2	اغار الماكونكي Macconkey	لتميز العزلات السالبة عن بكتريا staphylococcus aureus	Oxaoid
3	اغار Muller hinton agar	اجراء فحص الحساسية لبكتريا staphylococcus aureus	Oxaoid

4	اغار الدم Blood agar	عزل وتشخيص البكتريا الموجبة لصبغة كرام	Oxaoid
5	Manitol salt agar	عزل وتشخيص البكتريا الموجبة لصبغة كرام	

٢-٢تحضير الاوساط الغذائية:

أ-تعقيم الاوساط: عقمت الاوساط الزرعية المستخدمة بالموصدة(Autoclave) بحرارة (121) م وضغط (15) جو
لمدة(15)دقيقةوعقمت الزجاجيات و الادوات التي تحتاج الى تعقيم الجاف بالفرن الكهربائي في درجة (180) م لمدة ساعتين .

ب-تحضير الاوساط:حضرت الاوساط الغذائية المذكورة في جدول الاوساط الزرعية(1-2-2) حسب تعليمات الشركة المصنعة وضبط الاس الهيدروجيني لها حسب الحاجة له.

4-2 جمع العينات Samples collection:-

تم جمع ١٠٠ نموذج من عينات ((الإدرار,الجروح,الإذن وحب الشباب)) من المرضى المراجعين لمستشفى الشامية العام في قضاء الشامية .للفترة ما بين (٢٠١٦\١٢\١ولغاية ٢٠١٧\٣\١٥).

جميع هذه النماذج تم زراعتها على الأوساط الزرعية التالية وسط المانتول الملحي الصلب, وسط أكار الدم والوسط المغذي الصلب.

و من ثم تشخيص هذه العزلات(Staphylococci)وفق لما ورد في MacFadden (2000) خمسه وأربعون عينه من بكتريا (*S.aureus*) تم إجراء فحص حساسية المضادات الحيوية لها حيث اتبعت طريقة Bauer وجماعته (١٩٦٦) حيث نقل (٠,١)سم^3 من العالق البكتيري بعد مقارنه عكورته مع أنبوبه مكفرلاند ٠,٥لتحديد نسبه البكتريا الموجودة في العالق على طبق حاوي على وسط مولر- هنتون الصلب وتركت الأطباق في درجة حرارة الغرفة ليحدث التشرب مدة (٣٠) دقيقة ثم ثبتت أقراص المضادات الحيوية المتوفرة بواقع خمسة أقراص لكل طبق والمتضمنة المضادات الحيوية التالية (اللنكومايسين,النيومايسين,البنسلين,الاموكسيسلين,التتراسايكلين,الارثرومايسين,الازتريونام).

وحضنت الإطباق بدرجه ٣٧م° لمده ١٨ساعه .بعدها تم تحديد قطر الهالة المتكونة حول قرص المضاد الحيوي وهي تمثل العزلات الحساسة وعدم تكون الهالة تمثل العزلات المقاومة و بالمقارنة مع نماذج السيطرة ألموجبه والسالبة تم تحديد في ما إذا كانت ألعزله قيد الدراسة حساسة أو مقاومه لذلك النوع من المضاد الحيوي.

أما بالنسبة لتحديد قابليه البكتريا على إنتاج إنزيم تجلط البلازما فقد تم تحديده بطريقتين:-

١- طريقه الأنابيب :-وذلك لتحديد الأنزيم الحر وقد أجريت ألطريقه من خلال اخذ ١مليليتر من البلازما ووضعت في أنبوبه معقمه وأضيف إليها اللقاح البكتيري بواسطة الناقل ومن ثم وضعت في الحاضنة بدرجه حرارة ٣٧ م° لمده ٤ساعات ثم لوحظت النتائج حيث إن وجود التجلط في البلازما دلاله على إن البكتريا منتجه لإنزيم البلازما أما إذا بقيت البلازما على وضعها الطبيعي فإنها تدل على عدم قابليه البكتريا على إنتاج إنزيم تجلط البلازما.

٢ - طريقه السلايد :-وتجرى لغرض معرفه الإنزيم المرتبط وهذه تتم من خلال اخذ قطره من البلازما ووضعها على سلايد معقم ومن ثم تلقح بواسطة الناقل باللقاح البكتيري وتخلط جيدا مع البلازما وبعد عشر دقائق يتم ملاحظه وجود تجلط في البلازما أو عدم وجوده حيث إن تجلط البلازما يعتبر نتيجة موجبة .

أما بالنسبة لتحديد قابليه البكتريا لإنتاج الهيمولايسين فقد تمت بالطريقة التالية :-

لقحت الأطباق الحاوية على وسط أكار الدم ببكتريا المكورات العنقودية وحضنت بدرجه ٣٧م ولمده ٢٤ساعه .إذ إن ظهور منطقه تحلل شفافة حول المستعمرات تعد نتيجة موجبه .

أما إذا كانت منطقه التحلل مصحوبة بلون اخضر وغير شفافة حول المستعمرات فانه تحلل من نوع ألفا أي تحلل جزئي أما إذا لم يظهر تحلل حول المستعمرات دلاله على إن البكتريا غير منتجه للهيمولايسين .

النتائج والمناقشة

Results and discussion

النتائج والمناقشة:-Results and discussion

أجريت الفحوصات المجهرية والكيموحيوية على ١٠٠ عينة مأخوذة من اخماج

العينات السريرية	عدد العينات	S. aureus		staphylococcus. spp.		No growth	
		NO.	%	NO.	%	NO.	%
الإدرار	١٥	٥	٢٠	١٥	٦٠	٥	٢٠
الجروح	١٥	١٧	٦٨	٦	٢٤	٢	٨
الإذن	١٢	١٠	٤٠	٩	٣٦	٦	٢٤
حب الشباب	٥	١٣	٥٢	٩	٣٦	٣	١٢
المجموع الكلي	١٠٠	٤٥		٣٩		١٦	

المجاري البولية ، الجروح، التهابات الإذن الوسطى وحب الشباب.وقد تبين من الجدول(١) إن أعلى نسبة لعزل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*) سجلت في العينات المأخوذة من الجروح (٦٨%) ثم حب الشباب(٥٢%) يليه العينات المأخوذة من الإذن والإدرار حيث كانت النسبة(٤٠%، ٢٠%) على التوالي.

مما يشير إلى إن معظم حالات التهابات الجروح تكون المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*) طرفاً فيها والسبب في ذلك يعود إلى كونها من العوامل الملوثة الواسعة الانتشار في المستشفيات. وان نتائج هذه الدراسة جاءت مشابهة لما توصلت إليه الياسين (1997) .

الجدول (١):- النسب المئوية لعزلات أنواع المكورات العنقودية المعزولة من عينات سريرية مختلفة.

من خلال إجراء مجموعة من الاختبارات البايوكيميائية على عزلات المكورات العنقودية اعتماداً على ما أورده كل من (Kloos and Bannerman,1995) وما جاء في الجزء التاسع من موسوعة بيركي (Sneath et al.,1994) عن هذه البكتريا . فقد تبين من نتائج هذه الدراسة إن معظم البكتريا الموجبة لأنزيم التجلط تكون منتجة للهيمولايسين والذي يعتبر من أهم عوامل الامراضية لهذه البكتريا. فقد لوحظ إن هناك ارتباط وثيق بين قابلية البكتريا على إنتاج الهيمولايسين وقابليتها على تخثر البلازما.(الجدول ٢) . وقد جاءت هذه النتائج مشابه لما توصل إليه (Guzman et al., (1992 .

الجدول(٢) :- النسب المئوية للعزلات المنتجة وغير المنتجة للهيمولايسين من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية الموجبة والسالبة لأنزيم التجلط.

المجموعة	العدد الكلي	المكورات العنقودية المنتجة للهيمولايسين		المكورات العنقودية غير المنتجة للهيمولايسين	
		NO.	%	NO.	%
المكورات العنقودية الموجبة لأنزيم التجلط	٢٨	٢٦	٩٢,٨	٢	٧,١
المكورات العنقودية السالبة لأنزيم التجلط	١٧	٦	٣٥,٢	١١	٦٤,٧

من خلال إجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية لعزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وذلك باستخدام ٨ أنواع من المضادات المختلفة التي تضمنت اللنكومايسين ، نيومايسين، بنسلين ، اموكسلين ، تتراسايكلين، ازثرومايسين، ارثرومايسين، ازتريونام. فقد أظهرت نتائج فحص الحساسية للمضادات الحيوية إن هناك درجة عالية من المقاومة لمعظم العزلات المختبرة. فقد وجد إن معدل مقاومة جميع العزلات قيد الدراسة تتراوح بين(٥١ % - ١٠٠%). جدول(٣) .

أما بالنسبة لمضادي البنسلين و الازتريونام فقد سجلا أعلى نسبة مقاومة (١٠٠%) بالمقارنة مع مضاد النيومايسين الذي سجل نسبة مقاومة منخفضة (٢٤,٤%). وقد يعزي سبب وجود هذه النسبة العالية من المقاومة لهذه المضادات من قبل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية إلى عدة عوامل منها عوامل فسلجية أو عوامل وراثية كوجود مواقع بلازميدية تشفر لبناء أنزيمات معينة تحطم فعالية المضاد الحيوي عن طريق تحويره أو تحليله ومن هذه الأنزيمات أنزيم ألبيتا لاكتاميز الذي يعمل على تحطيم حلقة البيتالاكتام في المضاد الحيوي. مما يقلل من فعاليته ويجعل البكتريا قادرة على مقاومته. وقد جاءت نتائج هذه الدراسة متوافقة مع ما توصل إليه علي (٢٠٠١).

الجدول(٣) النسب المئوية للعزلات المقاومة للمضادات الحيوية المختبرة لعزلات المكورات العنقودية الذهبية.

المضاد	العدد الكلي للعزلات	العزلات المقاومة		العزلات الحساسة	
		NO.	%	NO.	%
لنكومايسين	٤٥	٣٥	٧٧,٧	١٠	٢٢,٢
نيومايسين	٤٥	١١	٢٤,٤	٣٤	٧٥,٦
بنسلين	٤٥	٤٥	١٠٠	—	—
اموكسلين	٤٥	٢٣	٥١	٢٢	٤٨,٨
تتراسايكلين	٤٥	٢٩	٦٤,٤	١٦	٣٥,٥
ازثرومايسين	٤٥	٣٤	٧٥,٥	١١	٢٤,٤
ارثرومايسين	٤٥	٣٧	٨٢,٢	٨	١٧,٧
ازتريونام	٤٥	٤٥	١٠٠	—	—

الاستنتاجات:

تم التوصل من خلال هذه الدراسة إلى تحديد نسبة وجود بكتريا المكورات العنقودية الذهبية المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية والمعزولة من عينات سريرية مختلفة من مختبر مستشفى الحكيم التعليمي.

التوصيات:

نوصي من خلال هذه الدراسة بالتحري المستمر عن وجود بكتريا المكورات العنقودية الذهبية المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية في كل مستشفيات المحافظة بحيث يمكن السيطرة على هذا النوع من البكتريا والتغلب على الأخطار الناجمة من الاصابه بها.

المصادر العربية:-

◙الياسين، أحلام كاظم نعيم ١٩٩٧ عترات مقاومة من العنقوديات السالبة لأنزيم التجلط لمضادات حيوية معينة. رسالة ماجستير –كلية التربية- جامعة البصرة-العراق.

◙ علي, زهره محسن ٢٠٠١تاثير مزيجات المضادات الحيوية على جراثيم الزوائف الزنجارية والمكورات العنقودية.رسالة ماجستير –كلية العلوم- جامعة الكوفة-العراق.

References:

***Guzman,C.A., Guardati, M.C. ;Fenoglio, D. ;coratza ,G. ;pruzzo, C.; and satta, G. (1992). Novel immunoenzgmatic assay for identification of coagulase and protein A-Awtigon Staphylococcus aureus strain. J. of clin . Microbial. 30:11 24-119.7.**

***Jenssen,w.D.S. ,thakker-varia ,D. T. ,Dubin, and M. p.,Weinstein. (1987).prevalence of macrolides- lincosamides – streptogramin B**

resistance and ermgeneclass among clinical strains of Staphylocci and Streptococci . Antimicrob . Agents chemotherapy.

***KLOSS, W.E. (1990). Systematic and the natural history of Staphylococci I.J APPl . Bacterial symp.suool 69.252.**

***Kloos, W,E.and T.L Bannerman (1994). Update on clinical significance of coagulase – negative Staphylococci . clin microbial Rev7:117- 140**

***Kloos, W,E, and T.L Bannerman 1995 Staphylococcus and Micrococcus , In : Manual of clinical microbiology . Balows , A.g, w J. Housler , Jr, K,l, Hermann, H,D,I senberg, and H.J.shadomy (eds.) 6th ed . American society for microbiology .**

***Macfadden, J.F. (2000) Biochemical tests for identification of medical bacteria 3rd ed. , William and wilkins/USA.**

***Sneath p.H.A, JG.,HoH, N.R., Krieg, J.T.,staley and S.T.,Williams(1994) Bacteriology , 9th ed., Williams and wilkins company , Baltimor p. 532.**