

## ■ Review article

# 消毒薬耐性菌とは？

野口雅久

東京薬科大学 薬学部 病原微生物学教室

## What is Bacteria Resistance to Antiseptics and Disinfectants ?

Norihsa Noguchi, Ph.D.

Department of Microbiology, School of Pharmacy, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences

Key words : 消毒薬、殺菌剤、耐性、薬剤排出ポンプ、適正使用

### 1. はじめに

抗菌薬に対する耐性 (AMR) は地球規模の問題であり、主要国でグローバル・アクション・プランを設定し、その対策を推進している。感染症の制御において、抗菌薬と同様に重要なツールとして、消毒薬がある。消毒薬においても、消毒後に細菌が生存していたり、消毒薬の中から細菌が分離されることがある。また、抗菌薬耐性と同様に、遺伝子の変異や獲得によって消毒薬に対する感受性が低下した菌が分離されている<sup>1)</sup>。しかし、消毒薬に対する耐性については、消毒薬感受性 (耐性) の評価方法がないことや消毒薬の常用濃度が高いことなどから、不明瞭なままである。最近では、耐性という表記を避け、低感受性や抵抗性と表記されている。そこで、本稿では、消毒薬耐性菌について、消毒薬の特徴、感受性または有効性の評価を踏まえ、低感受性化と生存の機序、低感受性菌の現状について解説する。

### 2. 消毒薬の特徴

抗菌薬は、本来、細胞毒であるが、細菌のみに選択毒性を示す。その作用は、部位への特性が高く、主に代謝・合成系を阻害するため、増殖する栄養型細菌に対して強い抗菌作用を示す。そのため、作用プロセスを1カ所で

もブロックすると容易に抗菌作用が低下する。ブロックする方法、すなわち耐性メカニズムは、薬剤の分解・不活化、標的部位の変異・修飾、薬剤の細胞外への排出など様々なものがあるため、細菌は容易に耐性菌へと変化できる。また、用量・投与などの使用方法は、消毒薬に比べて、細かく規定・制限されている。薬剤によっては、感受性を確認後、使用されるものもある。一方、消毒薬は、殺菌系の薬剤であり、抗菌薬とは異なり、非特異的な殺菌メカニズムにより、細胞構成成分を非特異的に損傷・破壊する<sup>1,2)</sup>。そのため、定常あるいは休止状態の細菌にも殺菌作用を示し、芽胞にも有効なものもある。それらの殺菌作用をすべて同時にブロックすることは難しいため、消毒薬耐性菌は生じ難いと考えられている。さらに、消毒薬の対象とする微生物は、必ずしも細菌だけでなく、ウイルス、真菌と広範囲にわたり、消毒対象も、環境、医療器材、生活用品、人までと非常に広範囲で、対象物によって使用濃度や使用方法も異なる。Spauldingによる消毒水準による消毒薬の分類を表1と化学構造を図1に示す<sup>2)</sup>。中水準以上の消毒薬は殺菌力が強く、加えて、これらの薬剤を用いた消毒は十分に薬剤を暴露できる浸漬などの比較的管理された方法によって行われる。そのため、アルコール系とアルデヒド系を除く中水準以上の消毒薬では低感受性はほとんど問題となっていない。耐性あるいは低感受性が問題となる消毒薬は、手指や皮膚消毒に汎用される低水準の生体系消毒



薬（四級アンモニウム化合物やクロロヘキシジンなど）である<sup>1,3)</sup>。

### 3. 消毒薬感受性の評価

抗菌薬は、通常、経口あるいは注射で投与すると、一定時間、血中に分布し、その後、徐々に代謝される。従って、細菌が抗菌薬に長時間暴露されることが期待できる。抗菌薬の感受性は、原因菌を抗菌薬濃度が2倍希釈系列になるように調製した培地に接種（暴露）して、一定時間培養後（20～48時間）、増殖が認められなかった最小の薬剤濃度（最小発育阻止濃度、minimum inhibitory concentration、MIC）を測定し、そのMICから判定される。簡便・迅速に判定できるように、米国または欧州で定められた、臨床的効果が期待できなくなる基準値ブレイクポイントが設定され、測定したMIC値がブレイクポイント以上なら耐性、あるいはブレイクポイント以下ならば感受性と簡易的に評価されている<sup>4,5)</sup>。わが国では、米国のCLSI（Clinical and Laboratory Standards Institute）の基準が汎用されている。一方、消毒薬において、薬剤と微生物の暴露時間は、浸漬では約30分以上が期待できるが、清拭の場合は数秒から数分程度である<sup>1)</sup>。さらに、対象物がリネン類、医療器具から皮膚まで様々であり、加えて、血液や汚物などの有機物で汚染された器具、排泄物、分泌物などでは、薬剤が汚染物に消費され、十分に対象微生物を殺菌できない場合もある。消毒薬の殺菌評価方法として、薬剤に微生物を一定時間暴露させ、殺菌できる最小濃度を求める様々な方法が開発されたが、いずれも煩雑であり、簡便な評価方法として応用されなかった<sup>1,6-8)</sup>。そのため、簡便で汎用されている前述

のMIC測定が消毒薬の感受性評価に用いられた<sup>9,10)</sup>。しかし、消毒薬のブレイクポイントがないため、その感受性は、標準あるいは対象とした微生物よりもMICが高くなった場合が耐性と判定された。消毒薬のMIC測定においては、薬剤と細菌の暴露時間が長く、臨床での消毒時間や消毒方法とは大きくかけ離れている。しかし、消毒薬の常用濃度は、MIC値よりも十分に高く、耐性と表記することは不適切であることが指摘された。このような背景から、最近では、低感受性あるいは抵抗性という表現が用いられ、本稿では低感受性と表記する。

日本には抗菌薬のような統一された有効性の評価方法の基準がなかったため、正しく消毒薬に対する有効性を評価できなかった<sup>8)</sup>。そこで、日本環境感染学会は、欧米及び米国の試験法に準じた生体消毒薬における手指衛生や手術野の有効性評価指針を提案している<sup>11,12)</sup>。これらの試験は、消毒薬を塗布後、一定時間後の細菌数の増減で消毒の有効性を評価する方法である。

### 4. 消毒薬低感受性菌とそのメカニズム

これまで、消毒薬耐性菌は判定し難いと述べてきたが、感受性が低下した細菌が分離されている。低感受性菌で問題となる細菌と低感受性に関わる因子を表2にまとめた<sup>1,13-15)</sup>。低感受性で問題となる細菌は、院内感染の主要な原因菌であるグラム陰性桿菌のセラチア菌(*Serratia marcescens*)、緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、セパシア菌(*Burkholderia cepacia*)や、グラム陽性球菌の黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)と腸球菌(*Enterococcus faecium*)などである。低感受性因子として、染色体上とプラスミドやトランスポゾン上に存在するもの

表2 消毒薬抵抗性に関係する遺伝子と抵抗性の機序

抵抗性となる化合物 <sup>a</sup>	遺伝子	存在形式	耐性機序	微生物
QACs、CH、色素	<i>qacA, qacB, smr, qacG ~ qacJ, qacZ</i>	プラスミド	薬剤の排出	ブドウ球菌
QACs、色素、キノロン	<i>norA</i>	染色体		黄色ブドウ球菌
QACs、色素	<i>qacE, qacE Δ 1</i>	インテグロン		緑膿菌、肺炎桿菌、大腸菌
QACs、色素、界面活性剤	<i>acrAB</i>	染色体		大腸菌、サルモネラ
CH	未同定	染色体?	薬剤の不活化	ブドウ糖非発酵性細菌
Ag		染色体?		
ホルムアルデヒド	ホルムアルデヒド分解酵素遺伝子	プラスミド		大腸菌
Ag	未同定	不明	透過性・取り込みの減少	大腸菌
Hg	<i>mur</i>	プラスミド		大腸菌、ブドウ球菌

<sup>a</sup> QACs、四級アンモニウム塩化物；CH、クロロヘキシジングルコン酸塩；Ag、銀化合物；Hg、水銀化合物。

がある<sup>1,16)</sup>。以下に因子を解説する。

(1) **多剤排出ポンプ**：低感受性因子としては、最もよく知られているのが、多剤排出ポンプの存在である(図2)。多剤排出ポンプは細胞内の異物を排出するポンプで異物排出ポンプとも言われ、化学構造の異なったさまざまな代謝物や化合物の排出に関わっている。細菌から真核細胞までほとんどの生物が有している。多剤排出に関わる輸送タンパク質として、表3のように5種類が知られている<sup>15)</sup>。MF型は最も主要な排出ポンプで、グラム陰性菌からグラム陽性菌まで、広く分布している。グラム陽性菌では、外膜がないため、MF型ポンプによって直接、細胞外に排泄される。グラム陰性菌では外膜があるため、ペリプラズム内に排出された後、TolC経由またはRND型ポンプを介して細胞外に排出される。グラム陽性菌は、14回膜貫通構造のQacAやQacBと12回膜貫通のNorAがある。SMR型は4回膜貫通構造のSmrやQacEからQacHなどである。RND型ポンプは、外膜を有するグラム陰性桿菌における多剤排出ポンプで、内膜コンポーネントと外膜コンポーネント、それらを繋ぐアダプタータンパク質から成るマルチコンポー

ネットで、外膜と細胞膜間のペリプラズム内に溜まった異物を排出する(図2)。特に、大腸菌のAcrAB-TolC系がよく研究されている<sup>17,18)</sup>。いずれも、プロトン(H<sup>+</sup>)の駆動力を利用して能動的に薬剤を排出する。MATE型は、MF型とは異なるポンプでナトリウムまたはプロトンを駆動力とする。ABC型はATPをエネルギーとして薬剤を排出するポンプで、真核細胞に多く、抗がん薬を排出するP-糖タンパク質などがある。グラム陰性菌におけるこれらのポンプに関わる遺伝子は染色体上に存在する。低水準消毒薬の多くは、陽イオン界面活性剤であり、マイナス荷電の細胞膜やタンパク質に吸着して殺菌効果を示すと考えられている。グラム陰性桿菌の細胞表面は、外膜がリポ多糖(LPS)、莢膜や粘液層で覆われている。そのため、低濃度において殺菌効果を発揮するには、抗菌薬と同様に、外膜を透過し、ペリプラズム内または細胞内に移入する必要がある<sup>19)</sup>。RND型ポンプはペリプラズムに、MF型ポンプは細胞に移入した消毒薬を排出し、殺菌効果を減弱させることで、低感受性をもたらすと考えられる。グラム陽性菌は外膜がないが、タイコ酸やリポタイコ酸を含む多重層のペプチドグリカ

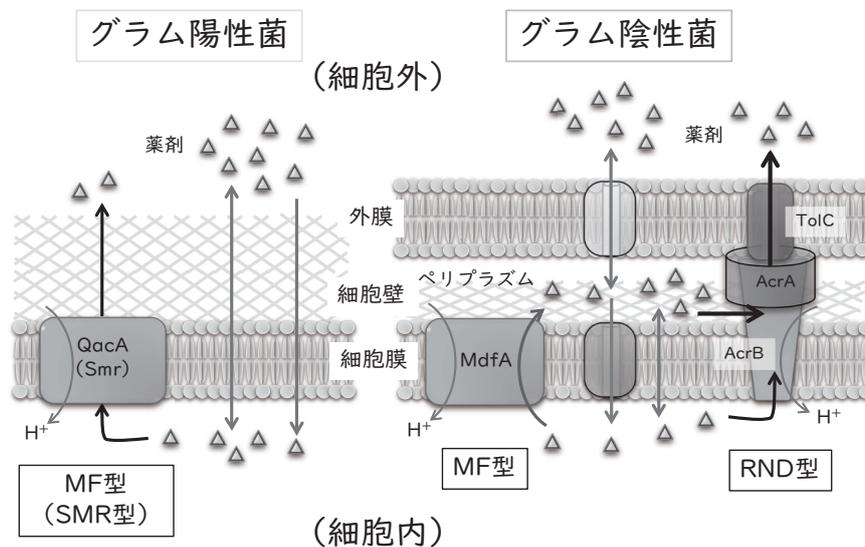


図2 細菌の表層構造と排出ポンプ

表3 排出ポンプの種類と特徴

ファミリー	MF	RND	MATE	SMR	ABC
	major facilitator	resistance nodulation cell-division	multidrug and toxic compound extrusion	small multidrug resistance	ATP binding cassette
エネルギー	プロトン (H <sup>+</sup> )	プロトン (H <sup>+</sup> )	プロトン (H <sup>+</sup> )、Na <sup>+</sup>	プロトン (H <sup>+</sup> )	ATP
主なポンプ	EmrA, MdfA, QacAB	AcrAB, MdtABC, MdsAB	MdtK	Smr, QacH	MacAB
構造	12～14回膜貫通タンパク質	内膜、外膜、アダプターから成るマルチコンポーネント	12回膜貫通タンパク質	4回膜貫通タンパク質	ATP依存性タンパク質

構造は図2を参照

ンによる厚い細胞壁を形成している。グラム陰性桿菌における主要な MF 型ポンプと RND 型ポンプの遺伝子群は、染色体上に存在している<sup>15)</sup>。これら遺伝子のノックアウトにより、消毒薬に対する感受性は著しく高くなるが、それらの遺伝子の発現亢進は必ずしも感受性の低下を引き起こさない。従って、グラム陰性桿菌における多剤排出ポンプは、後天的な低感受性因子と言うよりは、菌本来の薬剤感受性に関与している因子と考えられる。

(2) **プラスミド性多剤排出ポンプ**：グラム陽性菌は外膜がなく、MFS 型や SMR 型のポンプが主な消毒薬排出ポンプとして知られている (図 2)。黄色ブドウ球菌で見出された、MF 型ポンプをコードする *qacA* や SMR 型ポンプをコードする *smr* は、いずれも染色体外のプラスミド上で見出された<sup>16)</sup>。*qacA* は、四級アンモニウム化合物 (quaternary ammonium compounds : QACs) に対して感受性が低下したメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) から見出された。*qacA* には *qacBI*、*qacBII*、*qacBIII*、*qacIV* などの多型があるが、その違いが数塩基であるため、*qacA/B* と表記される<sup>20)</sup>。しかし、排出する薬剤が異なる。*qacA* がコードする QacA は 1 価カチオンの四級アンモニウム化合物、2 価カチオンのクロロヘキシジン・グルコン酸塩、色素などを排出し、これらの消毒薬に対する感受性を低下させる。一方、QacBII は 2 価カチオン系のクロロヘキシジン、QacBIII はアクリフラビンなどの色素に対する排出能力が弱い<sup>20,21)</sup>。黄色ブドウ球菌の染色体からノルフロキサシン耐性遺伝子として見出された *norA* は、MF 型ポンプをコードし、親水型キノロン系薬に加え、四級アンモニウム塩化合物の低感受性に寄与する。その機序は、NorA タンパク質の機能向上ではなく、プロモーター付近の変異による転写亢進による量的変化である<sup>22)</sup>。さらに、SMR 型ポンプをコードする遺伝子として *qacG* ~ *qacJ* 及び *qacZ* が種々の細菌から見出されている<sup>23)</sup>。多剤排出ポンプとしての排出能力は低い、プラスミドなどの染色体外性あるいは可動性因子として見出されている。*qacE* と *qacF* はグラム陰性桿菌のインテグロン上に見出される<sup>24)</sup>。しかし、*qacE* の消毒薬低感受性化への寄与は不明である。

(3) **その他**：排出ポンプ以外に、消毒薬を分解する酵素を細胞内で産生する細菌が見出されている。アルデヒド分解酵素が大腸菌から見出され、クローニングが行われたが、分解効率が低く、クローニング株における低感受性への関与は認められなかった<sup>25)</sup>。この一因として、

アルデヒド系消毒薬は強いタンパク質変性作用を有しているため、大量に細胞内に入ると、細胞構成成分や酵素自体が変性されてしまうためと考えられている。また、水の浄化に関わる活性汚泥から、クロロヘキシジンを分解するセパシア菌が分離されている<sup>1)</sup>。また、ワインやビール製造における酵母はアルコールを産生する。そのため、アルコール抵抗性と考えられるが、アルコール発酵における産生濃度はおよそ 18% であり、80% 消毒用エタノールでは適正な処理をすれば、十分に殺菌可能である。*E. faecium* において、70% イソプロパノールに寛容となった菌株の分離が報告された<sup>26)</sup>。炭水化物代謝系に関わる複数の遺伝子に変異があることが同定されたが、寛容となる機序は不明である。また、銀化合物は、海外において水の消毒等に使用され、最近では、皮膚の消毒を目的に化粧品や環境の抗菌に使用されている。銀化合物の細胞内への取り込みの減少による耐性菌の分離が報告されている<sup>27)</sup>。現在では、水銀等の重金属は消毒薬として使用されないが、多くの細菌から分離される多剤耐性プラスミド上に複数の水銀耐性遺伝子が同定されている<sup>27)</sup>。水銀耐性遺伝子はオペロンを形成し、有機水銀を無機水銀に変換し、昇華させる機構を持っている。

(4) **バイオフィーム形成**：消毒薬から集団で生き残る方法として、バイオフィームの形成がある。多くの微生物は、細胞密度が上昇するとクオラムセンシングによって、多糖や菌体外 DNA が主成分の細胞外分泌物 (スライム) を出して、細胞集団の塊全体を覆うバイオフィームを形成し、低水準の消毒薬の中でも生き残る。低水準の消毒薬における微生物汚染では、バイオフィームが関与していることが指摘されている<sup>28,29)</sup>。バイオフィームの除去は、物理的なクリーニングであり、消毒する前に、付着物を洗い流す前処理はバイオフィーム形成を予防するためにも重要である。

## 5. 消毒薬低感受性菌の現状

グラム陰性桿菌は、院内感染の主要な原因であり、多剤耐性が問題となっている。緑膿菌、セラチア菌、アシネトバクター属菌などには、消毒薬の低感受性に関わる多剤排出ポンプ系の遺伝子が染色体上に複数存在するが、臨床における直接的な消毒薬低感受性化への関与は不明である。一方、MRSA における *qacA/B* は獲得耐性であるため、*qacA/B* 保有株の分布に関して種々の報告

がある<sup>16)</sup>。しかし、院内感染との関連性は不明瞭である<sup>16)</sup>。*qacA*は、明らかにベンザルコニウム塩化物やクロールヘキシジグルコン酸塩に対する感受性を低下させる<sup>7,21)</sup>。実験的には、*qacA*を有する黄色ブドウ球菌では、短時間暴露においては常用量でも生存することが指摘されている<sup>7,30)</sup>。ところが、最近の調査では、*qacA/B*保有MRSAは減少傾向にあった。この要因として、医療施設におけるエタノール消費量の増加が推定されている<sup>21)</sup>。MRSAを始めとする耐性菌は接触感染で伝播する。その対策として、手指衛生の遵守が推進され、アルコール系の消毒薬が汎用されるようになってきている。ブドウ球菌の殺菌にはアルコールが有効であり、*qacA/B*はアルコール系薬剤の排出に関与しないため、その拡散が抑制されている可能性がある。つまり、院内における消毒薬使用の変化が消毒薬低感受性菌の生存に影響を及ぼしていると考えられる。一方で、*qacA*を獲得したグラム陰性桿菌が分離されている。また、アルコール消毒が増加する一方で、アルコールに対して寛容の*E. faecium*の増加が指摘されている<sup>26)</sup>。さらに、臨床ではないが、*qacG*から*qacJ*及び*qacZ*は、動物、食品、環境などを由来とする様々なブドウ球菌から分離されている<sup>23)</sup>。近年、環境、そして動物に対して殺菌性化合物 (biocides) が使用されている。殺菌性化合物に暴露され続けた細菌は生き残るため、ストレス応答系、異物排出系やバイオフィーム形成などの様々な環境応答系の遺伝子を活性化させることが明らかとなっている<sup>31-33)</sup>。また、自然環境は、生物毒を含めた化学物質の宝庫であり、環境に生存する微生物は環境物質を代謝あるいは解毒する能力を有している。前述のグラム陰性桿菌から複数の多剤排出ポンプの遺伝子が見出されているが、通常はほとんど機能していない。微生物はあらゆる手段を利用して生き残る。そのため、感受性菌でも病院などの環境ではこれらの遺伝子を活性化して生き残っているのかもしれない。今後、消毒薬を含めた殺菌性化合物 (biocides) に抵抗性を示す遺伝子の獲得や、順応あるいは回避するシステムを持つことで、低感受性あるいは耐性菌が出現するかもしれない。

## 6. ま と め

感受性の評価が異なるため、消毒薬に対して耐性を判定することは不適切と考えるが、明らかに消毒薬低感受

性菌が存在し、加えて、消毒後に残存する菌が増えている。消毒薬を含めた殺菌性化合物は、比較的高用量で使用されるため、理論上は十分に殺菌あるいは消毒効果が期待できる。しかし、消毒薬における使用や管理の方法はさまざま、厳密ではない。そのため、抗菌薬と同様に、消毒薬の不適切な使用により、生き残る微生物が現れる。この積み重ねは、低感受性あるいは耐性の獲得を可能にする。消毒あるいは殺菌の中から生き残る微生物が報告される現在、消毒薬低感受性 / 耐性菌の流行が危惧される。消毒薬低感受性菌 / 耐性菌の出現と流行を防止するために、消毒薬の適正使用を再考する必要があると考えられる。

## ■ 謝 辞

本原稿作成に際して、資料の収集と提供等にご協力いただいた中南秀将准教授に感謝いたします。

## ■ 利益相反 利益相反はない。

## ■ 引用文献

- 1) McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999; **12**(1): 147-79.
- 2) 野口雅久. 消毒薬の作用メカニズムと使用条件. 月刊薬事. 2005; **47**: 983-90.
- 3) 野口雅久, 笹津備規. 消毒薬耐性. *Infection Control.* 2000; **9**:450-4.
- 4) EUCAST. Determination of minimum inhibitory concentration (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. *Clin Microbiol Infect.* 2000; **6**: 509-15.
- 5) Humphries RM, Ambler J, Mitchell SL, Castanheira M, Dingle T, Hindler JA, et al. CLSI Methods Development and Standardization Working Group Best Practices for Evaluation of Antimicrobial Susceptibility Tests. *J Clin Microbiol.* 2018; **56**(4).
- 6) Sasatsu M, Shimizu K, Noguchi N, Kono M. Evaluation of antiseptics by the modified phenol coefficient method: sensitivity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biol Pharm Bull.* 1994; **17**(1): 136-8.
- 7) 成井浩二, 野口雅久, 笹津備規. 中和剤を用いた改良最小殺菌濃度法による消毒薬耐性黄色ブドウ球菌の消毒薬感受性の評価. 医療薬学. 2003; **29**: 279-86.
- 8) 植田知文, 梶浦工, 小林寛伊. 海外における殺菌・消毒薬の効果評価法—欧州、欧米の試験規格の比較. 医療関連感染. 2015; **8**: 10-6.
- 9) Noguchi N, Hase M, Kitta M, Sasatsu M, Deguchi K, Kono M. Antiseptic susceptibility and distribution of antiseptic-resistance genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett.* 1999; **172**(2): 247-53.
- 10) Noguchi N, Suwa J, Narui K, Sasatsu M, Ito T, Hiramatsu K, et al. Susceptibilities to antiseptic agents and distribution of antiseptic-resistance genes *qacA/B* and *smr* of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Asia during 1998 and 1999. *J Med Microbiol.* 2005; **54**(Pt 6): 557-65.

- 11) 日本環境感染学会. 生体消毒薬の有効性評価指針: 手指衛生 2011. 環境感染誌. 2012; **26**(Supplement II): S1-S5.
- 12) 日本環境感染学会. 生体消毒薬の有効性評価指針: 手術野消毒 2013. 環境感染誌. 2014; **29**(Supplement II): S1-S8.
- 13) Li XZ, Plesiat P, Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev.* 2015; **28**(2): 337-418.
- 14) Sasatsu M, Shibata Y, Noguchi N, Kono M. High-level resistance to ethidium bromide and antiseptics in *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett.* 1992; **72**(2): 109-13.
- 15) 西野邦彦, 山口明人. グラム陰性菌における薬剤排出システムの役割. 日本化学療法学会誌. 2008; **56**: 444-52.
- 16) 野口雅久. グラム陽性菌のプラスミド性消毒薬低感受性. 化学療法の領域. 2015; **31**: 1475-83.
- 17) Murakami S, Nakashima R, Yamashita E, Matsumoto T, Yamaguchi A. Crystal structures of a multidrug transporter reveal a functionally rotating mechanism. *Nature.* 2006; **443**(7108): 173-9.
- 18) Zwama M, Yamaguchi A, Nishino K. Phylogenetic and functional characterisation of the Haemophilus influenzae multidrug efflux pump AcrB. *Commun Biol.* 2019; **2**: 340.
- 19) Azachi M, Henis Y, Shapira R, Oren A. The role of the outer membrane in formaldehyde tolerance in *Escherichia coli* VU3695 and *Halomonas* sp. MAC. *Microbiology.* 1996; **142** ( Pt 5): 1249-54.
- 20) Nakaminami H, Noguchi N, Sasatsu M. Fluoroquinolone efflux by the plasmid-mediated multidrug efflux pump QacB variant QacBIII in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; **54**(10): 4107-11.
- 21) Miyajima E, Harada D, Nakaminami H, Kitamura Y, Tamura T, Kawakubo T, *et al.* Decreased prevalence of *qacA*-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitalized patients in Tokyo, Japan. *Microb Drug Resist.* 2019.
- 22) Noguchi N, Okada H, Narui K, Sasatsu M. Comparison of the nucleotide sequence and expression of *norA* genes and microbial susceptibility in 21 strains of *Staphylococcus aureus*. *Microb Drug Resist.* 2004; **10**(3): 197-203.
- 23) Seier-Petersen MA, Nielsen LN, Ingmer H, Aarestrup FM, Agerso Y. Biocide Susceptibility of *Staphylococcus aureus* CC398 and CC30 Isolates from Pigs and Identification of the Biocide Resistance Genes, *qacG* and *qacC*. *Microb Drug Resist.* 2015; **21**(5): 527-36.
- 24) Elkhatib WF, Khalil MAF, Ashour HM. Integrons and Antiseptic Resistance Genes Mediate Resistance of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Intensive Care Unit Patients with Wound Infections. *Curr Mol Med.* 2019; **19**(4): 286-93.
- 25) Kummerle N, Feucht HH, Kaulfers PM. Plasmid-mediated formaldehyde resistance in *Escherichia coli*: characterization of resistance gene. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; **40**(10): 2276-9.
- 26) Pidot SJ, Gao W, Buultjens AH, Monk IR, Guerillot R, Carter GP, *et al.* Increasing tolerance of hospital *Enterococcus faecium* to handwash alcohols. *Sci Transl Med.* 2018; **10**(452).
- 27) Ij G, Silver S. Bacterial resistance mechanisms for heavy metals of environmental concern. *J Industrial Microbiol.* 1995; **14**: 61-75.
- 28) Mah T-F, O'Toole G. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trend Microbiol.* 2001; **9**: 34-9.
- 29) Bridier A, Briandet R, Thomas V, Dubois-Brissonnet F. Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review. *Biofouling.* 2011; **27**: 11017-1032.
- 30) Nakaminami H, Takadama S, Okita M, Sasaki M, Noguchi N. Fast-acting bactericidal activity of olanexidine gluconate against *qacA/B*-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol.* 2019; **68**(6): 957-60.
- 31) Khan R, Kong HG, Jung YH, Choi J, Baek KY, Hwang EC, *et al.* Triclosan Resistome from Metagenome Reveals Diverse Enoyl Acyl Carrier Protein Reductases and Selective Enrichment of Triclosan Resistance Genes. *Sci Rep.* 2016; **6**: 32322.
- 32) Atashgahi S, Sanchez-Andrea I, Heipieper HJ, van der Meer JR, Stams AJM, Smidt H. Prospects for harnessing biocide resistance for bioremediation and detoxification. *Science.* 2018; **360**(6390): 743-6.
- 33) Merchel Piovesan Pereira B, Wang X, Tagkopoulos I. A systems analysis of *E. coli* short and long-term transcriptomic response to biocides. *Appl Environ Microbiol.* 2020.