---مجلة علوم الرافدين، المجلد 27، العدد 4/ عدد خاص بالمؤتمر العلمي الثالث لعلوم الحياة، ص312-320، 2018--

تأثير بعض المطهرات والاشعة فوق البنفسجية على نمو جرثومتي *Staphylococcus aurous* و *Pseudomonas aeruginosa* المعزولتين من صالات العمليات في مستشفيات الموصل

زبيدة عبد الرحمن عبد العزيز*
كلية النور الجامعة

ياسين حسين عويد
كلية التربية للبنات/ جامعة تكريت

***E-mail: Zaasulaiman88@gmail.com**

(أستلم 2/ 9 /2018 ؛ قُبل 2018/11/1)

الملخص

هدفت الدراسة إلى تحديد الفعالية التثبيطية لمطهرات (Actosept , actosed , hexatane 20 , settol) والاشعة الفوق البنفسجية على النمو الجرثومي *Pseudomonas aeruginosa* ,*Staphylococcus aureus* المعزولتان من صالات العمليات في مستشفيات الموصل. أظهرت النتائج حساسية عزلات الجرثومتين قيد الدراسة لهذه المطهرات، اذ بلغت قيم التركيز المثبط الادنئ 3500 مايكروغرام/ مل، 500 مايكروغرام/ مل، 2500 مايكروغرام/ مل لمطهرات Actosept hexatane 20, settol (Chloroxylenol) تجاه كلا الجرثومتين، بينما اظهر actosed تاثير فعال ضد الجرثومتين، اذ بلغت قيم التركيز المثبط الادنى 250 مايكروغرام/ مل و 1500 مايكرو غرام/ مل تجاه جرثومتي *staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeriginosa* على التوالي.

وبينت الدراسة بان زمن التعرض لعشر دقائق للاشعة الفوق البنفسجية له تأثير فعال على تثبيط نمو الجرثومتين المذكورتين.

الكلمات الدالة: صالات العمليات، الأشعة الفوق البنفسجية، المحاليل المطهرة.

Effect of some Antiseptics and Ultraviolet Ray Light on Growth Inhibition of *Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Operation Theatres in Mosul Hospitals

Zubaida A. Abdul-Aziz
Alnoor College University

Yaseen H. Owaid
College of Education for Girls/ University of Tikrit

ABSTRACT

This study aimed to determine the inhibitory affect of antiseptics (Actosept, actosed, hexatane20, settol) and ultraviolet ray on growth of *Staph. aureus*, *Ps. aeruginosa* which were isolated from operating theatres in Mosul hospitals. The results showed sensitivity of most isolates against these antiseptics, The minimum inhibitory concentration were 3500 m\ ml, 1500 m\ml and 2500 m\ml of the tested isolates, while the actosed level of the MIC was 250 m\ ml and 500 m\ml against *Staph. aurous* and *Ps. aeruginosa* respectively.

The results demonstrated that exposing period of isolates to ten minutes for ultraviolet ray had effective action on inhibition of the growth of those bacteria.

Keywords: Operation Room, Ultraviolet Ray, Antiseptic.

المقدمة

ان منع حصول الالتهابات في المستشفيات يعتمد اساسا على توفر البيئة النظيفة واستعمال مواد وادوات معقمة وعزل امن للمواد الملوثة (Mims *et al.*, 2004) وقبل ان نستعرض انواع المعقمات والمطهرات علينا تعريف معنى التعقيم والتطهير ويعرف التعقيم (Sterilization) بأنه العملية التي يتم خلالها قتل او ازالة كل الاحياء المجهرية واشكالها وهي عملية قتل كامل للجراثيم وابواغها والرواشح والفطريات وابواغها، أما التطهير (Disinfection) فهي العملية التي يتم ازالة او قتل جزء وليس كل الكائنات الحية او العملية التي يتم بواسطتها اختزال الجراثيم الى مستوى معين وهي لا تؤثر على الابواغ (Babb, 1996; Rutala, 1996) وهذه المواد أو المعقمات تستعمل لتنظيف وتعقيم الجروح والاغشية المخاطية والايدي ومواضع العمليات الجراحية .وتتباين الجراثيم في حساسيتها للمعقمات، فالجراثيم السالبة تكون اقل حساسية للمطهرات من الجراثيم الموجبة لصبغة كرام. اما الـ mycobacteria فهي مقاومة نسبيا، فيما تكون الابواغ عالية المقاومة (Babb, 1996 ; Russell, 2004).

يطلق مصطلح الـ Antiseptic على المعقمات الكيميائية غير السامة عند استخدامها الخارجي لتطهير الجلد او الجروح ولا تؤثر على الانسجة الحية (الجبوري، 1990 ;Collee *et al.*, 1996) اما المعقم الكيميائي فله القدرة على قتل كل انواع الجراثيم وابواغها فضلا عن الرواشح (الجبوري، 1990) إن الإستخدام الواسع والعشوائي للمطهرات الكيميائية دون الاعتماد على الأسس العلمية للتقييس ادى إلى ظهور سلالات مقاومة للمطهرات في العديد من أنواع الجراثيم وبآليات مقاومة متعددة. وأن أساسها الوراثي قد يكون بلازميدي (Russell, 2000).

وتشير مصادر طبية مختلفة الى ان نسبة التلوث المواد المطهرة التي تستخدم لتطهير وتعقيم المستشفيات تتراوح من 0% كما في بعض المستشفيات التعليمية في تايلند (Danchaivijitr *et al.*, 2005) الى نسب متفاوتة قد تصل الى 63% كما هو الحال في نيجيريا (لاكوس) (Ogansola *et al.*, 2002) وهذا التلوث اذا ما استمر في هذه المحاليل قد تكون السبب الرئيسي لانتشار الالتهابات خاصة اذا كانت الجراثيم ممرضة Pathogenic.

واشارت دراسة Randell *et al.*, (2004) إلى زيادة نسبة الخلايا المقاومة للمضادات الحيوية في المحاليل المطهرة من 10 اضعاف الى مئة ضعف قبل ان يبدا استعمال بعض من المواد الفينولية phenolic او مادة triclosan وهذا مما يثير المخاوف من ظهور اجيال مقاومة للمضادات الحيوية بشكل عام (Randell *et al.*, 2004). لقد ساهم الاستعمال المستمر والعشوائي للمواد المضادة للجراثيم في زيادة مقاومة الخلايا الجرثومية للعديد من تلك المواد ولاسيما المضادات الحيوية والمطهرات الكيمياوية اذ تتشابه الاليات التي بواسطتها مقاومة المضادات الحيوية والطرق التي تقاوم بواسطتها المطهرات الكيمياوية (Russell, 2000)

ان الأشعة فوق البنفسجية تمتاز بطول موجي من 220nm– 300 وتعد من النوع غير المتاين ولها خاصية قتل الجراثيم من خلال تدميرها للحامض النووي (Nester *et al.*, 2007).

ان استعمال الأشعة فوق البنفسجية (UV) تعد من الطرق المفضلة لتعقيم هواء الصالات خاصة للجراثيم العالقة في جوها وكذلك في تعقيم بعض الاجهزة والاثاث التي لا تصلح فيها الطرق التقليدية (Menzies *et al.*, 2003).

ولقد عدت طريقة التعقيم باستخدام اشعة الـ UV من الطرق المقبولة والصديقة للبيئة (Rutala *et al.*, 2010) وقد اشارت بعض الدراسات الى امكانية التخلص من الجراثيم الخضرية خلال 15 دقيقة ومن سبورات جرثومة *Cl.difficille* خلال 50 دقيقة (Nerandzic *et al.*, 2010; Rutala *et al.*, 2010). وبالنظر إلى كفاءة هذه الطريقة في قدرتها للتخلص من التلوث الجرثومي لذا فقد تم استعمالها في تعقيم بعض المكاتب والمحال التجارية مما قلل نسب تعرض مستخدمي هذه المكاتب لبعض الامراض مثل امراض حساسية العين والانف والربو القصبي وذات الرئة (Menzies *et al.*, 2003). ان تطهير الهواء باستخدام

UV- C من خلال مصابيح سقفية او جدارية وتكون محمية في الجزء السفلي من المصباح و موزعة للإشعاع المباشر والذي تمنع او تقلل من خطر انتشار الاشعاع للأشخاص الموجودين في تلك الاماكن (Xu *et al.*, 2003). نظرا لقلة الدراسات التي تناولت موضوع مقاومة الجراثيم للمطهرات اذا ما قورنت مع الدراسات التي تناولت موضوع مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية، لذا هدفت الدراسة الى التحري عن فعالية التثبيط لبعض المطهرات الواسعة الاستخدام في صالات العمليات في مستشفيات الموصل تجاه الجراثيم الاكثر امراضية في بيئة المستشفيات.

المواد وطرائق العمل

اختيار العزلات الجرثومية

اختير نوعان من الجراثيم أحدهما تابع الى الجراثيم الموجبة لصبغة كرام هي *Staphylococcus aureus* والثانية للجراثيم السالبة لصبغة كرام هي *Pseudomonas aeruginosa* لكونهما الأكثر شيوعا بين الجراثيم المعزولة من مستشفتين الجمهوري التعليمي والخنساء التعليمي في مدينة الموصل.

– تحديد التركيز المثبط الأدنى للمعقمات إذْ تم استخدام طريقة التخفيف بالمرق Broth Dilution Method (Levinson, 2004).

تحضير العالق الجرثومي Bacterial Suspension

حضر بنقل جزء من المستعمرات النقية الفتية الى وسط المرق المغذي ومزجت جيدا، وحدد تركيز الجراثيم في الوسط السائل بمقارنتها مع انبوبة ماكفرلاند القياسية رقم 0.5 للحصول على التركيز ($1.5x10^8$) خلية /مل. (القوطجي،2001)

تحضير تخافيف المطهرات Preparation of Disinfectants Dilution

من المحاليل الخزينة (stock solution) المبينة في الجدول (1) تم تحضير التراكيز التالية: (5000, 4500, 4000, 3500, 3000, 2500, 2000, 1500, 1000, 500) mg /ml لـ Actosep وSettol و(4000, 3500, 3000, 2500, 2000, 1500, 500) Hexatane mg/ml

و(2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 16.12, 8.06) لـ Actosed

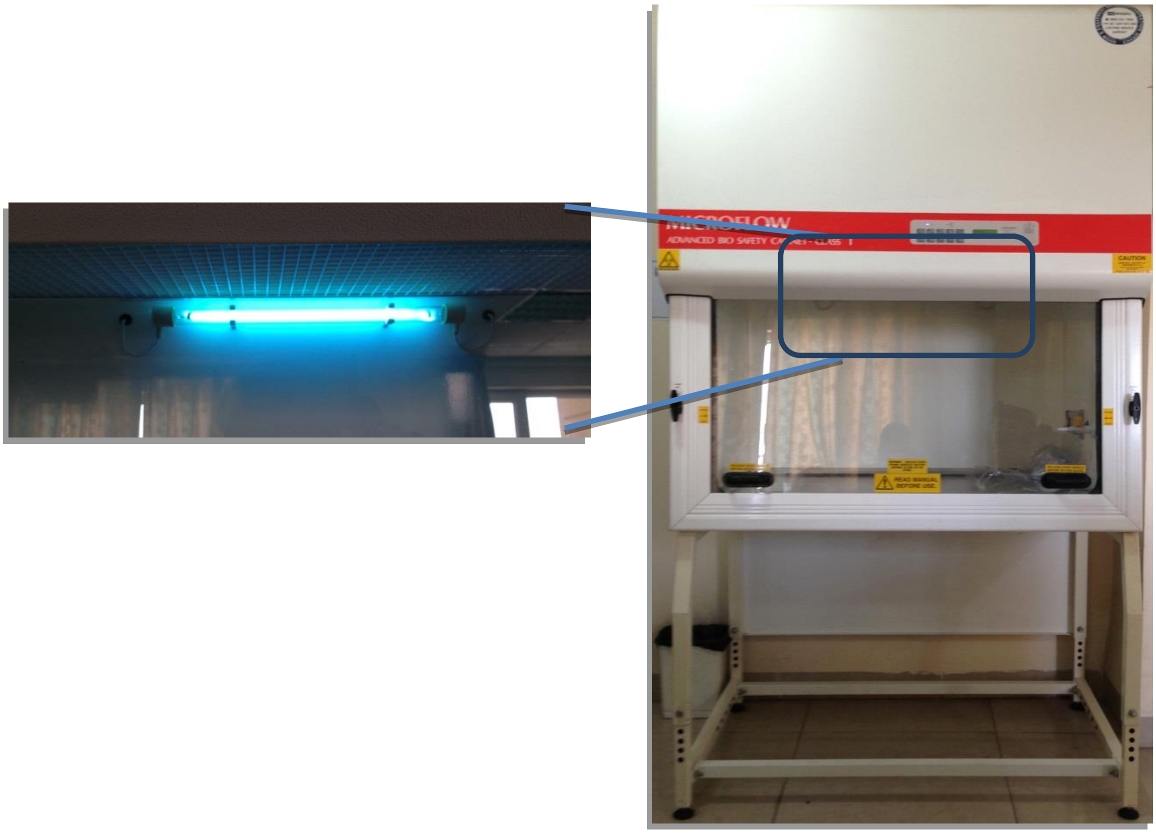
الجدول 1: المطهرات المستخدمة وتراكيزها

المطهر الكيميائي	تركيز المطهر
Actosept	50 mg/ml
Actosed	2mg/ ml
Hexatane 20	140mg /ml
Settol	5 mg/ml

بعد إتمام عملية تحضير التخافيف اضيف 0.1 ملليتر من العالق الجرثومي المحضر سابقا إلى كل تخفيف من التخافيف المحضرة الحاوية على 2 مل من التخافيف في الأنابيب حضنت الأنابيب في درجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة وبعد انتهاء فترة التحضين سجلت النتيجة بملاحظة التعكر في الانابيب، اذ عد خلو الانابيب من التعكر دليلاً على التأثير الموجب للمادة المطهرة وسجل التركيز المثبط الادنى على انه اعلى تخفيف للمطهر يمنع النمو الجرثومي. (Ryan *et al*., 2010)

اختبار حساسية الجراثيم للأشعة فوق البنفسجية The sensitivity of the bacteria to UV irradiation

لقحت أنابيب من وسط المرق المغذي بالمستعمرات الفتية للجراثيم قيد الدراسة وحضن عند درجة حرارة 37 م° لمدة 18 ساعة، ثم أجريت عملية طرد مركزي للمزرعة عند سرعة 1500 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق اهمل الراشح وغسل الراسب باستخدام محلول الملح الفسلجي اذ اضيف الى الراسب وبعد الرج إعيدت عملية الطرد المركزي عند نفس السرعة ولنفس المدة الزمنية ثم علق في 10مل من المحلول الملحي الفسلجي عند تركيز يعادل تقريبا 10^{6} خلية /مل ،بعد ذلك ثم نقل 20مايكروليتر من المعلق البكتيري الى طبق بتري الحاوي على nutrient agar وفرش على مساحة 1سم^{2} وعرض للاشعة لمدة (10,8,6,4,2) دقيقة مباشرة داخل الحاوية الى الاشعاع كما في الصورة رقم (1)، وبعد التعريض أخذت مسحات مرطبة بالمحلول الملحي الفسلجي من البقع المحددة على الطبق، ونقل الى انبوب حاوي على 2مل من المحلول الملحي الفسلجي ومُزج جيدا بالمازج الكهربائي (vortex). وبعد ذلك اخذ 100 مايكروليتر من هذه العينات الى طبق بتري حاوي على وسط اكار الدم ونشر على الطبق بشكل متجانس وحضن الطبق لمدة 18–24 ساعة. وحسبت أعداد المستعمرات النامية وقورنت مع نماذج سيطرة دون التعريض الى الاشعاع. (Moore *et al.*, 2012)



الصورة 1: جهاز باعث الاشعة فوق البنفسجية

النتائج والمناقشة

تكون مقاومة الجراثيم للمطهرات من النوع الداخلي المنشأ ونادراً ما تكون مكتسبة، إذْ تكون هذه المقاومة مرتبطة مع الغشاء الخارجي (Outer membrane) في الجراثيم السالبة لصبغة كرام في الجراثيم المقاومة للحامض، بصورة عامة يكون الإختلاف في مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية ومقاومتها للمطهرات في امتلاك المضاد الحيوي لموقع هدف واحد في الجرثومة الحساسة لذلك المضاد في حين تمتلك المطهرات مواقع هدف متعددة في الخلية الجرثومية (Russell, 2003).

حددت التراكيز المثبطة الدنيا للمطهرات الاربعة تجاه العزلات المنتخبة الاكثر مقاومة للمضادات الحيوية التي اجريت في بحث سابق(الشهواني، 2014) كما مبين في (الجدول 2).

الجدول 2: التراكيز المثبطة الدنيا (MIC) (مايكروغرام / مل) لبعض المطهرات ضد العزلات الجرثومية المدروسة

المطهر الكيميائي	تركيز المطهر	التراكيز المثبطة الدنيا للمطهراتµg/ml	
		S. aureus	*Ps. aeruginosa*
Actosept	50 mg/ml	3500 مايكروغرام/مل	3500 مايكروغرام/مل
Actosed	2mg/ ml	250 مايكروغرام/مل	500 مايكروغرام/ مل
Hexatane 20	140mg /ml	1500 مايكروغرام/مل	1500 مايكروغرام/مل
Settol	5 mg/ml	2500 مايكروغرام/مل	2500 مايكروغرام/مل

يتضح من (الجدول 1) قيم التراكيز المثبطة الدنيا (MIC) للمطهرات قيد الدراسة على عزلات الجراثيم، إذْ يلاحظ من خلالهُ المطهر الكيمياوي الـ (Hexatane) Clorhexidine اظهرا تأثيرا مثبطا جيداً عند التركيز 1500 مايكروغرام/مل بينما وجد احمد (2008) ان الكلوروهكسدين Clorhexidine اظهر فعالية عالية بتراكيز واطئة بين (2–32) مايكروغرام/مل، وحمادة (2008) وجدا ان MIC ما بين (8–128) مايكروغرام / مل، الذي يتطابق مع ما وجدتهُ (القوطجي، 2001) في الدراسة التي أجرتها على ملوثات صالات العمليات الجراحية عندما ذكرت أن قيم الـ (MIC) لهذا المطهر تجاه العزلات *S. aureus* كانت (64) مايكروغرام/ مل أما تجاه العزلات *Ps. aeruginosa* بلغت (1024) مايكروغرام/ مل، بينت نتائج دراسة خلف والحسو عام 2008 ان للمطهر الهيبتين تأثير أفضل على جرثومة *Ps. aeruginosa* مقارنة مع الفورمالين، حيث تعود الفعالية العالية للـClorhexidine لكونه يسبب تحلل Protoplast الخلية الجرثومية، كما أن التراكيز العالية منهُ تسبب ترسيب البروتينات والأحماض النووية في الخلية الجرثومية (Russell, 2003).

أما قيم الـ MIC لمطهر Chloroxylenol (الديتول) فقد كانت بين (2000–2500) مايكروغرام/ مل في حين ذكرت دراسة (القوطجي،2001) أن قيم الـ MIC لهذا المطهر بلغت (1500) مايكروغرام/مل، بينما دراسة احمد (2008) بينت ان جميع العزلات كانت مقاومة لـ Chloroxylenol اما دراسة حمادة (2008) ذكر بان قيمة MIC بلغت (128–1024) مايكروغرام/ مل، إذ إن استخدام مطهر الديتول بشكل كبير في الحياة العامة وبشكل عشوائي ومستمر ادى الى نشوء سلالات عالية المقاومة لهذا المطهر داخل بيئة المستشفيات (Russell, 2003).

وان Actosept هو محلول على شكل بخاخ جاهز يستخدم للتعقيم السريع لكافة السطوح والأثاث داخل صالات العمليات برشه على المنطقة المراد تعقيمها ويكون فعالا خلال فترة نصف دقيقة كان قيمة (MIC) التي ظهرت تراوحت من (3000–4000) ميكروغرام/ مل وهو من المركبات الفينول والالديهايدية.

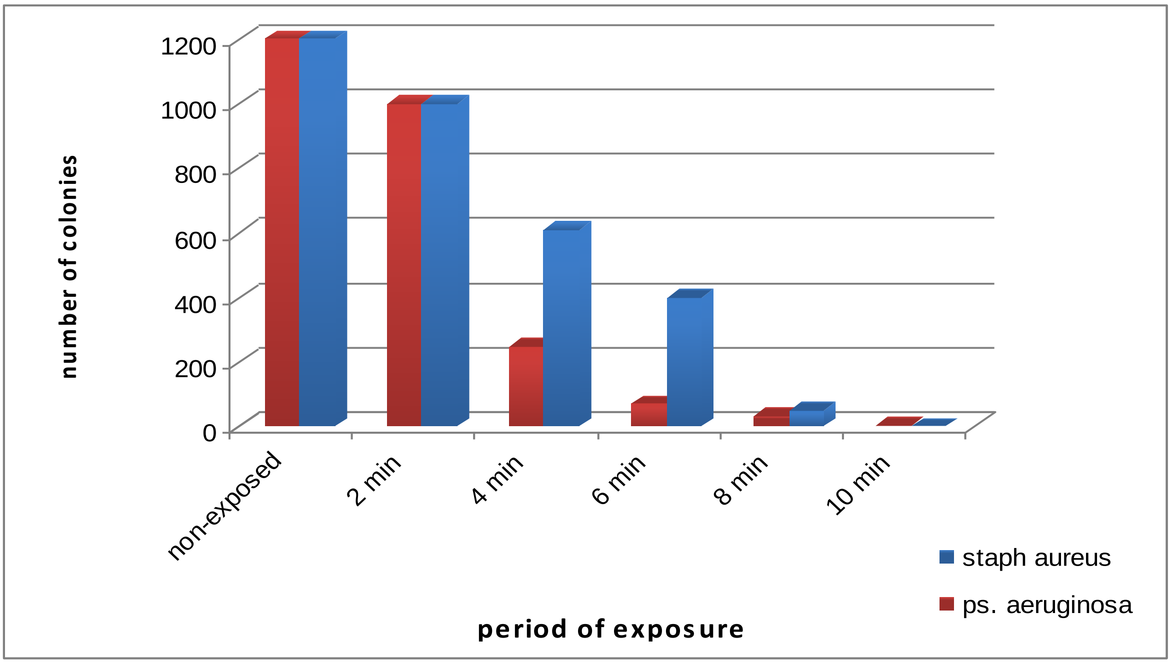
بينما كانت قيمة الـ (MIC) لـ Actosed وهو محلول يستخدم في مجال تعقيم الادوات والآلات الجراحية وكافة النواظير الطبية وماسكات التخدير وغيرها بتركيز قدره (125– 250) ميكروغرام/ مل.

إن سبب مقاومة الجراثيم للمطهرات اما يعزى الى تراكم الشحوم في جدار الخلية البكتيرية مما يعيق دخول المطهرات إلى داخل الخلية، او الى قدرة بعض الجراثيم على تحليل واحياناً استهلاك المطهرات الكيمياوية (Russell, 2003 ; Lecloporn *et al*., 1994).

ان الجراثيم السالبة لصبغة كرام غالباً ما تكون أكثر مقاومة للمطهرات من الجراثيم الموجبة للصبغة، وربما يعود ذلك الى طبيعة تركيبها وامتلاكها للغلاف الخارجي الذي قد يعمل على اعاقة عمل المطهر، كما أن صفة المقاومة للمطهرات رغم كونها موروثة على الأغلب مما يفسر زيادة عزل السلالات المقاومة للمطهرات (Rutala *et al*., 1997)

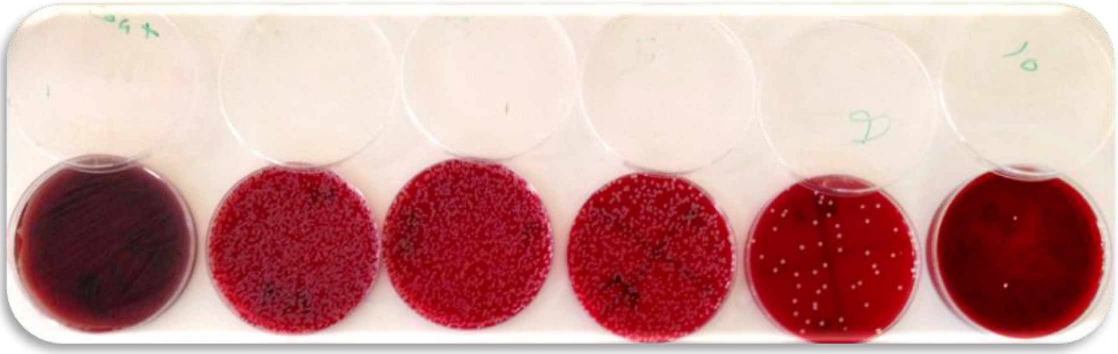
ان التأثير القاتل للأشعة فوق البنفسجية يكون من خلال امتصاص الاحماض النووية للأشعة ذات الطاقة العالية مما تسبب تدمير الجينات وانتاج بيروكسيد الهيدروجين السام للخلية وان القيمة العملية لأشعة الـ UV المعقمة يحدد قدرتها الضعيفة للاختراق. وان التطبيق الرئيسي لهذه الاشعة هو تعقيم الهواء في محيط المستشفى الحرج (Ryan *et al*., 2010). بينت الدراسة الحالية بان جرثومة *S. aureus* كانت اكثر مقاومة لأشعة UV عند تعريضها بالفترات المحددة من جرثومة *Ps. aeruginosa* في حين كانت نتائج Schrier *et al*. (2009) ان *Ps. aeruginosa* كانت اكثر مقاومة للمضادات الحيوية من *S. aureus*.

وأظهرت النتائج أن فترة التعريض 10 دقائق ادت الى قتل الجراثيم المعرضة على سطح الطبق كما مبين في الصورة (2) في حين ذكرت دراسة الباحث Rutala *et al*., (2010) بان فترة التعريض 15 دقيقة كانت كفوءة في قتل 99.9% من الجراثيم الخضرية المعرضة في غرفة الاختبار إذ انه قام بتعريض الجراثيم المختبرة بطريقة غير مباشرة داخل الغرفة. اما دراسة Moore بينت حدوث انخفاض شديد في مستوى تلوث الوسط بالجراثيم الخضرية و السبورات من الكثير من الاسطح التي تم دراستها وتعريضها لـ UV-C خلال 6 دقائق وان Nanoclave Cabinet يستخدم لتعقيم الادوات والاجهزة التي لا يمكن تعقيمها بالحرارة او بالمطهرات الكيميائية، لهذا فان استعمال الـ UV-C في تعقيم صالات العمليات له مردود وفائدة اقتصادية، وقد استخدمت الاشعة فوق البنفسجية من اجل السيطرة على الاحياء المجهرية الممرضة في مجموعة معينة من التطبيقات مثل التحكم بداء Legionellosis (هو مرض رئوي يكتسب من المحيط من خلال استنشاق جرثومة Legionella ويسبب noisocomial infection) فضلا عن تعقيم الهواء والسطوح والادوات، وان فعالية الـ UV. تعتمد في كثير من الاحيان على عوامل منها الكثافة ووقت التعريض وموقع المصباح وانماط حركة الهواء (Rutala *et al*., 2010).



الشكل 1: تأثير زمن التعرض بأشعة الـ UV وقتلها الجراثيم قيد الدراسة

إن استعمال الأشعة فوق البنفسجية لسنين عديدة في تعقيم المياه وكفاءتها في تأثيره القاتل للجراثيم يكون من خلال تثبيط الحامض النووي الـ DNA (Moore *et al.*, 2012) ولازال هذا النوع من الاشعة يستخدم في تعقيم صالات العمليات، وذلك لقابليها على ازالة التلوث او التقليل من النمو الجرثومي في المحيط الامكان التي لا يمكن تعقيمها بالطرق الحرارية او الكيميائية (Nerandzic *et al.*, 2010 ; Rutala *et al.*, 2010).



Control 2 min. 4 min. 6 min. 8 min. 10 min.

أ_ تأثير زمن التعرض لـ UV على نمو جرثومة *S. aureus*

Control 2 min. 4 min. 6 min. 8 min. 10 min.

ب_ تأثير زمن التعرض لـ UV على نمو جرثومة *Ps. aeruginosa*

الصورة 2: تأثير زمن التعرض لـ UV على نمو الجراثيم قيد الدراسة

الاستنتاجات

اظهر المطهر actosed فعالية كبيرة وبتركيز قليل تجاه الجراثيم قيد الدراسة كما بينت الدراسة بان استعمال اشعة U V ولفترات محددة أعطى كفاءة عالية في قتل الجراثيم قيد الدراسة. ومن هذه الدراسة ينصح باستعمال المطهر actosed في تعقيم المختبرات وصالات العمليات لقلة مقاومة الجراثيم تجاه وبالإمكان استعمال الاشعة فوق البنفسجية ولكن لفترات محددة في تعقيم غرف العمليات والمختبرات.

شكر وتقدير الى دكتورة اديبة يونس شريف على مساهمتها لإتمام هذا البحث.

المصادر العربية

القوطجي، حنان سامي نوري (2001). عزل وتشخيص البكتريا الملوثة لصالات العمليات ودراسة حساسيتها للمضادات الحيوية والمطهرات الكيميائية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.

احمد، سيلدا سعيد ياسين (2008). عزل وتشخيص مسببات أخماج الجروح ودراسة حساسيتها للمضادات الحيوية و المطهرات في مستشفى مدينة كركوك العام. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة تكريت.

الجبوري، محيميد مد الله (1990). "علم البكتريا الطبية". دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل. ص:119-130.

حمادة، ياسر حمد (2008). دراسة بكتريولوجية ووراثية لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من أخماج الجروح. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة تكريت.

خلف، صبحي حسين؛ الحسو، محمود زكي (2008). دراسة مقاومة جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* لمطهري الهبيتين والفورمالين. مجلة علوم الرافدين **19**(2)، 135-142.

الشهواني، زبيدة عبد الرحمن عبد العزيز (2014). التلوث البكتيري لصالات العمليات ومدى حساسية الانواع المعزولة للمضادات الحيوية في مستشفيات مدينة الموصل. رسالة ماجستير، كلية التربية للبنات، جامعة تكريت.

المصادر الأجنبية

Babb, J.R. (1996). Application of disinfectants in hospitals and other health- care establishments. Infect. *Cont. J. Southern. Africa*. **1**, 4–12.

Collee, J.; Gerald, G.; Fraser, F.; Andrew, G.; Marmion, M.; Barrie, P.; Simmon, S.; Anthong, N.(1996)."Practical Medical Microbiology ".4th.ed. Churchill Livingstone. New York.

Danchaivijitr, S.; Dhiraputra, C.; Rongrungruang, Y.; Srihapol, N.; Pumsuwan, V. (2005). Microbial Contamination of Antiseptics and Disinfectants. *J. Medical Association of Thailand*. **88**, S133-139.

Forbes, B.A.; Sahm, D.F.; Weissfeld, A.S.(2007)."Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology" .12th ed. Elsevier Ch.11 pp. 172-86.

Leclaporn, A.; Paulsen, I.T.; Iennet, J.M.; Littijohn, T.G.; Skurry, R.A. (1994). multidrug resistance to antiseptics and disenfection in coagulase – negative Staphylococci. *J. med. Microbial.*, **40**, 214 – 220.

Levinson, W. (2004)."Review of Medical Microbiology and Immunology". McGraw – Hill. New York

Menzies, D.; Popa, J.; Hanley, J.A.; Rand, T.; Milton, D. (2003). Effect of ultraviolet germicidal lights installed in office ventilation systems on workers' health and wellbeing: double-blind multiple crossover trial. *The Lancet*. **362**, 1785–91.

Mims, C.; Drockell, H.M.; Goering, R.V.; Roitl, I.; Wakelin, D.; Zuckerman, M. (2004).Medi. Microbiology. Elsevier Mosby. Edinburgh.

Moore, G.; Ali, S.; Cloutman-Green, E.A.; Bradley, C.; Wilkinson, M.; Hartley, J.C.; Fraise, A.P.; Wilson, A.(2012). Use of UV-C radiation to disinfect non-critical patient care items: a laboratory assessment of the Nanoclave Cabinet. *BMC Infectious Dis.*, **12**,174

Nerandzic, M.M.; Cadnum, J.L.; Pultz, M.J.; Donskey, C.J.(2010). Evaluation of an automated ultraviolet radiation device for decontamination of *Clostridium difficile* and other healthcare-associated pathogens in hospital rooms. *BMC Infect Dis*, **10**,197–204.

Nester, E.W.; Anderson, D.G.; Roberts, C.E.; Nestor, M.T. (2007). "Microbiology a Human Perspective." 5th ed. McGraw-Hill Higher Education. pp.495-520.

Ogunsola, F.T.; Orji, B.O.; Oduyebo, O.O. (2002). Contamination levels of in-use disinfectants in a teaching hospital in Lagos, Nigeria. *African J. Medical Sci*.,**31**, 111-114.

Russel, A.D. (2000). Do biocides select for antibiotic resistance? *J. Pharm. Pharmacol.* , **52**,227 - 233

Russel, A.D. (2004). Bacterial adaptation and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon. *The J. Hospital Infection*.**57**(2),97-104.

Russell, R.C.G. (2003). Similarities and differences in the Response of Microganism to biocides. *J. antimicrob. Chemother*. **52** (5), 750 –763.

Rutala, W.A.; Weber, D.J. (1999). Low-temperature sterilization technologies:do we need to rede fine "sterelization". *Infect. Cont. Hosp. Epidemiol*. **17**(2),313-342.

Rutala, W.A.; Gergen, M.F.; Weber, D.J.(2010). Room Decontamination with UV Radiation. *Infect. Cont. Hosp. Epidemiol*., **31**(10),1025-1029.

Ryan, K.J.; Ray, C.G.; Ahmad, N.; Drew, W.L.; Plorde, J.J. (2010)." Medical Microbiology". 5th ed the Mcgraw –hill companies U S E.

Schrier, A.; Greebel, G.; Attia, H.; Trokel, S.; Smith, E. (2009). In Vitro antimicrobial efficacy of riboflavin and ultraviolet light on *Staphylococcus aureus*, Methicillin-Resistant staphylococcus Aureus, and pseudomonas Aeruginosa. *J. Refractive Surgery*. **25**(9),799-802.

Xu, P.; Peccia, J.; Fabian, P.; Martyny, J.W.; Fennelly, K.P.; Hernandez, M.; Miller, S.L.(2003). Efficacy of ultraviolet germicidal irradiation of upper-room air in inactivating airborne bacterial spores and mycobacteria in full-scale studies. *Atmospheric Env*. **37**, 405–419.

.