دراسة المناعة غير المتخصصه لمستضدات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* في الجرذان البيض **White Rats**

شاكر حماد محمد العلواني

كلية العلوم– جامعة بابل

الخلاصة

تم عزل عزلة لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* من أحد المرضى الراقدين في مستشفى الحلة الجراحي التعليمي. شخصت العزلة اعتمادا على الصفات المظهرية واالفحوصات الكيموحيوية . خضعت العزلة الى دراسة مناعية بدأت من تشرين الثاني 2007 حتى ايار 2008.

فصل مستضد عزلة *S. aureus* (المستضد المقتول) ومزج مع المساعد المناعي لفرويند Freund's adjuvant ومنع في حيوانات الجرذان البيض بعمر 12 أسبوع. تمت متابعة الاستجابة المناعية للجرذان البيض الممنعة بذلك المستضد.

بلغ العدد الكلي لخلايا الدم البيض في الجرذان البيض الممنعة بمستضد *S. aureus* (7.930 X 10^3 خلية/ملم^3) بينما في نموذج السيطرة بلغ(5.280 X 10^3 خلية/ملم^3).

تباينت متوسطات الاعداد التفريقية لخلايا الدم البيض بعد التمنيع بمستضد بكتريا *S. aureus* اذ بلغ اعداد الخلايا العدلة ، اللمفية ، وحيدة النواة الدموية والحمضة 55.200، 40.400، 3.100، 1.300 (X10^3 خلية/ملم^3) على التوالي بينما بلغ في نموذج السيطرة 49.200، 47.00، 2.400، 1.200 (X10^3 خلية/ملم^3) على التوالي.

كان متوسط تركيز البروتين الكلي في مصول الجرذان البيض الممنعة *S. aureus* 9.450 (غم/ لتر) في حين كان متوسط نموذج السيطرة 12.340 (غم/ لتر).

تمت دراسة فعالية البلعمة من ناحية القتل الداخلي للخلايا العدلة لبكتريا *S. aureus* (B/N) في اوقات حضانة 10–30–50 دقيقة اذا بلغت 4.800، 4.900، 9.800 على التوالي بينما بلغت في نموذج السيطرة 3.400، 4.400، 4.600 على التوالي كما دلت الدراسة لالتهام الخلايا البلعمية *S. aureus* كمعدل هضم لدى الجرذان البيض في اوقات حضانة 10–30–50 دقيقة اذ بلغت 0.480، 0.17، 0.196 على التوالي بينما بلغت في نموذج السيطرة 0.138، 0.150، 0.116 على التوالي.

Abstract

*Staphylococcus aureu*s isolated from one patient of Hilla teaching hospital . Identification of isolate depend on morphological and biochemical tests . The killed antigen prepared and mixed with Freund's adjuvant, which injected in 12 weeks age white rats . The result revealed that the effect of *S. aureus* antigen in total white blood cells was (7.930 X 10^3 cell/mm^3) , while in the control was(5.280 X 10^3 cell/mm^3) .

The means of differential white blood cells Neutrophil , Lymphocyte , Monocyte and Eosinphil reached 55.200 , 40,400 , 3.100 , 1.300 (X 10^3 cell/mm^3) respectively , while in control animals which reached 49.200 , 47.00 , 2.400 , 1.200 (X 10^3 cell/mm^3) respectively. The concentration of total protein was appearing lower in treatment rats (9.45 g / L) compared with control animals, (12.34 g / L) .

The result were revealed that the effect of *S. aureu* antigen in cellular immunity which including ; phagocytosis , endocytic killing by neutrophils of ingestion by phagocytes at different times of incubation in rats primed with bacterial antigens .

The means of endocytic killing were 4.8 , 4.9 and 9.8 at incubation times 10 , 30 , and 50 minutes respectively . Furthermore the rates of ingestion were 0.48 , 0.178 and 0.196 at the same times respectively , the results for control rats were 0.138 , 0.150 and 0.116 at the same times respectively .

Key words:- *Staphylococcus aureus*. Antigen phagocytosis

المقدمة

تعد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* العامل الممرض الرئيسي في حالات أمراض المجتمع المكتسبة وأصابات المستشفى , ويعد التجويف الأنفي الأمامي المخزن الرئيسي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* (Kluytmans *et al* .,1997)

تنتج بكتريا *S. aureus* العديد من السموم التي تتجمع تبعاً لفعالية هذه البكتريا مثل سم–ألفا - α) (Toxin وهو بروتين وزنة الجزيئي 33 كيلو دالتون يسبب حدوث ثقوب وتغيرات ألتهابية في خلايا اللبائن تؤدي الى ضرر متسلسل قد ينتشر ويؤدي الى ظاهره تدعى متلازمه التجرثم الدموي (Javanka *et al*., 2005; Beyan *et al*., 2003) ومستضد الذيفان المقيح تركيبياً يتكون من أحماض أمينية متجانسة ووظائفها هي الأتحاد مع بروتينات الصنف الثاني لمعقد التوافق النسجي Major histocompatapility complex II (MHC II) مسببةُ حث الخلايا التأئية للتضاعف وتحرير السايتوكاين cytokine والبروتينات المناعية(Bhakdi .,1999) جزيئة الذيفان الداخلي المعوي (enterotoxin) مسؤولة عن أحداث مرضين هما متلازمة الصدمة السمية والتسمم الغذائي حيث أن لسموم متلازمة الصدمة السمية الأول تركيباً يماثل الذيفان المعوي C,B والجين المسؤول عن ذيفان متلازمه الصدمه السميه الاول يوجد بنسبة 20% من بكتريا *S. aureus* (Bhakdi *et al* .,1999) .

يتكون جدار بكتريا *S. aureus* من ببتيدوكلايكان peptidoglycan والحامض الدهني Lipoteichoic acid والعديد من النواتج السامة المفرزة والتي من المحتمل أن تشترك في الصدمة السمية بوساطة المكورات العنقودية (Sriskandan and Cohen ,1999) . بينما لاتلاحظ هنالك أعراض للصدمة عندما يكون المصل مركز بعامل التنخر الورمي – ألفا (Tumor Necrosis Factor- α) ألا أنه يعد أحد سايتوكينات الألتهاب الأولي المسؤول عن الصدمة السمية في البكتريا السالبة لصبغة غرام , كما ان حث أنتاج عامل التنخر الورمي –ألفا (Tumor Necrosis Factor- α) هوغير كافي للتسبب بأعراض الصدمة في حالة الخمج بالمكورات العنقودية , لذلك فأن الآلية المؤدية الى الصدمة السمية بالمكورات العنقودية قد تكون متعدده العوامل . (Sriskandan and Cohen ,1999) .

أن بكتريا *S. aureus* هي كائن ممرض مقيح قادر على غزو الأنسجة وتثبيط عملية البلعمة بوساطة الخلايا العدلة , حيث يشترك غزو الانسجه وقتل الخلايا البلعمية في الأستجابة الألتهابية التي تؤدي الى الصدمة السمية (Sriskandan and Cohen ,1999) بصورة عامه فأن فعالية البلعمه تزداد في حالات الحمى ، الاورام الخبيثـــــه ، معظـــــم الاصـــــابات البكتيريـــــه وبعـــــض الاصـــــابات الفايروســـــيه . (Jawetz, *et al* . , 2007) وعلى العكس من ذلك تقل فعاليتها في حالات الاعتلال الوراثية وأمراض المناعة الذاتية و مرض السكري والمرضى المصابين بقلة الخلايا البيض العدله Neutropenia (Jawetz *et al*., 2003 ; Beyan *et al*., 2004) . وكذلك تكون البلعمه اكثر فعاليه عند وجود الاجسام المضاده اوالابسنة Opsonin والاخير يقوم بتنشيط المكون الثالث للمتمم C3 (Levenson and Jawetz , 1998) لذلك جاء هدف الدراسة والذي يشمل :

1– دراسة المناعة الخلوية غير المتخصصة المتمثلة بعملية البلعمة phagocytosis تجاه *S .aureus*

2– معرفة تاثير مستضد *S .aureus* على العدد الكلي لخلايا الدم البيض والعدد التفريقي لخلايا الدم البيض.

3- معرفة المناعة الخلطية غير المتخصصة المتمثلة بقياس البروتين الكلي .

المواد وطرائق العمل Material & Methods

3-1 : الحيوانات المختبرية : Laboratory Animals .

تم استعمال الجرذان البيض White Rats حسب تصنيف متحف التاريخ الطبيعي معززة باراء (Donoghue & Hime, 1979) وبمعدل عشرة مكررات لكل معمل بسبب وجود تغاير في الاستجابة المناعية بين الحيوانات المختلفة (Beck *et al.*,1993) وكانت الجرذان البيض بمعدل عمر 12 اسبوع وجرى اقلمتها بجو التجربة لمدة اسبوعين تحت الظروف القياسية للاكل والشرب والتاهيل *Adlibitum*. (Schneider *et.* *al* .,1990).

3-2 :- عزلة بكتريا المكورات العنقودية الذهبية

Staphylococcus aureus Strain

تم الحصول على عزلة من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* مشخصه تشخيصاً اولياً من مستشفى الحلة الجراحي التعليمي. ولقد اجري على هذه العزلات العديد من الاختبارات التشخيصية التاكيدية وباستخدام كواشف واوساط زرعية مختلفة وحسب ما ذكره ماكفادن (2000) (Macfaddin, 2000).

3-3 :- تحضير معلق بكتريا *S.aureus* المقتولة بالحرارة.

لقح حوالي 12 انبوب مائل Slant حاوية على وسط Mannitol salt agar ثم غسل السطح النامي بعد انتهاء فترة الحضانة الملائمة باستخدام محلول الملح الوظيفي الفسيولوجي (0.85 %) ثم جمعت المادة المغسولة في قارورة مفردة.

سخنت القارورة في درجة حرارة 60 °م لمدة ساعة واحدة في الحمام المائي لقتل هذه البكتريا ثم قرب تركيز هذه الجراثيم الى ما يقرب من (6) قياس ماكفرلاند (1X **10^7 cell**/ml) .(Bradshaw,1996).

3-4 :- تقدير تركيز البروتين الكلي في المصل :-

تم استخدام طريقة لوري Lawry method (Lawry *et al*., 1951)

3-5:- قياس العدد الكلي لخلايا الدم البيض: Total leukocyte count .

تم حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض حسب طريقة Daci, Lewis (1984).

3-6 :- حساب العدد التفريقي لخلايا الدم البيض Differential leukocyte count .

حسبت النسبة المئوية لخلايا الدم البيض حسب ما ذكره Khuran, Talib (1996)

3 – 8 :- أختبار البلعمة :- phagocytosis Test .

3 – 8- 1 عد خلايا الدم البيض W. B. Cs count .

عدد الخلايا الدم البيض الكلي وعدد الخلايا العدلة Neutrophils يجب أن يحسب وذلك بسبب أن حجم معلق البكتريا المستخدم في هذه الدراسة يعتمد على عدد الخلايا العدلة في العينة حسب النسبة (1خلية عدلة/ 10 خلية بكتيرية) . (AL-Barrak ,1997) .

3–8–2:- فعالية البلعمة Phagocytosis activity

يقاس معدل الخلايا البكتيرية الحية والملتهمة بوساطة الخلايا البلعمية Phagocytes, يتم عمل ذلك بوساطة مزج الدم (الممزوج مع الهيبارين Heparin) مع عدد ثابت ومحدد من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* وتحضن بدرجة 37 °م بأوقات حضانة مختلفة (10، 30 ،50) دقيقة وضمن هذه الأوقات يتم تحضير مسح للشرائح الزجاجية من هذه العينات ثم تصبغ بصبغة لشمان Leishman's stain وتفحص تحت العدسة الزيتية (AL-Barak ,1997) .

3- 8- 2- 1 طريقة العمل :-

تم قياس فعالية البلعمة حسب ماذكره (AL-Barak ,1997).

3- 8- 2- 2 الحسابات :-

1. النسبة المئوية الموجبة للعدلات = عدد الخلايا الملتهمة للبكتريا X 100
   عدد الخلايا الكلي
2. معدل عدد البكتريا /100 خلية عدلة .
3. نسبة الهضم (القتل داخل خلوي) = (بكتريا B / الخلايا العدلة N) /وقت الحضانة (AL-Barrak,1997) .

3- 9 :- التحليل الأحصائي : Statistical analysis .

أستخدمت طراتق الأحصاء لتحليل وأحصاء النتاتج المستحصلة والتي تتضمن المعدل , الخطأ المعياري، الأنحراف المعياري , القيم العليا , القيم السفلى , المدى . وحسب ماذكره (Donald ,1989)

النتائج

جدول (1):- معدل العدد الكلي لخلايا الدم أليبض(10^3 X خلية/ملم^3) في ألجرذان ألبيض Rats ألممنعة بمستضد بكتريا المكورات العنقوديةالذهبية *Staphylococcus aureus*.

ألمستضد antigen	ألعدد Number	معدل الخلايا الدم البيض الكل 10^3 X خلية/ملم3 ±ألخطأ المعياري
السيطرة Control	10	0.185 ± 5.280
المعاملة Treatment	10	0.795± 7.930

تبين ان هنالك فرق عالي المعنوية ($P< 0.01$) بأتجاه زيادة العدد الكلي لخلايا الدم البيض في الجرذان البيض الممنعة بمستضد بكتريا *Staphylococcus aureus* بالمقارنة مع نموذج السيطرة .

جدول (2) معدلات ألعد ألتفريقي لخلايا الدم البيض (10^3 X خلية /ملم ^{3}) في الجرذان البيض Rats ألممنعة بمستضد بكتريا المكورات الذهبية *Staphylococcus aureus* .

المستضد	العدد Number	معدلات العدد التفريقي لخيا الدم البيض x 10 خلية/ملم3 ±ألخطأ المعياري			
		العدلات Neutrophil	اللمفية Lymphocyte	وحيدة النواة Monocyte	الحمضة Eosinophil
السيطرة Control	10	49.200 2.03±	47.00 1.94±	2.400 0.400±	1.200 0.374±
المعاملة Treatment	10	55.200 1.348±	40.400 1.343±	3.100 0.348±	1.300 0.152±

تبين ان هنالك فرق عالي المعنوية (P<0.01) بأتجاه زيادة عدد الخلايا العدلة Neutrophils بالمقارنة مع نموذج السيطرة . كما دلت النتائج أن هنالك فرق معنوي (P<0.01) بأتجاه نقصان عدد الخلايا اللمفية Lymphocyte بالمقارنة مع نموذج السيطرة .

جدول (3) معدلات تركيز البروتين الكلي (غم / لتر) في مصول الجرذان البيض Rats الممنعه بمستضد المكورات العنقوديةالذهبية *Staphylococcus aureus*

المجاميع Groups	العدد	معدل تركيز البروتين الكلي (غم /لتر) ± الخطأ المعياري
السيطرة Contral	10	12.340 ±0.285
المعاملة Treatment	10	9.450 ± 0.351

تبين من خلال النتائج المستحصلة أن هنالك فرق عالي المعنوية (P<0.01) بأتجاه نقصان معدل تركيز البروتين الكلي (غم / لتر) في أمصال الحيوانات المعاملة بمستضد بكتريا *Staphylococcus aureus* بالمقارنة مع نموذج السيطرة .

جدول(4) قابلية القتل الداخلي للخلايا العدلة لبكتريا *S. aureus* لدى الجرذ الأبيض الممنع بمستضد البكتريا *S. aureus* ضمن أوقات مختلفة للحضانة (10 , 30 ., 50) دقيقة .

المجاميع Groups	العدد	B / N معدلMear ± الخطأ المعياري		
		10 min	30 min	50min
السيطرة Contra	10	3.400 ±0.244	4.400 ± 0.509	4.600 ±0.509
المعاملة Treatment	10	4.800 ± 0.611	4.900 ± 0.566	9.800 ± 1.404

تبين ان هنالك فرق معنوي ($P<0.01$) بأتجاه زيادة قابلية القتل الداخلي للخلايا العدلة لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية في وقت حضانة 50 دقيقة مقارنة مع نموذج السيطرة . في حين لاحظنا أن هنالك فرقا غير معنوي في أوقات حضانة 10- 30 دقيقة بالمقارنة مع نموذج السيطرة .

جدول (5): معدل ألتهام الخلايا البلعمية phageocytes لبكتريا *S. aureus* لدى الجرذ الأبيض الممنع بمستضد بكتريا*S. aureus* وضمن أوقات حضانة (10و30و50) .

المجاميع Groups		معدل الهضم Rate of ingestion ±الخطأ المعياري		
	العدد Number	10 min	30 min	50 min
السيطرة Control	10	0.010± 0.138	0.013±0.150	0.006 ± 0.116
المعاملة Treatment	10	0.061 ± 0.480	0.022± 0.178	0.028 ± 0.196

تبين ان هنالك فرق غير معنوي ($P < 0.01$) بأتجاه زيادة قابلية ألتهام الخلايا البلعمية Phagocyte لألتهام البكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* في حيوانات المعاملة بمستضد البكتريا *S. aureus* بالمقارنة مع نموذج السيطرة وضمن أوقات حضانة (10 , 30 , 50) دقيقة .

المناقشة

يلاحظ من نتائج الجدول (1) زيادة في العدد الكلي لخلايا الدم البيض Leukocytosis ووجود فرق عالي المعنوية ($P < 0.01$) بين حيوانات التجربة الممنعة بمستضد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* أذ بلغ متوسط العدد الكلي لخلايا الدم البيض(7.930×10^3 خلية / ملم^3) لمستضد المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* بينما بلغ في نموذج السيطرة (5.280×10^3 خلية / ملم^3) . وهذا يتفق مع Paape وجماعتهِ (2000) و Jawetz وجماعته 2007 أن عدد خلايا الدم البيض يتأثر سريعاً بواسطة العمليات الألتهابية بعد أربع ساعات من حقن متعدد السكريد الشحمي حيث يلاحظ أنخفاض حاد في عدد خلايا الدم البيض وصل الى أكثر من نصف في مستوى الخط الرئيسي وذلك نتيجة لهجرة العدلات سريعة جداً الى موقع وجود المستضد بفعل المواد المفرزة الجاذبة لها مما يؤدي الى تقليل عدد البكتريا المتواجدة في الستة ساعات الأولى من الأصابة بها (Conlan & North , 1992 ; Gregorg *etal* ., 1996) خلايا الدم البيض تستطيع قتل وتحطيم الاجسام الغريبة والممرضة حيث ان الجزيئات الناتجة من التحطيم تستطيع تحفيز الخلايا تي T- cells وتحفيز الجهاز المناعي المكتسب (Schnare *et al* .,2001)

أظهرت نتائج التمنيع بمستضدات تلك البكتريا وجود زيادة في العدد التفريقي لخلايا الدم البيض العدلات Neutrophils وخلايا وحيدة النواة Monocytes والخلايا الحمضة Eosinophils ووجود أنخفاض في مستويات الخلايا اللمفية Lymphocytes بالمقارنة مع نموذج السيطرة جدول (2) .

يعمل متعدد السكريد الشحمي على تنشيط قابلية الخلية المحفزة مثل العدلات مما يؤدي الى تحرير البروستوكلايدين، والليكوتورنيز Leukotrienes وأهداف أخرى مثل الفعالية الوعائية وتاثيراتها على الخلايا الألتهابية الأولية (Clman, 1989; Albert *etal* ., 1998) . كما ان الخلايا العدلة ووحيدات النواة الدموية

والبروتينات المناعية مثل الاضداد والمتمم تتحفز عندما تحقن ببكتريا *S. aureus* في البريتون (Thomas *et al*.,2000)

يلاحظ أيضاً من نتائج جدول (2) وجود فروق معنوية في معدلات الحمضة لجرذان المعاملة بمستضد المكورات الذهبية بالمقارنة مع نموذج السيطرة , أذ تبين من خلال النتائج المستحصلة أن المستضد أعلاه حفز الأستجابة المناعية الخلوية, حيث تلعب الخلايا الحمضة دوراً مهماً في الدفاع ضد الأصابة البكتيرية وذلك لطرح محتوياتها الحبيبية الى الخارج وليس بطريقة البلعمية (Steven & Lowe , 1997) أشار Jawetz وجماعته (2007) ان الخلايا اللمفاوية تزداد في حالات الاصابات الفايروسية والخلايا العدلة تزداد في الاصابات البكتيرية وهذا يتفق مع ماجاء في نتائج الدراسة الحالية .

تشير الدراسة الحالية الى وجود فرق عالي المعنوية ($P < 0.01$) بين حيوانات المعاملة ونموذج السيطرة جدول (3) حيث نلاحظ أن هنالك أنخفاضاً في مستوى تركيز البروتين الكلي في أمصال حيوانات التجربة الممنعة بالمقارنة مع نموذج السيطرة ، أن بروتين المصل يمثل جزءاً صغيراً من بروتين الجسم إلا أنه الوجه الذي يمكن دراسته من البروتينات في الجسم الحي (Walter *et al* ,.1996) . اوجز Johuson وجماعته (2004) ان الظروف السريرية Clinical condition تؤثر على مستوى البروتين في المصل مثل الالتهابات الحادة والالتهابات المزمنة وفقدان البروتين والسوائل المؤهلة للجسم .

من خلال النتائج المستحصلة في جدولي (4-4, 4-5) نلاحظ أن هنالك تفاوت في نسب الخلايا الملتهمة لبكتريا *S. aureus* *ضمن فترات الحضانة أدى هذا التفاوت الى وجود* أختلافات معنوية بين الحيوانات المعاملة بالمقارنة مع نموذج السيطرة . تمتلك بكتريا *S. aureus* مركبين هما الببتيدوكلايكان peptidoglycan وحامض اللابيوكويك Lipoteichoic هذان المركبان لهما القدرة على تحرير عامل تنخر الورم (Tumor Necrosis Factor- α) والانترليوكين 6 و 10(IL-10,IL-6) من خلاي البلعم الكبير Macrophage ووحيدة النواة الدموية Monocyte (Bhakdi *et al* .,1999)

أن بكتريا *S. aureus* تتباين في أستجاباتها للقتل بوساطة خلايا متعددة الأنوية polymorpho nucleus cells (PMN) لذلك يعتقد بأن التباين السريري يظهر قابلية خلايا متعددة الأنوية القاتلة للبكتريا *Staphylococcus aureus* . ضد السلالات المختلفة لبكتريا (Aarestrup *et al* .,1994 ; Mullark *et al*., 2001 ;Peschel *et al* .,2001) .

من هذه الدراسة نستنتج ان مستضدات *S. aures* المقتولة تحث استجابة مناعية غير متخصصة خلوية وخلطية

Reference

Aarestrup , F,M.; Scott , N.L ; and L, M . Sordillo . (1994) . Ability of Staphylococcus aureus . coagulas genotype to resist neutrophil bactericidal activity and phagocytosis . Infection .Immunology . 62 : 5679- 5682 .

AL-Barrak, A.Y. (1997).Bacteriological and immunological on Streptococcus group – A isolated from human patient with acute tonsillitis . Athesis of PH.D degree in microbiology . University of Baghdad

Albert , M. L: Santer ; N. Bhardwa . (1998) . Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I. restricted . CTLs . Nature .392 . 86 (Medline).

Beck , J . S; J . H ., R.C. Pottes ; T. Kardjito ; T. M. Gramge ; E.S. Jawad and V.A. Spence . (1993) . Histometric studis on biopsies of tuberculin test showing evidence of ischaemia and necrosis . pathol., 159: 317- 332 .

Beyan , H ., Buckly , L. R. Yonsaf , N. , Londi , M. , and Leslie R. D. (2003) . Arole for innate immunity in type 1 diabetic Diabetes metab . Res . Rev . 19 , 89- 100 . doi : 10-1002 (. dmrr . 341) .

Bhakdi S. .; T. Klonisch ; P.Nuber and dw . Fischer.(1991) . Stimalation of morokine production by lipoteichoic acids . Infect .Immun . ‹59 :4914 -4620.

Bradsham ‹L.T.(1996). Laboratory Immunology .2nd ed. ‹Saunders College Publishing ,Washington .

Clman , R. (1989). Therole of plasma protease in septic shoch . N. Engl . J . , 320: 1207-1209 .

Conlan , J . W and R. J . Noth . (1992) . Early pathogenesis of infection in the liver with the Factiva intera cellular bacteria listeria monocytogencs *Francisell tulavensis* and *Salmonella typhimunim* involves lysis of infected heratocytes by leukocytes . Inf . Immunc ., 64-164 .

Dacie , J . V. and lewis , S. M . (1984) . Practical Haeematology 6th ed ., Churchill livingstone , Edinbury .

Donald ‹F.M. 1989 . Multivariant statistical method .2nd ed. ‹University of Pennsylvania ‹USA.

Gregory , S.; A.J.; Sayhieni and G.T.wing . (1996)0Bacteria in the blood stream are trapped in the livier and killing by immigrating neutroohils. J. Immunol., 157; 2514 .

Hime , J. M . and P. N. Donoghue. (1979) . Hand book of diseases of laboratory . animals . W illiam Heinerman Medical Books , Ltd , London , U.K.

Javanka , M. V. Keven , R. B, Danial . E .s Adeline R. W . Battouli S . S. Stephen , F . P. (2005) . In sight , in to mechanism used by *Staphylococcus aureus* to avoid destruction by human neutphil , 175 : 3907-3919 . The American Journal of medicine .

Jawetz , W . Levenson , Adelber , K ., Geo , F . (2007) . " Medical Microbiology . char . 8 . phagecytic cell . phagolysis . P. 125-126 . Lage Medical . book , USA .

Jawetz , W . Levenson , Adelber , K ., Geo , F . (2004) . " Medical Microbiology . char . 8 . phagecytic cell . phagolysis . P. 35. Lage Medical . book , USA .

Johuson,A.M.,Ritchie,R.F and Ledue,T.B.(2004).Protein learning guide.Adivision of ABBOTT laboratories.Ins.USA.

Kluytmans,J.,A.Vam.Belkum and Verbrag.(1997).Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*; epidemiology,underlyin,Mechanism,and associated risks; clin.Microbial.

Lawry,O.H.;Rosebrough,N.J;Farr,A.L. and Randal,B.J.(1951).Protein Measurment with folin reagent.J.Biol.Chem.193:265-75.

Levenson,W.and E.Medical Micrology and Immunology.(1998). Chep.8., host defus mechanism.P(35).Lange medical book,USA.

Macfaddin,J.(2000) . Biochemical Test for Identification of Medical bacteria .3rd . ‹ Amolters Klumer Company ‹Baltimore ‹USA

Mullarky ‹I.K.C.; N. Frieze; Y.H.Park ‹and L.M. Soordillo .2001. *Staphylococcus aureus* agr genotypes with enterotoxin production capabilities can resist neutrophil bactericidal activity. Infect. Immun. ‹69:45-51.

Paape,M.S;A.J.,Guidey;N.C.,Jain and R.H.,Miller.(2000). Leukocyte.defense mechanisms in the udder.Flemish.Vet.J.,62:95-109.

Peschel ,A.,M.otto,R.W.Jack,H.Kalbacher and Gots.(2001).Inactivation of the d16 operon in Staphylococcus aureus confers sensitivity to defensins ,protegrins, and other antimicrobial peptides.J.Biol.Chem.274:8405-8410.

Schneider,E.Volecker,J.F.and Hsud,W.(1990).Age and sex dependence on phospholipids concentration in human erythrocytes. F.H. Med. Lab. Diagnosis. 31:86-89.

Sriskandan,S,and Cohen.,J.(1999).Gram-positive sepsis mechanism and differences from .gram-negative sepsis.Infect.Dis.clin.N.Am.13:397-412.

Stevens,A.and L.owes,J.S.(1997).Human Histology.2nd ed., Mosby,Philadelphia.

Schnare ،M.;M.Borton ;A.C.Holt ; K. takeda ;S. Akira and R. Medzhitor .2001 .Toll –like receptors control activation of adaptive immune responses . Nat .Ammonal . ، 2:947 -950.

Sriskandan ,S and Cohen ،J .1999 . Gram-positive sepsis . Mechanisms and differences from gram –negative sepsis . Infect .Dis . Clin .N.Am . 13:397 -412. Thomas ،C.A.; Y.Li; T.kodama ،H.suzuki; S.C.Silverstein and J. Elkhoury . 2000 . Protection from lethal gram- positive infection by macrophage scavenger receptor- dependent phagocytosis. J.Exp .Med . ،191:147-156 .

Talib , V.H. and Khurana , S. R. (1996) . Ahand book of edical laboratory technology . 5th ed . C. B.S. Pupl. , New Delhi wall components by the innate immune system occurs via toll- like receptore2 . J. Immunol . ،163: 1-5 .

Walter,J.B;Talbot,I.C. and Forbes,A.(1996).General Pathology 7th ed .,Churchill Livingston,New Yourk.