

Dedication

To The Soul of My dear **Mother**

To My dear **Father**

To My **Friends**

To All of the **Teachers** Who
Taught Me

Acknowledgments

First I would like to thank Allah.

I am very grateful to my supervisor Dr. Humodi Ahmed Saeed dean of College of Medical Laboratory Science who supported, encouraged and helped me to carry out this study.

It is a pleasure to thank all the staff of the College of Medical Laboratory Science.

I also would like to thank Mr. Hatim BaBakir in the National Health Laboratory in Khartoum,

and to Mrs. Shaza Mustafa for their assistance.

Finally thanks to the staff of Khartoum Teaching Hospital for their assistance.

Abstract

Hospitals' unit surfaces and environment may become contaminated by bacterial pathogens especially Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA). The organism was considered a major health problem in hospitals worldwide.

The use of disinfectants is essential in infection control in hospitals and health care centers.

This study was carried out in Khartoum Teaching Hospital (KTH) during the period from October 2007 to August 2008 to determine prevalence of MRSA in KTH and the role of four disinfectants [Sodium Hypochlorite (Clorox)+Water, Phenol+ Liquid soap + Chloroxylenol "Dettol", Formalin + Water and Chloroxylenol solution (Dettol) + Liquid soap Water] in controlling infections.

Two hundred and fifty samples were collected by swabs from units' surfaces (walls, seats, tables, floor, medical devices, doors and windows). Eighteen air samples were also investigated by using settle plate method. The samples were cultured on blood agar for primary isolation. Identification of MRSA was done by colonial morphology, Gram stain, biochemical tests and test for resistance to methicillin and to vancomycin.

The disc diffusion method and In-Use test were used to evaluate the effectiveness of the four disinfectants against MRSA.

Results revealed that the MRSA was 66(25%). Among them 11(16%) were vancomycin resistant. Moreover, the study on the effectiveness of disinfectants by using SPSS program (One way ANOVA) showed that the F-calculated is bigger than F-tabulated (sig.) there are differences in efficiency among disinfectants. In the L.S.D test shown there are two of

these disinfectants (Sodium Hypochlorite (Clorox) +Water, Phenol+ Liquid soap + Chloroxylenol "Dettol") were less effective than the other (Formalin + Water and Chloroxylenol solution (Dettol) + Liquid soap Water).

The study concluded that the prevalence of MRSA in KTH was high and the rate of VRSA is increasing. The disinfectants used routinely in KTH were not equal in their efficiency and there is failure in actions in two of them.

أصبحت سطوح وحدات المستشفيات وبيئتها ملوثة بالبكتيريا الممرضة، خاصة المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين والتي تعتبر مشكلة صحية في المستشفيات في كل العالم. إن استخدام المطهرات ضروري للسيطرة على العدوى في المستشفيات ومراكز العناية بالصحة.

هذه الدراسة أجريت في مستشفى الخرطوم التعليمي للفترة ما بين أكتوبر 2007 إلى أغسطس 2008 وذلك لتحديد انتشار المكورات العنقودية الذهبية في مستشفى الخرطوم التعليمي ودور المطهرات (هائيوكلورات الصوديوم "كلوروكس" + ماء، فينول + كلوروزايلينول "ديتول" + صابون سائل + ماء) في السيطرة على العدوى.

جمعت متتان وخمسون عينة من أسطح وحدات المستشفى (الأرضيات والمناضد والشبابيك والأبواب والأجهزة الطبية والأسرة والحيطان) وثمانية عشر عينة هواء أيضاً اختبرت بطريقة الطبق المعرض للهواء.

زرعت العينات في وسط أجار الدم المغذي وذلك للعزل الأولي للبكتيريا. تم التعرف على المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين بفحص الشكل الظاهري للمستعمرات وصبغة كرام والإختبارات الكيموحيوية والمقاومة لمضاد الميثيسيلين والفانكومايسين. استخدمت طريقة الانتشار من الأقراص واختبار In-Use لقياس فاعلية المطهرات الأربعة (هائيوكلورات الصوديوم "كلوروكس" + ماء، فينول + كلوروزايلينول "ديتول" + صابون سائل + ماء) المستخدمة في المستشفى ضد المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين.

أظهرت النتائج وجود 66 (26%) من البكتريا العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين بينها 11 (16%) مقاومة لمضاد الفانكوميسين. علاوة على ذلك، فإن دراسة فعالية المطهرات بينت

أن هناك تباين في فعالية المطهرات الأربعة المستخدمة حيث أظهرت النتائج باستخدام برنامج التحليل الإحصائي للعلوم الاجتماعية SPSS باستخدام فحص (One way ANOVA) أن (F) المحسوبة أكبر من (F) الجدوله (Sig). وباستخدام اختبار (L.S.D) بينت النتائج أن اثنين من المطهرات (هايوكورات الصوديوم "كلوروكس" + ماء, فيزول + كلوروزايلينول "ديتول" + صابون سائل) فعاليتهم أقل بكثير من المطهرين الآخرين (فورمالين + ماء و كلوروزايلينول "ديتول" + صابون سائل + ماء).

خلصت الدراسة إلى وجود انتشار عال لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين وزيادة بمعدلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للفانكوميسين, كذلك استنتجت الدراسة أن المطهرات المستخدمة في المستشفى بشكل روتيني ليست بنفس الفاعلية والقوة وأن اثنين من هذه المطهرات ليست بذات فاعلية تجاه البكتريا المعزولة.

Table of Contents

Dedication -----	I
Acknowledgments -----	II
English Abstract -----	III
Arabic Abstract -----	V
Table of Contents -----	VII
List of Tables -----	XII
List of Figures -----	XIV
List of colour Photos -----	XV
Chapter One: Introduction -----	1
1.1. Introduction -----	3
1.2 .Rationale -----	3
1.3 .Research questions -----	3
1.4 .General and specific Objectives -----	4
Chapter Two: Literature Review -----	5
2.1 .The Genus <i>Staphylococcus</i> -----	5
2.1.1. Histological Background -----	5
2.1.2. Definition -----	6
2.1.3. Classification -----	6
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> -----	7
2.2.1.Charecteristics and Identification -----	7
2.2.2. Structure -----	8
2.2.3. Virulence Factors -----	8
2.2.4. <i>Staphylococcus aureus</i> Enzymes -----	11

2.2.5. Toxins Products -----	13
2.2.6. Transmission -----	14
2.2.7. Pathogenesis -----	15
2.2.8. Clinical Findings -----	16
2.2.9. Genetics -----	17
2.2.10. Plasmids -----	17
2.2.11. Antibiotic Resistance -----	18
2.2.12. Treatment -----	19
2.2.13. Prevention -----	20
2.3. The β -lactam Antibiotics -----	20
2.3.1 Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) -----	21
2.3.2. Resistance to Methicillin -----	23
2.4. Nosocomial Infections -----	23
2.4.1. Introduction -----	23
2.4.2. Sources -----	24
2.4.3. Transmission of Infectious Microorganisms -----	24
2.4.4. Nosocomial pathogens -----	25
2.4.5. Prevention of Hospital Infection -----	25
2.5. Sterilization and Disinfection -----	28
2.6. Disinfectants and Antiseptics -----	28
2.6.1. Historical Background -----	28
2.6.2. Selected Disinfecting and Sterilizing Chemicals -----	28
2.6.3. Disinfectants and Antiseptics Effectiveness Factors -----	32
2.6.4. Bacterial Resistance to Antiseptics and Disinfectants -----	33
Chapter Three: Materials and Methods -----	34
3.1. Study design -----	34
3.1.1. Study Area -----	34

3.1.2 .Target Sites -----	34
3.1.3. Size of Samples -----	34
3.1.4. Data collections -----	34
3.2. Collection of Samples -----	35
3.3. Reagents -----	35
3.3.1. Gram stain -----	35
3.3.2. Hydrogen peroxide (H ₂ O ₂ 3%) -----	35
3.3.3. Hydrochloric acid (HCL) -----	35
3.3.4. McFarland standard -----	35
3.3.5. Disinfectants obtained from KTH -----	36
3.4. Antibiotics discs -----	36
3.5. Bacteriological methods -----	36
3.5.1. Culture Media -----	36
3.6. Cultivation of Samples -----	37
3.6.1. Isolation -----	37
3.6.2. Identification of <i>S. aureus</i> -----	37
3.6.3. Biochemical's tests -----	37
3.6.3.1. Catalase test -----	37
3.6.3.2. Coagulase test -----	37
3.6.3.3. Mannitol Fermentation -----	38
3.6.3.4. DNase Test -----	38
3.6.4. Examination of air (Settle plates) -----	39
3.6.5. Antimicrobial susceptibility test s-----	39
3.6.5.1 Preparation of inoculums-----	39
3.6.5.2 Seeding of plates-----	39

3.6.5.3 Disc application-----	39
3.6.5.4 Incubation-----	39
3.6.5.5 Reading and interpretation-----	40
3.6.6. Disinfectant efficacy -----	40
3.6.7. Statistical analysis -----	41
Chapter Four: Results -----	43
4.1. The distribution of samples -----	43
4.2. Settle plate technique -----	44
4.3. Isolation and identification of <i>S. aureus</i> and MRSA -----	44
4.4. Efficiency of disinfectants -----	45
Chapter Five: Discussion -----	63
Chapter Six: Conclusion and Recommendations -----	67
References -----	68
Appendixes -----	74

List of Tables

1	Distribution of samples (n=250) according to units	47
2	Distribution of samples (n=80) collected from emergency unit according to site of collection	47
3	Distribution of samples (n=80) collected from general surgery unit according to site of collection	48
4	Distribution of samples (n=30) collected from	48

	Obstetrics-Gynecology unit according to site of collection	
5	Distribution of samples (n=20) collected from Blood bank according to site of collection	49
6	Distribution of samples (n=40) collected from Pediatrics unit according to site of collection	49
7	Distribution of settle plates according to unit and number of CFU	50
8	Samples showing significant growth on blood agar (n=248)	50
9	<i>S. aureus</i> and MRSA isolated from different sites	51
10	Distribution of the isolated MRSA from air according to units	51
11	Susceptibility of <i>S. aureus</i> (n= 70) to methicillin	52
12	Susceptibility of MRSA to vancomycin (n=70)	52
13	Efficiency of disinfectant by using In-use test	52

List of Figures_

1	Number of samples according to the place of isolation	53
2	Percentage of samples identified as <i>S. aureus</i>	53
3	Percentage of MRSA identified from <i>S. aureus</i> isolates	54
4	Percentage of colony of <i>S. aureus</i> isolated from settles plates	55
5	Percentage of methicillin activity against <i>S. aureus</i>	55
6	Percentage of vancomycin activity against MRSA	56

List of colour Photos_

1	Isolates of <i>S. aureus</i> on blood agar	56
2	Isolation of <i>S. aureus</i> on mannitol salt agar	57
3	Culture of <i>S. aureus</i> showing positive DNase test	57
4	<i>S. aureus</i> sensitive to methicillin on Muller-Hinton agar	58
5	<i>S. aureus</i> resistant to methicillin on Muller-Hinton agar	58
6	<i>S. aureus</i> sensitive to vancomycin on Muller-Hinton agar	59
7	<i>S. aureus</i> resistant to vancomycin on Muller-Hinton agar	59
8	CFU in settle plate test	60
9	Disinfectant activity against MRSA isolates	60
10	Disinfectant "1" In-Use Test After 3 Days	61
11	Disinfectant "2" In-Use Test After 3 Days	61
12	Disinfectant "3" In-Use Test After 3 Days	61
13	Disinfectant "4" In-Use Test After 3 Days	61
14	Disinfectant "1" In-Use Test After 7 Days	62
15	Disinfectant "2" In-Use Test After 7 Days	62
16	Disinfectant "3" In-Use Test After 7 Days	62
17	Disinfectant "4" In-Use Test After 7 Days	62