

تحري وجود *mec A, femB* بواسطة PCR في البكتيريا الجين *Staphylococcus aureus* التي جمعت من عينات سريرية العنقودية الذهبية بمستشفى مصراة التعليمي

¹ منيرة احمد شعبان , ²مفتاح عبد السلام الشويهدى , ³الدوكالى عبدالسلام الكسكاس , سوزان كمال مراد والهادى محمد صافار

¹كلية التقنية الطبية مصراة, مصراة, ليبيا

²كلية الطب البشرى, جامعة مصراة, مصراة, ليبيا.

³كلية التمريض والعلوم الصحية, جامعة مصراة, مصراة, ليبيا

المخلص

تعتبر بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمضاد الحيوي Methicillin من أهم أنواع البكتيريا المسببة للكثير من الإصابات وخاصة إصابات الجروح وترجع المقاومة لوجود جين *mecA* المسنول عن إنتاج البروتين ، وتهدف الدراسة الحالية إلى معرفة معدل انتشار بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمضاد الحيوي الميشلين MRSA من بين المعزولات التي جمعت من مستشفى مصراة التعليمي والتي تم عزلها من مسحات الأذن وصديد جروح العمليات، كما تهدف الدراسة أيضاً إلى المقارنة بين الطرق التقليدية والتي تشمل طريقة انتشار القرص والطرق الجزيئية PCR لتشخيص MRSA، وكذلك التعرف على حساسية MRSA للمضادات الحيوية شائعة الاستخدام.

أجريت هذه الدراسة على 100 عزلة من بكتيريا *Staph. aureus* والتي تم تشخيصها بفحصها مجهريا وإجراء اختبار Coagulase وتخمر المانيتول.

وجد أن نسب MRSA المعزولة من جروح العمليات 31.25 %، أما عزلات MRSA المعزولة من مسحات الأذن بلغت 16.66 %، أما نسبة MSSA فبلغت 74 % حيث بلغت نسبة MSSA المعزولة من جروح العمليات 68.75 %، أما عزلات MSSA من مسحات الأذن بلغت 83.33 %.

أظهرت نتائج تقنية تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل (PCR) أن نسبة MRSA بلغت 30 %، أما نسبة MSSA فبلغت 70 %، كما بينت نتائج تقنية PCR أن جميع عزلات MRSA كانت حاملة لجين *mecA* وكذلك أعطت نتيجة موجبة لجين *femB* باستثناء عزلتين وجد أنهما مفتقرتان لوجود الجين *femB* كما بينت النتائج أن الطرق التقليدية (طريقة انتشار القرص باستخدام مضاد Oxacillin) أعطت نسبة خطأ بلغت 4 % فقط وبالتالي تعتبر طريقة انتشار القرص جيدة وفعالة للكشف عن MRSA لعدم تكلفتها إلا أن الطرق الجزيئية PCR تكون أكثر دقة وأسرع من الطرق التقليدية غير أنها عالية الثمن لذا قد يكون من الصعب توفرها في كل المستشفيات.

المقدمة

إن التغيير في فعالية المضادات الحيوية ضد الكثير من الأنواع البكتيرية قد يكون ناتج من الإفراط في تناول هذه المضادات مع سوء استعمالها، مما يؤدي إلى ظهور سلالات بكتيرية مقاومة (Donnan et al., 2004; Agwu et al., 2005).

كما أن بعض الأنواع البكتيرية مثل المكورات العنقودية *Staphylococci* والمكورات السبجية *Sterptococci* تنتج إنزيمات تدعى β -lactamase هذه الإنزيمات تعمل على تحطيم حلقة β -lactam المسؤولة عن فعالية بعض المضادات الحيوية المحتوية عليها مثل البنسلين ومشتقاته (Samaranayake, 1999) بالإضافة إلى أن بعض الأنواع البكتيرية تنتج إنزيمات تدعى Cephalosporinases متخصصة للعمل ضد المضادات الحيوية Cephalosporins (Murray et al., 2002)، كما تقوم بعض جينات المقاومة بالتعديل في مواقع اهداف المضاد الحيوي في الخلية البكتيرية، ومن الأمور التي يجدر ذكرها في مجال إصابات المكورات العنقودية هو عدوى المستشفيات

استلمت الورقة بتاريخ 18 أغسطس 2019، وروجعت بتاريخ 28 سبتمبر 2019، وقبلت للنشر بتاريخ 01 أكتوبر 2019

www.lam.edu.ly

ونشرت ومناحة على الانترنت بتاريخ 11 نوفمبر 2019

ببكتيريا *Staph. aureus* ، حيث تصيب هذه البكتيريا الجروح المعقمة أو النظيفة أثناء وبعد العمليات الجراحية وغالباً ما تكون الإصابات ناتجة عن سلالات مقاومة للمضادات الحيوية، مثل بكتيريا MRSA المقاومة للمضاد الحيوي Methicillin (Wang et al., 2009). وأصبحت تلك البكتيريا مسئولة عن جائحات وبائية شديدة وموجات وبائية حادة (Tiemersma et al , 2004).

إن بكتيريا MRSA الآن واسعة الانتشار خصوصاً في المستشفيات، فقد تتواجد في وحدات العناية المركزة للأطفال حديثي الولادة ومراكز الحروق ووحدات الأمراض الجلدية وأقسام الجراحة إضافة إلى دور رعاية المسنين، لذلك فهي تصيب عادةً الأشخاص الذين يمكثون فترات طويلة بالمستشفى وكذلك العاملين في الهيئة الطبية والتمريض.

إن بكتيريا MRSA تمثل خطراً طبيياً كبيراً نظراً لمقاومتها للعديد من المضادات الحيوية وبالتالي تسبب زيادة في عدد الوفيات وفي حدوث خسائر مادية نتيجة لمقاومتها لأغلب المضادات الحيوية (Buzaid et al., 2009 ; Mark et al., 2002) ترجع مقاومة بكتيريا MRSA للمضاد الحيوي Methicillin لامتلاكها جين المقاومة *mecA* المسئول عن إنتاج البروتين المرتبط بالبنسلين PBP2a الموجود على الجدار الخلوي للبكتيريا ويدخل في تصنيع وتنظيم تركيب الجدار الخلوي ويرتبط هذا البروتين بالبنسلين ويحطمه

(Al-zubi et al., 2004)، يوجد جين *mecA* على شريط كروموسوم دائري يسمى *Staphylococcal cassette chromosome mec* ويرمز له بالرمز *SCCmec*، وتوجد عليه عناصر تنظيمية وهي *mec1* و *mecR1* والتي تسيطر على تعبير *mecA*، يتواجد جين *mecA* في بكتيريا MRSA وفي أنواع أخرى من المكورات العنقودية المقاومة للمضاد الحيوي Methicillin (Karinne et al., 2010 and Murakami et al., 1991)، أما جين *femB* المسئول عن التجلط فإنه يوجد في بكتيريا *Staph. aureus* فقط دون غيرها من المكورات العنقودية الأخرى (Mohanasoundaram & lalitha, 2008).

هناك نوع آخر من المقاومة تنتجها سلالات MRSA والتي تفتقر إلى وجود جين *mecA* وترجع هذه المقاومة لإفراز البكتيريا إنزيم Methicillinase أو إنتاجها العالي لإنزيم *beta-lactamase* أو لأسباب أخرى غير معروفة (Chambers, 1997).

يتم الكشف عن بكتيريا MRSA معملياً بطريقة انتشار القرص باستخدام المضاد الحيوي Oxacillin وكذلك تستخدم الطرق الجزيئية PCR للكشف عن MRSA وذلك بالتحري على وجود جيني *mecA* و *femB*.

أهداف الدراسة Aims of the Study:

المقارنة بين الطرق التقليدية المتبعة للكشف عن سلالات MRSA والطرق الجزيئية (PCR).

المواد وطرائق العمل Materials and methods:

جمع العينات:

تم عزل 261 عزلة بكتيرية في هذه الدراسة من مسحات الأذن و مسحات جروح العمليات خلال الفترة ما بين العامين 2009 و 2010، حيث تم أخذ العزلات من مختبر مصراة المركزي، حيث بلغ عدد عزلات بكتيريا *Staph. aureus* من بين العينات المعزولة 100 عزلة، أما عدد عزلات CNS فبلغ 72 ، وباقي العزلات التي بلغت 89 كانت لأنواع بكتيرية أخرى.

الاختبارات الكيموحيوية للعزلات:

جميع الاختبارات الكيموحيوية أجريت على العزلات حسب الطريقة التي وصفها (Collee et al., 1989) وذلك للتأكيد على تعريف البكتيريا *Staph. aureus*.

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:

تم إجراء اختبارات الحساسية باستخدام أقراص قياسية مشبعة بالمضاد الحيوي بطريقة القرص المنتشر كما وصفها (Bauer et al.,1966).

استخدام المضاد الحيوي Oxacillin بدلاً عن Methicillin لأنه أكثر ثباتاً عند اختباره معملياً (Blomquist, 2006).

الطريقة الجزيئية سلسلة تفاعل إنزيم البلمرة (PCR) لتحري وجود جين *mecA* و *femB* في عزلات بكتيريا *Staph. aureus*.

تم استخلاص DNA من العزلات البكتيرية وإجراء الاختبار للكشف عن جين *femB* المسئول عن بناء إنزيم التخثر Coagulase وكذلك الجين المسئول عن المقاومة *mecA* (Mohanasoundaram & lalitha, 2008).

تسلسل تفاعل إنزيم البلمرة PCR: (Polymerase chain reaction)

وتم استخدام تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل تبعاً لدليل الشركة المصنعة

. (QIAGEN DNA Multiplex PCR)

التفريد الكهربائي بالأجاروز :

تم تفريد شظايا DNA المضخمة والناجمة من تفاعل البلمرة المتسلسل بجهاز الهجرة الكهربائية على جل من الأجاروز بتركيز 1.5% مذاب في محلول منظم 10x TAE buffer وتم استخدام Base-pair ladder 1000 معلم جزئي لتقدير حجم الشظايا الناتجة.

النتائج Results:

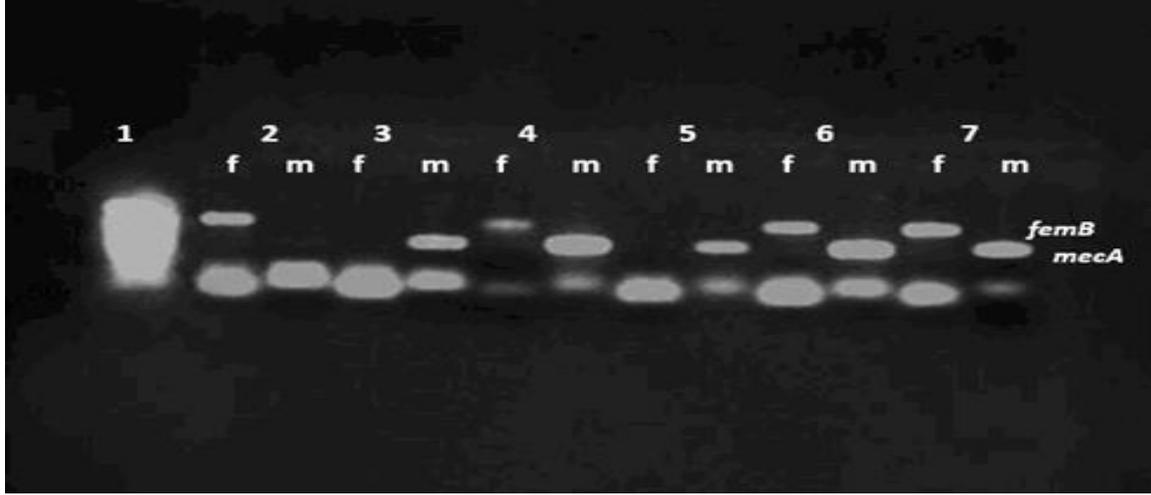
أوضحت نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية أن جميع عزلات بكتيريا *Staph. aureus* والتي بلغت 100 عزلة من 261 عزلة بكتيرية أعطت نتيجة موجبة لاختبار تخمر سكر المانيتول، كما أظهرت عزلات *Staph. aureus* نتيجة موجبة أيضاً لاختبار تحلل الدم واختبار DNase، واختبار Coagulase وكانت موجبة لصبغة جرام.

نتائج اختبار الحساسية:

اختبرت 100 عزلة من بكتيريا *Staph. aureus* لاختبار الحساسية بطريقة انتشار القرص باستخدام قرص Oxacillin حيث أظهرت النتائج وجود 26 عزلة من عزلات *Staph. aureus* كانت مقاومة للمضاد الحيوي Oxacillin و 74 عزلة كانت حساسة له (MSSA)، حيث بلغت نسبة (MRSA) المعزولة من جروح العمليات 20 (31.25%) من 64 عزلة من بكتيريا *Staph. aureus* عزلت من جروح العمليات أما نسبة (MRSA) التي عزلت من مسحات الأذن فقد بلغت (16.66%) من

36 عزلة من بكتيريا *Staph. aureus* المعزولة من مسحات الأذن وكانت نسبة (MSSA) المعزولة من جروح العمليات 44 (68.75%) أما نسبتها من مسحات الأذن فبلغت 30 (83.33%).

بينما الجين *femB* وجد في 28 عينة، كما هو موضح في الشكل (1)، بالرغم من أن جميع العزلات أعطت نتيجة موجبة لاختبار *Coagulase*، وكذلك كانت مخمرة لسكر المانيتول، أما 70 عزلة من بكتيريا (MSSA) فأثبتت نتائج PCR أن جميعها حاملة لجين *femB* وغير حاملة لجين *mecA*.



شكل(1):الترحيل الكهربى لجل الاجاروز لجينات *mecA* (310bp), *femB* (651bp) لعزلات *Staph. aureus*

كما أظهرت اختبارات الحساسية باستخدام قرص المضاد الحيوي *oxacillin* بعض النتائج الخاطئة لأربع عزلات من بكتيريا *Staph. aureus* والتي بين اختبار الحساسية بأنها حساسة لهذا المضاد الحيوي ولكن سلسلة تفاعل إنزيم البلمرة أثبتت أنها تحمل جين المقاومة *mecA* مما يدل على أنها مقاومة للمضاد الحيوي *Oxacillin*.

المناقشة Discussion:

حيث بينت نتائج طريقة انتشار القرص باستخدام المضاد الحيوي *Oxacillin* بأن نسبة (MRSA) بلغت 26%، 20 (31.25%) عزلة منها عزلت من جروح العمليات و6 (16.66%) عزلات عزلت من مسحات الأذن أما نسبة بكتيريا (MSSA) فبلغت 74%، 44 (68.75%) عزلت من جروح العمليات و30 (83.33%) عزلت من مسحات الأذن.

أما نتائج سلسلة تفاعل إنزيم البلمرة (PCR) بينت أن نسبة (MRSA) بلغت 30%، ونسبة (MSSA) بلغت 70%، حيث بينت النتائج أن الطرق التقليدية طريقة انتشار القرص باستخدام المضاد الحيوي *Oxacillin* أعطت نسبة خطأ بلغت 4%.

اتفقت نسبة (MRSA) في دراستنا مع النسبة التي توصل إليها (Anbumani et al., 2006) حيث وجدوا أن معدل انتشار (MRSA) في مدينة Chennai في الهند بلغ 31%، وأن 64% منها عزلت من الجروح.

كما أوضحت نتائج سلسلة تفاعل إنزيم البلمرة وجود 30 عزلة (MRSA) تحمل جين *mecA* وتتفق دراسة مع ماتوصل الية (Eprahaim et al., 20017)

وتوصل (Vindel et al., 2009) في دراسته أن معدل انتشار (MRSA) بلغ 29.2% حيث تم عزلها من 145 مستشفى أسباني.

وفي الدراسة التي قام بها (Rajadurai et al., 2006) توصل إلى أن نسبة سلالات (MRSA) التي تم عزلها من عزلات سريرية بلغت 31%، أما نسبة (MRSA) التي عزلت من أشخاص حاملين للبكتيريا بلغت نسبتها 37.5%، كما بلغت نسبة انتشار (MRSA) في مستشفى أردني 34% (Al-zoubi et al., 2010).

أظهرت بعض الدراسات التي أجريت في ليبيا عن معدل انتشار (MRSA) أنها بلغت نسبة 31% في مستشفى الجلاء بنغازي (Buzaid et al., 2009) وهذه النسبة تتفق مع نسبة (MRSA) التي توصلنا إليها في دراستنا الحالية ولا تتفق مع النسبة التي توصل إليها (Abulgasieam et al., 2009) في صبراتة والتي بلغت 11.6%، حيث تم أخذ العزلات في دراستهم من العاملين في حجرات العناية المركزة وحجرات العمليات وليس من حالات مرضية، سجلت بكتيريا (MRSA) نسبة عالية بلغت 51% حيث تم عزلها من مستشفيات طرابلس ليبيا (Ahmed et al., 2010) وكذلك بلغت نسبة (MRSA) التي تم عزلها من فئة التمرريض 42% أما نسبتها من العزلات التي تم أخذها من الأطباء بلغت 27%، حيث تم أخذ العزلات من 6 مستشفيات ليبية بمدينة طرابلس (Zorgani et al., 2009)، بلغت نسبة (MRSA) في طرابلس أيضا 46.7% والتي تم عزلها من حالات مرضية عزلت من الجروح والبول والدم والقيح (Zorgani et al., 2008)، وفي دراسة قام بها (Alalem., 2008) توصل إلي أن نسبة (MRSA) في مستشفيات بنغازي بلغت 59%. وهذا الاختلاف يرجع إلى التطور الصحي الذي حدث في المستشفيات وإلى اختلاف المكان والزمان التي أجريت بها الدراسة.

بينت نتائج تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل في هذه الدراسة وجود 30 عزلة (MRSA) تحمل جين المقاومة *mecA*، كما أظهرت النتائج وجود عزلتين من (MRSA) لا تحمل جين *femB* بالرغم من أن هذه العزلات أعطت نتيجة موجبة لاختبار *Coagulase* وتخمر المانيتول، وهذه النتيجة اتفقت مع (Kobayashi et al., 1994) حيث توصل في دراسته إلى أن جين *femB* يوجد في بكتيريا *Staph. aureus* فقط وأن عدم وجود جين *femB* لا يعني أن المعزولات ليست بكتيريا *Staph. aureus* وأن نسبة 3% من بكتيريا *Staph. aureus* يمكن أن تكون سالبة النتيجة لجين *femB* حيث كشف في دراسته التي قام بها عن وجود جين *femB* في جميع عزلات *Staph. aureus* ماعدا 2.5% من عزلات (MRSA) كانت تفتقد لوجود هذا الجين.

كما اتفقت نتائجنا مع ما توصل له (Mohanasoundaram & Lalitha, 2008)، حيث بينت نتائج دراستهما إلى وجود 6 عزلات من (MSSA) أعطت نتيجة سالبة لجين *femB*.

أظهرت نتائج دراستنا الحالية أن الطرق التقليدية (طريقة انتشار القرص باستخدام المضاد الحيوي Oxacillin) فعالة في الكشف عن (MRSA) لأن نسبة الخطأ فيها بلغت 4% فقط في هذه الدراسة قد يكون هذا الخطأ له علاقة بحجم الزرع أو وقت التحضين وعمق الوسط المستخدم أو قد تكون هذه المعزولات مختلطة بها خلايا حساسة وبعضها مقاومة مما أدى إلى وجود خطأ في النتيجة وهذا يتفق مع ما توصل له (Mohanasundaram & Lalitha, 2008) حيث بلغت نسبة الخطأ لطريقة انتشار القرص 1%، أما الطرق الجزيئية (PCR) فإنها تعتبر أكثر دقة وأسرع من الطرق التقليدية وهي مهمة للكشف عن جينات *femB* و *mecA* التي تميز سلالات (MRSA)، أن تقنية PCR تعتبر مقياس جيد لتحديد عزلات (MRSA) ولكن استعمالها محدود كمرجع معلمي نتيجة تكلفتها وهذه النتائج تتفق مع (Murakami et al., 1991; Kobayashi et al., 1994; Dniel et al., 1994; Chambers et al., 1997; Enno et al., 2009 Taisa et al., 2018).

ولم تتفق دراستنا مع ما توصل له (Smyth et al., 2001) وهو أن نتائج اختبار الحساسية بطريقة انتشار القرص تتفق مع نتائج PCR في تعريف (MRSA) وكذلك لم تتفق مع ما توصل له (Jonas et al., 2002) وهو أن نتائج PCR كانت متوافقة بنسبة 100% مع طريقة انتشار القرص لتعريف (MRSA).

المراجعReferences:

المراجع العربية Arabic References

- صالح، يسري (2005): أساسيات علم البكتيريا، مكتبة أوزوريس للنشر والتوزيع، القاهرة.

English References

- Abulgasiem, Z. B.; Hashmi, H. H. and saodauis, A. (2009): Screening for MRSA In African oncology Institute sebrata staff: A preliminary study. IEDSC – II, Tripoli – Libya (poster)
- Ahmed, M. O .; Abuzweda, A. R.; Alghazali, M. H.; Elramalli, A. K.; Amri, S. G.; Aghila, E. S. and Abouzeed, Y. M. (2010): Misidentification of methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitals in Tripoli Libya. Libyan J Med .pp 1-4
- Alalem, A. M .(2008): Antibiotic resistant *staphylococcus aureus* Infection studies in hospitals .Libyan J Med ,page 157.
- Al-zoubi, H. K.; Hayajneh, A. W.; Ayoub, M. A.; Al-safi, A. S.; IA-azzam, S. and Mhaidat, M. N. (2010): Prevalence of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) of a Tertiary Hospital in North Jordan.. Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences, 3(1):37-42
- Al-zubi, E.; Bdour, S. and Shehobi, A. A. (2004): antibiotic resistance patterns of *mecA*-positive *staphylococcus aureus* isolates from cilinical specimens and Nasal carriaye. J. Microbial Drug resistance, 10 (4): 321-324.
- Anbumani, N.; Kalyani, J. and Makkika, M. (2006): prevalence of methicillin –resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary Referral hospital in Chennai, south India. Indian Journal for the practicing Doctor Vo I 3 (4):8-9.
- Bauer, A. w.; Kirby, W. M. N.; Sherries, J. C. and Turck, M. (1966): Antibiotic susceptibility testing by standredizd single disk method. American. Journal of Clinical pathology, 45: 493-496.
- Blomquist, P. H. (2006): Methicillin – Resistant *Staphylococcus aureus* Infections of the eye and orbit (Anmerican ophthalmology society thesis) Trans American Ophthalmol Societal. Vol 104: 322-345.

- Buzaid, N.; Elzouki, A. and Taher, I. (2009): Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Aljala surgical and Accident Hospital , Benghazi, Libya, 2nd Infectious and Endemic Diseases Scientific Conference, Tripoli – Libya.
- Chambers, H. F. (1997): Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and biochemical basis and clinical implications. J. Clin. Microbiol. Rev. 10: 781-91.
- Collee, J.C., J.P. Duguid, A.G. Fraser and B.P. Marimio,1989.Medical Microbiology,Vol.11.Practical-Medical,Microbiology,13/e,Churchill ,Livingstone, Edinburgh.
- Dniel, J. G. James, R. U.; Cynthia, G. and Dnaid, H. P. (1994): Multiplex PCR for identification of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the clinical laboratory. J. Clin .Microbiol. 32: 1768-72.
- Donnan, P. T.; Wei, I.; Stwinke, D. T.; Phillips, G.; Clake, R.; Noone, A.; Sullivan, F. M.; Macdonold, T. M. and Davey, P. G. (2004): Presence of bacteria caused by trimethoprim resistant bacteria in patients prescribed antibiotics : multilevel model with practice and individual pata. BMJ, 328: 1-5.
- Ephraim.E.I , Idahosa .O.E and Fowora .M(2017):Prevalence of *mecA*Gene among *staphylococci* from clinical samples of a tertiary hospital in Benin City ,Nigeria:African health Sciences Vol 17 Issue 4,December ,2017.
- Enno, S.; Ladr. G. H.; Mvz,K. and Colleagues, G. (2009). Rapid detection of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* directly from clinical samples: methods, effectiveness and cost consideratioions, J. Ger Med,Vol 7:1-19.
- Jonas, D.; Speck, M.; Daschner, F. D.; Grundmann, H. (2002): Rapid PCR-based identification of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* from screening swabs. J. Clin. Microbiol., 40:1821-3.
- Kobayashi, N.; Wu, H.; Kojima, K.; Taniguchi, K.; Urasawa, S.; Uehara, N.; Omizu, Y.; kishi, Y.; Yagihoshi, A.and Kurokawa, I. (1994): Detection of *mecA*, *femA* and *fem B* genes in clinical Strains of *Staphylococci* using polymerase chain reaction. J. Epidemiology and Infection , 113 (2): 259-66.
- Mark , C.E.; Gaynor, O.A.R.;Edward ,J, F.; Hajo ,G .and Brian , G.S. (2002): The evolutionary history of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) .Proc. Natl . Acad . Sci . USA , Vol 99 (11): 7687-7692.

- Mohanasoundaram, K. M. and Lalitha M. K. (2008): Comparison of phenotypic versus genotypic methods in the detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Indian J. Med .Res*, 127: 78-84.
- Murakami, K.; Minamide, W.; wada, K; Nakamura, E.; Teraoka, H. and watanabe, S. (1991): Identification of methicillin – resistant strains of *Staphylococci* by polymerase chain reaction . *Journal of Clinical Microbiology*, 29: 2240-4.
- Murray, P.R.; Rosenthal, K. Kobayashi, G. S. and Pfaller, M. A. (2002) *Medical Microbiology*. 4th Ed. Mosby – USA.
- Rajaduraipandi, K.; Mani, K. R.; Panneerselvam, K.; Mani, M.; Bhaskar, M. and Manikandan, P. (2006):Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: A multicentre study, *Indian Journal of Medical Microbiology* . vol 24: 34-38.
- Samaranayake, L. P.; (1999): Guidelines for the use of antimicrobial agents to minimize development of resistance . *International Dental Journal*, 49: 189-195.
- Taisa .T.R,Katheryne .B .M,Patricia .Y.F.M ,Rogerio .A.D,Alessandro .L ,Carlos .M .C.B .F ,M .L .R and S.C(20018):Detecion of the *mecA* gene and identification of *Staphyococcus* directly from blood culture bottles by multiplex polymerase chain reaction
- Tiemersma, E. W., Bronzwaer, S. L.; Lyytikainen, O.; Degener, J. E.; Schrinemaker, S. P.; Bruinsma, N.; Monen, J.; Witte, W. and Grundman, H. (2004): Methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. 1999-2002. *Emerg. Infect. Dis.* 10(9): 1627-34.
- Vindel. A.; Cuevas, O.; Cercenado, E.; Marcos, C.; Bautista, V.; Castellares, C.; Trincado, P.; Boquete, T.; Perez – Vazquez, M.; Marin, M.; Bouza, E. and The Spanish Group for the Study of *Staphylococci*. (2009): methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* in Spain: molecular Epidemiology and vitality of Different typing methods. *J. Clin. Microbiol* ,47: 1620-1627.
- Wang, Z.; Cao, B.; Liu, Y.and Wang, L. C. (2009): Investigation of the prevalence of patients co - colonized or infected with methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant Enterococci in China: a hospital – based study *Chines Medical Journal*, vol 122 (11): 1283-1288.

- Zorgani, A., Elahmer, O., Franka, E., Grera, A., Abudher, A. and Ghenghe, K .S. (2009): Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among healthcare workers in Libyan hospitals. Journal of Hospital Infection 73(1): 91.-
- Zorgani, A.; Sadaa. K.; Franka, R.; Zaidi, M.; Elahmer, O.; Atwil, K.; Khuja, H. and Elamry, S. (2008): In-vitro activity of linezolid and other antimicrobial agents against methicillin resistant *Staphylococci* the Libyan J. of infectious Diseases, 2(2): 51-56.