

توزیع سویه های استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم در برابر آنتی بیوتیکهای بتا لاکتام در بیمارستان الزهرا اصفهان

چکیده

زمینه و هدف: سطوح بیمارستان از توان بالقوه‌ای جهت حفظ و نگهداری باکتری‌های بیماری‌زا برخوردار می باشد. دست کارکنان بیمارستان مهم ترین عامل انتشار باکتری‌ها در بیمارستان محسوب می گردد. شیوع آنزیم β -لاکتاماز در باکتری‌های موجود روی دست پرسنل و سطوح بیمارستان منجر به انتشار β -لاکتاماز در باکتری‌ها و نهایتاً افزایش عفونت‌های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی بیوتیکها می گردد. هدف از این مطالعه بررسی انتشار گونه های استافیلوکوکوس مقاوم در برابر آنتی بیوتیک های بتا لاکتام در بیمارستان فوق تخصصی الزهرا اصفهان بوده است.

روش بررسی: این مطالعه آزمایشگاهی در سال‌های 86-1384 در بیمارستان الزهرا اصفهان انجام گردید. در مجموع 274 نمونه (194 سویه باکتری از سطوح و 80 سویه باکتری از دست پرسنل) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های محیطی با استفاده از سوآب و محیط *Nutrient Broth (NB)* از سطوح بیمارستان و نمونه های دست پرسنل با روش *Finger Print* جمع آوری شدند. شناسایی باکتری‌ها با روش های باکتری شناسی، تولید β -لاکتاماز با روش اسیدومتربیک و الگوی آنتی بیوگرام با روش کربی بائر انجام گردید.

یافته‌ها: از 194 نمونه بررسی شده از سطوح بیمارستان، گونه‌های استافیلوکوکوس 105 (53/7%) و از 80 نمونه بررسی شده از دست پرسنل، گونه‌های استافیلوکوکوس 28 (35%) مورد را به خود اختصاص داده بودند. بر اساس نتایج تست اسیدومتربیک 79,8% سویه های استافیلوکوکوس اورئوس و 68,55% سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مولد آنزیم β -لاکتاماز بودند.

نتیجه گیری: نتایج حاصله مبین شیوع استافیلوکوکوس های مقاوم در برابر آنتی بیوتیکها و مولد β -لاکتاماز در دست کارکنان و سطوح بیمارستان بوده است. کاهش تراکم باکتریها در منابع مزبور، مهم ترین راه کنترل انتقال عوامل ویروالانس در باکتریها و ایجاد سویه های مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها می باشد.

واژه های کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس رو پوستی، β -لاکتاماز، مقاومت

باکتری به دارو، بیمارستان

شیلا جلال پور

مدرس میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی
واحد شهرضا، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و
استعدادهای درخشان ایران

نویسنده مسئول: شیلا جلال پور

تلفن:

پست الکترونیک:

shilla.jalalpoor@yahoo.com

آدرس: اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا

وصول مقاله: 89/10/11

اصلاح نهایی: 90/4/20

پذیرش مقاله: 90/5/1

شمار می روند (10) و β -لاکتاماز آنزیم تخریب کننده این آنتی بیوتیکها می باشد (10). بر اساس مطالعات انجام شده، اکثر گونه های بیماری زای عامل عفونت های بیمارستانی حداقل در برابر یک خانواده آنتی بیوتیکی مقاوم شده اند و عمدتاً واجد توانایی تولید آنزیم β -لاکتاماز می باشند. از جمله این موارد می توان به انتشار و گسترش عفونت های بیمارستانی ناشی از انتروباکتریاسه با مقاومت چند گانه اشاره نمود. در بسیاری از کشورهای جهان بیش از 10% باکتریهای عامل عفونت های بیمارستانی در برابر سفالوسپورین های نسل سوم مقاومت نشان می دهند و در این میان بخش های مراقبت ویژه از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشند. حدود 30% از باکتری های عامل عفونت های بیمارستانی مقاوم در برابر سفالوسپورین های نسل سوم از بخش های مراقبت ویژه جداسازی می شوند و 67% از باکتری های جداسازی شده از عفونت های بیمارستانی واجد توانایی تولید آنزیم β -لاکتاماز می باشند (10، 11).

این مطالعه با هدف بررسی الگوی حساسیت سویه های استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جداسازی شده از دست پرسنل و سطوح بیمارستان در برابر برخی از آنتی بیوتیکهای بتا لاکتام در اصفهان انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه آزمایشگاهی در سال های 1384-1386 در بیمارستان فوق تخصصی الزهرا اصفهان انجام گرفته است. بر اساس برآورد حجم نمونه، 194 نمونه از سطوح بیمارستان و 80 نمونه از دست پرسنل بررسی شد.

جداسازی نمونه از دست پرسنل با استفاده از روش Fingerprint Technique انجام گردید (10، 12، 13). برای این منظور نمونه ها با تماس مستقیم سرانگشتان دست پرسنل، هم زمان روی محیط های Blood agar و EMB (Eosin Methylene Blue Agar) (ساخت شرکت Merck) جمع آوری گردیدند. نمونه های محیطی از سطوح کم تماس و پرتماس بیمارستان: صندلی، میز کنار تخت، کف اتاق، تشک پلاستیکی و لبه کنار پنجره اتاق بیماران بستری در بخش های: اطفال، جراحی، عفونی، داخلی، زنان، CCU، ICU جمع آوری گردیدند (10، 14).

عفونت های بیمارستانی از جمله مهمترین مشکلات گریبان گیر تمامی بیمارستانها در سرتاسر دنیا ست و هر دو گروه کشورهای پیشرفته و در حال توسعه را تحت تاثیر قرار می دهد. بررسیها مشخص کرده است عفونت های بیمارستانی یکی از دلایل اصلی مرگ و میر در تمامی کشورها محسوب می گردد (1-4). بر اساس آمار منتشره از طرف سازمان جهانی بهداشت بیشترین میزان عفونت های بیمارستانی در بیمارستانهای شرق مدیترانه و آسیای جنوب شرقی به ترتیب با شیوع 11/8% و 10% مشاهده شده است. بر اساس مطالعات سازمان جهانی بهداشت در سال 2005 بیش از 1/4 میلیون نفر از مردم دنیا از عوارض عفونت های بیمارستانی رنج برده اند. میزان مرگ و میر ناشی از انواع عفونت های بیمارستان 71%-14% متغیر می باشد (1-4).

دست کارکنان بیمارستان که مهم ترین عامل انتقال و انتشار باکتری ها به خصوص باکتریهای مقاوم در برابر آنتی بیوتیکها در بیمارستان است یکی از عوامل زنجیره عفونت محسوب می گردند (4-6). کنترل بهداشت دست پرسنل مراکز درمانی، مهم ترین عامل مهار انتشار باکتریهای خطرناک و مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها در میان پرسنل مراکز درمانی می باشد (7). فلور باکتریایی پوست در مناطق مختلف بدن واجد مقادیر مختلفی از باکتری های هوایی می باشد، باکتریهای روی دست پرسنل مراکز درمانی در محدوده $3/9 \times 10^4 - 4/6 \times 10^6$ CFU/cm² قرار دارد (8). سطوح بیمارستان از جمله عوامل چرخه عفونت محسوب می گردند. زیرا از توان بالقوه ای برای حفظ و نگهداری باکتریهای بیماری زا و نهایتاً انتشار عوامل عفونی در بیمارستان برخوردار می باشند (4، 9).

مسأله دیگری که به دنبال عفونت های بیمارستانی مطرح می گردد، گسترش و انتشار مقاومت های آنتی بیوتیکی در باکتریهای بیماری زا می باشد. از جمله مهم ترین آنتی بیوتیکهای مصرفی در بیمارستان ها، آنتی بیوتیکهای خانواده β -لاکتام می باشند. آنتی بیوتیک های مزبور انتخاب اول در درمان عفونت های ناشی گونه های پاتوژن استافیلوکوکوس به

قرار داده می شود و نتایج پس از 24-48 ساعت گرماگذاری در دمای 37 درجه سانتی گراد خوانده شد (16،10). سپس اطلاعات وارد رایانه شده و توسط نرم افزار SPSS (V:14) و آمار توصیفی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

بر اساس نتایج بدست آمده از 80 سویه جداسازی شده از دست پرسنل بیمارستان: 24 (30%) سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، 4 (5%) سویه های استافیلوکوکوس اورئوس را به خود اختصاص داده بودند. از 194 سویه جداسازی شده از سطوح بیمارستان (42% از سویه ها از سطوح کم تماس و 58% از سویه ها از سطوح پر تماس جداسازی شدند) 88 (45%) سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، 13 (6/7%) سویه های استافیلوکوکوس اورئوس، 4 (2%) سویه های استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس را به خود اختصاص داده بودند (نمودار 1).

بر اساس نتایج حاصل از تست اسیدمتریک، 11 (84/6%) سویه های استافیلوکوکوس اورئوس، 62 (70/45%)، سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جداسازی شده از سطوح بیمارستان و 16 (66/66%) سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، 3 (75%) سویه های استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از دست پرسنل، مولد آنزیم β -لاکتاماز بودند.

بر اساس نتایج آنتی بیوگرام به ترتیب (8/53%) 7، (2/69%) 9 و (23%) 3 از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس و (70%) 43، (67%) 45، (22%) 8 از سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، جداسازی شده از سطوح بیمارستان، هم چنین به ترتیب (51%) 2، (50%) 1 و (0%) 0 از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس و (90%) 20، (69%) 16، (33%) 8 از سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، جداسازی شده از پوست دست کارکنان بیمارستان، به ترتیب در برابر آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، سفوتاکسیم و پنی سیلین حساس بوده اند (نمودار 2 و 3).

جداسازی نمونه از سطوح بیمارستان با استفاده از روش جمع آوری نمونه های محیطی با سوآب و محیط NB (NutrientBroth) (ساخت شرکت Merck) انجام گردید. هر نمونه روی محیط های Blood Agar و EMB به روش خطی کشت داده شد. ظرف پتری به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه شدند. کلنی ها جداسازی و خالص سازی گردید، شناسایی گونه های استافیلوکوکوس با متدهای میکروب شناسی از جمله رنگ آمیزی، کواگولاز، DNase و مانیتول انجام گردید (15،10).

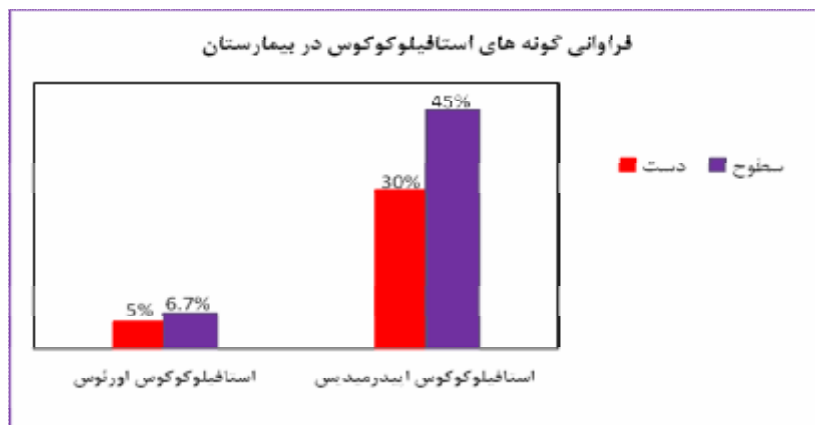
بررسی حضور آنزیم β -لاکتاماز در باکتری ها با روش اسیدومتریك انجام گردید. در این روش باکتری به محلولی که حاوی یکی از مشتقات پنی سیلین و یک معرف pH است (فنل رد) اضافه می گردد. محلول فوق الذکر بنفش رنگ است و در صورت تولید β -لاکتاماز، پنی سیلین به پنی سیلونیک اسید شکسته می شود و رنگ محلول از بنفش به زرد تغییر می یابد (10). در این روش 0/5 میلی لیتر از محلول فنل رد 0/5%، به 4/5 میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه گردید. سپس محلول به یک ویال حاوی پودر پنی سیلین جی 5 میلیون واحدی (ساخت شرکت پادتن طب) افزوده شد. پس از حل شدن پنی سیلین جی به آرامی و قطره قطره، محلول سود 1 مولار به ویال اضافه گردید. این کار تا تولید رنگ بنفش در محلول ادامه پیدا کرد. در این حالت pH محلول 8/5 می باشد. سپس یک لوله موئینه به قطر 0/2 - 1 میلی متر وارد ویال شد که پس از بالا آمدن محلول در لوله، بلافاصله روی سطح کلنی باکتری کشیده می شد، تا انتهای لوله توسط باکتری کاملاً مسدود گردد. نتیجه آزمایش بعد از 15-5 دقیقه قرائت می شد (10) (تصویر 1).

بررسی الگوی حساسیت باکتریها در برابر آنتی بیوتیکهای آمپی سیلین، سفوتاکسیم و پنی سیلین (ساخت شرکت پادتن طب) بر اساس روش کربی بائر انجام گردید. در این روش تحت شرایط استریل، سوسپانسیون با غلظت 0/5 مک فارلند باکتری با استفاده از سوآب در سطح محیط (MHA)Mueller-Hinton Agar (ساخت شرکت Merck) منتشر می گردد، سپس دیسکهای آنتی بیوتیکی روی محیط

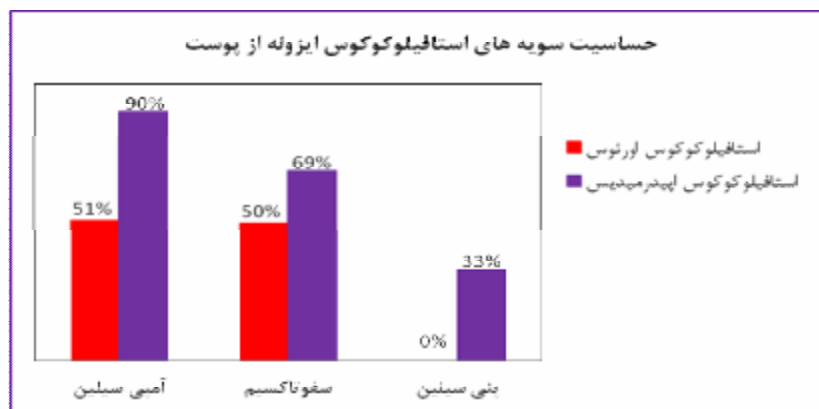


شاهد (سوسپانسیون باکتری) + -

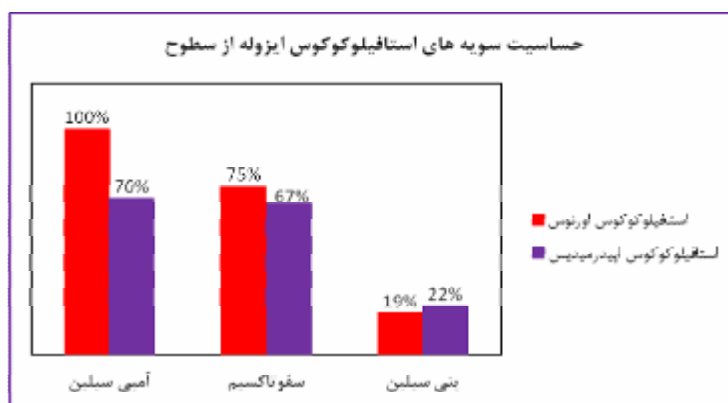
تصویر 1: آزمایش تولید β -لاکتاماز با روش اسیدومتریک



نمودار 1- فراوانی گونه های استافیلوکوکوس در بیمارستان



نمودار 2- الگوی حساسیت سویه های استافیلوکوکوس جداسازی شده از پوست دست در برابر آنتی بیوتیکهای بتا لاکتام



نمودار 3- الگوی حساسیت سویه های استافیلوکوکوس جداسازی شده از سطوح بیمارستان در برابر آنتی بیوتیکهای بتا لاکتام

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس عمده ترین باکتری گرم مثبت عامل عفونتهای بیمارستانی میباشد (19-17). شیوع این باکتری در میان سایر میکروبیهای عامل عفونتهای بیمارستانی 11,1% تا 17,2% است (19,17). بر اساس مطالعات انجام گرفته در دیگر کشورها، فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس روی دست پرسنل بیمارستان 10,5% تا 78,3% می باشد، کلونیزاسیون این باکتری روی دست پزشکان با فراوانی 36%، در مقایسه با دست پرستاران با فراوانی 18%، از شیوع بیشتری برخوردار می باشد (17). بر اساس مطالعات انجام شده در ایران فراوانی گونه های استافیلوکوکوس روی دست پرسنل و سطوح بیمارستان به ترتیب 35% و 55% و فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس روی سطوح بیمارستان 6/7% بوده است (14).

فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم در برابر متی سیلین (MRSA) روی دست پرسنل بیمارستان، بیش از 16,9% و فراوانی انتروکوکوس های مقاوم در برابر وانکومایسین (VRE) بیش از 41% می باشد (17). استافیلوکوکوس اورئوس حداقل 150 دقیقه می تواند روی دست زنده بماند و انتروکوکوس های مقاوم در برابر وانکومایسین بیش از 60 دقیقه می توانند روی دست و دستکش، توان حیاتی خود را حفظ نمایند (17). استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم در برابر متی سیلین ممکن است تا 7 ماه روی سطوح زنده بمانند، این در حالی است که سویه های

وحشی در مقایسه با سویه های آزمایشگاهی از توان حیاتی بیشتری برخوردار می باشند. انتروکوکوس های مقاوم در برابر وانکومایسین ممکن است 4 ماه توان حیاتی خود را روی سطوح حفظ نمایند (17).

بر اساس نتایج به دست آمده در مطالعات انجام گرفته در راستای بررسی و مقایسه اپیدمیولوژی باکتریها در بیمارستان، گونه های باسیلوس و استافیلوکوکوس، بیشترین و اعضاء خانواده انتروباکتریاسه کمترین باکتریهای جداسازی شده از سطوح و دست پرسنل بیمارستان بوده اند، این امر مؤید تشابه الگوی انتشار باکتریها در دست پرسنل و سطوح بیمارستان و نقش باکتریهای موجود بر منابع مزبور در آلودگی یکدیگر می باشد.

بر اساس نتایج تست اسیدومتريک در این مطالعه 79,8% سویه های استافیلوکوکوس اورئوس و 64,33% سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مولد آنزیم بتا-لاکتاماز بودند. بر اساس نتایج حاصله از تست اسیدومتريک در مطالعات انجام گرفته در ارتباط با شیوع بتا-لاکتاماز در باکتری های جداسازی شده از عفونتهای بیمارستانی مشخص گردیده 68/45% از باکتریهای جداسازی شده از عفونتهای بیمارستانی مولد بتا-لاکتاماز بوده اند (20). بر اساس نتایج حاصله از تست اسیدومتريک در مطالعات انجام گرفته در ارتباط با شیوع بتا-لاکتاماز در باکتریهای جداسازی شده از سطوح بیمارستان

بیوتیکی از باکتریهای مقاوم به باکتریهای حساس و در نتیجه شکل گیری سویه های مقاوم در برابر آنتی بیوتیکها می باشد (21،13،12). انتقال سویه های مقاوم در برابر آنتی بیوتیکها به بیماران بستری در بیمارستان منجر به افزایش عفونتهای بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی بیوتیکها می گردد. حفظ بهداشت محیط بیمارستان در کنترل تراکم میکروارگانیسم ها و به تبع آن کنترل عفونت های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی بیوتیکها بسیار حائز اهمیت می باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر اساس نتایج پایان نامه برتر میکروب شناسی ایران در سال 1388 به رشته تحریر درآمده است، بدین وسیله نگارنده کمال تشکر و قدردانی خود را از مدیریت بیمارستان فوق تخصصی الزهراء، مدیریت آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، مدیریت بخش مجلات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، کمیته کنترل عفونت بیمارستان الزهراء، خانم ها و آقایان دکتر روحا کسری کرمانشاهی، دکتر اشرف السادات نوحی، دکتر حمید زرکش اصفهانی، دکتر اردشیر طالبی، دکتر مهرداد معمارزاده، دکتر کامیار مصطفوی زاده، سینا مباحثی زاده، فریبرز کیانپور، محسن حسینی بالام، کبری مقصودی، مهندس علی مهربابی و تمامی عزیزانی که در به ثمر رسیدن این پژوهش یاریگر ما بودند، اعلام می دارد.

References

- 1- Kim JM. *Multicentre surveillance study for nosocomial infections in major hospitals in Korea*. Am J Infect Control. 2000; 28: 454-8.
- 2-Stone P, Larson E, Kawar L. *A systematic audit of economic evidence linking nosocomial infections and infection control interventions: 1990-2000*. Ame J Infect Cont. 2002;30:145-52.
- 3-Vasque J, Rossello J, Arribas JL. *Prevalence of nosocomial infections in Spain: EPINE study 1990-1997*. Epine Working Group. J Hosp Infect, 1999; 43: 105-111.
- 4-Girard R, Perraud M, Pruss A, Savey A, Tikhomirov E, Thuriaux M, Vanhems P. *Prevention of hospital-acquired infections*, A practical guide, Department of Communicable Disease, Surveillance and Response, Editors; Ducl G, Fabry j, Nicolle L, 2nd edition. 2002. Available at WHO/CDS/CSR/EPH/2002.12.
- 5-Raymond J, Aujard Y. *Nosocomial Infections in Pediatric Patients: A European, Multicenter Prospective Study*. Infect Control Hosp Epidemiol. 2000; 21:260-63.

مشخص گردید 61/54% از سویه های جداسازی شده از سطوح بیمارستان، مولد بتا-لاکتاماز بوده اند (14) و بر اساس نتایج حاصله از تست اسیدومتريک در مطالعات انجام گرفته در ارتباط با شیوع بتا-لاکتاماز در باکتریهای جداسازی شده از دست پرسنل مشخص گردیده، 46 (61/85%) از سویه های جداسازی شده از دست پرسنل بیمارستان، مولد آنزیم بتا بتا-لاکتاماز بوده اند (10).

نتایج این مطالعه و دیگر مطالعات انجام گرفته در این راستا حاکی از انتشار گسترده آنزیم بتا-لاکتاماز در باکتریهای جداسازی شده از نمونه های بالینی، محیطی و دست پرسنل بیمارستان بوده است (14،20،21).

نتیجه گیری

فراوانی بالای عفونتهای بیمارستانی بیانگر کیفیت ضعیف خدمات بهداشتی درمانی و همچنین ایجاد هزینه های غیر قابل اجتناب می باشد. نحوه کار مراقبان بیمار و همچنین محیط بیمارستان ممکن است میکروارگانیسم ها را در میان بیماران منتشر سازد. استفاده بی رویه از آنتی بیوتیکهای قوی باعث ایجاد مقاومت دارویی شده است. در حالی که در زمینه پیشگیری از عفونتهای بیمارستانی پیشرفت حاصل می شود تغییر در روشهای درمانی به طور مداوم فرصتهای جدیدی برای ایجاد عفونت خلق می نماید. از جمله پیامدهای عدم کنترل تراکم باکتریها، تسهیل انتقال ژن های القاکننده مقاومت آنتی

- 6-Pratt RJ. *The epic project: Developing national evidence-based guidelines for preventing healthcare associated infections. Phase I: Guidelines for preventing hospital-acquired infections*. J Hosp Infect. 2001; 47: 3-4.
- 7-Dier P, Hugonnet S, Harbarth S, Mourouga P. *Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene*. The Lancet. 2000;35:1307-11.
- 8-Boyce J.M, Pittet D. *Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings*. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. 2002; 51: 16.
- 9-Sehulster L, Raymond YW. *Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities*. U.S.Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2003, Atlanta GA 30333.
- 10-Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Noohi A, Zarkesh H. *Study of b-lactamase and S-layer Production in some of Isolated Pathogen Bacteria From Clinical and Environmental Hospital Samples*. MSc thesis, Iran, Tehran, Islamic Azad University Science and Research Branch Tehran. 2007:169-207.

- 11-Endimiani A, Paterson DL. *Optimizing therapy for infections caused by enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases*. *Semin Respir Crit Care Med*. 2007; 28(6):646-55.
- 12- Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Esfahani H. *The Prevalence of Nano-structure Surface Layer in Bacillus Cereus Strains Isolated from Staff Hands and Hospital Surfaces*. *Journal of Isfahan Medical School*. 2009; 27(100): 632-645.
- 13-Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Esfahani H. *The role of nanostructured surface layer and production of β -lactamase in penicillin resistant Bacillus cereus strains*. *IJMM*. 2010. 4(1): 18-26.
- 14-Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi A.S, Zarkesh Esfahani H. *Survey Frequency of β -lactamase Enzyme and Antibiotic Sensitivity Pattern in Isolated Pathogen Bacteria from Low and High Hospital Contact Surfaces*. *Pajuhandeh J*. 2010; 15(2):77-82.
- 15-Washington C, Stephen A, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6 ed*. USA: Lippincott williams and wilkins. 2006:775-9.
- 16-Wikler MA, Cockerill FR, Craig WA, Dudley MN, Eliopoulos GM, Hecht DW, et al. *Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009;29(3):32-44.
- 17- Kampf G, Kramer A. *Epidemiologic Background of Hand Hygiene and Evaluation of the Most Important Agents for Scrubs and Rubs*. *Clin Microbiol Rev*. 2004; 17(4):863-93.
- 18-Steinbrecher E, Sohr D, Nassauer A, Daschner F, Ruden H, Gastmeier P. *Die häufigsten Erreger bei Intensivpatienten mit nosokomialen Infektionen*. *Chemother J*. 2000; 9:179-183.
- 19-Kampf G, Ostermeyer C. *Inter-laboratory reproducibility of the EN 1500 reference hand disinfection*. *J Hosp Infect*. 2003; 53: 304-306.
- 20-Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Esfahani H. *Comparison of the Frequency β -lactamase Enzyme in Isolated Nosocomial Infectious Bacteria*. *JRUMS*. 2009;8(3):203-214.
- 21-Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Esfahani H. *Antibiotic Resistance in B.cereus st. isolated from Staff Hands and Hospital Surfaces*. *Third Iranian Congress of Clinical Microbiology*. Iran, shiraz. 2009:184.