تاثير البروتين المرتبط بالفايبرونكتين المعزول من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية على انزيمات الكبد (GOT , GPT)

عادل عبيد حسوني السعدي

الكلية التقنية – المسيب

الخلاصة

اظهرت نتائج الحقن داخل تجويف البريتون بمقدار 0.1 مليلتر من البروتين المرتبط بالفايبرونكتين المستخلص من الجدار الخلوي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* لـ 20 فارا مختبريا تاثيرات مرضية واضحة على انزيمات الكبد GOT , GPT مقارنة مع مجموعة السيطرة .

بعد اجراء الاختبارات التشخيصية تم الحصول على 40 سلالة لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية ، حيث استخلص البروتين المرتبط بالفايبرونكتين من الجدار الخلوي للبكتريا بوساطة جهاز التكسير (Sonicator) وتمت تنقية وتوصيف البروتين بطرق الترشيح الهلامي والترحيل الكهربائي . حقنت الفئران المختبرية بمقدار 0.1 مليلتر من البروتين وبعد مرور 3–4 اسابيع سحبت كمية من الدم وفصل البلازما بوساطة المنبذة واجري الاختبار لملاحظة تاثير البروتين على فعالية الانزيمات اعلاه . .حيث توضح النتائج التي تم التوصل اليها ان البروتين المرتبط بالفايبرونكتين سبب زيادة معنوية مقدارها (P> 0.05) في مستوى انزيم الـ GOT وصلت الى (175.286 U/ L) مقارنة مع مجموعة السيطرة البالغة (150.782 U/ L). وايضا الزيادة المعنوية (P> 0.05) على انزيم الـ GPT بدت واضحة بعد المعاملة بالبروتين المرتبط بالفايبرونكتين لتصل الى (69.412 U/ L) مقارنة مع مجموعة السيطرة البالغة (50.18 U/ L). يتبين مما تقدم ان البروتين المرتبط بالفايبرونكتين FnBp كان له التأثير الفعال على وظائف الكبد من خلال الزيادة المعنوية التي سببها هذا البروتين على انزيم الـ GOT والـ GPT .

Abstract

Results of injection inside peritoneal cavity are revealed with 0.1 ml of fibronectin binding protein extracted from the cellular wall of *Staphylococcus aureus* for 20 laboratory mice , obvious pathological effects on liver enzymes (GOT , GPT).

After diagnostic tests had done , we get 40 strain of *Staphylococcus aureus* , wherease fibronectin binding protein extracted from cellular wall of bacteria via sonicator system . Purification and protein classification by gel filtration and electrophoresis methods had been competed .

Laboratory mice injected with 0.1 ml protein . after 3-4 weaks , blood sample had taken and plasma separated by centrifuge , test done to know effect of protein on above enzyme activity. Results showed that fibronectin binding protein caused meaning increasing, its value was (p> 0.05) in GOT enzyme level reached (175.286 U/L) in compare with control group which was (150.782 U / L) . Also meaning increasing (p> 0.05) in GPT enzyme which appeared after treatment with fibronectin binding protein which reached to (69.412 U/L) incompare with control group which was (50.18 U / L) .

In conclusion fibronectin binding protein (FnBp) was more effective on liver functions during meaning increasing which was caused by this protein on both enzymes (GOT , GPT) .

مقدمة

تتصف المكورات العنقودية الذهبية بكونها بكتريا كروية الشكل موجبة لصبغة غرام يصل قطر الخلية الواحدة حوالي 1 مايكروميتر، تنتظم بشكل عناقيد العنب ، غير متحركة (Nonmotile) ، غير مكونة للسبورات وعادة غير مكونة للمحفظة (Non capsulated) (Humpherys, 1997; Kenneth , 2002) وذات مستعمرات كبيرة صفراء على الأوساط الغنية (Rich media) حيث تظهر مستعمراتها دائرية رقيقة ذات سطوح لماعة يصل قطر المستعمرة الواحدة 2–3 مليمتر وتصطبغ بلون ذهبي مصفر، ولها القابلية على تحلل الدم في وسط أكارالدم (Blood agar) ومعيشة هذه البكتريا هوائية او لاهوائية اختيارية او بوساطة التخمر

منتجة حامض اللاكتيك (Kenneth , 2005) وتكون موجبة لفحص الكاتليز (Catalase) وسالبة لفحص الأوكسديز (Oxidase) وتنمو بدرجة حرارة تتراوح بين 15 –45 م° ولديها القابلية على تحمل معدل ملوحة يصل الى 15% من تركيز ملح الطعام Nacl . والمكورات العنقودية الذهبية تكون منتجة لأنزيم الكوكيليز (Coagulase) المخثر للبلازما وتتعايش هذه البكتريا بصورة طبيعية على الجلد والممرات التنفسية والأغشية المخاطية ، ومعظم سلالاتها ممرضة للأنسان (Kenneth ,2002; Irina *et al*.,2005) .

ويحتوي الجدار الخلوي للمكورات العنقودية الذهبية على مجموعة من البروتينات المرتبطة بالخلية (Cell – bound protiens) مثل البروتين المرتبط بالفايبرونكتين (Fibronectin binding protien) والبروتين المرتبط بالفايبرونوجين (Fibrinogen binding protien) حيث تلعب هذه البروتينات الدور الاساسي في التصاق البكتريا واستيطانها لانسجة المضيف وحصول الاصابات المرضية المختلفة .

ألفايبرونكتين هو عبارة عن كلايكوبروتين (Glycoprotein) ذات وزن جزيئي عالى يقدر بحوالي 270kd (Skorstengaard *et al* ., 1986 ; Ana *et al*.,2002) ويحتوي في تركيبه على اكثر من 5% كاربوهيدرات مرتبطة مع مستلمات بروتنية تدعى الأنتكرين (Integrin) ويرتبط ايضا مع مكونات خارج خلوية اخرى مثل الكولاجين (Collagen) والفايبرين (Fibrin) والهيبارين (Heparin) . وفي الآونة الأخيرة لوحظ ان الفايبرونكتين له القدرة على الأرتباط مع بروتينات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staph aureus* (Kusela ,1978) وهذا الأرتباط يحصل في الطرف الأميني NH_2 للخلية ولكن يمكن منع هذا الارتباط او فصله بوساطة وجود اللايسين (Lysine) او الكاربمايد (Carbamide) (Kusela ,1978 ; Mosher *et al*.,1980) .

ان التصاق بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staph aureus* الى أنسجة المضيف تعتبر الخطوة الأولى لأحداث الأصابات المختلفة وقد اثبتت التجارب ان هذه البكتريا لها القابلية على تطوير آليات عديدة لغرض زيادة ضراوتها ، وتأكد بأن للفايبرونكتين (Fibronectin) الدور الأساسي في أمراضيتها (Greene *et al* .,1995; Jennifer ,2004) من خلال أعتباره كحالة وسطية في عملية الألتصاق التي تحصل بين الفايبرونكتين الموجود في خلايا المضيف مع البروتين المرتبط بالفايبرونكتين المفرز من الجدار الخلوي للبكتريا (وقد وجد ان البروتين المرتبط بالفايبرونكتين يتألف من وحدتين ثانويتين (A & B) ذات وزن جزيئي يقدر بحوالي (120000 دالتون) و تركيزه يبلغ حوالي 3.2 ملغم/ مليلتر ورقم هيدروجيني (7 – 7.2 pH) (Proctor *et al* ., 1982) .

ويعتبرالبروتين المرتبط بالفايبرونكتين عامل ضراوة لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية (Ozeri *et al*.,1998 ; Van *et al*.,1998 ; Joh *et al*.,1999) ويؤدي وجوده الى حصول أصابات خطيرة مثل الأصابة بألتهاب شغافي القلب (Endocarditis) والتهاب العظام (Osteomylitis) (Yok Eric *et al*.,2003 ; *et al*.,2005) .وبالأضافة الى قابليته للأرتباط مع الفايبرونوجين(Fibrinogen) وهذا الأرتباط يؤدي الى مضاعفة التداخلات بين خلية البكتريا والمضيف مما يسبب مضاعفة خطر الأصابة الناتجة من البكتريا (Matthia *et al*.,2004) .

المواد وطرق العمل

أ – بكتريا المكورات العنقودية الذهبية

جمعت 40 مسحة سريرية من مختبر الصحة العامة المركزي والمختبر التعليمي في مدينة الطب و قسم التقنيات الأحيائية في كلية العلوم / جامعة بغداد ومن أجزاء مختلفة من الجسم (الأنف ، الأذن ، البلعوم، الجروح ، قرح الجلد ، الإدرار ، المهبل) .

تم تشخيص الجراثيم المعزولة حسب ماهو متبع لتشخيص المكورات العنقودية الذهبية (Cruikshank *et al* .,1975 ; Sneath *et al* .,1986) .

ب – استخلاص وتنقية البروتين المرتبط بالفايبرونكتين

تم استخلاص وتنقية البروتين المرتبط بالفايبرونكتين عن طريق نبذ العالق البكتري بجهاز المنبذة المبردة واعقبها تكسير الخلايا بوساطة جهاز التكسير الكهربائي (Sonicator) . ثم تمت تنقيته وتوصيفه بطرق النرشيح الهلامي باستخدام عمود هلام السيفاكريل S-200 والترحيل الكهربائي باستخدام هلام الاكريل امايد المتعدد وبوجود SDS- PAGE .

ج – الفئران المختبرية

تم حقن الفئران المختبرية بمقدار 0.1 مليلتر من البروتين المرتبط بالفايبرونكتين داخل تجويف البريتون وبعد مرور 3 – 4 اسابيع من الحقن تم سحب الدم من الفئران المحقونة . ثم فصل البلازما بجهاز المنبذة لغرض قياس فعالية انزيمات الكبد (GOT , GPT) . وتم الحصول على الفئران المختبرية من البيت الحيواني في مركز البحوث التقنية / جامعة النهرين .

د– الفحوصات الأنزيمية للكبد Liver Enzymatic Assay

تضمنت هذه الأختبارات تقدير فعالية انزيمات الكبد (GPT , GOT) .

1– انزيم GOT Glutamic-oxaloacetic-Transaminase

تم تقدير فعالية انزيم الـ GOT في بلازما الفئران المحقونة بالبروتين المرتبط بالفايبرونكتين (FnBp) بوساطة استخدام طريقة (Colorimetric kit) بأستخدام عدة الأنزيم المجهزة من شركة (Randox company) وحسب ماورد من قبل (Rietman and Frank ., 1957) وذلك بحساب الـ Oxaloacetate المنتج من L- Aspartate وحسب المعادلة التالية :

∞- oxoglutarate + L- aspartate →L- glutamate + oxaloacetate

تقاس الأمتصاصية على طول موجي 546 نانوميتر بأستخدام جهاز المطياف الضوئي .

وتتكون العدة Kit من المواد والمحاليل التالية :

1– كاشف ركيزة الـ GOT (R1) ويتكون هذا الكاشف من :

– 100 ملي مول / لترمن داريء الفوسفيت .

– 200 ملي مول / لتر من L- Aspatrtate

– 2 ملي مول / لتر من oxoglutarate

2– الكاشف اللوني لـ GOT (R2) ويتكون من :

–1 ملي مول / لتر DNPH

– 2 ملي مول / لتر HCl

3- هيدروكسيد الصوديوم (R3)

- 4 ملي مول / لتر NaoH

طريقة العمل

- تم استخدام انبوبتي اختبار حيث اضيف فيهما المحلول اعلاه وكما موضح في الجدول (1) .

جدول (1) طريقة قياس فعالية انزيم الـ GOT .

Tubes (Reagents)	Blank (Reagent) ml	(Sample) ml
Blood serum	**--**	**0.1**
Reagent 1 (R1)	**0.5**	**0.5**
D. W	**0.1**	–
1- يمزج جيداً ويوضع في حمام مائي بدرجة حرارة 37 م° لمدة 30 دقيقة .		
Reagent 2 (R2)	**0.5**	**0.5**
2- يمزج جيداً ويوضع في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة .		
Reagent 3 (R3)	**5**	**5**
3- يمزج جيداً ويترك لمدة 5 دقائق ، وتقاس الأمتصاصية للنموذج على طول موجي 546 نانوميتر .		

2- انزيم GPT Glutamic-Pyruvic-Transaminase

يتم تقدير فعالية هذا الأنزيم في بلازما الدم اعتماداً على طريقة colorimetric بأستخدام عدة الأنزيم المجهزة من شركة (Randox company) وحسب ماورد في (Reitman and Frank ., 1957) من خلال حساب البايروفيت الحر Free Pyruvate المنتج من L- Alanine وحسب المعادلة التالية :

∞- oxoglutarate + L- alanine → L- glutamate + pyruvate

وتقاس الأمتصاصية على طول موجي 546 نانوميتر بأستخدام جهاز المطياف الضوئي .

وتتكون العدة من الكواشف والمواد التالية :

1- كاشف ركيزة الـ GPT (R1) ويتألف من :

- 100 ملي مول / لترمن داريء الفوسفيت
- 200 ملي مول / لتر L- alanine
- 2 ملي مول / لتر ∞- oxoglutarate

2- الكاشف اللوني لـ GPT (R2) ويتألف من :

- 1 ملي مول / لتر DNPH
- 1 ملي مول / لتر HCL

3- هيدروكسيد الصوديوم

4 ملي مول / لتر NaoH

طريقة العمل

تستخدم انبوبتي اختبار ويضاف المحلول اعلاه بنفس الطريقة الموضحة في الجدول (1) تقاس فعالية انزيم الـ GPT بنفس الطريقة التي تم فيها قياس فعالية انزيم الـ GOT ، وتسقط الأمتصاصية على المنحني القياسي للأنزيم الموضح على العدة الأنزيمية وتقاس الفعالية الأنزيمية بوحدات (Unite/ L).

النتائج والمناقشة

1- بكتريا المكورات العنقودية الذهبية

بعد إجراء الاختبارات التشخيصية بلغ عدد السلالات لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staph aureus* (20) سلالة من 40 عزلة أي بنسبة 50% من مجموع العزلات صبغت البكتريا بصبغة غرام وكانت البكتريا موجبة لصبغة غرام ومتجمعة على شكل عناقيد العنب (Sood , 1989) .

كانت المستعمرات النامية على وسط الأكار المغذي دائرية وملساء ومرتفعة بصوره قليلة عن سطح الوسط ألزرعي ذات لون كريمي معتم كما لوحظ تغير لون وسط أكار المانيتول الملحي في المناطق المحيطة بالمستعمرات النامية من اللون الوردي إلى اللون الأصفر وذلك لوجود كاشف الفينول الأحمر مما يدل على قابلية هذه البكتريا على تخمر سكر المانيتول . ويعتبر هذا الوسط من الأوساط التفريقية لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staph aureus* (Macfadin , 1985) . وتم التاكد من قدرة البكتريا على انتاج انزيم الكوكيليز (Coagulase) المخثر للبلازما وكانت النتيجة ايجابية لهذا الاختبار (Dickson and Marples ,1986) .

2- البروتين المرتبط بالفايبرونكتين

تم استخلاص البروتين المرتبط بالفايبرونكتين من الجدار الخلوي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S.aureus* عن طريق تكسير الخلايا البكترية باستخدام جهاز التكسير الكهربائي Sonicator تحت الظروف القياسية ، وبعد ذلك أجريت عملية التنبيذ للخلايا المتحللة بوساطة المنبذة المبردة (Cooling centrifuge). حيث أهمل الراسب المتكون من بقايا الخلايا المتحللة واستخدم الراشح الحاوي على المستخلص ألبروتيني (Halby , 1975) .

تعتمد آلية تنقية البروتينات بالترشيح الهلامي على الوزن ألجزيئي ، إذ تحصل حالة اتزان بين جزيئات البروتين الصغيرة وحجم الفراغ الخارجي والفراغ مابين حبيبات الهلام . أما جزيئات البروتين الكبيرة فتتوازن في حجم الفراغ الخارجي . وعند إضافة العينة تحدث عملية غربلة لجزيئات البروتين إذ تستبعد جزيئات البروتين الكبيرة وتسترد أولا من الهلام ، وبعد ذلك تسترد البروتينات ذات الأوزان الجزيئية الصغيرة (Stellwagen , 1990) وقد أدى استخدامنا لهلام السيفاكريل S-200 إلى زيادة نقاوة البروتين وقد نتج عن خطوة التنقية هذه قمتان للبروتين وقدر الوزن ألجزيئي للبروتين المرتبط بالفايبرونكتين بطريقة الترشيح الهلامي 141235 دالتون لقمة الاسترداد الأولى و 53088 دالتون لقمة الأسترداد الثانية . واستخدم المنحني القياسي (العلاقة بين لوغارتم الوزن الجزيئي والحركة النسبية (Relative mobility) (Rm) للبروتينات القياسية في هلام الأكريل أمايد المتعدد بوجود الـ SDS عند تقدير الوزن ألجزيئي للبروتين المدروس بطريقة الترحيل الكهربائي بوجود المواد الماسخة للبروتين في هلام الأكريل أمايد المتعدد وبوجود SD S (SDS-PAGGE). لوحظ ظهور حزمة واحدة على الأكريل أمايد المتعدد بتركيز 5 % وكان وزنها ألجزيئي 55000 دالتون و 48000 على التوالي ويتضح من النتائج المستحصلة إن الوزن ألجزيئي للبروتين المقدر بطريقة الترشيح الهلامي أعلى من الوزن ألجزيئي للبروتين المقدر بالترحيل الكهربائي بما يقارب مرتين وهذا يعود إلى إن البروتين يتألف من أكثر من وحدة وان وجود المواد الماسخة SDS والمختزلة (2- مركبتوايثانول) أدى إلى اختزال هذه الأواصر وتفكك البروتين إلى وحداته المكونة.

3- التاثيرات المرضية للبروتين المرتبط بالفايبرونكتين

بعد مرور 3–4 اسابيع من الحقن تم سحب كمية من دم الفئران المختبرية ووضعت في انابيب اختبار نظيفة ومعقمة ثم نبذة بوساطة المنبذة بسرعة 1500 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق واستخدم البلازما لغرض اختبارمدى التاثير الذي سببه البروتين علىالانزيمات الكبدية (GOT,GPT) .

ان تأثير البروتين المرتبط بالفايبرونكتين على انزيم الـ GOT والـ GPT يمكن توضيحها في الجدول (2) .حيث توضح النتائج التي تم التوصل اليها ان البروتين المرتبط بالفايبرونكتين سبب زيادة معنوية مقدارها (P> 0.05) في مستوى انزيم الـ GOT وصلت الى (175.286 U/L) مقارنة مع مجموعة السيطرة البالغة (150.782 U/ L).

وايضا الزيادة المعنوية (P> 0.05) على انزيم الـ GPT بدت واضحة بعد المعاملة بالبروتين المرتبط بالفايبرونكتين لتصل الى (69.412 U/ L) مقارنة مع مجموعة السيطرة البالغة (50.18 U/ L) .

جدول (2) تأثير البروتين المرتبط بالفايبرونكتين على انزيمات الكبد (GOT, GPT) .

Groups	GOT	GPT
Negative control	150.782 +_	50.18 +_
Positive control	175.286 +_	69.412 +_

يتبين مما تقدم ان البروتين المرتبط بالفايبرونكتين FnBp كان له التأثير الفعال على وظائف الكبد من خلال الزيادة المعنوية التي سببها هذا البروتين على انزيم الـ GOT والـ GPT .

وهذه النتائج تؤكد بأن هذا البروتين يمثل عامل ضراوة شديد لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staph aureus* .

الاستنتاجات Conclusions

1- نستنتج من خلال الدراسة ان بكتريا المكورات العنقودية الذهبية تمتلك بروتين خارج خلوي له دور فعال في زيادة امراضية البكتريا .

2- ان البروتين المرتبط بالفايبرونكتين سبب زيادة معنوية في مستوى انزيم الـ GOT). وايضا زيادة معنوية على انزيم الـ GPT .

3- ان البروتين المرتبط بالفايبرونكتين FnBp كان له التأثير الفعال على وظائف الكبد من خلال الزيادة المعنوية التي سببها هذا البروتين على انزيم الـ GOT والـ GPT .

References

- **Ana ,** M .; Kellie, S .; Elena , L.; Jrina , M .; Dudley, K. and Steven , C.L. (2002). The low density Lipoprotein receptor Related protein mediates fibronectin . Accumulation on cell surfaces J. Biol . chem. 277 : 1660 – 1666 **.**
- **Atlas,** R.M. (1995) . Principles of microbiology . 1st ed . Robert .J. Callanan (ed) . Chapter 4. : 122 .
- **Bergmeyer,** H.U. (1974). Methods of enzymatic analysis Bergmeyer. H.U. (ed) . (1) Academic Press , New York .
- **Cruickshank ,** R.; Marion , B.P.; Duguid, S.R. and Swain , P. H. A. (1975). Medical microbiology : The practice of medical microbiology. (12th ed) ,. Curchill Livingstone , Edinburgh, london , Newyork . 2 : 587.
- **Dickson ,** J. and Marples , R . (1986). Coagulase production by strains of *Staphylococcus aureus* resistance charecters : acomparison of tow traditional

methods with alatex agglutination system detecting both clumping factor and protein A . J. Clin .Pathol . 39 : 371 – 375.

- **Eric ,** B .; Brain, G .; Talbot . and Francosis . (2003) . The fibronectin binding protein of *Staphylococcus aureus* many promote mammary gland colonization in alactating mouse model of mastitis , Infection and immunity. 71: 2292– 2295.
- **Green ,** G .; Mcdevitt , D .; Francois , P . Vaudaux .; P. E.; Lew, D.P . and Foster, T. J . (1995) . Adhesion properties of mutants of *Staphylococcus aureus* defective in fibronectin binding protein and studies on the expression of fibronectin b genes , Mol . Microbiol . 6 : 1143 – 1152 .
- **Halby ,** N . (1975) . Cross – reaction between *Pseudomonas aeruginosa* and 36 other bacterial species . Scand . J . Immunol . 4 : 187 – 196 .
- **Humpherys ,** H. (1997). Staphylococcus : Skin infections : Osteomylitis : Food poisoning : Foreign body infections : Medical microbiology(5^{th}ed) Churchil . Livingstone .
- **Irina ,** S .; Vinogrador , E .; Flahant , S . and Grigoris . (2005) . Extraction and purification of fibronectin *Staphylococcus aureus* , Jour. Infect Immun . 73 : 3007 - 3017 .
- **Jennifer ,** P . (2004) . Students of fibronectin pathogen intraction using NMR Spectroscopy , Mol . Microbiol . 52 : 631 – 641 .
- **Kenneth** Todar . (2002) . The bacterial flora of Human , University of Wisconsin – Madison . Department of bacteriology .
- **Kenneth** Todar . (2005) . *Staphylococcus aureus* . Text book of bacteriology , Univercity of Wisconsin , Department of bacteriology .
- **Kusela ,** P . (1978) . Fibronectin binds to *Staphylococcus aureus* , Nature. (London) . 276 : 718 - 720 .
- **Macfadin ,** J . F . (1979) . Biochemical test for Identification , The E test and detection of men A for determination resistance in coagulase negative *Staphylococci* , Eur , J . Clin . Microbial infection disease . 15 : 567 – 573 .
- **Mathur,** V. .; and Devi, P. (1981) . Effect of MPG on the radiation Induced changes in the intestinal activity of ALP in mice . Natl. Acad . Sic . Letters . 4 : 183- 185 .
- **Matthias ,** G.; Hassain, M.; Petra , B.; Christine , H.; Georg , P. and Bhanu , S. (2004) . Truncation of fibronectin – binding protein in *Staphylococcus aureus* strain newman leads to deficient adherence and host cell invasion due to loss of the cell wall anchor function . Infection and immunity. 72 : 7155 – 7163 .
- **Mosher ,** D.S. and Proctor , R.A. (1980) . Binding and Factor x. mediated cross-linking of a27 kilodalton fragment of Fibronectin to *Staphylococcus aureus* , Science . 209 : 545 – 553 .
- **Ozeri ,** V.; Rosenshine , L.; Mosher , D.F.; Fassler, R. and Hansk, E. (1998) . Role of integrin and fibronectin in the entry of *Streptococcus pyogenes* in to cells via protein F1 , Mol . Microbial . 30 : 625 – 637 .
- **Proctol ,** R. A .; Mosher , D. F .; Olbrantz , P. J . (1982) . Fibronectin binding to *Staphylococcus aureus* . J . Biol . Chem . 24 : 788 -794 .
- **Reitman , S.;** and Franket , A.S. (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetatic and glutamic pyruvic transaminases . Amer . J . Path . 28 : 56 – 58 .
- **Rieci ,** G .; and Federici , G. (1982). Method for determination of transaminases and relative diagnostic kit , United States patent .

- **Skorstengaard ,** K .; Jensen , M . S .; Sahi , P .; Petersen , T. E . (1986) . Fibronectin . Eur . J . Biochem . 161 : 441 – 453 .
- **Sneath ,** P . A .; Mair , N . S .; Sharp , M . E . and Hott , J. G . (1986). Bergeys manual of systematic bacteriology : 1013 – 1035 . William and wiLkans , U . S .A .
- **Sood ,** R . (1989) . Acolor atlas of practical pathology and microbiology. Jaypee brothers .
- **Stellwagen ,** E . (1990) . Gel filtration . In : Deutscher (ed) methods in enzymology . Guide to protein purification . Academic . Press . San Diego . 182 : 317- 328 .
- **Van ,** P .; J . P .; Duensing , T . D . and R . L . (1998) . Entery of opaA gonococci in to HEP-2 cells requires concerted action of glycosaminglycans , fibronectin and integrin receptors ,Mol .Microbial . 29 : 369 – 379 .
- **Yok-Aque** .; Jacquen , A .; Lionel , p .; Patrice , F .; Eleonorn , W.; Jose, M.; Bhanu , S .; Pierre , V . (2005) .Fibrinogen and Fibronectin binding cooperate for valve infection and invasion in *Staphylococcus aureus* experimental endocarditis.

.