تحرى وجود *mec A, femB* بواسطة PCR فى البكتيريا الجين *Staphylococcus aureus* التى جمعت من عينات سريرية العنقودية الذهبية بمستشفى مصراتة التعليمي

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

[1]كلية التقنية الطبية مصراتة، مصراتة، ليبيا

[2]كلية الطب البشرى، جامعة مصراتة، مصراته، ليبيا.

[3]كلية التمريض والعلوم الصحية، جامعة مصراتة، مصراته، ليبيا

الملخص

تعتبر بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمضاد الحيوي Methicillin من أهم أنواع البكتيريا المسببة للكثير من الإصابات وخاصةً إصابات الجروح وترجع المقاومة لوجود جين *mecA* المسئول عن إنتاج البروتين ، وتهدف الدراسة الحالية إلى معرفة معدل انتشار بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمضاد الحيوي الميثسلين MRSA من بين المعزولات التي جمعت من مستشفى مصراتة التعليمى والتي تم عزلها من مسحات الأذن وصديد جروح العمليات، كما تهدف الدراسة أيضاً إلى المقارنة بين الطرق التقليدية والتي تشمل طريقة انتشار القرص والطرق الجزئية PCR لتشخيص MRSA، و كذلك 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 أنَّ 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 أنهاغالية الثمن لذا قد يكون من الصعب توفرها فى كل المستشفيات.

المقدمة

إن التغير 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 السبحية **Sterptococci** تنتج إنزيمات تدعى **β-lactamase** هذه الإنزيمات تعمل على تحطيم حلقة **β-lactam** المسئولة 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
ونشرت ومتاحة على الانترنت بتاريخ 11 نوفمبر 2019
www.lam.edu.ly

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 إضافةً 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 طبياً 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 كرموسوم 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*** فى 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 البكتريا 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 و2010، حيث تم أخذ العزلات من مختبر مصراتة 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** بديلاً 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 الكهربي بالأجاروز :

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

النتائج Results:

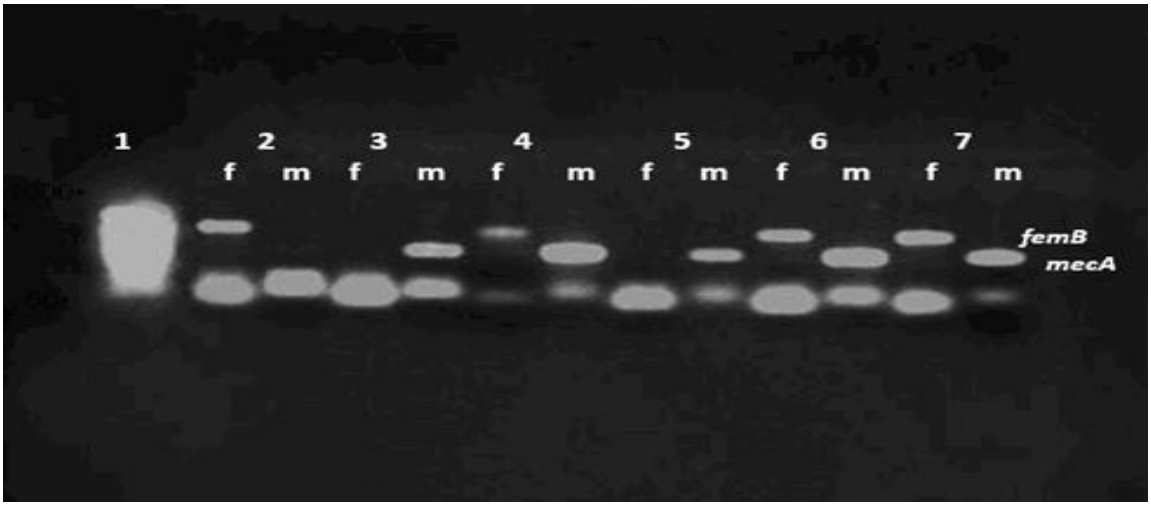
أوضحت نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية أنَّ جميع عزلات بكتيريا ***Staph. aureus*** والتي بلغت 100 عزلة من 261 عزلة بكتيرية أعطت نتيجة موجبة لاختبار تخمر سكر المانيتول، كما أظهرت عزلات ***Staph. aureus*** نتيجة موجبة أيضاً لاختبار تحلل الدم واختبار **DNase**، واختبار **Coagulase** وكانت موجبة لصبغة 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** و74 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 6 (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*** (310**bp**)، ***femB*** (651**bp**) 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 أنزيم البلمرة وجود 30 عزلة (**MRSA**) تحمل جين **mecA** وتتفق دراستة مع ماتوصل الية (***et al*., 20017 Eprahaim**)

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 **(Rajaduraipandi *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 التمريض 42% أما نسبتها من العزلات التي تم أخدها من الأطباء بلغت 27%، حيث تم أخد العزلات من 6 مستشفيات ليبية بمدينة طرابلس (2009 **Zorgani *et al*.,**)، بلغت نسبة **(MRSA)** في طرابلس ايضا 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 الى التطور الصحى الذى حدث في المستشفيات والى اختلاف المكان والزمان الت 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 فى 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 فى 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 أنَّ 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 أوقد تكون هذه المعزولات مختلطة بها خلايا حساسة وبعضها مقاومة مما أدى إلي وجود خطأ في النتيجة وهذا يتفق مع ما توصل له **(Mohanasundarm & Lailitha,2008)** حيت بلغت نسبة الخطأ لطريقة أنتشار القرص 1%، أما الطرق الجزيئية **(PCR)** فأنها 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 معملي نتيجة تكلفتها وهذه النتائج تتفق مع **(Murakami *et al*., 1991; Kobayashi *et al*., 1994; Dniel *et al* ., 1994; Chambers , 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 speciments 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 Referal hospital in Chennai, south India. Indian Journal for the practicing Doctor Vo l 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. Dugaid, 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 *mec*Agene 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 Colleogues, 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.;Edword ,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 susceptility pattern of methicillin resistant Staphylococcus aureus: Amulticentre 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 resistantce . 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 *mec*A 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.**