

## The Mutagenic Effect of Antiseptics and Disinfectants on The Sensitivity of Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA)

### التأثير التطفيري للمواد المطهرة في حساسية بكتريا المكورات العنقودية الذهبية الحساسة للمثسلين (MSSA)

م. م. زهراء عبد الرزاق عبد الأمير الخفاجي  
جامعة كربلاء / كلية التربية / قسم علوم الحياة  
التخصص الدقيق أحياء مجهرية  
[zahraazz@ymail.com](mailto:zahraazz@ymail.com)

#### الخلاصة

تضمنت الدراسة تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) Minimal inhibitory concentration و التركيز القاتل الأدنى (MBC) Minimal bactericidal concentration لعدد من المواد المطهرة المستعملة في مستشفيات مدينة كربلاء و التحري عن التأثير التطفيري للتركيز تحت المثبط لهذه المواد في تحويل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية الحساسة للمضاد الحيوي المثسلين الـ *Methicillin sensitive Staphylococcus aureus* (MSSA) إلى بكتريا مقاومة له *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

كانت نتائج اختبار التركيز المثبط الأدنى الـ MIC و التركيز القاتل الأدنى الـ MBC لبعض المواد المطهرة المستعملة في المستشفيات مثل (Chlorhexidingluconate، Ethanol، Povidon- Iodine، Ethyl Iodide، Chlorine، Formalin) على التوالي (782.63، 24.45)، (1462.5، 731.2)، (1250، 625)، (12500، 6250)، (6130، 24520)، (0.15، 39.06) مايكروغرام / مليلتر.

إن للتركيز تحت المثبط للمواد المطهرة المستعملة في المستشفيات دوراً في تحويل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية الحساسة للمضاد الحيوي المثسلين الـ (MSSA) إلى بكتريا مقاومة له (MRSA).

#### ABSTRACT

The minimal inhibitory concentration (MIC) and Minimal bactericidal concentration (MBC) of some antiseptics and disinfectants that used in Karbala hospitals was detected. The mutagenic effect of sub-inhibitory concentration of these chemicals on the conversion of methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* to methicillin resistant *Staphylococcus aureus* was studied.

The results of The minimal inhibitory concentrations (MIC) and minimal bactericidal concentrations (MBC) of some antiseptics and disinfectants that used in hospitals such as (Formalin، Chlorine، Ethyl-Iodide، Povidon-Iodine، Ethanol، Chlorhexidingluconate) were, (782.63) (24.45, (731.25, 1462.5), (625, 1250), (6250, 12500), (6130, 24520), (0.15, 39.06) µg/ml respectively. The sub-inhibitory concentration of antiseptics and disinfectants that used in hospitals had a mutagenic effect on the conversion of MSSA to MRSA.

#### المقدمة

تسبب بكتريا المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثسلين MRSA العديد من الأمراض للإنسان في المستشفيات (1). فمنذ أن أصبحت سلالاتها ذات مقاومة مرتفعة لعدة مجاميع من المضادات الحيوية أصبح هنالك تزايد في معدل الامراضية و الوفيات في كل أنحاء العالم، ذلك يعود لقدرتها على إحداث إصابات انتهازية Opportunistic infections خطيرة و قاتلة عند المرضى الراقدين و خصوصاً في وحدات العناية المركزة (2). تكمن خطورة هذه الاصابات في صعوبة إيجاد العلاج المناسب لها (3). و بعد ظهور المقاومة للمضاد الحيوي الـ *Methicillin* أصبح المضاد الحيوي الـ *Vancomycin* الدواء الوحيد لعلاج الإصابات الحادة التي تسببها هذه البكتريا إذ يعد الدواء الذي تم اختياره منذ 30 سنة (4). لكن في سنة 1997 سجلت أول حالة مقاومة لهذا المضاد من قبل بكتريا *Staphylococcus aureus* الأمر الذي يندرج بكارثة صحية خطيرة (5).

أن خطورة جرثومة الـ MRSA لا تكمن في مقاومتها لكل مضادات الـ  $\beta$ -lactam فحسب بل في مقاومتها للعوامل الأخرى المهمة من مضادات الميكروبات مثل العوامل المطهرة و المعقمة Disinfectant and antiseptic agents المستعملة في المستشفيات (6). إذ أن الاستعمال الواسع و العشوائي لمنتجات التعقيم و التطهير الكيميائية ساهم في تطور و ظهور سلالات مقاومة للمطهرات و المعقمت و المضادات الحيوية في العديد من الأنواع البكتيرية و بآليات مقاومة متعددة (7،8). إذ إن للمواد المطهرة أكثر من موقع هدف في الخلية البكتيرية (9). و إن حدوث الطفرات الوراثية في هذه المواقع قد يؤدي إلى ظهور صفة المقاومة في هذه الخلايا (10)، فضلاً على أن البلازميدات الحاملة للمحددات الوراثية المسؤولة عن تلك المقاومة لها القابلية على الانتقال بين سلالات النوع الواحد أو الأنواع المختلفة للجنس المذكور (11).

و لكي نوضح علاقة التأثير التطفيري الذي يحدث بسبب المطهرات و الذي يؤدي للاكتساب بكتريا *Staphylococcus aureus* الحساسة للمضاد الحيوي المثسلين صفة المقاومة لهذا المضاد و بالتالي ازدياد نسب انتشار بكتريا الـ MRSA في المستشفيات أجريت هذه الدراسة لتكون مرحلة من مراحل دراسة أسباب انتشار بكتريا الـ MRSA في مستشفيات العراق على أن تتبعها دراسات أبحاث أكثر تفصيلاً، يتضمن البحث الخطوتين التاليين :

1. تحديد التركيز المثبط الأدنى الـ MIC و التركيز القاتل الأدنى الـ MBC لعدد من المواد المطهرة المستعملة في المستشفيات ضد عزلات بكتريا الـ MRSA.
2. دراسة تأثير التراكيز تحت المثبطة للمواد المطهرة في تحويل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية الحساسة للمضاد الحيوي المثسلين الـ MSSA إلى بكتريا مقاومة له MRSA .

## المواد و طرائق العمل

### 1. جمع العينات:

تم عزل بكتريا الـ MRSA من مسحات الأنف Nasal swab لبعض المرضى الراقدين في مستشفى الحسين العام في مدينة كربلاء و عزلة واحدة من بكتريا الـ MSSA تم الحصول عليها من الإصابات الجلدية لأحد المرضى المراجعين لاستشارية الأمراض الجلدية في المستشفى نفسها و للفترة ما بين آذار و أيار 2009.

تم استعمال القطيقات القطنية المعقمة (Sterlin,UK) Sterile cotton swab (و المرطبة بالمحلول الملحي الفسلي في اخذ المسحات من المنخرين الاماميين (12)). اما المسحة الجلدية اخذت بمسح موقع الإصابة الجلدية ثم نقلت المسحات خلال ساعة إلى المختبر و زرعت على وسط اكار المانتول الملحي (Mannitol Salt Agar (Himedia ,India) و حضنت المستنبتات بظروف هوائية بدرجة حرارة 37 م° و لمدة 24-48 ساعة (13) ، و بعد ظهور النمو أخذت المستعمرات المنفردة و المخمرة للمانتول و التي بدت بلون اصفر ذهبي لغرض التشخيص.

### 2. التشخيص المختبري :

شخصت العينات أولاً بملاحظة الصفات المزرعية للمستعمرات النامية و تم تنقيتها بإعادة زرعها على وسط الاكار المغذي Nutrient Agar ثم حضنت بدرجة حرارة 37 م° و لمدة 24 ساعة بعد ذلك عمل منها مسحات رقيقة Smears و صبغت بصبغة كرام (14,15) و أجريت الاختبارات الكيموحيوية مثل اختبار أنزيم الكاتاليز Catalase test ، اختبار الاوكسيديز Oxidase test ، اختبار أنزيم مخثر البلازما Coagulase test بنوعيه الحر و المرتبط ، اختبار تحلل الدم Blood hemolysis و اختبار القابلية على إنتاج الأنزيم المحلل للحامض النووي الـ DNADNase test و ذلك حسب ما ذكره كل من (16,17) و تم التأكد من التشخيص باستخدام نظام Api Staph system (Bio-merieux,France) على وفق تعليمات الشركة المجزة.

### 3. اختبار حساسية بكتريا المكورات العنقودية الذهبية للمضاد الحيوي المثسلين:

أُتبعَت طريقة (18) في اختبار حساسية عزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* للمضاد الحيوي المثسلين (Bioanlysis, Turkey) إذ تم جمع مجموعة من عزلات البكتريا السابقة من انوف المرضى و من الاصابات الجلدية و أُختبرت حساسيتها باستعمال أقراص المضاد الحيوي المثسلين (Methicillin 5µg) و استعمال وسط مولر هنتون الصلب Mueller Hinton Agar الحاوي على 4 % من كلوريد الصوديوم NaCl و سجلت النتائج بقياس اقطار مناطق التثبيط حول كل قرص بوحد المليمتر و قورنت مع المعدلات القياسية لأقطار مناطق التثبيط للمضاد الحيوي المثسلين و ذلك حسب ما ورد في (19). و تم اختبار عزلتين فقط أحدهما MRSA و الأخرى MSSA لغرض تحديد MIC و MBC و دراسة التأثير التطفيري للمواد المطهرة على البكتريا الحساسة .

### 4. تحديد التركيز المثبط الأدنى الـ MIC و التركيز القاتل الأدنى الـ MBC للمواد المطهرة و المعقمة

اتبعَت تقنية التخفيف بالوسط السائل Broth Dilution Technique في تحضير سلسلة من التخفيف النصفية للمواد المعقمة و المطهرة (الفورمالين Formalin ، الكلور السائل Chlorine ، اليود الكحولي Ethyl-iodide ، اليود Povidon-iodine ، الكحول الايثيلي Ethanol ، الهكساتان Hexatan ) باستعمال الوسط المغذي Nutrient broth لغرض تحديد الـ MIC و الـ MBC، إذ حدد التركيز المثبط الأدنى الـ MIC بملاحظة عكورة النمو البكتيري في الأنبوب بالعين المجردة ، إذ يمثل الـ MIC اقل تركيز من المادة المعقمة أو المطهرة الذي يمنع نمو البكتريا . اما التركيز القاتل الأدنى MBC فحدد بإعادة زرع الأنبوب التي لم تظهر النمو البكتيري ابتداءً من أنبوبة الـ MIC و ذلك بأخذ نقلة من كل أنبوب باستعمال Loop معقم و زرعها

على وسط Nutrient agar الخالي من المواد المعقمة و المطهرة ، حضنت الأطباق بدرجة 37م لمدة 48 ساعة و بعد عملية الحضانة فأن اقل تركيز من المادة المعقمة أو المطهرة الذي يؤدي إلى قتل البكتريا يمثل التركيز القاتل الأدنى الـ MBC(عدم وجود نمو على سطح الوسط)(20).

MBC ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ )	MIC ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ )	المواد المطهرة و المعقمة
782.63	24.45	الفورمالين Formalin *(37%)
1462.5	731.25	الكلور السائل Chlorine *(6%)
1250	625	اليود الكحولي Ethyl-iodide *(2%)
12500	6250	اليود Povidon-iodine *(10%)
24520	6130	الكحول الايثيلي Ethanol *(99.7%)
39.06	0.15	الهكساتان Hexatan *(4%)

جدول [1] قيمة التركيز المثبط الأدنى الـ MIC و التركيز القاتل الأدنى الـ MBC للمواد المطهرة ضد بكتريا الـ MRSA \* التركيز الأصلي لعبوة المادة المطهرة.

### 5. اختبار التطبيق المكرر Replicate Plating Technique

استعملت تقنية التطبيق المكرر لغرض الكشف عن البكتريا الطافرة المقاومة للمضاد الحيوي المثلثين و استعمل مسحوق المضاد الحيوي الـ Cloxacillin بدلاً من الـ Methicillin لعدم توفره (21) و بعد أن حدد التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمواد المطهرة ضد بكتريا المكورات العنقودية الحساسة للمضاد الحيوي المثلثين (MSSA) اختبرت الأنبوبة الأولى التي تسبق أنبوبة الـ MIC و الحاوية على أقل تخفيف من المادة المطهرة الغير مؤثر على النمو البكتيري (التركيز تحت المثبط) و اتبعت طريقة (22) و تم حضن الأطباق بدرجة 37م لمدة 24 ساعة و بعد انتهاء مدة الحضانة تم حساب أعداد المستعمرات المتواجدة على الأطباق الخالية و المحتوية على المضاد و حسب النسبة المئوية للمستعمرات الطافرة المقاومة للمضاد الحيوي المثلثين .

تم عزل مستعمرة من المستعمرات النامية على الاطباق الحاوية على المضاد و للمكررات الثلاث و تكثيرها لغرض التأكد من مقاومتها للمضاد الحيوي المثلثين بالطريقة المذكورة في الفقرة (3).

### 6. التحليل الإحصائي Statistical Analysis

تم حساب الانحراف القياسي Standard deviation للمكررات الثلاث للمستعمرات النامية على الوسط بوجود و عدم وجود المضاد الحيوي الـ Cloxacillin لأختبار التطبيق المكرر Replica Plating Technique (23).

### النتائج و المناقشة

#### تحديد التركيز المثبط الأدنى الـ MIC و التركيز القاتل الأدنى الـ MBC للمواد المطهرة

حدد التركيز المثبط الأدنى (MIC) للعزلة البكتيرية الحساسة للمضاد الحيوي المثلثين (MSSA) التي تم الحصول عليها من الإصابات الجلدية لأحد المرضى المراجعين لاستشارية الأمراض الجلدية في مستشفى الحسين العالم لغرض الكشف عن البكتريا الطافرة المقاومة للمضاد الحيوي المثلثين (MRSA) الناتجة عن التأثير التطفيري للتراكيز تحت المثبطة للمواد المطهرة على

بكتريا المكورات العنقودية الذهبية الحساسة للمضاد الحيوي المثلثين (MSSA) كما مبين في الجدول [2] في حين تم تحديد الـ MIC و الـ MBC للعزلة البكتيرية المقاومة للمضاد الحيوي المثلثين (MRSA) التي تم الحصول عليها من مسحات الأنف (Nasal Swab) لأحد المرضى الراقدين في نفس المستشفى.

أوضحت النتائج المبينة في الجدول [1] أن قيمة الـ MIC و الـ MBC لمطهر الفورمالين كانت (24.4 µg/ml ، 782.6 µg/ml) أما قيمة الـ MIC لمطهر الـ Chlorine كانت (731.25 µg/ml) وهذه النتيجة تعد أعلى مما توصل إليه (24) (1462.5 µg/ml) ، في حين كانت قيمة الـ MBC (1250 µg/ml ، 625 µg/ml) ، ولطهر اليود Povidone-iodine (6250 µg/ml ، 12500 µg/ml) وهذه النتيجة تعد أعلى بكثير مما توصل إليه (25) (7.7 µg/ml ، 0.077 µg/ml) و (24) إذ بين إن قيمة الـ MIC لمطهر اليود Povidone-iodine كانت (128 µg/ml) ، ومن جهة أخرى كانت قيمة الـ MIC للكحول الايثيلي (6130 µg/ml) وهذه النتيجة تعد أعلى بكثير مما توصل إليه (25) (700 µg/ml) و (26) (600 µg/ml) في حين أظهرت النتائج إن قيمة الـ MBC كانت (24520 µg/ml) وهذه النتيجة تعد أعلى بكثير مما توصل إليه (25) (7000 µg/ml). إن المقاومة المتنامية اتجاه مطهر الكلور و اليود و الكحول الايثيلي ربما تعود إلى كثرة استعمالها في المستشفيات (27) إذ إن الاستعمال الواسع لمنتجات التطهير يساهم في تطور مقاومة البكتريا لهذه المواد (28) ويقصد بتنامي المقاومة إلى الزيادة التدريجية و بمرور الوقت لقيمة التركيز المثبط الأدنى (MIC) للأحياء المجهرية تجاه مبيدات الجراثيم (29).

من جانب آخر كانت بكتريا الـ MRSA أكثر مقاومة لمطهر الكحول الايثيلي مقارنة مع مطهر اليود الكحولي إذ بينت النتائج ارتفاع قيمة الـ MIC و الـ MBC لمطهر الكحول الايثيلي إذ تضاعفت قيمة الـ MIC له بمقدار 10 مرات و الـ MBC بمقدار 20 مرة مقارنة مع مطهر اليود الكحولي ، مما قد يدل على أن مطهر اليود الكحولي كان أكفاً من الكحول الايثيلي ضد هذه البكتريا، إذ إن ارتفاع قيمة الـ MIC و الـ MBC لمطهر الكحول الايثيلي يشار له بالزيادة في مقاومة البكتريا لهذه المادة (29) و قد يعود ازدياد حساسية البكتريا لليود الكحولي إلى زيادة استعماله في المستشفيات.

أما بالنسبة لمطهر الهكساتان (Hexatan) Chlorhexidingluconate كانت قيمة الـ MIC و الـ MBC له (0.15 µg/ml ، 39.06 µg/ml) وهذه النتيجة كانت مقاربة لما توصل إليه (25) (0.4 µg/ml ، 40 µg/ml) بينما كانت قيمة الـ MIC أقل مما توصل إليه (30) (4 µg/ml - 8 µg/ml) و (24) (32 µg/ml). إن انخفاض قيمة التركيز المثبط و القاتل الأدنى قد يدل على حساسية البكتريا لهذه المادة.

يظهر من خلال هذه النتائج إن الضغط الانتخابي الناجم من التعرض المستمر للتركيز غير القاتلة للمواد المطهرة بسبب التخفيف العشوائي ربما أدى إلى استحداث البكتريا لآليات تمكنها من تحمل أو مقاومة هذه المطهرات إذ وجدت الدراسة ارتفاع في قيمة الـ MIC و الـ MBC للمواد المطهرة المستعملة في هذه الدراسة بالمقارنة مع الدراسات الأخرى إذ إن ارتفاع هذه القيم يشار لها بالزيادة في مقاومة البكتريا لهذه المواد (29). إذ إن لبعض المطهرات مواقع هدف محددة في الخلايا البكتيرية و إن حدوث الطفرات في هذه المواقع يؤدي إلى اكتساب البكتريا المقاومة لهذه المواد.

## التأثير التطويري للمواد المطهرة The Mutagenic Effect of Antiseptic and Disinfectant

تم التحري عن دور التركيز تحت المثبط لبعض المواد المطهرة المستعملة في المستشفيات في تحويل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية الحساسة للمضاد الحيوي المثلثين (MSSA) إلى بكتريا مقاومة له (MRSA) إذ أظهرت العزلة الحساسة للمثثلين و التي سبق و أن عرضت للتركيز تحت المثبط للمواد المطهرة نمواً على الوسط الحاروي على المضاد الحيوي Cloxacillin الذي استخدم بدلاً من المضاد الحيوي الـ Methicillin و بعد إجراء فحص الحساسية للمضاد الحيوي المثلثين لمستعمرة مفردة عزلت من المستعمرات النامية على الوسط الحاروي على المضاد الحيوي الـ Cloxacillin و للمكررات الثلاث و وجد بأنها كانت مقاومة للمضاد الحيوي المثلثين.

أظهرت النتائج المبينة في الجدول [2] نسبة مستعمرات الـ MRSA الناتجة من تعريض البكتريا الحساسة للمثثلين للتركيز تحت المثبط لمطهر الفورمالين (12.22) مايكروغرام / ملتر إذ كانت (68%) ذلك ربما يدل على أن للتركيز تحت المثبط لمطهر الفورمالين دوراً في تحويل البكتريا الحساسة للمضاد الحيوي المثلثين الـ MSSA إلى بكتريا مقاومة له MRSA، ففي دراسة قام بها (31) بينت إن تعريض بكتريا الـ E. coli إلى 4mM من مطهر الفورمالديهايد لمدة ساعة أدت إلى حدوث طفرات نقطية Point mutations بنسبة 41% و طفرات Insertion mutations بنسبة 41% فضلاً على طفرات الحذف Deletion mutations بنسبة 18% و إن زيادة التركيز إلى 40mM أدى إلى إحداث طفرات نقطية بنسبة 92% و طفرات استبدال بنسبة 62%.

أما بالنسبة للتركيز تحت المثبطة للمواد المطهرة (Ethanol ، Povidon-iodin ، Ethyl - iodide ، Chlorine) و الـ Hexatan) التي كانت على التوالي (365.6 ، 312.5 ، 3125 ، 12260 ، 4.88) مايكروغرام / ملتر كانت نسبة مستعمرات الـ MRSA (68% ، 72% ، 81% ، 57% ، 82%) على التوالي.

إن نمو بكتريا الـ MSSA على الوسط الحاروي على المضاد ربما يدل على اكتسابها المقاومة للمضاد الحيوي المثلثين بتأثير التركيز تحت المثبط للمواد المطهرة عن طريق حدوث طفرات في الجينات الكروموسومية التي تشفر لتخليق البروتينات المرتبطة بالبنسلين ذات الألفة الواطنة للارتباط بالمضاد ، مما قد يدل على أن للتركيز تحت المثبطة للمواد المطهرة المستعملة في المستشفيات دوراً في الحد على المقاومة لمضاد المثلثين . و في دراسة قامت بها (32) بينت ان تعريض بكتريا المكورات العنقودية الذهبية الحساسة لمضاد المثلثين (MSSA) Methicillin-resistant Staphylococcus aureus إلى التخفيف

$10^{2-}$  لمطهر اليود (المستعمل في المستشفيات بتركيز اصلي قدره 20%) ادى الى تحول العزلة الحساسة للمثسلين الى متوسطة الحساسية له و اصبحت مقاومة لكل من المضاد الحيوي Oxacillin و Vancomycin في حين لم يؤثر مطهر برمكنتات البوتاسيوم بتركيز 1% في اكسابها صفة المقاومة . وفي دراسة أخرى قام بها (33) بينت دور التراكيز تحت المثبطة للمادة المطهرة الـ Triclosan في إحداث الطفرات في بكتريا الـ *Salmonella entreica* تؤدي إلى ارتفاع المقاومة للمضادات الحيوية (Tetracyclin ، Ciprofloxacin ، Ampicillin). و وجد أن التراكيز المنخفضة من زيت الصنوبر Pine oil المستعمل كمادة مطهرة في مستشفيات اليابان يؤدي إلى انتقاء بكتريا الـ *E. coli* الطاقرة (34). و في دراسة أخرى وجد أن تعريض بكتريا الـ MRSA إلى تراكيز منخفضة من المطهر OctenidineDihydrochloride لم يؤثر على المقاومة (35).

جدول [2] تعريض البكتريا الحساسة للمثسلين الـ MSSA إلى التركيز تحت المثبط لبعض المواد المطهرة المستعملة في المستشفيات

نسبة المستعمرات المقاومة للمثسلين (%)	معدل عدد المستعمرات بوجود المضاد ± الانحراف القياسي	معدل عدد المستعمرات بعدم وجود المضاد ± الانحراف القياسي	التركيز تحت المثبط (µg /ml)	التركيز المثبط الأدنى MIC (µg /ml)	المواد المطهرة
68%	84±289	95±420	12.22	24.45	الفورمالين Formalin
68%	145±523	183±768	365.6	731.25	الكلور السائل Chlorine
72%	181±884	159±1211	312.5	625	اليود الكحولي Ethyl Iodid
81%	25±233	50±286	3125	6250	اليود PovidonIodin
57%	92±717	130±1250	12260	24520	الكحول الايثيلي Ethanol
82%	4±104	5±126	4.88	9.76	الهكساتان Hexatan

#### المصادر

- (1) Vinodhkumaradithyaa,A. ;Uma,A. ;Shirivasan,M. ;Ananthalakshmi,I. ; Nallasivam,P. and Thirumalaikolundusubramanian,P. (2009). Nasal carriage of Methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* among surgical unit staff .J. Jpn. Infect. Dis. ,62(3) :228-229.
- (2) Shanmugam,J. ;Gopal,R. and Kumar,S.S. (2008). The Prevalence,antibiogram and Characteristion of *Staphylococcus aureus*incloding MRSA among the healthy staff , Medical students and patients from Sir ManakulaVinagarMedicall College and Hospital (SMVMCH) ,Kalitheerthalkuppam ,Madagadipet, Puducherry. pp: 1-26.
- (3) Klein,E. ;Smith,D.L. and Laxminarayam,R. (2007). Hospitalizations and deaths caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*,United States,1999-2005. J. Emerg. Infect. Dis. ,13(12):1840-1846.
- (4) Bhateja,P. ;Pumapatre,K. ;Dube,S. ;Fatma,T. and Rattan,A. (2006). Characterisation of laboratory - generated vancomycinintermediate resistant *Staphylococcus aureus* strains. Int. J. Antimicrob. Agents.,27(3): 201-211.
- (5) Manfredi,R. (2007). Therapeutic perspectives of linezolid in themanagement of infections due to multiresistant Gram-positive pathogens . Recenti. Prog. Med. J. ,98 (3): 143-154.

- (6) Garner, J.S. (1996). Guideline for isolation precautions in hospitals. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. J. Infect. Control. Hosp. Epidemiol., 17(1): 53-80.
- (7) Russell, A.D. ; Mallard, J. and Furr, J.R. (1998). Possible link between bacterial resistance and use of antibiotics and biocides. Antimicrob. Agents Chemother., 42(8): 2151.
- (8) Vaudaux, P.E. ; Lew, D.P. and Waldvogel, F.A. (1994). Infections associated with indwelling medical devices. 2<sup>nd</sup> ed., ASM. Washington.
- (9) Heath, R.J. ; Yu, Y. ; Shapiro, M.A. ; Olson, E. and Rock, C. (1998). Broad spectrum antimicrobial biocides target the FabI component of fatty acid synthesis. J. Biol. Chem., 273(13): 30316 – 30320.
- (10) Maillard, J.Y. (2002). Bacterial target sites for biocide action. J. Appl. Microbiol., 92: 16 – 27.
- (11) Mazel, D. and Davies, J. (1999). Antibiotic resistance in microbes. J. Cell. Mol. Life., 56: 742-754.
- (12) Askarian, M. ; Zeinalzadeh, A. ; Japoni, A. ; Alborzi, A. and Memish, Z.A. (2009). Prevalence of nasal carriage of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its antibiotic susceptibility pattern in health care worker at Namazi hospital, Shiraz, Iran. J. Int. Infect. Dis., 13(5): 241-247.
- (13) El-Sayed, S.B. ; Nasr, R.A. and Shaheen, M.A. (2005). Risk of colonization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-resistant Enterococci (VRE) in patients admitted to pediatric intensive care unit of Ain Shams University hospital. J. Egypt. Med. Lab. Sci., 14(2).
- (14) Looney, W.J. (2000). Small-colony variants of *Staphylococcus aureus*. Br. J. Biomed. Sci., 57: 317-322.
- (15) Johnson, A.G. ; Ziegler, R.J. ; Lukasewycz, O.A. and Hawley, L.B. (2002). Board Review Series Microbiology and immunology. 4th ed., Lippincott Williams and Wilkins, a walters Kluwer Com., USA. pp: 88.
- (16) Holt, J.G. ; Krieg, N.R. ; Sneath, P.H. ; Staley, J.T. and William, S.T. (1994). Broad of trustees of Berg's manual of determinative bacteriology. 9th ed., Williams and Wilkins publication. Baltimor. pp: 42-43.
- (17) MacFaddin, J.F. (2000). Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed., Lippincott Williams and Wilkins, a walters Kluwer Com., London. pp: 484-485, 58, 106-110.
- (18) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2005). Performance standard for antimicrobial susceptibility testing. CLSI approved standard M100-S15., Wayne, PA, USA.
- (19) Benson, H. (2001). Microbiology applications laboratory manual in general microbiology. 8th ed., The McGraw Hill com., USA. pp: 432.
- (20) Morello, J.A. ; Mizer, R.N. and Granato, P.A. (2006). Laboratory manual and work book in microbiology : Applications to patients care. 8<sup>th</sup> ed., McGraw Hill com., New York. pp : 98-99.
- (21) Mir, N. ; Sanchez, M. ; Baquero, F. ; Lopez, B. ; Calderon, C. and Canton, R. (1998). Soft-Mannitol Agar-Cloxacillin Test : a highly specific bedside screening test for detection with methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 36(4): 986 – 989.
- (22) Aneja, K.R. (2005). Experiments in microbiology, plant pathology and biotechnology. New Age International Publishers. New Delhi. PP: 417.
- (23) الأمام ، محمد محمد الطاهر. (2007). تصميم و تحليل التجارب. الطبعة الاولى. دار المريخ للنشر. جامعة الملك سعود. المملكة العربية السعودية. ص: 37.
- (24) جاسم ، نهاد كاظم. (2006). دراسة بكتريولوجية و وراثية للعنقوديات السالبة للأنزيم المخثر لبلازما الدم. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة بابل.
- (25) صالح ، رشا هادي. (2007). دراسة عن فعالية المطهرات و التلوث البكتيري في مستشفى الحلة التعليمي رسالة ماجستير. كلية الطب. جامعة بابل.
- (26) Gilbert, P. and McBain, A.J. (2003). Potential impact of increased use of biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance. Clin. Microbiol. Rev., 16(2): 189 – 208.
- (27) Selvaggi, G. ; Monstery, S. ; Van Landuyt, K. ; Hamdi, M. and Blondell, P. (2003). The role of iodine in antisepsis and wound management : a reappraisal. Acta. Chir. Belg., 103(3): 241-247.

- (28) Rutala,W.A. (1995). APTC guidellines for Selection and use of disinfectants. Am. J. Infect. Control., 24(4): 313 – 342.
- (29) Haddadin,A.S. ;Fappiano,S.A. and Lipsett,P.A. (2002) . Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the in the intensive care unit .Postgrad . Med. J., 78 : 385-392.
- (30) Cookson,B.D. ;Bolton,M.C. and Platt,J.H. (1991). Chlorhexidin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* or just an elevated MIC ? An in vitro and in vivo assessment. J. Antimicrob. Agents Chemother., 35: 1997 – 2003.
- (31) Crosby,R.M. ;Richardson,K.K. ;Craft,T.R. ;Benforado,K.B. ;Liber,H.L. and Skopek,T.R. (1988). Molecular analysis of formaldehyde-induced mutations in human lymphoblasts and *E. coli* . J. Environmental Mutagenesis., 12: 155 – 166.
- (32) السعدي، كوكب عبد الله. (201). تأثير الضغط الانتخابي للمطهرات على نمط مقاومة بكتريا العنقوديات الذهبية للمضادات الحيوية. مجلة جامعة كربلاء العلمية. ( ) : - .
- (33) Rondall,L.P. ;Cooles,S.W. ;Pidcock,L.J. and Woodward,M.J. (2004). Effect of triclosan or phenolic farm disinfectant on the selection of antibiotic- resistant *Salmonella enterica*. J. Antimicrob. Chemother., 54: 621 – 627.
- (34) Moken,M.C. ;McMurry,L.M. and Levy,S.B. (1997). Selection of multiple-antibiotic-resistant(Mar) Mutants of *Escherichia coli* by using the disinfectant pineoil : roles of the mar and acrAB loci. J. Antimicrob. Agents Chemother., 41(12): 2770 – 2772.
- (35) Al-Doori,Z. ;Gorony-Bermes,P. ;Gemmell,C.G. and Morrison,D. (2007). Low-level exposure of MRSA to octenidinedihydrochloride does not select for resistance. J. Antimicrobial Chemother.,pp: 1 – 2.