وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية \ كلية التربية

قسم علوم الحياة

التحري عن بعض عوامل الضراوة في المكورات السالبة لفحص الكواكيوليز المعزولة من حالات سريرية مختلفة

بحث مقدم الى

مجلس كلية التربية \ قسم علوم الحياة \ جامعة القادسية

وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في قسم علوم الحياة

من قبل الطالبة

رسل عدنان محيسن

بأشراف

أ .د أزهار نوري حسين الموسوي

2019 م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

أَلَمْ نَشْرَحْ لَكَ صَدْرَكَ (1) وَوَضَعْنَا عَنْكَ وِزْرَكَ (2) الَّذِي أَنْقَضَ ظَهْرَكَ
(3) وَرَفَعْنَا لَكَ ذِكْرَكَ (4) فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا (5) إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا
(6) فَإِذَا فَرَغْتَ فَانْصَبْ (7) وَإِلَى رَبِّكَ فَارْغَبْ (8)

صدق الله العلي العظيم

اقرار المشرف

اشهد ان مشروع البحث المعنون

((التحري عن بعض عوامل الضراوة في المكورات السالبة لفحص الكواكيوليز من حالات سريرية مختلفة))

اجري تحت اشرافي في قسم

علوم الحياة

كلية التربية \ جامعة القادسية

وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في

علوم الحياة

التوقيع :-

الاسم :- ازهار نوري حسين الموسوي

اللقب العلمي :-

الاهداء

الى من كان يضيء لي الطريق و يساندني ويتنازل عن حقوقه

لأرضائي والعيش في هناء . . . . ابي

الى من تسابق الكلمات لتخرج معبرة عن مكنون ذاتها

الى من علمتني وعانت الصعاب

لأصل الى ما انا فيه . . . . امي

الى من احبهم حباً لو مرَ

على ارض قاحلة لتفجرت منها ينابيع المحبة . . . . . . اخوتي وأخواتي

الى ذوات القلب الصافي

الى من تذوقت معهن اجمل اللحظات . . . . . صديقاتي

الى الشموع التي تحترق لتضيء للآخرين

الى كل من علمني حرفاً . . . . اساتذتي

شكر و تقدير

أحرك لساني حمداً واثني هامتي ركوعاً وتواضعاً وأكرم جبهتي بأديم الأرض سجوداً وتذللاً لله الذي منحني صبراً والهمني علماً واعانني في ضعفي ونصرني في مسعاي فأتممت عملي بفضل منه.

بعد حمد الله والثناء على خير خلقه سيدنا محمد (صلى الله عليه وآله الطيبين الطاهرين)

لا بد لي ان اتقدم بوافر الشكر والعرفان للدكتورة أزهار نوري الموسوي لأشرافها على البحث جزاها الله خير الجزاء .

وأتقدم بشكري وامتناني الى أساتذة قسم علوم الحياة .

وأخيراً اجدني حائرة وكلماتي عاجزة امام موقف ليس بمقدور الكلمات ان تعبر عنه , الا وهو شكر عائلتي فشكراً ووفاءً وعرفاناً واجلالاً لما تحملوه معي من اعباء .

فأدعو الله ان يجزيهم لما قدموه في الدنيا والآخرة .

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية التحري عن أحد عوامل الضراوة المهمة وهو انتاج الهيمولايسين بين عزلات بكتريا المكورات العنقودية السالبة لفحص الكواكيوليز حيث تم الحصول على عزلات الدراسة من مختبرات الدراسات العليا قسم علوم الحياة كلية التربية والبالغ عددها 10 عزلات وتم التأكد من عائدية الى مجموعة بكتريا المكورات العنقودية السالبة لفحص الكواكيوليز باجراء فحص الكواكيوليز اذ أظهرت جميع العزلات سالبيتها لهذا الفحص .

أظهرت العزلات قيد الدراسة قدرتها على انتاج أنزيم الهيمولايسين وبنسبة 30% (3 عزلات) اذ يلعب الهيمولايسين دوراً مهماً في ضراوة البكتريا لما له من دور مهم في تحليل كريات الدم الحمر وتحرير مكوناتها .

المقدمة

تعد العنقوديات السالبة للانزيم المختثر لبلازما الدم Coagulase Negative Staphylococci (CONS). من الفلورا الطبيعية للجلد والاغشية المخاطية للانسان وبعض الطيور واللبائن . (Asangi *et al* ., 2011)

تتصف هذه المجموعة من البكتريا بعدة صفات :-

1. تمتاز بقدرتها على النمو في مديات حرارية من (15 – 43) م°
2. تحملها الملحي Nacl 15%
3. مقاومة للتراكيز المثبطة الدنيا لبعض المظهرات الشائعة فضلاً عن مقاومتها المتعددة للمضادات الحيوية
4. تنتج بعض انواعها سموم معدية خارجية مسببة التسمم الغذائي (Ternes *et al* ..,2013)

- الامراضية

1- تعتبر بكتريا CONS من البكتريا الانتهازية التي تظهر قدرتها عند المرضى الذين يعانون من الضعف المناعي وحالات الاصابة المزمنة والمرضى الراقدين لمدة طويلة في المستشفى (Jean Baptiste *et al* .,2011)
اذ تدخل مجرى الدم وتسبب اصابات في جهاز الدوران سيما في الحالات المصاحبة لاستخدام بعض العدد الطبية كأنابيب القصطرة . وتعد من أهم البكتريا المسببة للاخماج المكتسبة من المستشفيات (finch. 2006

- المقاومة .

ان قدرة هذه الانواع على التعايش داخل المستشفيات مكنتها من اكتساب المقاومة للعديد من المضادات الحيوية وصلت الى100 % لمركبات B – lactam و 80% للمثيلسين وهي نسب تفوق احياناً مقاومة النوع *S. aureus* الذي وصف بأنه ذو مقاومة متعددة للمضادات

(Jacques *et al* ., 2000) وبما ان العنقوديات من الفلورا الطبيعية لجلد الانسان

مقاومة مختلفة(Arakawa.et.al.2000)

- آليات المقاومة

1- افراز انزيمات قادرة على تحطيم المضاد .
2- تغيير بعض المسارات الايضية التي يؤثر فيها المضاد الحيوي .
3- تغيير في نفاذية الغشاء الخلوي لمنع دخول المضاد .
4- قدرة البكتريا على التخلص من المضاد ويقذفه خارج الخلية بآلية تسمى نظام التدفق .

(Yildirim *et al.* ,2005)

- عوامل الضراوة

يمتلك جنس العنقوديات العديد من عوامل الضراوة التي تزيد من فعالية وإمراضية انواعه على احداث الخمج لامتلاكه لحامض التيكويك وعامل الالتصاق وعوامل الضراوة الاخرى تمكنه من التخلص من دفاعات المضيف كأنزيم staphylokinase أو يمكنه من الغزو والانتشار كأنزيم Hyaluronuase

ومن عوامل الضراوة الاخرى :

امتلاكها بروتينات الجدار الخلوي وتكوينها للمحفظة

والسكريدات المتعددة الخارجية وانتاجها انواعاً من الانزيمات الخارج خلوية والسموم المتنوعة كالسموم الحيوية

وابدائها المقاومة الكلية للتحلل باللليسوزايم (Suleiman *et al* .,2013)

- انتاجها للهيمولايسين

تنتج بكتريا المكورات العنقودية انزيم الهيمولايسين Hymolysin وهي سموم مكونة للثقب (PFT) تشمل المجموعة الاهم من بين السموم التي تفرزها المكورات العنقودية (Pervost , 2005) . حيث تعمل هذه السموم على تحطيم كريات الدم الحمراء مع تحرير الهيموكلوبين Christin (*et al* ., 2004)

تتميز هذه المجموعة من السموم بأنها متنوعة ومتعددة (Dufoufourcq *et al.*, 1999)

- حال الدم الفا Alph hemolysin
يفرز هذا السم من قبل المكورات العنقودية الذهبية Staphylococcus aureus
ويعد السم الخارجي البكتيري الاول الذي عرف من بين السموم الحالة المكونة للثقب. (Ratner.et.al.,2006)

كما يفرز من قبل بكتريا اخرى *E .coli* (Bakas et al .,1996)

اشار (Ratner *et al.*2006) الى ان تكوين المسام او الثقوب على اغشية الخلية المضيف الخاضعة للسم يكون سريع التأثير على التدرج الايوني مؤدياً بذلك الى فقدان سلامة الغشاء (Membrane) وبالتالي موت الخلية كما ان هـ1ا الجسم بانه يلعب دوراً مهماً في امراضية بكتريا المكورات العنقودية الذهبية اذ ان سلالات البكتريا الطافرة والفاقدة للجين (hla) تبدي أختزالا في الاجتياحية لخلايا المضيف (Husmann *et al* .,2006).

- حال الدم بيتا : Beta hemolysin

يسمى هذا السم ايضاً بالسفنجو مايلينيز (sphengomyelinase) ويعتمد في عمله على وجود ايونات المغنسيوم Mg) (Brosnahan *et al*.,2009) يبلغ الوزن الجزيئي لهذا الانزيم حوالي

ما يقارب (35 KDa) ويشفر له بواسطة الجين (hlb) ((Huseby *et al* ., 2007)

- حال الدم كاما : (Gamma hemolysin)

اشار الباحث Prevost *et al*. (1995) بأن هذا السم تنتجه أغلب سلالات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وانه يعمل على الخلايا البلعمية الكبيرة والخلايا العدلة فضلاً عما ذكر فانه يمتلك القابلية على تحلل العديد من خلايا الدم الحمراء للبائن لكن التحلل الناتج من هذا السم على وسط غراء الدم يكوم غير مميز بسبب التأثير المثبط لمادة الاكار على فعالية السم . ان الجينات المشفرة لهذا السم تستنسخ من موقع مفرد والواقع على مسافة (4.5 Kbscal) والتي تسمى hlg A , hlg B , hlg C

(Colin *et al*. , 1994)

ان السم كاما يحفز بكتريا المكورات العنقودية الذهبية على البقاء في الدم بسبب دوره المحلل لخلايا

الدم الحمراء فبذلك يسهل على البكتريا استهلاك الحديد ان الجينات hlg A , hlg B هي الأكثر

فعالية لحدوث التحلل لدموي في الزجاج بالنسبة لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية

(Ferreras *et al* . , 1998)

- حال الدم دلتا : (Delta hemolysin)

يتكون هذا السم من 26 حامض اميني ويتميز بقدرته على تحطيم الجدار الخلوي لخلايا اللبائن المختلفة والوزن الجزيئي له ما يقارب (3,000 Dat) ان حوالي 97% من سلالات بكتريا المكورات العنقودية

تنتج هذا السم ويشفر له بواسطة الجين hld (Peng *et al*. , 1988) وهذا السم مسيطر عليه بواسطة منظم جيني مساعد والتغيير الاعلى يحدث في الطور اللوغارتمي التأخر عند الزرع في وسط سائل (Dhople and Nagaraj ., 1993) وجد بأن نسبة (50 - 70%) من المكورات العنقودية السالبة لاختبار انزيم مخثر البلازما تنتج هذا السم وان اهميته بالنسبة لوبائية المرض مازالت غير واضحة

(Freer and Birbeck , 1982)

حال الدم أبسلون : (Epsilon Toxin)

هو سم فعال ينتج من قبل العزلات البكتيرية العنقودية السالبة لاختبار انزيم مخثر البلازما

(Coagulase negative) يسبب هذا مرض (Enterotoxemia) القاتل للحيوانات كالأغنام والماعز وبنسبة ضئيلة للأبقار والميزة الرئيسية لهذا السم هو انتاج الوذمة (Edema) كما يسبب الورم

الورم السريع لخلايا الكلية وهذا السم لا يدخل الى السايتوسول وانما يبقى مع الغشاء الخلوي مكوناً معقد كبير (Petit *et al* ., 1997) .

- المواد و طرق العمل :

*العزلات البكتيرية : Bacterial Isolates

تم الحصول على العزلات البكتيرية العائدة للـ CONS من مختبرات الدراسات العليا في قسم علوم

الحياة \ كلية التربية \ جامعة القادسية وتم التأكد منها باجراء اختبار انزيم تخثر البلازما

(Coagulase test).

٠اختبار انزيم تخثر البلازما (Coagulase test)

تم التحري عن اختبار انزيم مخثر البلازما باستخدام اختبار الانبوب Tube test حيث تم اضافة

0.5 ملليتر من بلازما الدم الى 0.5 ملليتر من المرق المغذي المعقم والملقح بالعزلات البكتيرية النامية بعمر (18 – 24) ساعة في انابيب صغيرة وضعت في حمام مائي بدرجة حرارة (37م) لمدة أربع ساعات تم خلالها مراقبة حدوث التخثر الذي يدل عل ايجابية الفحص , في حين تركت الانابيب التي لم يظهر فيها التخثر في الحاضنة بدرجة حرارة (35م) لمدة (24) ساعة من ثم تم التحري عن وجود التخثر .

*التحري عن انتاج الانزيم الحال للدم

Detection of hemolysis Production

اتبعت الطريقة الواردة في Senior and Hughes (1987) للتحري عن قابلية البكتريا المعزولة على انتاج انزيم الهيمولايسين وتحديد قابلية هذا الانزيم على تحليل انواع الدم البشري بفصائله الاربع :-

1- نبذ مقدار 5 ملليلتر من عينة الدم باستخدام انابيب نبذ بلاستيكية معقمة ومزودة بمانع التخثر للتخلص من البلازما والحصول على راسب خلايا الدم الاحمر .

2- غسلت الخلايا مرتين متتاليتين بالمحلول الملحي الفسلجي المعقم وتم ترسيب الخلايا بالنبذ المركزي بعد كل غسل .

3- اضيف نسبة 5% من الراسب الى وسط أكار الدم الاساس المعقم بعد تبريده الى درجة حرارة

4-

45 – 50 م° ثم حسب الوسط في أطباق زجاجية معقمة .

5- زرعت عزلات CONS بطريقة التخطيط على الاطباق وحضنت بدرجة حرارة

37 م° لمدة

24 ساعة لملاحظة قابلية العزلات على تحليل الدم من خلال تكون هالات شفافه حول المستعمرات النامية .

النتائج والمناقشة

بعد الحصول على العزلات البالغة 10 عزلات والعائدة لبكتريا المكورات العنقودية السالبة لفحص الكواكيوليز والتي تم الحصول عليها من مختبر الدراسات العليا في كلية التربية تم اجراء اختبار فحص تخثر البلازما والذي اثبت ان جميع العزلات سالبة لهذا الفحص .

جدول (1) انتاجية بكتريا المكورات العنقودية السالبة لفحص الكواكيوليز للانزيم الحال للدم .

العزلات	انتاج الهيمولايسين
S . saprophyticus	-
S . saprophyticus	-
S . saprophyticus	+
S . saprophyticus	-
S . saprophyticus	+
S . saprophyticus	-
S . xylosus	-
S . xylosus	+
S . xylosus	-
S . xylosus	-
- غير منتجة, + منتجة	

أظهرت النتائج قدرة بعض العزلات البكتريا العائدة لبكتريا المكورات العنقودية السالبة لفحص الكواكيوليز على انتاج الهيمولايسين وبنسبة 30% (3 عزلات) (جدول 1).

تمتلك بكتريا المكورات العنقودية العديد من عوامل الضراوة التي تساعد على احداث الامراضية ومنها انتاج الهيمولايسين والذي يعد أحد انواع الذيفانات Toxins التي تفرزها البكتريا اذ تقوم بتحليل كريات الدم الحمراء وانتاج الستافيلوكاينيز الذي له القابلية على تحليل خثرة الليفين وهذا بدوره يسمح للبكتريا بالانتشار خلال انسجة العائل من الجروح والحروق والخدوش مما يؤدي الى حدوث التهابات جلدية .

تمتلك العديد من الانواع البكتيرية السالبة والموجبة لصيغة كرام القابلية على انتاج الانزيم الحال للدم

(Jawetz *et al* . , 2004) وللهيمولايسين أهمية كبيرة في زيادة امراضية البكتريا اذ يعد من عوامل الضراوة في العديد من الأحياء المجهرية فهو ينتمي الى مجموعة البروتينات المحللة لكريات الدم الحمراء ويختلف تركيبه الجزيئي من بكتريا الى آخرى .

عمل الهيمولايسين عل تحليل الغشاء الخلوي لكريات الدم الحمر اذ تعمل البكتريا على الانفراز.

بسطح

كرية الدم الحمراء وتكوين ثقوب فيها مسببة خروج الهيموكلوبين وبالتالي فقدان الحديد (Atlas , 1995)

ان وظيفة الهيمولايسين هي توفير الحديد من خلال المضيف الذي له أهمية كبيرة في نمو وتكاثر البكتريا – ان آلية وصوله الى خلايا الهدف تتم بالاتصال المباشر بين الهيمولايسين المرتبط بجدار الخلية البكتريا وغشاء الخلية الهدف كما وانه يعمل على حث افراز الهستامين وصنع الليكتومترين وكذلك له القدرة على تدمير الخلايا وتحرير اللايسوزايم أو تدمير كريات الدم البيض (Atlas , 1995) .

ان عملية انتاج أو افراز الهيمولايسين تفع تحت سيطرة جينية معقدة يمكن ان تكون محمولة على الكروموسوم او البلازميد القابل للانتقال (Prescott , 2002) فقد وجد ان الجينات

المشفرة للهيمولايسين قد تكون محمولة على بلازميدات افتراضية او على بلازميدات غير افتراضية

(Gruing and Lebec , 1985) . وقد وجد ان اويرون الهيمولايسين في اغلب افراد العائلة المعوية

يتكون من اربعة جينات هي hiyA , hiyB , hiyC , hiyD .

اذ تعمل الجينات hiyB , hiyC , hiyD على تصنيع انزيم الهيمولايسين في حين يعمل الجين hiyA

على تحرير الهيمولايسين الغشاء الخارجي الى وسط النمو (Gray et al . , 1986) توجد أربعة انواع من التحلل الدموي هي نوع بيتا B – haemolosis الذي يشمل تحلل الدم بشكل كامل وتظهر حول المستعمرة هالة شفافة ويوصف انزيم B – haemolosis بأنه مرتبط بالخلية وفعاليته لا يمكن فصلها عن الفعاليات الأيضية للخلية . أما النوع الثاني فهو التحلل من نوع ألفا a – haemolosis اذ يحدث تحلل جزئي للدم وتظهر هالة خضراء حول المستعمرة ويكون انزيم a – haemolosis غير مرتبط بالخلية ويفرز خارجها خلال الطور اللوغارتمي للنمو . أما النوع الثالث من التحلل هو التحلل الدموي من نوع كاما y – haemolosis اذ يفتقر ظهور التحلل فيه الى ما تحت المستعمرة البكتيرية فقط , أما النوع الرابع فهو نوع دلتا haemolosis - Δ الذي يكون غير محلل للدم (Brooks et al . ,2001) .

وليس بالضرورة ان تكون البكتريا المنتجة لانزيم الهيمولايسين منتجة لنوع واحد اذ لوحظ قدرة بعض السلالات من بكتريا E . Coli على انتاج نوعين من الهيمولايسين هما الفا و بيتا هيمولايسين في آن واحد

وتحت ظروف النمو نفسها . يعد الهيمولايسين أحد عوامل الضراوة في العديد من الأحياء المجهرية وذلك من خلال التصاقه بسطح كريات الدم الحمر وتسببه في حدوث ثقب في سطح الخلية مما يؤدي الى قتلها وتحرير محتواها من الهيموكلوبين الغني بالحديد) Jorgenson et al . ,1980 (كما ويلعب الهيمولايسين دوراً رئيسياً في غزو البكتريا للخلايا الطلائية (Hertle et al . , 1999) وغالباً ما يرتبط انتاجه بالبكتريا المعزولة في حالات مرضية لذا يعد من العوامل المساهمة في الامراضية .

(Nassif and Sansonetti , 1987) فقد أشارت العديد من الدراسات

الى ان بكتريا (E . Coli) المنتجة للهيمولايسين تكون أكثر شيوعاً كمسبب لخمج المسالك البولية , اذا وجد (Benz et al . , 1989) ان الهيمولايسين يفرز من قبل 50% من عزلات بكتريا E. Coli

المسببة لاصاباتH المسلك البولي كما بين (Ewins and Cooke , 1975) ان عزلات E. Coli

المسببة لخمج المسالك البولية تكون محللة للدم اكثر من العزلات الاخرى . أما في جنس العنقوديات فقد

استخدم الهيمولايسين دليلاً على امراضية المكورات العنقودية المنتجة له مثل :

Staphylococcus aureus , اذ أشار (Sneath *et al* . ,1986) الى قدرة المكورات العنقودية الذهبية على انتاج جميع انواع التحلل .

References : المصادر

*Arakawa,y.;Murakmi,M.;Suzuki,K.; wacharotayankun R.;ohsuka,S.;kato,N.and ohta,M.(2000).Anovel integron_like element carrying B_lactamase gene bla IMP.Antimicrob.Agents chemother.39:1612_1615

*Asangi,S.Y.;Mariraj,J.;sathyanarayan,M.S.; Nagab hushan,and Rashmi,A.(2011).speciation of clinically significant coagulas Negative staphylococci and their antibiotic resisant patterns in atertiary care hospital. Int.J.Biol.Med. Res.,2(3):735_739

. *Atlas,RM.;Brown,A.E. and parks,L.G.(1995) Laboratory manual Experimental Microbiology.Mosby Year book,Inc.U.S.A.

***Bakas,L.; Ostolaza,H.; Vaz, W.L. and Goni ,F.M.(1996).**Reversible adsorption and nonreversible insertion of *Escherichia coli* alpha-hemolysin into lipid bilayers. *Biophys.J*. 71: 1869-1876

***Brosnahan, A. J.; Mantz, M. J.; Squier, C. A.; Peterson, M. L. and Schlievert, P. M. (2009).** Cytolysins augment superantigen penetr

Colowick,S ation of stratified mucosa. *J. Immun*. 182, 4, 2364–2373.

*Broo

Brooks,G.F;Butel,J.S and Morse,S.A.(2001).Jawetz,Melnik and Adelberg's Medical Microbiology 22nd ed.,Appleton and lang

***Benz,R.;schmid,A.;wagner.W.and Goebel,W.(1989).Pore formation by the Escherichia coli Helmolysin:evidence for an association aquilibrium of the pore-forming aggregates.J.Infect.Immun.957:887:895**

* **Colin, D. A.; Mazurier, I.; Sire, S. and Finck-Barbancon, V. (1994).** Interaction of the two components of leukocidin from *Staphylococcus aureus* with human polymorphonuclear leukocyte membranes: sequential binding and subsequent activation. *Infect. Immun*. 62:3184–3188.

****Dhople, V. M. and Nagaraj, R. (1993).** δ-toxin, unlike melittin, has only hemolytic activity and no antimicrobial activity: rationalization of this specific biological activity. Biosci. Rep. 13:245–250.

Dufourcq, J.; Castano, S. and Talbot, J.C. (1999).δ -toxin, related toxins and peptidic analogues. In: Bacterial Protein Toxins

: A Comprehensive Sourcebook (eds Alouf J.E., Freer . J.H).386-401. Academic Press, London.

***Freer, J. H. and Birbeck, T. H. (1982).** Possible conformation of delta-lysin, a membrane-damaging peptide of *Staphylococcus aureus. J. Theor. Biol*. 94:535–540.

*finch,R.G(2006).Coagulase negative Stphylococci.In:Principles and Practice of clinical Bacteriology.(Gillepie.S.H.and Hawkey,P.M,eds)2nd ed.John.Wily and sons Nottingham,UK.7(10):1002-9780.

*Gray,I.;Mackman,N.;Nicaud,J.and Holl and,.(1986).the car boxyleminal region of hemolysin 2001 is required for secretion.

*Gruing,H.;and lebec,G.(1985).constutive of iron chelate Inducible Hemolysin production in Escherichia coli Expermentia 41:334-539.

*Hertle,R.;Hilger,M.;Kocher,S. and Walev,I.(1999).cytotoxic action of S.marces cens hemolysin on human epithelial cells.J.chrom Biomed sci .AP.967(2):817-825.

***Husmann, M.; Dersch, K.; Bobkiewicz, W.; Beckmann, E.; Veerachato, G.and Bhakdi, S.(2006).** Differential role of p38 mitogen activated protein kinase for cellular recovery from attack by pore-forming *S. aureus* alpha-toxin or streptolysin O. *Biochem. Biophys*.Research Communications. 344, 1128–1134.

***Huseby,M.; Shi,K.; Brown,C.K.; Digre,J.; Mengistu,F.; Seo,K.S.; Bohach,G.A.; Schlievert,P.M.; Ohlendorf,D.H. and Earhart,C.A. (2007).**Structure and biological activites of beta toxin from *staphylococcus aureus. J . Bacteriol*. 189, 23, 8719–8726

*Jacques,O.;Anne.M.and Nevin,E.(2000).phenotypic and molecular typing of nosocomial methicillin-resistant staphylococcus aureus strain susceptible to gentamicin isolated in France from 1995 to 1997 ASFM.38:185-190

*Jean-Baptiste,N.Daniel,K.;Benjamin,D.K.;cohen-Wolkowiez M.;Fwler.VG.;Laughon,M.;clark,RH.and smith,P.B.(2011) coagulase negative staphylococcal Infections in the Neonatal Intensive car unit.Infect control Hosp Epidemiol 32(7):679-686.

*Jawetz,E.;Melnick,J.L.;Adelberg,E.A.;Brooks,GF.;Butel,J.s. and Morse,S.A.(2004) Medical Microbiology.23rd ed.Appelton and Longe. U.S.A.

Nassif,X.; and sansonetti, P.J.(1987).correlation of the virulence of klebsiella

K1 andK2 with the presence of aplasmid encoding aerobactin .J.Infect.Immun.54(3):603-608.

***Prevost, G.; Couppie, P.; Prevost, P.; Gayet, S.; Petiau, P.; Cribier, B.; Monteil, H. and Piemont, Y. (1995).** Epidemiological data on *Staphylococcus aureus* strains producing synergohymenotropic toxins. *J Med. Microbiol*. 42:237-245.

*Prescott,L.M.(2002).Microbiology 5th ed the McGraw-Hill Companies.U.S.A.

***Peng, H. L.; Novick, R. P.; Kreiswirth, B.; Kornblum, J. and Schlievert, P. (1988).** Cloning, characterization, and sequencing of an accessory gene regulator (agr) in *Staphylococcus aureus*. *J .Bacteriol*. 170:4365–4372.

Petit, L.; Gibert,M.; Gillet,D.; Laurent-Winter,C.; Boquet, P. and Popoff, M. R.(1997).Clostridium perfringens* Epsilon Toxin

Induces a Rapid Change of Cell Membrane Permeability to Ions and Forms Channels in Artificial Lipid Bilayers. *J. Bacteriol*. 179, 6480–6487

***Prevost, G. (2005).** Toxins in *Staphylococcus aureus* pathogenesis. In:
Microbial Toxins: Molecular and Cellular Biology (ed. T. Proft) 243-283, Horizon Bioscience Press, Norfolk.

***Ratner, A. J.; Hippe, K. R.; Aguilar, J. L.; Bender, M. H.; Nelson, A. L. and Weiser, J. N.(2006).** Epithelial cells are sensitive detectors of bacterial pore-forming toxins. *J. Biol. Chem*. 281, 18, 12994–12998.

*Suleiman,A;ZariaL.T;Grema.H.A.and Ahmadu P(2013) Antimicrobial resistant Coagulase positive Staphylococcus aureus from chickens in Maiduguri,Nigeria Sokoto Journal of veterinary sciences,11(1):51-55

*Sneath,P.H.A.;Mair,N.S.; sharpe M.E. and Holt ,J.G.(1986).Bergey's manual of systemic bacteriology.2nd ed the Williams and Wilkins Company.Baltimore.

*senior,B.W.and Hughes ,C.(1987).Properties of hemolysin from clinical isolates of the protease .J.Med Microbiol.,24:17-25.

*Ternes.Y.M ;Lamaro Cardoso,J.;Ander .M.C.pessoa,V.P.; da Silv vieira,M.A.; Minamisava,R.;Andrade,A.L.and kipnis, A.(2013).Molecular epidemiology of Coagulase negative Staphylococcus carriage in neonates admitted to an intensive care unit in Brazil.BMC Infectious Disease, 13:572

*Yildirim,S.;Narsal,T.Z.;
Tarim,A.;Torer,N.Noyan,T.;Demiroglu,Y.Z.;Moray,G.and
Heberal ,M.(2005). Bacteriological profile and antibiotic resistance:Comparison of findings in aburn intensive care unit ,other intensive care

and the hospital services unit of asingle center,J.Burn.car.Rehabil.26(6):488-492