Iranian Journal of Medical Microbiology | ISSN:2345-4342

Evaluation of the Effect of a Number of Commercial Disinfectants on *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Obtained from Human Infection Cases

Zohreh Hoseinpoor Mohammadabadi[1*], Azizollah Ebrahimi Kahrizsangi[1], Azam Mokhtari[1,2]

1. *Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran*
2. *Zoonotic Disease Research Institute, Shahrekord University, Shahrekord, Iran*

10.30699/ijmm.14.2.138

ABSTRACT

Background: Disinfectants have important clinical applications. Antibiotic resistance of some hospital pathogens such as *Pseudomonas aeruginosa* has led to the use of disinfectants. In the present study, the effects of four commercial disinfectants; Hydrocare, Benzalkonium Chloride, Cetrimide-C, and Vico sience on *Pseudomonas aeruginosa* isolates were investigated.

Materials & Methods: The dilutions of four tested disinfectants recommended by the manufacturer were prepared and their effects on twelve *Pseudomonas aeruginosa* isolates were evaluated at five, ten, fifteen minutes after the bacterial inoculation.

Results & Discussion: Hydrocare and Benzalkonium Chloride inhibited the growth of all strains while Cetrimide-C disinfectant did not inhibit the growth of bacterial strains at any time. The Vico sience completely inhibited the growth of bacterial strains at ten and fifteen minutes after the addition of disinfectant. Since the recommended dilutions by the manufacturer were prepared and evaluated in the present study, the inefficiency of some of the disinfectants indicated that the evaluation and dilution assay of the disinfectant is necessary prior to routine use in laboratories or health centers.

Keywords: Disinfectant, Hydrocare, Benzalkonium Chloride, Vico sience, Cetrimide- C, *Pseudomonas aeruginosa*

Received: 2019/12/23; **Accepted**: 2020/05/4; **Published Online:** 2020/05/30

Corresponding Information: **Zohreh Hoseinpoor Mohammadabadi,** Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran. Email: hoseinpoor325@gmail.com

Copyright © 2020, This is an original open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribution of the material just in noncommercial usages with proper citation.

Use your device to scan and read the article online

Hoseinpoor Mohammad Abadi Z, Ebrahimi Kahrizsangi A, Mokhtari A. Evaluation of the effect of some commercial disinfectants on *Pseudomonas aeruginosa* isolates from human infection. Iran J Med Microbiol. 2020; 14 (2) :138-153

Download citation: BibTeX | RIS | EndNote | Medlars | ProCite | Reference Manager | RefWorks
Send citation to: Mendeley Zotero RefWorks

Introduction

Nosocomial infections cause significant morbidity and mortality worldwide, and the pathogenic organisms that are responsible for such infections may resist antimicrobial agents. Therefore, understanding the activity of commercial disinfectants against environmental and pathogenic bacteria is very important **(1)** and the need for improved disinfection methods in therapeutic settings is abundantly felt **(2)**. *Pseudomonas aeruginosa* is an important bacterium responsible for nosocomial infections **(3)** that may resistant to antibiotics **(4).** Therefore, it causes multidrug- resistance infections **(5)**. *Pseudomonas aeruginosa* has a great importance due to its pathogenicity and adaptation to different environmental conditions **(6)**. In addition, it is known to be an important human pathogen that can lead to nosocomial infections, especially in the intensive care unit, immune system disorder, wound infection, skin burn, eye infection, bacteremia, etc **(7, 8)**. Which is a contaminant of medical instruments and causes of cross-infection in hospitals **(9)**. Disinfection methods in hospitals are the main type of intervention against pathogenic microorganisms **(10)**. Based on information reported by the European Center for Disease Prevention and Control (ECDC), About 33,000 people in Europe die each year from infections caused by multidrug-resistant bacteria **(11)**. Eighty- eight

thousand deaths from nosocomial infections have been reported in Iran in 1995 **(12)**. In recent years, numerous studies have been conducted in different countries to evaluate the effect of disinfectants and antiseptics against bacterial agents **(13).** Until now various disinfectants and compositions have been developed by different companies, each has its own disadvantages and advantages. Since manufacturers often exaggerate their product descriptions, it is sometimes difficult to choose a suitable disinfectant. Incorrect use of disinfectants also exposes the bacteria to non-lethal concentrations of these solutions and can subsequently help develop resistance. Therefore, it is necessary to verify the accuracy of the dilution protocols provided by the manufacturing companies before applying their products **(13, 14).**

Given the aforementioned and the importance of *Pseudomonas aeruginosa* in the incidence and complication of nosocomial infections and its intrinsic resistance to antibiotics, the use of appropriate methods to control it is very important. Therefore, in the present study, the effect of four disinfectants: Hydrocare, Benzalkonium Chloride, Vico sience and Cetrimide- C,with the dilutions recommended by the manufacturer in inhibiting the growth of *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from human infections at different time intervals was investigated.

Materials and Methods

Sample Collection

For the present study, in May 2019, seven strains were collected from the laboratory of Alzahra Hospital in Isfahan and four isolates along with a standard strain were obtained from Microbial Bank Collection of Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University.

Verification of Bacterial Samples

Bacterial samples were cultured on MacConkey agar medium and incubated at 37 ° C for 24-48 h. To purify and isolate the proliferating bacteria, one to two similar colonies were cultured on sterile blood agar medium and incubated at 37 ° C for 24–48 h to achieve single and pure colonies.

To confirm the bacterial growth, the colonies were first morphologically and biochemically tested and then cultured in TSB medium and incubated at 37 ° C for 24 hours. After the incubation, the bacteria grown in TSB were re- cultured in blood agar medium. Smears were prepared from the colonies and catalase and oxidase tests were performed (15). Then a single colony was picked out and was cultured on MacConkey agar medium to grow lactose-negative colonies. The bacteria were then cultured on Cetrimide agar medium and the production of brown and green pigments was investigated (16). The colonies were then cultured in TSI medium to evaluate the bacterial ability to consume glucose, lactose, sucrose and also hydrogen sulfide gas production, alkaline reaction and not fermenting sugar (16). At a later stage, colonies were cultured in SIM medium to test for SH2 and indole production, and bacterial motility. Subsequently, colonies were cultured on Lithmus Milk medium to observe the color change and fragmented clots (15).

Evaluation of the Effect of Disinfectants on *Pseudomonas aeruginosa* Strains

Hydrocare is a very powerful detergent and disinfectant that is used to prevent infectious diseases caused by drinking water **(17)**. According to the guidelines provided by Dominteb Company, Iran, a dilution of 4:100 Hydrocare disinfectants will be effective.

At first the stoke solution (4:100) of Hydrocare was prepared by adding 400 µL of Hydrocare to 9.6 ml of sterile distilled water. Then 1 ml of the stock solution was added to 9 mL of Yeas Extract Broth medium.

Vico sience is a rapid eliminator of a wide range of pathogens **(18).** According to the guidelines provided by Sciene Laboratories (LS), a dilution of 1:100 Vico sience disinfectants will be effective. To prepare a stock solution (1: 10) of Vico sience, 1 g of disinfectant was dissolved 9 ml of sterile distilled water. Then 1 ml of stock was dissolved in 9 ml of Yeas Extract Broth medium.

Benzalkonium Chloride is a broad spectrum biocide **(19)** that has various applications in disinfection industry **(20, 21)**, medicine **(22)** and home use **(23).** According to the guidelines provided by Benzalkonium Chloride (license number: D.T-140-93, Veterinary Organization), a dilution of 1:200 Benzalkonium Chloride disinfectants will be effective.

To prepare stock solution (1:200) of Benzalkonium Chloride 1 mL of disinfectant was dissolved in in 19 mL of sterile distilled water. Then, 1 mL of stock solution was added in 9 ml of Yeas Extract Broth medium.

Cetrimide-C or Savlon is a widely used disinfectant that is applied for disinfection and bandage, rinsing and disinfecting hospital equipment and the operating room, etc. It is a strong bactericidal, safe and free of toxic effects **(24)**. According to the guidelines provided by Cetrimide-C (license number: SH- 67- 013, Iran Daru Laboratory), a dilution of 1:200 Cetrimide-C disinfectants will be effective. For the preparation of Stoke solution (1:200) Cetrimide-C 1 mL of the disinfectant was dissolved in 19 ml of sterile distilled water. Then, 1 mL of obtained stock solution was added in 9 mL of Yeas Extract Broth medium.

To investigate the effect of disinfectants on *Pseudomonas aeruginosa* isolates, 2–3 colonies were picked up from the purified culture of each strain and cultured in tubes containing TSB medium. After the incubation at 37 ° C for 24 hours, the turbidity of the tubes

was compared with 0.5 McFarland standard turbidity (2.5×10^8 CFU / mL). Whereas the turbidity of the tubes containing the bacterial strain was higher than the 0.5 McFarland standard, the BHI environment was added and if the absorbance of the bacterial strain was lower than the standard, the bacterial colony was added to achieve a concentration equal to the 0.5-McFarland standard.

Subsequently, 100 µL of the obtained 0.5-McFarland medium was added to 9.9 mL of TSB medium to give the concentration of strains at 2.5×10^6 CFU / mL.

Then 100 microliter of bacterial strain at a concentration of 2.5×10^6 CFU / mL was added to tubes containing 9.9 mL of Yeas Extract Broth mixed with a disinfectant stock and it was completely mixed. At the times 5, 10, and 15 minutes after mixing the disinfectant dilution with the bacterial strain, 1 mL of the mixture of disinfectant and bacteria was added to 3 mL of BHI Broth and after a complete mixing, it was incubated at 37 ° C for 4 days. After this period of time, 50 µL of the mixture of disinfectant and bacteria was seeded on a Nutrient agar medium and then it was incubated at 37 ° C for 24 h. At the end, the growth or non-growth of bacterial colonies in was studied.

Results and Discussion

Confirmation of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates

The results of biochemical tests performed for purified colonies has been shown in Figure 1.

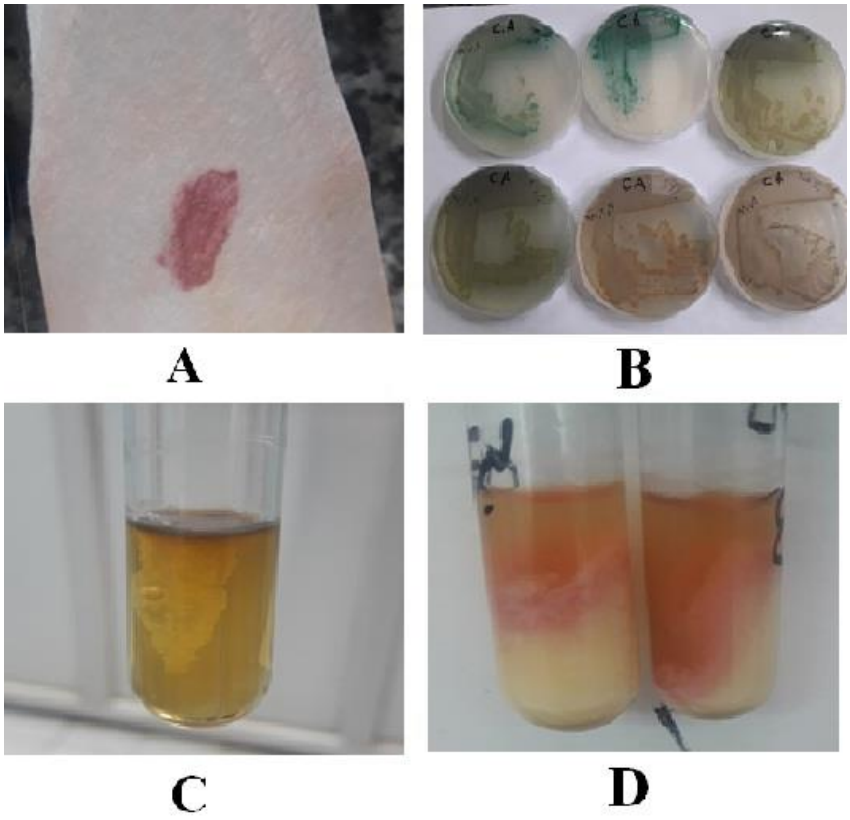


Figure 1. Confirmation of *Pseudomonas aeruginosa* isolates
A: Oxidase test, the colony is dark purple and confirms Pseudomonas aeruginosa.
B: Cetrimide agar test, produces brown and green pigments and confirms Pseudomonas aeruginosa.
C: SIM test, inverted cedar view which is a sign of movement and confirmation of Pseudomonas aeruginosa.
D: Lithmus Milk test, the pink environment is white with patches and confirms Pseudomonas aeruginosa.

Investigating the Effect of Each of the Tested Disinfectants on *Pseudomonas aeruginosa* Isolates.

The results of this study to investigate the antimicrobial effect of four disinfectants, Hydrocare, Benzalkonium Chloride, Cetrimide-C and Vico science in eliminating *Pseudomonas aeruginosa* isolated from human infections in hospitals, in terms of whether the recommended concentration is in the instructions. Disinfectants affect the removal of Pseudomonas aeruginosa species in hospital centers, to what extent is the manufacturer's instructions correct and to what extent has it simply deviated from the introduction of products?

According to Table 1, in 5, 10 and 15 minutes no bacterial growth was observed in any of the isolates.

In other words, the disinfectant Hydrocare kills the bacteria completely and has a 100% effect on the bacterium Pseudomonas aeruginosa.

According to Table 2, in 5, 10 and 15 minutes no bacterial growth was observed in any of the isolates. In other words, the disinfectant Benzalkonium Chloride kills the bacteria completely and has a 100% effect on the bacterium Pseudomonas aeruginosa.

Table 1. The effect of the disinfectant Hydrocare on *Pseudomonas aeruginosa* isolates

strains name	5 minutes	10 minutes	15 minutes
Standard	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains1	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains2	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains3	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains4	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains5	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains6	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains7	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains8	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains9	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains10	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains11	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Total	100% Non-growth	100% Non-growth	100% Non-growth

Table 2. The effect of the disinfectant Benzalkonium Chloride on *Pseudomonas aeruginosa* isolates

strains name	5 minutes	10 minutes	15 minutes
Standard	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains1	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains2	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains3	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains4	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains5	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains6	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains7	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains8	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains9	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains10	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains11	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Total	100% Non-growth	100% Non-growth	100% Non-growth

According to Table 3, Cetrimide-C disinfectant has seen approximately 3 growths from 12 isolates in 5 minutes and 100% bacterial growth in the other 9 strains. In the 10 minutes that most strains came in contact with disinfectants, about 4 strains of bacterial growth were not observed, and in the other 8 strains, 100 bacterial growths were observed. Within 15 minutes, when the strains were much higher in contact with disinfectants, no bacterial growth was observed in 4 strains and 100 bacterial growths were observed in the other 9 strains. According to the Cetrimide-C disinfectant, of the 12 isolates tested for Pseudomonas, 2 were effective: 1 and 10 isolates and it kills bacteria and prevents them from growing 10%, in Separation No. 9, contact with less disinfectant affects the bacteria, which is observed in 5 and 10 minutes 20% without growth and in 15 minutes it has been ineffective. Separation of No. 2 at low contact

times, in 5 minutes, was ineffective and in 10 minutes, it had a 10% effect on killing bacteria in contact with disinfectants for more than 15 minutes, the effect is greater and the bacteria does not grow 20%. In general, the antiseptic effect of Cetrimide-C on 12 strands of Pseudomonas aeruginosa in 5 minutes 20%, 10 minutes 25% and 15 minutes 30% prevents the growth of bacteria and the bacterium has sometimes been able to grow despite the presence of the Cetrimide-C disinfectant.

Table 3. The effect of the disinfectant Cetrimide-C on *Pseudomonas aeruginosa* isolates

strains name	5 minutes	10 minutes	15 minutes
Standard	100% growth	100% growth	100% growth
Strains1	90% growth	90% growth	90% growth
Strains2	100% growth	90% growth	80% growth
Strains3	100% growth	100% growth	100% growth
Strains4	100% growth	100% growth	100% growth
Strains5	100% growth	100% growth	100% growth
Strains6	100% growth	100% growth	100% growth
Strains7	100% growth	100% growth	100% growth
Strains8	100% growth	100% growth	100% growth
Strains9	90% growth	90% growth	100% growth
Strains10	80% growth	90% growth	90% growth
Strains11	100% growth	100% growth	100% growth
Total	20% Non-growth	25% Non-growth	30% Non-growth

According to Table 4, the Vico science disinfectant has not been effective in just 5 minutes at 80%, and only in isolating No. 11, 100% growth of bacteria was observed. Colon growth was not observed at any time of 10 min or 15 min and 100% disinfectant has not caused the growth of bacteria. In other words, the Vico science disinfectant has been quite effective in 11 Shush from the beginning and in the other Strains, it was not only effective in the first 5 minutes and with more contact, the disinfectant with the bacteria in 10 minutes and 15 minutes has completely destroyed the bacteria.

Table 4. The effect of the disinfectant Vico science on *Pseudomonas aeruginosa* isolates

strains name	5 minutes	10 minutes	15 minutes
Standard	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains1	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains2	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains3	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains4	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains5	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains6	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains7	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains8	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains9	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains10	Non-growth	Non-growth	Non-growth
Strains11	Growth100%	Non-growth	Non-growth
Total	92% Non-growth	100% Non-growth	100% Non-growth

Confirmation of the Effect of Disinfectants Tested on *Pseudomonas aeruginosa* Isolates

The results effects of the disinfectants tested on the Pseudomonas aeruginosa isolates can be seen in Figure 2.

Comparing the Effect of Disinfectants with *Pseudomonas aeruginosa* Isolates

The results of the present study to investigate the antimicrobial effect of four disinfectants of Hydrocare, Benzalkonium Chloride, Cetrimide-C and Vico science

against *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtaibed from human infections are summarized table 1. According to the information presented in this table, Hydrocare and Benzalkonium Chloride caused 100% non- growth at all 3 times of 5, 10 and 15 minutes. Vico science resulted in 100%, 100% and 92% at 15, 10 and 5 minutes bacterial non- growth, respectively. Cetrimide-C showed 20%, 25%, and 30% inhabitation of bacterial growth at 5, 10 and 15 minutes, respectively, and using ANOVA statistical test the difference in the antiseptic power of Citrimide-C was statistically significant (P<0.05).

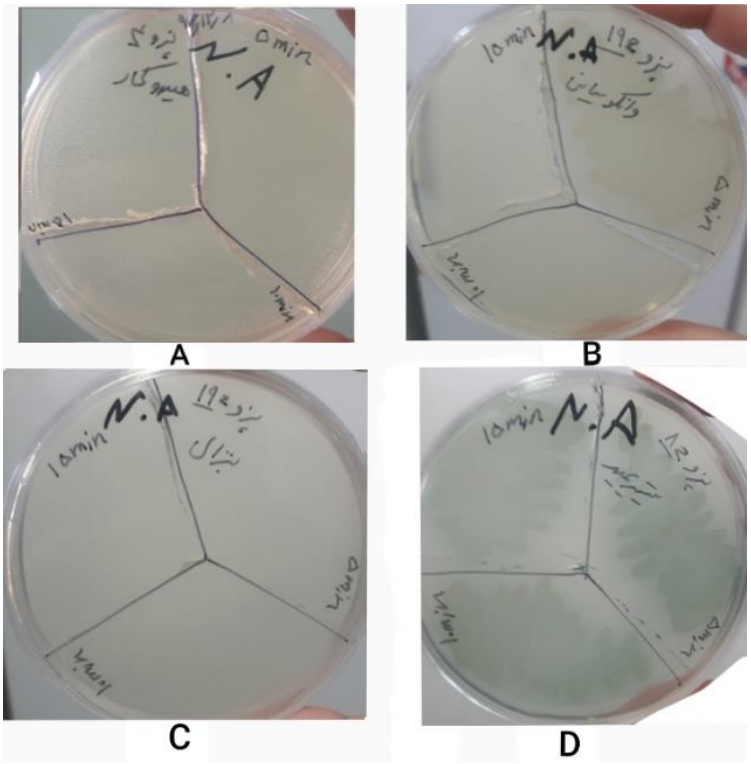


Figure 2. Confirmation of the Effect of Disinfectants on *Pseudomonas aeruginosa*

A: The effect of the disinfectant Hydrocare on Strains4, at all three times, the bacteria did not fully grow for 5, 10, and 15 minutes.

B: The effect of the disinfectant Vico science on Strains11, (In the form of: 19z sample number in the hospital), the disinfectant did not work for 5 minutes and the bacteria grew Colonial growth was not observed at 10 min and 15 min, and the disinfectant had a 100% effect.

C: The effect of the disinfectant Benzalkonium Chloride on Strains11, at all three times, the bacteria did not fully grow for 5, 10, and 15 minutes.

D: The effect of the disinfectant Cetrimide-C on Strains 8, At all three times, the bacteria were fully formed for 5, 10 and 15 minutes.

Table 5. The effect of the disinfectants on *Pseudomonas aeruginosa* isolates (12 strains)

Disinfectant name	5 minutes	10 minutes	15 minutes
Hydrocare	100% Non-growth	100% Non-growth	100% Non-growth
Benzalkonium chloride	100% Non-growth	100% Non-growth	100% Non-growth
Vico sience	92% Non-growth	100% Non-growth	100% Non-growth
Cetrimide- C	20% Non-growth	25% Non-growth	30% Non-growth

In this study, it was very difficult to determine which disinfectant was the most potent; although the results from Cetrimide- C were very poor, the three other disinfectants did not differ significantly. The results showed that Cetrimide- C may not be suitable and useful for control of *Pseudomonas aeruginosa* in health centers and hospitals and if is used according to the manufacture instructions, it will not only has the ability to inhibit bacterial growth but can also cause irreparable damages.

Along with the present study, other studies have been carried out including:

El-Bana *et al.* (2019) studied the effect of non-lethal concentrations of Benzalkonium Chloride on the antibiotic resistance, growth pattern and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* isolates and the results indicated that 60% of isolates showed increased biofilm formation and antibiotic resistance **(25)**.

Montagna et al (2019) evaluated the effect of five hospital antibacterial disinfectants (Phenolic compounds, Quaternary Ammonium compounds, Sodium hypochlorite, alcoholic compounds and Hydrogen peroxide) on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and Enterococcus. The results showed that Hydrogen peroxide at all concentrations was the only disinfectant that had inhibitory effect against all tested microorganisms **(1)**.

Vijaya *et al.* (2016) addressed the issue of increasing the drug resistance of Pseudomonas aeruginosa clinical strains against common disinfectants in the laboratory, it has been shown that aerogenous strains increase by 22% multidrug resistance as well as decrease resistance to benzalkonium chloride disinfectant **(26)**. Medical environments, etc., may be infected with microorganisms, which are disinfected with disinfectants such as benzalkonium chloride. Of course, various factors can be involved in the resistance of pathogens to this disinfectant.

Hourai *et al.* (2004) studied the disinfectant effect of benzalkonium chloride and chlorhexidine on bacterial biofilm formation, the bacterium Pseudomonas aeruginosa is more resistant to the disinfectant benzalkonium chloride. The results of the study by Hourai *et al.* Did not show much agreement with the present study, because in our study, benzalkonium chloride showed a 100% inhibitory effect against the growth of Pseudomonas aeruginosa bacteria. The reason for this discrepancy may be due to differences in the methods used in the two studies as well as differences in the studies studied **(27)**.

Carson *et al.* (1972) examined the factors affecting the resistance of Pseudomonas aeruginosa purified from a hospital center to disinfectants, they found that Pseudomonas aeruginosa was inactivated by contact with glutaraldehyde chloride, acetic acid, and a combination of ammonium quaternary, this inactivation depends on factors such as the growth stage at the time of contact with the disinfectant, the nature of the disinfectant, and the incubation temperature. The results of a study by Carson *et al.* On the effect of ammonium quaternary compound on Pseudomonas aeruginosa were consistent with the results of the present study **(28)**.

Olasehinde *et al.* (2008) addressed the effect of Savlon, Dettol, la-naphtho disinfectants on Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhoid and Proteus bacteria. In this study, the concentration of disinfectants was increased by 25% and the results showed that all disinfectants had weaker inhibitory inhibition than microorganisms in the early stages, As the concentration increased, the disinfectant effect increased (29). The findings of this study on the weakness of the antimicrobial effect of Saulen are in line with the findings of the present study.

Hassan *et al.* (2008) examined the effect of a number of common hospital disinfectants against Pseudomonas aeruginosa isolated from patients' infections. The strains studied showed resistance to the three ethanol disinfectants, Jeremy Side-P and Pidon Ayodine with different dilutions in the surface test with different percentages and only Cetrimide-C was able to completely eliminate all strains by consuming 1 to 30 **(30)**. The reason for the discrepancies between the findings of this study and the results of the present study is that the concentration of 1 to 30 Savlon used in the study of Hassan *et al.* Is much higher than the concentration recommended by the manufacturing plant in the present study.

Gasparini *et al.* (1995) discussed the effect of Virkon S on Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Spor bacillus bacteria, and hepatitis B surface antigen, Virkon S was in contact with the mentioned bacteria for 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 minutes and they found that Virkon S was able to destroy the surface antigen of hepatitis B. They also found that Virkon S was suitable for destroying spores. The results of this study showed that Virjon S is a very fast disinfectant. The results of the Gasparini *et al.* Study of the effect of vacuoussion on Pseudomonas aeruginosa are fully consistent with the results of the present study **(31)**.

Acknowledgment

The present study is based on a Master's thesis in Bacteriology at Shahrekord University. The authors are grateful to the personnel of the Microbiology Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University.

Conflict of Interest

Authors declared no conflict of interests.

مقاله کوتاه

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۴ ـ شماره ۲ ـ فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۹

Journal homepage: www.ijmm.ir

ارزیابی تأثیر تعدادی از ضدعفونی‌کننده‌های تجاری برجدایه‌های *سودوموناس آیروجینوزا* جدا شده از موارد عفونت انسانی

زهره حسین پور محمدآبادی*[۱]، عزیزالله ابراهیمی کهریزسنگی[۱]، اعظم مختاری[۱،۲]

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲. پژوهشکدهٔ بیماری‌های مشترک انسان و دام، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچهٔ مقاله

دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۱۰

پذیرش:۱۳۹۹/۰۲/۱۵

انتشار آنلاین: ۱۳۹۹/۰۳/۱۰

موضوع:

مواد ضد میکروبی

نویسندهٔ مسئول:

زهره حسین پور محمدآبادی،

گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

ایمیل:

hoseinpoor325@gmail.com

چکیده

زمینه و اهداف: ضدعفونی‌کننده‌ها کاربردهای بالینی مهمی دارند. مقاومت آنتی‌بیوتیکی برخی پاتوژن‌های بیمارستانی نظیر *سودوموناس آئروجینوزا* منجر به استفاده از ضدعفونی‌کننده‌ها شده‌است. در پژوهش حاضر تأثیر چهار ضدعفونی‌کننده؛ اینتراهیدروکر، بنزالکونیوم کلراید، ستریمید-سی و وایکوسیانس بر روی تعدادی جدایهٔ *سودوموناس آئروجینوزا* بررسی شد.

مواد و روش کار: رقت‌های توصیه‌شده توسط ؤکارخانهٔ سازنده از چهار ضدعفونی‌کنندهٔ‌کنندهٔ مورد بررسی تهیه شده و تأثیر آنها علیه ۱۲ جدایهٔ *سودوموناس آیروجینوزا* در زمان‌های ۵، ۱۰، ۱۵ دقیقه بعد از اضافه کردن باکتری بررسی شد.

یافته‌ها و بحث: اینتراهیدروکر و بنزالکونیوم کلراید رشد تمام سوش‌ها را در هر سه زمان مورد بررسی مهار کردند درحالی‌که ستریمید- سی در هیچ زمانی موجب عدم رشد سوش‌های باکتری نشد. وایکوسیانس در زمان‌های ۱۰ و ۱۵ دقیقه به‌طور کامل رشد سوش‌های باکتری را مهار کرد. با توجه به اینکه در پژوهش حاضر رقت‌های توصیه شده توسط کارخانه سازنده تهیه شده و مورد ارزیابی قرار گرفتند، عدم کارایی کامل تعدادی از ضدعفونی کننده‌ها نشان داد که ارزیابی و رقت‌سنجی ضدعفونی کننده پیش از ؤاستفادهٔ معمول در آزمایشگاه‌ها و یا مراکز بهداشتی ضروری است.

کلید واژه‌ها: ضدعفونی‌کننده، اینتراهیدروکر، بنزالکونیوم کلراید، ستریمید-سی، وایکوسیانس، *سودوموناس آئروجینوزا*.

کپی‌رایت © مجله میکروب شناسی پزشکی ایران: دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده غیرتجاری با ذکر منبع آزاد است.

مقدمه

عفونت‌های بیمارستانی باعث عوارض و مرگ و میر قابل ملاحظه‌ای در سراسر جهان می‌شوند و ارگانیسم‌های بیماری‌زا که مسئول چنین عفونت‌هایی هستند می‌توانند در برابر عوامل ضد میکروبی مقاومت ایجاد کنند. درک فعالیت ضدعفونی کننده‌ها در برابر باکتری‌های زیست محیطی و باکتریایی محیطی بسیار مهم بوده (۱) و نیاز به بهبود روش‌های ضدعفونی در محیط‌های درمانی به فراوانی احساس می‌شود (۲). *سودوموناس آئروجینوزا* یک باکتری مهم در عفونت‌های بیمارستانی (۳) و از جمله باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها است (۴) که باعث عفونت‌های ناشی از مقاومت به چند دارو می‌شود (۵). *سودوموناس آئروجینوزا* به‌لحاظ بیماری‌زایی و سازگاری در شرایط مختلف محیطی از اهمیت بالایی برخوردار است (۶) به‌علاوه به‌عنوان یک پاتوژن مهم انسانی شناخته شده است که منجر به عفونت‌های بیمارستانی به‌ویژه در بخش مراقبت‌های ویژه، اختلال سیستم ایمنی، عفونت زخم، سوختگی پوست، عفونت چشمی، باکتریمی و غیره می‌شود (۷،۸). علاوه‌براین، از عوامل آلوده کنندهٔ ابزارآلات پزشکی و عامل عفونت متقاطع در بیمارستان‌ها است (۹). روش‌های ضدعفونی‌کننده در بیمارستان‌ها اصلی‌ترین نوع مداخله در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به شمار می‌رود (۱۰). براساس اطلاعاتی که توسط مرکز اروپایی پیشگیری و کنترل بیماری‌ها (ECDC) گزارش شده است، هر ساله حدود ۳۳۰۰۰ نفر در اروپا در اثر عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم به چند دارو جان خود را از دست می‌دهند (۱۱). در ایران در سال ۱۳۷۴، هشتاد و هشت هزار مورد مرگ در اثر عفونت‌های بیمارستانی در دنیا گزارش شده است (۱۲). در سال‌های اخیر

تحقیقات متعددی در کشورهای مختلف در خصوص ارزیابی تأثیر ضدعفونی‌کننده‌ها و آنتی‌سپتیک‌ها علیه عوامل باکتریایی صورت گرفته است (۱۳). تاکنون ترکیبات و مواد ضدعفونی‌ءکنندهٔ گوناگونی توسط شرکت‌های مختلف ساخته شده که هر یک دارای معایب و مزایایی هستند. به همین دلیل گاه انتخاب یک ضدعفونی‌کنندهٔ مناسب کار مشکلی است چرا که شرکت‌های سازنده در اغلب موارد در توصیف محصول خود اغراق می‌کنند و موجب عدم کارایی محلول‌های ضدعفونی برای کنترل عفونت در سطوح و به دنبال آن ایجاد خسارت‌های جبران ناپذیری می‌شوند. همچنین استفادهٔ نادرست از این محلول‌ها باعث قرار گرفتن باکتری‌ها در معرض غلظت‌های غیر ءکشندهٔ ضدعفونی‌کننده‌ها می‌شود و متعاقباً ممکن است به ءتوسعهٔ مقاومت کمک کند. لذا ضروری است پیش از استفاده و توصیهٔ این قبیل محصولات جدید، آزمایشاتی مبنی بر بررسی صحت نکات ذکرشده توسط شرکت‌های سازنده انجام پذیرد (۱۳،۱۴).

با توجه به موارد ذکرشده و اهمیت *سودوموناس آئروجینوزا* در بروز و پیچیده شدن عفونت‌های بیمارستانی و نیز مقاومت ذاتی آن نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از روش‌های مناسب جهت کنترل و مهار این باکتری بسیار حائز اهمیت است. به همین دلیل در پژوهش حاضر ارزیابی تأثیر چهار ضدعفونی‌کنندهٔ اینتراهیدروکر، بنزالکونیوم کلراید، ستریمید-سی و وایکوسیانس با رقت‌های توصیه شده توسط کارخانه تولیدکننده در مهار رشد جدایه‌های *سودوموناس آئروجینوزا* جدا شده از موارد عفونت‌های انسانی در بازه‌های زمانی مختلف انجام شد.

روش پژوهش

جمع‌آوری نمونه

برای انجام این پژوهش در اردیبهشت ماه ۱۳۹۸، هفت سویه از آزمایشگاه بیمارستان الزهراء اصفهان و چهار سویه به همراه یک سوش استاندارد از مجموعه بانک میکروبی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد تهیه شد.

تأیید نمونه‌های باکتریایی

نمونه‌های باکتریایی تهیه‌شده با کشت استریک روی مکانکی آگار و انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت احیا شد. به‌منظورخالص‌سازی و ایزوله کردن باکتری‌های تکثیرشده، یک تا دو کلنی مشابه روی محیط بلاد آگار کشت استریک داده شد و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت زمان ۲۴-۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد تا کلنی‌های تک و خالص رشد کنند.

برای تأیید تشخیص باکتری رشد کرده، در ابتدا نمونه‌ها از نظر مورفولوژی و بیوشیمیایی مورد آزمایش قرار گرفته و سپس از هر نمونه جداگانه در محیط TSB کشت داده شده و ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. پس از طی این مدت، از باکتری رشد یافته در محیط TSB در محیط بلاد آگار کشت خطی داده شد. از کلنی‌های رشد یافته گسترش تهیه شده و تست‌های کاتالاز و اکسیداز انجام گردید (۱۵). سپس از باسیل‌های گرم منفی یک تک کلنی برداشته شده و به صورت خطی روی مکانکی آگار کشت داده شد تا کلنی‌های لاکتوز منفی ایجاد شوند. سپس باکتری روی محیط ستریماید آگار کشت داده شد و تولید پیگمان‌های رنگی قهوه‌ای و سبز مورد بررسی قرار داده شد (۱۶).

سپس از کلنی‌های رشد یافته در محیط TSI کشت داده شد تا توانایی باکتری در مصرف قندهای گلوکز، لاکتوز، ساکارز و نیز تولید گاز سولفید هیدروژن، واکنش قلیا و عدم تخمیر قند مورد بررسی قرار گیرد (۱۶). در مرحلهٔ بعد از کلنی‌ها در محیط SIM کشت تهیه شد تا تولید SH_2، اندول و حرکت (Motility) باکتری تست شود. در ادامه در محیط لیتموس میلک کشت تهیه شد تا تغییر رنگ محیط به صورتی با لخته‌های تکه‌تکه شده مشاهده شود (۱۵).

بررسی اثر ضدعفونی‌کننده‌ها بر روی سویه‌های *سودوموناس آئروجینوزا*

اینتراهیدروکر(Hydrocare) یک پاک‌کننده و ضدعفونی‌کنندهٔ بسیار قوی است که به‌منظور جلوگیری از بیماری‌های عفونی ناشی با منشأ آب آشامیدنی به کار می‌رود (۱۷). با توجه به دستورالعمل درج‌شده توسط شرکت دامین طب رقت ۴ به ۱۰۰ ضدعفونی‌کننده اینتراهیدروکر موثر خواهد بود. برای تهیه استوک ۴ به ۱۰۰ ضدعفونی‌کننده اینتراهیدروکر در ابتدا ۴۰۰ میکرولیتر ضدعفونی‌کننده در ۹/۶ میلی‌لیتر آب مقطر استریل تهیه شد. سپس میزان ۱ میلی‌لیتر از استوک به‌دست آمده به لولهٔ حاوی ۹ میلی‌لیتر Yeas Exttact Broth اضافه شد.

وایکوسیانس (Vico sience) یک ضدعفونی‌کننده و از بین برندهٔ سریع طیف وسیعی از پاتوژن‌های بیماری‌زا است (۱۸). با توجه به دستورالعمل ذکرشده توسط شرکت لابراتوارهای سیانس (LS) رقت ۱ به ۱۰۰ ضدعفونی‌کننده وایکوسیانس موثر خواهد بود. برای تهیهٔ استوک ۱ به ۱۰۰ ضدعفونی‌کننده وایکوسیانس میزان ۱ گرم از مادهٔ ضدعفونی کننده در ۹ میلی‌لیتر آب مقطر

استریل حل شد. سپس میزان ۱ میلی‌لیتر از استوک تهیه شده در ۹ میلی‌لیتر محیط Yeas Extract Broth حل شد.

بنزالکونیوم کلراید یک بایوساید آمونیوم چهارتایی با طیف گسترده است (۱۹) و کاربردهای مختلفی در ضدعفونی، صنعت (۲۰و۲۱) پزشکی (۲۲) و استفادهٔ خانگی (۲۳) دارد. با توجه به دستورالعمل درج‌شده بر روی ضدعفونی‌کنندهٔ بنزالکونیوم کلراید با شماره پروانه 93-140-D.T از سازمان دامپزشکی کشور رقت ۱ به ۲۰۰ این ضدعفونی‌کننده موثر خواهد بود. برای تهیهٔ استوک ۱ به ۲۰۰ از ضدعفونی‌کنندهٔ بنزالکونیوم کلراید ۱ میلی‌لیتر از ضدعفونی‌کننده در ۱۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل شد. سپس حجم ۱ میلی‌لیتر از استوک به‌دست‌آمده در ۹ میلی‌لیتر محیط Yeas Extract Broth حل شد.

ستریمید-سی یا ساولن (Savlon) یک ضدعفونی‌کننده با استفادهٔ گسترده است که برای ضدعفونی و پانسمان زخم‌ها و سوختگی‌ها، شست و شو و ضدعفونی وسایل و لوازم بیمارستانی، ضدعفونی اتاق عمل و... به کار می‌رود و یک باکتری‌کش قوی، ایمن و فاقد اثرات سمی است (۲۴). با توجه به دستورالعمل درج شده بر روی ضدعفونی‌کنندهٔ ستریمید-سی با شماره پروانه 67-SH-013 از شرکت لابراتوار شهر دارو تهران-ایران رقت ۱ به ۲۰۰ این ضدعفونی کننده موثر خواهد بود. برای تهیهٔ استوک ۱ به ۲۰۰ از ضدعفونی‌کنندهٔ ستریمید-سی ۱ میلی‌لیتر از ضدعفونی‌کننده در ۱۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل شد. سپس حجم ۱ میلی‌لیتر از استوک به دست آمده در ۹ میلی‌لیتر محیط Yeas Extract Broth حل گردید.

برای بررسی اثر ضدعفونی‌کننده‌ها بر روی سویه‌های باکتری *سودوموناس آئروجینوزا* جدا شده، میزان ۲-۳ کلنی از کشت خالص‌شدهٔ هر سوش برداشته و در لوله‌های حاوی محیط TSB کشت داده شد، پس از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت، کدورت لوله‌ها با کدورت استاندارد نیم مک فارلند ($۲/۵\times۱۰^{۸}$CFU/ML) مقایسه شد. درصورتی‌که کدورت لولهٔ حاوی سوش باکتری از استاندارد نیم مک فارلند بیشتر بود محیط BHI اضافه می‌شد و چنانچه کدورت لولهٔ حاوی سوش باکتری از استاندارد نیم مک فارلند شفاف‌تر بود به آن کلنی باکتری اضافه می‌گردید تا غلظت لوله‌ها برابر با استاندارد نیم مک فارلند شود.

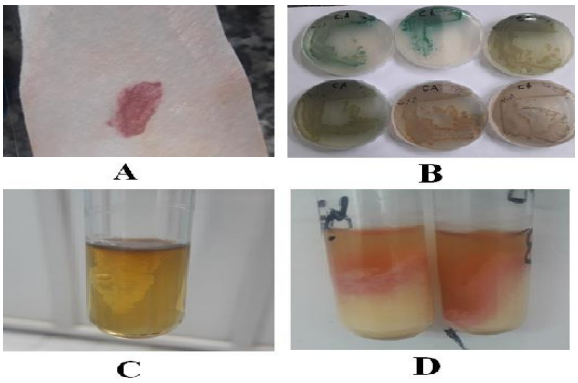
در ادامه میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محیط نیم مک فارلند به دست آمده به ۹/۹ میلی‌لیتر محیط TSB اضافه شد تا غلظت سوش‌ها با غلظت ($۲/۵\times۱۰^{۶}$ CFU/ML) باشد.

۱۰۰ میکرولیتر از سوش باکتری با غلظت ($۲/۵\times۱۰^{۶}$CFU/ML) به لوله‌های حاوی ۹ میلی‌لیتر Yeas Extract Broth که مخلوط با استوک ضدعفونی‌کننده بود افزوده شد و کاملاً مخلوط گردید. از زمان مخلوط شدن رقت تهیه شده از مادهٔ ضد عفونی کننده و سوش باکتری به سرعت زمان ۵، ۱۰و ۱۵ دقیقه ثبت شد. بعد از گذشت این فواصل زمانی، میزان ۱ میلی‌لیتر از لوله‌های حاوی Yeas Extract Broth ، ضدعفونی‌کننده و باکتری به ۳ میلی‌لیتر BHI Broth افزوده و پس از مخلوط شدن کامل، به مدت ۴ روز در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفت. بعد از گذشت این مدت زمان، از هر یک از ۳ لوله‌ای که مربوط به هر یک از زمان‌های مورد بررسی بود، یک حلقه آنس برداشته و بر روی محیط نوترینت آگار کشت چمنی داده شد و سپس در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. در انتها رشد یا عدم رشد کلنی‌های باکتری در پلیت‌های نوترینت آگار مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها و بحث

تأیید سویه‌های باکتری *سودوموناس آئروجینوزا*

نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی انجام گرفته روی کلنی‌های خالص‌شده، در شکل ۱ قابل مشاهده است.



شکل ۱. تأیید سویه‌های باکتری *سودوموناس آئروجینوزا*

(A). تست اکسیداز، کلنی به رنگ ارغوانی تیره یا بنفش درآمده و تاییدی بر باکتری *سودوموناس آئروجینوزا* می باشد.(B). تست ستریماید آگار، تولید پیگمان رنگی قهوه ای و سبز نموده و تاییدی بر باکتری *سودوموناس آئروجینوزا* می باشد.(C). تست SIM، اطراف خط کشت کدورتی به شکل سرو وارونه ایجاد شده که تاییدی بر باکتری *سودوموناس آئروجینوزا* می‌باشد.

(D). تست لیتموس میلک، محیط به رنگ صورتی با لخته‌های سفید تکه‌تکه شده درآمده و تاییدی بر باکتری *سودوموناس آیروجینوزا* می‌باشد.

بررسی تأثیر هر یک از ضدعفونی‌کننده‌های مورد آزمایش بر روی جدایه‌های *سودوموناس آئروجینوزا*

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش جهت بررسی اثر ضدمیکروبی چهار ضدعفونی‌کننده اینتراهیدروکر، بنزالکونیوم کلراید، ستریمید-سی و وایکوسیانس در از بین بردن جدایه‌های *سودوموناس آیروجینوزا* جدا شده از عفونت‌های انسانی بیمارستان‌ها از این نظر بررسی شد که آیا غلظت پیشنهادی در دستورالعمل کارخانهٔ تولیدی هر ضدعفونی‌کننده در از بین بردن سویه‌های *سودوموناس آیروجینوزای* مراکز بیمارستانی تأثیر می‌گذارد یا خیر؛ و نهایتاً تا چه میزان الگوی دستورالعمل کارخانهٔ سازنده درست بوده و تا چه حد صرفاً انحرافی برای معرفی محصولات بوده است.

با توجه به جدول ۱ در زمان‌های ۵ ، ۱۰ و ۱۵ دقیقه در هیچ کدام از جدایه‌ها شاهد رشد باکتری نبوده و ۱۰۰٪ عدم رشد مشاهده شد. به عبارت دیگر ضدعفونی‌کنندهٔ اینتراهیدروکر موجب نابودی کامل باکتری می‌شود و تأثیر ۱۰۰٪ بر روی باکتری *سودوموناس آیروجینوزا* دارد.

با توجه به جدول ۲ در زمان‌های ۵ ، ۱۰ و ۱۵ دقیقه در هیچ یک از جدایه‌ها رشد باکتری مشاهده نشده و ۱۰۰٪ عدم رشد باکتری رؤیت گردید. براین اساس ضدعفونی‌کنندهٔ بنزالکونیوم کلراید منجر به از بین رفتن کامل باکتری شده و تأثیر ۱۰۰٪ بر روی باکتری *سودوموناس آیروجینوزا* داشته است.

جدول ۱. تأثیر ضدعفونی‌کنندهٔ اینتراهیدروکر بر جدایه‌های *سودوموناس آیروجینوزا*

نام سوش‌ها	زمان ۵ دقیقه	زمان ۱۰ دقیقه	زمان ۱۵ دقیقه
استاندارد	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۱	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۲	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۳	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۴	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۵	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۶	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۷	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۸	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۹	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۱۰	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۱۱	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جمع جدایه‌ها	**۱۰۰٪ عدم رشد**	**۱۰۰٪ عدم رشد**	**۱۰۰٪ عدم رشد**

جدول ۲. تاثیر ضدعفونی‌کننده بنزالکونیوم کلراید بر جدایه‌های *سودوموناس آیروجینوزا*

نام سوش‌ها	زمان ۵ دقیقه	زمان ۱۰ دقیقه	زمان ۱۵ دقیقه
استاندارد	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۱	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۲	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۳	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۴	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۵	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۶	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۷	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۸	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۹	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۱۰	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۱۱	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جمع جدایه‌ها	**۱۰۰٪ عدم رشد**	**۱۰۰٪ عدم رشد**	**۱۰۰٪ عدم رشد**

با توجه به جدول۳ ضدعفونی‌کننده ستریمید-سی در بین ۱۲ جدایه در زمان ۵ دقیقه تقریباً ۳ سوش عدم رشد کامل داشته و در ۹ سوش دیگر ۱۰۰٪ رشد باکتری مشاهده شد. در زمان ۱۰ دقیقه که سوش با ضدعفونی‌کننده بیشتر در تماس بود تقریباً در ۴ سوش عدم رشد کامل باکتری و در ۸ سوش دیگر ۱۰۰٪ رشد باکتری مشاهده گردید. در زمان ۱۵ دقیقه که تماس سوش با ضدعفونی‌کننده خیلی بیشتر بود در ۳ سوش عدم رشد کامل باکتری و در ۹ سوش دیگر ۱۰۰٪ رشد باکتری مشاهده شد.

براین اساس ضدعفونی‌کننده ستریمید-سی از بین ۱۲ جدایه سودوموناس مورد آزمایش بر ۲ جدایهٔ شمارهٔ ۱ و ۱۰ تأثیر داشته و موجب از بین رفتن باکتری و ۱۰٪ عدم رشد آن‌ها شده، در جدایهٔ شمارهٔ ۹ تماس کمتر ضدعفونی‌کننده بر باکتری تأثیرگذار بوده که در ۵ و۱۰ دقیقه ۲۰٪ عدم رشد مشاهده شده و در ۱۵ دقیقه بی‌تأثیر بوده‌است. در جدایهٔ شمارهٔ ۲ در زمان‌های تماس کم یعنی ۵ دقیقه بی‌تأثیر بوده و در۱۰ دقیقه تأثیر ۱۰٪ در نابودی باکتری داشته و تماس بیشتر یعنی ۱۵ دقیقه ضدعفونی‌کننده تاثیر بیشتر شده و باکتری ۲۰٪ عدم رشد داشته است.

در مجموع می‌توان گفت تأثیری که ضدعفونی‌کنندهٔ ستریمید-سی بر روی ۱۲ سوش *سودوموناس آیروژینوزا* می‌گذارد در زمان ۵ دقیقه ۲۰٪، در زمان ۱۰ دقیقه ۲۵٪ و در زمان ۱۵ دقیقه ۳۰٪ عدم رشد باکتری را به دنبال دارد که نشان می‌دهد باکتری گاهی با وجود حضور ضدعفونی‌کننده ستریمید-سی قادر به رشد بوده است.

جدول ۳. تاثیر ضدعفونی‌کننده ستریمید-سی بر جدایه‌های *سودوموناس آیروجینوزا*

نام سوش‌ها	زمان ۵ دقیقه	زمان ۱۰ دقیقه	زمان ۱۵ دقیقه
استاندارد	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری
جدایه ۱	۹۰٪ رشد باکتری	۹۰٪ رشد باکتری	۹۰٪ رشد باکتری
جدایه ۲	۱۰۰٪ رشد باکتری	۹۰٪ رشد باکتری	۸۰٪ رشد باکتری
جدایه ۳	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری
جدایه ۴	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری
جدایه ۵	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری
جدایه ۶	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری
جدایه ۷	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری
جدایه ۸	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری
جدایه ۹	۹۰٪ رشد باکتری	۹۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری
جدایه ۱۰	۸۰٪ رشد باکتری	۹۰٪ رشد باکتری	۹۰٪ رشد باکتری
جدایه ۱۱	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری	۱۰۰٪ رشد باکتری
جمع جدایه‌ها	**۲۰٪ عدم رشد**	**۲۵٪ عدم رشد**	**۳۰٪ عدم رشد**

با توجه به جدول ۴ ضدعفونی‌کننده وایکوسیانس فقط در زمان ۵ دقیقه ۸٪ موثر نبوده و تنها در مورد جدایهٔ شمارهٔ ۱۱ رشد باکتری۱۰۰٪ مشاهده شده‌است. در هیچ یک از زمان‌های ۱۰ دقیقه و ۱۵ دقیقه رشد کلنی مشاهده نشد و ضدعفونی‌کننده ۱۰۰٪ عدم رشد باکتری را به دنبال داشت.

به عبارتی ضدعفونی‌کننده وایکوسیانس در ۱۱ سوش از ابتدا کاملاً تأثیر گذار بوده و باعث عدم رشد باکتری شده و در ۱ سوش دیگر نیز تنها در ۵ دقیقهٔ اول تأثیر گذار نبوده و با تماس بیشتر ضدعفونی‌کننده با باکتری در زمان‌های ۱۰ دقیقه و ۱۵ دقیقه موجب نابودی کامل باکتری شده است.

جدول ۴. تاثیر ضدعفونی‌کننده وایکوسیانس بر جدایه‌های *سودوموناس آیروجینوزا*

نام سوش‌ها	زمان ۵ دقیقه	زمان ۱۰ دقیقه	زمان ۱۵ دقیقه
استاندارد	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۱	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۲	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۳	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۴	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری

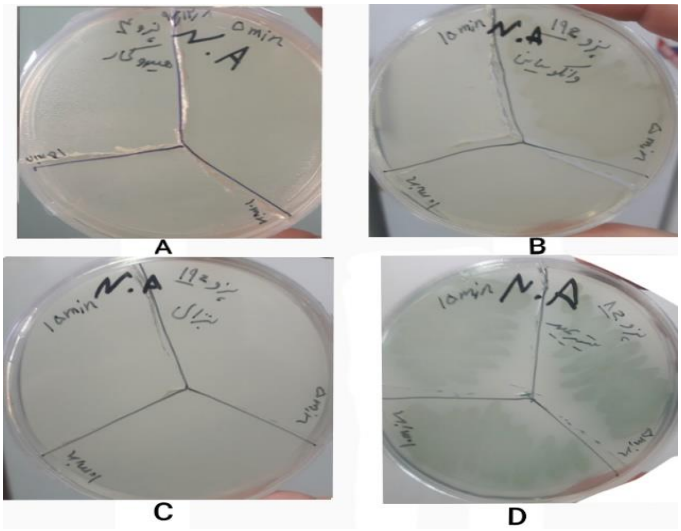
نام سوش‌ها	زمان ۵ دقیقه	زمان ۱۰ دقیقه	زمان ۱۵ دقیقه
جدایه ۵	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۶	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۷	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۸	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۹	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۱۰	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جدایه ۱۱	۱۰۰٪ رشد باکتری	عدم رشد باکتری	عدم رشد باکتری
جمع نمونه‌ها	**۹۲٪ عدم رشد**	**۱۰۰٪ عدم رشد**	**۱۰۰٪ عدم رشد**

تایید تأثیر ضدعفونی‌کننده‌های مورد آزمایش بر روی جدایه‌های *سودوموناس آئروجینوزا*

نتایج تأثیر ضدعفونی‌کننده‌های مورد آزمایش بر روی جدایه‌های *سودوموناس آئروجینوزا*، در شکل ۲ قابل مشاهده است.

مقایسه تأثیر ضدعفونی‌کننده‌های مورد آزمایش بر روی جدایه‌های *سودوموناس آئروجینوزا*

نتایج بدست آمده از این پژوهش جهت بررسی اثر ضدمیکروبی چهار ضدعفونی‌کننده اینتراهیدروکر، بنزالکونیوم کلراید، ستریمید-سی و وایکوسیانس در از بین بردن جدایه‌های *سودوموناس آئروجینوزا* جدا شده از عفونت‌های انسانی در جدول ۵ خلاصه شده است. با توجه به اطلاعات ارائه شده در این جدول، اینتراهیدروکر و بنزالکونیوم کلراید در هر سه زمان‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه باعث ۱۰۰٪ عدم رشد شدند. وایکوسیانس در زمان‌های ۱۰ و ۱۵ دقیقه ۱۰۰٪ عدم رشد باکتری را به دنبال داشت، اما در زمان ۵ دقیقه در بین ۱۲ جدایه، ۸٪ عدم تأثیر مشاهده شد. ستریمید-سی در بین ۱۲ جدایه در زمان ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه به ترتیب ۸۰٪، ۷۵٪ و ۷۰٪ عدم تأثیر نشان داد، که با استفاده از از تست آماری ANOVA تفاوت قدرت ضدعفونی‌کننده سیتریمید-سی از بقیه کمتر ($P<0/05$) و از نظر آماری معنی‌دار بود.



شکل ۱. تأیید تأثیر ضدعفونی‌کننده‌ها بر جدایه‌های *سودوموناس آئروجینوزا*

(A). تأثیر ضدعفونی‌کننده اینتراهیدروکر بر جدایه۴، که در هر سه زمان‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه با تأثیر کامل عدم رشد باکتری را به دنبال داشته است.(B) . تأثیر ضدعفونی‌کننده وایکوسیانس بر جدایه۱۱ (درشکل با عنوان 19z: شماره نمونه در بیمارستان)، که ضدعفونی‌کننده در زمان ۵ دقیقه موثر نبوده وباکتری رشد داشته و در زمان‌های ۱۰ دقیقه و ۱۵ دقیقه رشد کلنی مشاهده نشد و ضدعفونی‌کننده تأثیر۱۰۰٪ را به دنبال داشته است. (C). تأثیر ضدعفونی‌کننده بنزالکونیوم کلراید بر جدایه۱۱، که در هر سه زمان‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه با تأثیر کامل عدم رشد باکتری را به دنبال داشته است.(D) . تأثیر ضدعفونی‌کننده ستریمید بر جدایه۸، که در هر سه زمان‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه با بدون تأثیر بوده و رشد باکتری را به دنبال داشته است.

جدول ۵. مقایسه تأثیر ضدعفونی‌کننده‌های مورد آزمایش بر روی جدایه‌های *سودوموناس آئروجینوزا* (۱۲ سوش)

نام ضدعفونی‌کننده	زمان ۵ دقیقه	زمان ۱۰ دقیقه	زمان ۱۵ دقیقه
اینتراهیدروکر	۱۰۰٪ عدم رشد	۱۰۰٪ عدم رشد	۱۰۰٪ عدم رشد
بنزاکونیوم کلراید	۱۰۰٪ عدم رشد	۱۰۰٪ عدم رشد	۱۰۰٪ عدم رشد
وایکوسیانس	۹۲٪ عدم رشد	۱۰۰٪ عدم رشد	۱۰۰٪ عدم رشد
ستریمید-سی	۲۰٪ عدم رشد	۲۵٪ عدم رشد	۳۰٪ عدم رشد

در این پژوهش مشخص کردن این که کدام یک از ضدعفونی‌کننده‌ها قوی‌ترین ضدعفونی‌کننده است بسیار دشوار بود، زیرا با وجودی که نتایج حاصل از ستریمید- سی بسیار ضعیف بود سه ضد عفونی کنندهٔ دیگ اختلاف چندانی نداشتند. نتیجه این‌که ضدعفونی‌کنندهٔ ستریمید- سی در مراکز بهداشتی و بیمارستانی جهت کنترل باکتری سودوموناس آئروجینوزا مناسب و مفید نخواهد بود و چنان چه بدون آگاهی از این ضدعفونی‌کننده در مراکز بیمارستانی با غلظت ذکر شده در دستورالعمل کارخانه تولیدی استفاده شود نه تنها توانایی مهار رشد باکتری را ندارد بلکه می تواند خسارات جبران ناپذیری را در پی داشته باشد.

همسو با پژوهش حاضر مطالعات دیگری انجام گرفته از جمله:

El-Bana و همکاران (۲۰۱۹) به مطالعهٔ تأثیر غلظت‌های غیر کشندهٔ بنزالکونیوم کلراید بر مقاومت آنتی بیوتیکی، الگوی رشد و تشکیل بیوفیلم جدایه‌های *سودوموناس آئروجینوزا* پرداختند و نتایج نشان داد در این غلظت‌ها افزایش تشکیل بیوفیلم و مقاومت به آنتی‌بیوتیک در ۶۰ درصد از جدایه‌ها بروز پیدا کرد (۲۵).

Montagna و همکاران (۲۰۱۹) تأثیر پنج ضدعفونی‌کنندهٔ ضد باکتریایی بیمارستانی (ترکیبات فنولیک، ترکیبات آمونیوم کواترنر، هیپوکلریت سدیم، ترکیبات الکل و پراکسیدهیدروژن) را بر روی *سودوموناس آئروجینوزا*، استافیلوکوکوس و انتروکوکوس بررسی کردند. نتایج نشان داد که پراکسید هیدروژن تنها ضدعفونی‌کننده‌ای بود که در برابر همهٔ میکروارگانیسم‌های آزمایش شده در همهٔ غلظت‌ها اثر مهاری نشان می‌داد (۱).

Vijaya و همکاران (۲۰۱۶) به موضوع افزایش مقاومت چند دارویی سویه‌های بالینی *سودوموناس آیروژینوزا* نسبت به ضدعفونی‌کننده‌های معمول در آزمایشگاه پرداختند که نشان داده شد سویه‌های آیروژینوزا با افزایش ۲۲ درصد مقاومت چند دارویی و نیز کاهش مقاومت نسبت به ضدعفونی‌کننده بنزالکونیوم کلراید رو به رو هستند (۲۶).

ممکن است محیط‌های پزشکی و... درگیر آلودگی با میکروارگانیسم‌ها شوند که برای از بین بردن آن‌ها ضدعفونی‌کننده‌هایی نظیر بنزالکونیوم کلراید به کار می‌رود. البته عوامل گوناگونی می‌توانند در مقاومت پاتوژن‌ها در مقابله با این ضدعفونی‌کننده دخیل باشد.

Hourai و همکاران (۲۰۰۴) به مطالعهٔ میزان اثر ضدعفونی‌کنندهٔ بنزالکونیوم کلراید و کلرهگزیدین بر روی تشکیل بیوفیلم باکتری پرداختند، که نشان داد باکتری *سودوموناس آیروژینوزا* مقاومت بیشتری نسبت به ضدعفونی‌کننده بنزالکونیوم کلراید دارد. نتایج مطالعهٔ Hourai و همکاران با مطالعهٔ حاضر تطابق چندانی نشان نداد، چرا که در مطالعهٔ ما بنزالکونیوم کلراید ۱۰۰ درصد اثر مهاری علیه رشد باکتری *سودوموناس آیروژینوزا* نشان داد. علت این عدم تطابق ممکن است به‌دلیل تفاوت روش‌های مورد استفاده در دو مطالعه و نیز تفاوت سوش‌های مورد بررسی باشد (۲۷).

Carson و همکاران (۱۹۷۲) به بررسی عوامل مؤثر بر ایجاد مقاومت *سودوموناس آیروژینوزاهای* خالص‌سازی شده از یک مرکز بیمارستانی نسبت به ضدعفونی‌کننده‌ها پرداختند و متوجه شدند که *سودوموناس آیروژینوزا* در اثر تماس با گلوتارآلدئید دی‌اکسیدکلر، اسید استیک و ترکیب آمونیوم کواترنری غیرفعال می‌شود که این غیرفعال شدن وابسته به عواملی نظیر مرحلهٔ رشد در زمان تماس با ضدعفونی‌کننده، ماهیت مواد ضدعفونی‌کننده و همچنین دمای انکوباسیون است. نتایج به‌دست‌آمده از مطالعهٔ Carson و همکاران در رابطه با تأثیر ترکیب آمونیوم کواترنری بر *سودوموناس آیروژینوزا* با نتایج به‌دست‌آمده از مطالعهٔ حاضر مطابقت داشت (۲۸).

Olasehinde و همکاران (۲۰۰۸) به موضوع اثر ضدعفونی‌کننده‌های Savlon، Dettol، naphtho-la بر روی باکتری‌های *سودوموناس آیروژینوزا*، *سالمونلا تیفی* و پروتئوس پرداختند. در این بررسی غلظت ضدعفونی‌کننده‌ها به میزان ۲۵ درصد افزایش داده شد و نتایج نشان داد که تمامی ضدعفونی‌کننده‌ها در رقت‌های اولیه نسبت به میکروارگانیسم‌ها قدرت مهاری ضعیف‌تری داشتند در حالی‌که با افزایش غلظت، تأثیر ضد عفونی کنندگی افزایش

پیدا کرد (۲۹). یافته‌های این پژوهش در مورد ضعیف بودن اثر ضدمیکروبی ساولن با یافته‌های پژوهش در حال ارائه هماهنگ است.

Hassan و همکاران (۲۰۰۸) به موضوع بررسی میزان اثر یک سری ضدعفونی‌کننده‌های رایج بیمارستانی علیه *سودوموناس آیروژینوزا* جدا شده از عفونت‌های بیماران پرداختند. سویه‌های مورد مطالعه در مقابل سه ضدعفونی‌کنندهٔ اتانول، جرمی ساید-پی و پویدون آیوداین با رقت‌های مختلف در آزمون سطحی با درصدهای متفاوت مقاومت نشان دادند و فقط ستریمید-سی با رقت مصرفی ۱ به ۳۰ توانست کلیهٔ سویه‌ها را به طور کامل حذف کند (۳۰). علت ناهماهنگی یافته‌های این پژوهش با نتایج پژوهش حاضر در این است که غلظت ۱ به ۳۰ ساولن استفاده شده در مطالعهٔ لطفی پور و همکاران بسیار بیشتر از غلظت توصیه شده توسط کارخانه تولیدی در مطالعهٔ حاضر است.

Gasparini و همکاران (۱۹۹۵) به موضوع میزان تأثیر Virkon S روی باکتری‌های *سودوموناس آیروژینوزا*، *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و اسپور باسیلوس و آنتی ژن سطحی هپاتیت B را پرداختند، Virkon Sدر بازه‌های زمانی ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ دقیقه در تماس با باکتری‌های ذکر شده قرار داده شد و متوجه شدند که Virkon S قادر است آنتی‌ژن سطحی هپاتیت B را نابود کند. همچنین دریافتند که Virkon S برای نابودی اسپور نیز مناسب است. نتایج این پژوهش نشان داد که Virjon S یک ضدعفونی‌کنندهٔ بسیار سریع‌العمل است. نتایج مطالعهٔ Gasparini و همکاران در مورد اثرگذاری وایکوسیانس بر *سودوموناس آیروژینوزا* با نتایج مطالعهٔ حاضر در تطابق کامل است (۳۱).

سپاسگزاری

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه دانشجویی کارشناسی ارشد باکتری‌شناسی دانشگاه شهرکرد می‌باشد. نویسندگان مقاله از کارشناسان آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد سپاسگزاری می‌کنند.

تعارض در منافع

این مقاله پژوهشی مستقل است که بدون حمایت مالی سازمانی انجام شده است. در انجام مطالعهٔ حاضر، نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافعی نداشته‌اند.

Referance

1. Montagna MT, Triggiano F, Barbuti G, Bartolomeo N, De Giglio O, Diella G, Lopuzzo M, Rutigliano S, Serio G, Caggiano G. Study on the In Vitro Activity of Five Disinfectants against Nosocomial Bacteria. Int J Environment Res Public Health. 2019 Jan;16(11):1895. [DOI:10.3390/ijerph16111895] [PMID] [PMCID]
2. West AM, Teska PJ, Lineback CB, Oliver HF. Strain, disinfectant, concentration, and contact time quantitatively impact disinfectant efficacy. Antimicrob Resist Infect Control. 2018 Dec;7(1):49. [DOI:10.1186/s13756-018-0340-2] [PMID] [PMCID]
3. Xia J, Gao J, Tang W. Nosocomial infection and its molecular mechanisms of antibiotic resistance. Biosci Trend. 2016;10(1):14-21. [DOI:10.5582/bst.2016.01020] [PMID]
4. Watanabe S, Ohnishi T, Yuasa A, Kiyota H, Iwata S, Kaku M, Watanabe A, Sato J, Hanaki H, Manabe M, Suzuki T. The first nationwide surveillance of antibacterial susceptibility patterns of pathogens isolated from skin and soft-tissue infections in dermatology departments in Japan. J Infect Chemo. 2017 Aug 1;23(8):503-11. [DOI:10.1016/j.jiac.2017.05.006] [PMID]
5. Yamagishi Y, Hagihara M, Kato H, Hirai J, Nishiyama N, Koizumi Y, Sakanashi D, Suematsu H, Nakai H, Mikamo H. In vitro and in vivo Pharmacodynamics of Colistin and Aztreonam Alone and in Combination against Multidrug-Resistant Pseudomonas aeruginosa. Chemotherapy. 2017;62(2):105-10. [DOI:10.1159/000449367] [PMID]
6. Scano A, Serafi G, Fais S, Bomboi S, Peri M, Ibba A, Girometta G, Orrù G, Rossi P, Sanna P, Coghe F. Antimicrobial susceptibility pattern to disinfectants in Pseudomonas aeruginosa strains isolated from dairy sheep breeds in Sardinia. Large Animal Rev. 2019 Apr 18;25(1):11-5.
7. Stefani S, Campana S, Cariani L, Carnovale V, Colombo C, Lleo MM, Iula VD, Minicucci L, Morelli P, Pizzamiglio G, Taccetti G. Relevance of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa infections in cystic fibrosis. Int J Medic Microbiol. 2017 Sep 1;307(6):353-62. [DOI:10.1016/j.ijmm.2017.07.004] [PMID]
8. Ferris RA, McCue PM, Borlee GI, Glapa KE, Martin KH, Mangalea MR, Hennet ML, Wolfe LM, Broeckling CD, Borlee BR. Model of chronic equine endometritis involving a Pseudomonas aeruginosa biofilm. Infect Immun. 2017 Dec 1;85(12):e00332-17. [DOI:10.1128/IAI.00332-17] [PMID] [PMCID]
9. Argyraki A, Markvart M, Nielsen A, Bjarnsholt T, Bjørndal L, Petersen PM. Comparison of UVB and UVC irradiation disinfection efficacies on Pseudomonas Aeruginosa (P. aeruginosa) biofilm. InBiophotonics: Photon Solutions Better Health Care V 2016 Apr 27 (Vol. 9887, p. 988730). International Society for Optics and Photonics. [DOI:10.1117/12.2225597]

10. Lineback CB, Nkemngong CA, Wu ST, Li X, Teska PJ, Oliver HF. Hydrogen peroxide and sodium hypochlorite disinfectants are more effective against Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa biofilms than quaternary ammonium compounds. Antimicrobial Resistance & Infection Control. 2018 Dec 1;7(1):154. [DOI:10.1186/s13756-018-0447-5] [PMID] [PMCID]
11. ECDC2018:https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099 (18)30605-4/sec1 (accessed on 23 January 2019).
12. Rahimzadeh Torabi L, Doudi M, Golshani Z. The frequency of blaIMP and blaVIM carbapenemase genes in clinical Isolates of pseudomonas aeruginosa in Isfahan medical centers. Medi J Mashhad University Medic Sci. 2016;59(3):139-47.
13. Rokoei F, Rezaei S, Karbasian M, Sadaee N, Rastegar Lari A. Comparison of the antibacterial activity of Handsept and Decosept . Iran J Med Microbiol. 2008; 1 (4) :51-57
14. Subedi D, Vijay AK, Willcox M. Study of Disinfectant Resistance Genes in Ocular Isolates of Pseudomonas aeruginosa. Antibiotics. 2018 Dec;7(4):88. [DOI:10.3390/antibiotics7040088] [PMID] [PMCID]
15. Espinal MA, Laszlo A, Simonsen L, Boulahbal F, Kim SJ, Reniero A, Hoffner S, Rieder HL, Binkin N, Dye C, Williams R. Global trends in resistance to antituberculosis drugs. New England Journal of Medicine. 2001 Apr 26;344(17):1294-303. [DOI:10.1056/NEJM200104263441706] [PMID]
16. Abdollahzadeh Fatemeh, Hakami Vala Mojdeh, Bagheri Bajestani Fatemeh, Bahar Mohammad Reza. Evaluation of ESBL Extended Beta Lactamase Production from Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn patients admitted in Shahid Motahari Hospital. Tehran Iran. 2011; 47-42: 1.
17. Damin Teb Rooz. Intra Hyvarocare.2019. Availablc at: www.daminteb.com
18. Gasparini R, Pozzi T, Magnelli R, Fatighenti D, Giotti E, Poliseno G, Pratelli M, Severini R, Bonanni P, De Feo L. Evaluation of in vitro efficacy of the disinfectant Virkon. Europ J Epidemiol. 1995 Apr 1;11(2):193-7. [DOI:10.1007/BF01719487] [PMID]
19. Furi L, Ciusa ML, Knight D, Di Lorenzo V, Tocci N, Cirasola D, Aragones L, Coelho JR, Freitas AT, Marchi E, Moce L. Evaluation of reduced susceptibility to quaternary ammonium compounds and bisbiguanides in clinical isolates and laboratory-generated mutants of Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemo. 2013 Aug 1;57(8):3488-97. [DOI:10.1128/AAC.00498-13] [PMID] [PMCID]
20. Alzubeidi YS, Udompijitkul P, Talukdar PK, Sarker MR. Inactivation of Clostridium perfringens spores adhered onto stainless steel surface by agents used in a clean-in-place procedure. Int J Food Microbiol. 2018 Jul 20;277:26-33. [DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.016] [PMID]
21. Webb HE, Brichta-Harhay DM, Brashears MM, Nightingale KK, Arthur TM, Bosilevac JM, Kalchayanand N, Schmidt JW, Wang R, Granier SA, Brown TR. Salmonella in peripheral lymph nodes of healthy cattle at slaughter. Frontiers Microbiol. 2017 Nov 9;8:2214. [DOI:10.3389/fmicb.2017.02214] [PMID] [PMCID]
22. Uppal S, Bazzi A, Reynolds RK, Harris J, Pearlman MD, Campbell DA, Morgan DM. Chlorhexidine-alcohol compared with povidone-iodine for preoperative topical antisepsis for abdominal hysterectomy. Obstet Gynecol. 2017 Aug 1;130(2):319-27. [DOI:10.1097/AOG.0000000000002130] [PMID]
23. Koehler DA, Strevett KA, Papelis C, Kibbey TC. The impact of antibacterial handsoap constituents on the dynamics of triclosan dissolution from dry sand. Chemosphere. 2017 Nov 1;186:251-6. [DOI:10.1016/j.chemosphere.2017.07.142] [PMID]
24. Olasehinde GI, Akinyanju JA, Ajayi AA. Comparative Antimicrobial Activity of Commercial Disinfectants with Naphtolics. Res J Microbiol. 2008;3(4):262-8. [DOI:10.3923/jm.2008.262.268]
25. El-Banna T, El-Aziz AA, Sonbol F, El-Ekhnawy E. Adaptation of Pseudomonas aeruginosa clinical isolates to benzalkonium chloride retards its growth and enhances biofilm production. Molecular biology reports. 2019 Jun 1;46(3):3437-43. [DOI:10.1007/s11033-019-04806-7] [PMID]
26. Vijaya k, Aboody MS, Alfanaisan MK. Sandle T. In vitro susceptibility of multidrug resistant pseudomonas aeruginosa clinical isolates to common biocides. International Journal of Pharmaceutical Sci Res. 2016; 7(1): 110-16.
27. Houari A, Di Martino P. Effect of chlorhexidine and benzalkonium chloride on bacterial biofilm formation. Let Appl Microbiol. 2007 Dec;45(6):652-6. [DOI:10.1111/j.1472-765X.2007.02249.x] [PMID]
28. Olasehinde GI, Akinyanju JA, Ajayi AA. Comparative Antimicrobial Activity of Commercial Disinfectants with Naphtolics. Res J Microbiol. 2008;3(4):262-8. [DOI:10.3923/jm.2008.262.268]
29. Carson LA, Favero MS, Bond WW, Petersen NJ. Factors affecting comparative resistance of naturally occurring and subcultured Pseudomonas aeruginosa to disinfectants. Appl. Environ. Microbiol. 1972 May 1;23(5):863-9. [DOI:10.1128/AEM.23.5.863-869.1972] [PMID] [PMCID]
30. Hassan M, Kjos M, Nes IF, Diep DB, Lotfipour F. Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. J Appl Microbiol. 2012 Oct;113(4):723-36. et al. [DOI:10.1111/j.1365-2672.2012.05338.x] [PMID]
31. Gasparini R, Pozzi T, Magnelli R, Fatighenti D, Giotti E, Poliseno G, Pratelli M, Severini R, Bonanni P, De Feo L. Evaluation of in vitro efficacy of the disinfectant Virkon. Europ J Epidemiol. 1995 Apr 1;11(2):193-7. [DOI:10.1007/BF01719487] [PMID]