مجله دنیای میکروب‌ها
سال هفتم شماره سوم (پیاپی ۲۰) پاییز ۱۳۹۳
صفحات ۲۱۳-۲۰۶

Original Article

بررسی پلی مورفیسم ژن *کواگولاز استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از عفونت های دستگاه تنفسی در شهرکرد

مریم رئیسی*[۱]، الهه تاج بخش[۲]، حسن ممتاز[۳]

[۱] کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه میکروب شناسی، [۲]استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه میکروب شناسی، [۳]دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه میکروب شناسی

چکیده

سابقه و هدف: عفونت دستگاه تنفسی یکی از شایع ترین بیماری های عفونی در جهان است که در اثر التهاب حاد دستگاه تنفس فوقانی توسط حمله باکتری هایی مانند *استافیلوکوکوس اورئوس* به این قسمت ایجاد می گردد. هدف از این مطالعه بررسی پلی مورفیسم ژن کواگولاز *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از عفونت های دستگاه تنفسی در شهرکرد می باشد.

مواد و روش ها: این مطالعه مقطعی- توصیفی بر روی ۲۰۰ نفر از افراد مشکوک به عفونت های دستگاه تنفس فوقانی مراجعه کننده به کلینیک امام علی شهرستان شهرکرد صورت گرفت. از محیط های بلاد آگار و مانیتول سالت آگار برای کشت نمونه ها استفاده شد. کلنی های مشکوک توسط آزمون های میکروب شناسی شناسایی شدند. در نهایت پس از استخراج DNA، محصول PCR در حضور آنزیم *Alu*I مورد هضم آنزیمی واقع گردید و ژنوتیپ ژن *کواگولاز* به روش RFLP تعیین شد.

یافته ها: در مجموع ٦٠ نفر (۳۰ ٪) از افراد مورد بررسی به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند. ٤٢ جدایه دارای باند ۹۷۰ جفت بازی و ۱۸ جدایه دارای باند ۷۳۰ جفت بازی بودند. پس از هضم محصول PCR با آنزیم *Alu*I ، در ٤٢ جدایه سه باند ١٦٠، ۳۲۰ و ٤٩٠ جفت باز (ژنوتیپ I)، در ١٦ جدایه دو باند ٢٤٠ و ٤٩٠ جفت باز (ژنوتیپ VIII) و در ۲ جدایه دو باند ۳۲۰ و ٤١٠ جفت باز (ژنوتیپ IX) مشاهده گردید.

نتیجه گیری: نتایج به دست آمده نشان می دهد که جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت جدا شده از عفونت دستگاه تنفسی در شهرکرد بیشتر متعلق به ژنوتیپ نوع I می باشند که می تواند منبع بالقوه ای برای انتشار این ژنوتیپ در جامعه محسوب گردد.

واژگان کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، ژن *کواگولاز*، عفونت دستگاه تنفسی، RFLP.

دریافت مقاله: اردیبهشت ماه ۹۳ پذیرش برای چاپ: مرداد ماه ۹۳

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) مهم ترین عامل بیماری زا خانواده *میکروکوکاسه* (*Micrococcaceae*) محسوب می شود. به طوری که عامل بیش از ۸۰ درصد بیماری های چرکی و دومین عامل عفونت های بیمارستانی می باشد (۳-۱). از سال ۱۹۵۱ روش فاژتایپینگ *استافیلوکوکوس اورئوس* به صورت جهانی مورد استفاده قرار گرفته است. این روش مقرون به صرفه برای تایپ بندی بسیاری از جدایه ها معرفی شده است. اما این

*) آدرس برای مکاتبه: شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه میکروب شناسی.
تلفن: ۰۹۱۳۹۸۱۳۷۰۷ پست الکترونیک: Maryam_r335@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

روش دارای محدودیت هایی نیز می باشد (٤ و ٥). اخیراً، برخی از محققین گزارش نموده اند که تکنیک های مبتنی بر DNA، روش های تایپ بندی مولکولی، پالس فیلد ژل الکتروفورز (PFGE) و تایپینگ توالی های چندگانه ژنی (MLST) روش های کارآمدی در تایپ بندی *استافیلوکوکوس اورئوس های* مقاوم به متی سیلین (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*) هستند (٤، ٩-٦). استفاده از این روش ها در محیط های بالینی از لحاظ فنی پیچیده، پرزحمت، وقت گیر و گران قیمت است. آنزیم کوآگولاز (Coagulase) تقریباً توسط تمام گونه های *استافیلوکوکوس اورئوس* تولید می شود. در حال حاضر در آزمایشگاه میکروب شناسی بالینی تولید کواگولاز به عنوان معیاری برای شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* در عفونت های انسانی استفاده می شود. همچنین اثبات شده است که کواگولاز فاکتور بیماری زای مهمی در فرآیند ایجاد عفونت می باشد. ازدیاد (Amplification) ژن *کواگولاز* به عنوان یک روش ساده و دقیق برای تایپ بندی مولکولی *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از منابع مختلف در نظر گرفته شده است (٤، ١٦-١١). در پایانه ´٣ ژن *کواگولاز* توالی های تکراری ٨١ جفت بازی پشت سر هم وجود دارد که از نظر تعداد و نیز محل مکان های برش *Alu*I در *استافیلوکوکوس اورئوس های* جدا شده، متفاوت می باشند (٤ و ١٧). این مطالعه با هدف بررسی پلی مورفیسم ژن *کواگولاز استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از عفونت های دستگاه تنفسی در شهرستان شهرکرد انجام شد.

مواد و روش ها

الف) نمونه گیری و جداسازی: این مطالعه مقطعی- توصیفی، در طول ٦ ماهه دوم سال ١٣٩١ بر روی ٢٠٠ نفر از افراد مشکوک به عفونت های دستگاه تنفس فوقانی (التهاب مخاط بینی، التهاب حنجره، عفونت نای و لوله تنفس و غیره) مراجعه کننده به کلینیک امام علی (ع) شهرستان شهرکرد صورت گرفت. نمونه ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٣٧ درجه سیلیسیوس در محیط پپتون واتر (مرک، آلمان) کشت داده شدند. پس از غنی سازی اولیه، نمونه های رشد کرده در محیط های جامد بلاد آگار (مرک، آلمان) و مانیتول سالت آگار (های مدیا، هند) کشت داده شدند. بر روی کلنی های مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* آزمون هایی مانند رنگ آمیزی گرم، کاتالاز، کواگولاز و دزاکسی ریبونوکلئاز (DNase) انجام شد. باکتری های جداسازی شده به عنوان جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس*، به منظور مطالعات بعدی در محیط مایع مغز و قلب (Brain Heart Infusion) (مرک، آلمان) کشت و نگهداری گردیدند (١٨).

ب) استخراج DNA: برای این منظور از کیت استخراج DNA (شرکت فرمنتاز، آلمان) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استفاده گردید.

ج) واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR): به منظور تائید حضور ژن *کواگولاز* از پرایمر های CoaG2 و CoaG3 با توالی زیر استفاده شد (١٩):

COAG2 F: 5'-CGAGACCAAGATTCAACAAG-3'
COAG3R: 5'-AAAGAAAACCACTCACATCA-3'

واکنش PCR در حجم ٥٠ میکرولیتر شامل: ١ میکرولیتر DNA الگو، ٥ میکرولیتر بافر PCR (١٠X)، ١ میکرولیتر مخلوط dNTPs (١٠Mm)، ١/٥ میکرولیتر $MgCl_2$ (٥٠ Mm)، ٢ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها، ١ واحد آنزیم Smar Taq DNA Polymerase و ٣٦/٣ میکرولیتر آب مقطر انجام گرفت. در ادامه واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر مستر سایکلر گرادیانت (اپندرف، آلمان) با شرایط دمایی ٢ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ٩٥ درجه سیلیسیوس و در ادامه ٣٠ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ٩٥ درجه سیلیسیوس به مدت ٣٠ ثانیه، اتصال در دمای ٥٨ درجه سیلیسیوس به مدت ٢ دقیقه، طویل شدن در دمای ٧٢ درجه سیلیسیوس به مدت یک دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ٧٢ درجه سیلیسیوس به مدت ٧ دقیقه انجام شد.

د) ژنوتایپینگ ژن کواگولاز با روش RFLP: برای این منظور محصول PCR در حضور آنزیم *Alu*I (فرمنتاز، آلمان) مورد

Archive of SID

www.SID.ir

هضم آنزیمی واقع گردید. این واکنش در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد. در ابتدا ۱۲/۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۱ میکرولیتر آنزیم *Alu*I ، ۱/۵ میکرولیتر بافر محدود کننده (Restriction Buffer) و ۵ میکرولیتر آب مقطر مخلوط گردید و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سیلیسیوس گرما گذاری شد. به منظور بررسی قطعات ایجاد شده، محصول PCR پس از هضم آنزیمی بر روی ژل آگاروز ۱ درصد الکتروفورز گردید (۱۹).

ه) *تجزیه و تحلیل آماری*: داده های حاصل از مطالعه با استفاده از نسخه شانزدهم نرم افزار آماری *SPSS* و آزمون های آماری مربع کای و دقیق فیشر مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها

در این مطالعه از مجموع ۲۰۰ مراجعه کننده به کلینیک که مبتلا به عفونت دستگاه تنفسی بودند، ٦٠ نفر (۳۰٪) به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند. ٤٢ جدایه باند ۹۷۰ جفت بازی و ۱۸ جدایه باند ۷۳۰ جفت بازی داشتند (جدول ۱ و شکل ۱). پس از هضم محصول PCR با آنزیم *Alu*I ، در ٤٢ جدایه سه باند ١٦٠، ٣٢٠ و ٤٩٠ جفت باز (ژنوتیپ I)، در ١٦ جدایه دو باند ٢٤٠ و ٤٩٠ جفت باز (ژنوتیپ VIII) و در۲ جدایه دو باند ۳۲۰ و ٤١٠ جفت باز (ژنوتیپ IX) مشاهده گردید (جدول ۱ و شکل ۲).

آنالیز داده ها نشان داد که اختلاف معنا داری بین جنسیت و حضور *استافیلوکوکوس اورئوس* و همچنین نوع عفونت و حضور *استافیلوکوکوس اورئوس* وجود ندارد. در این بررسی ژنوتیپ ۱ در ٤٢ بیمار (۲۰ نفر مرد و ۲۲ نفر زن) و ژنوتیپ ۹ در ۲ بیمار (۲ نفر مرد) مشاهده گردید. اختلاف آماری معنا داری بین فراوانی ژنوتیپ در مردان و زنان مشاهده نگردید. همچنین ژنوتیپ ۸ در ١٦ بیمار (۱۰ نفر مرد و ٦ نفر زن) مشاهده گردید. همچنین بین فراوانی ژنوتیپ ۸ در مردان و زنان مورد بررسی اختلاف معنی داری وجود داشت.

بحث

تولید *کواگولاز* یک ویژگی مهم برای شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* است که در سراسر جهان مورد استفاده قرار می گیرد. طبقه بندی بر اساس ژن *کواگولاز استافیلوکوکوس اورئوس* روشی ساده و دقیق برای تایپ بندی مولکولی می باشد. به طوری که رایموندو (Raimundo) و همکاران گزارش نموده اند که این روش می تواند در تحقیقات اپیدمیولوژیک *استافیلوکوکوس اورئوس* های جدا شده به دلیل تکرار پذیری بالا و قدرت تفکیک و افتراق مناسب آن، مورد استفاده قرار گیرد (۲۰).

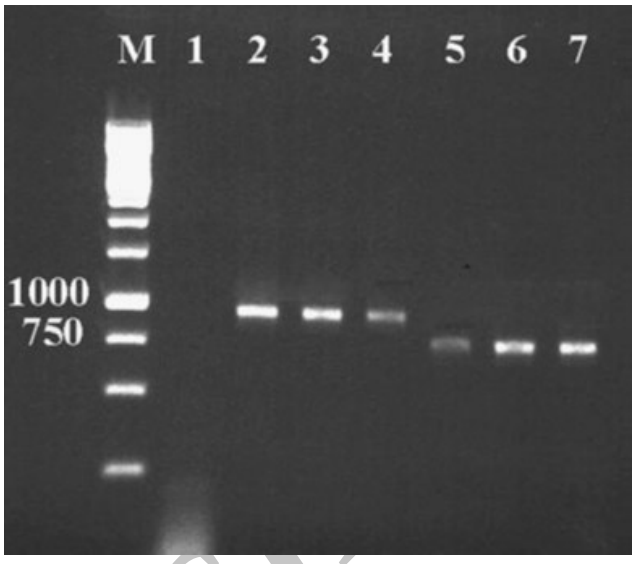
در مطالعه حاضر از مجموع ۲۰۰ نمونه ۳۰ درصد آلودگی با *استافیلوکوکوس اورئوس* یافت شد. در بررسی پلی مورفیسم ژن *کواگولاز* به روش RFLP، ٤٢ نمونه (۷۰٪) متعلق به ژنوتیپ I، ١٦ نمونه (٢٦/٢٦٪) متعلق به ژنوتیپ VIII و

جدول ۱: تایپ بندی مولکولی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* بر اساس RFLP ژن *کواگولاز*.

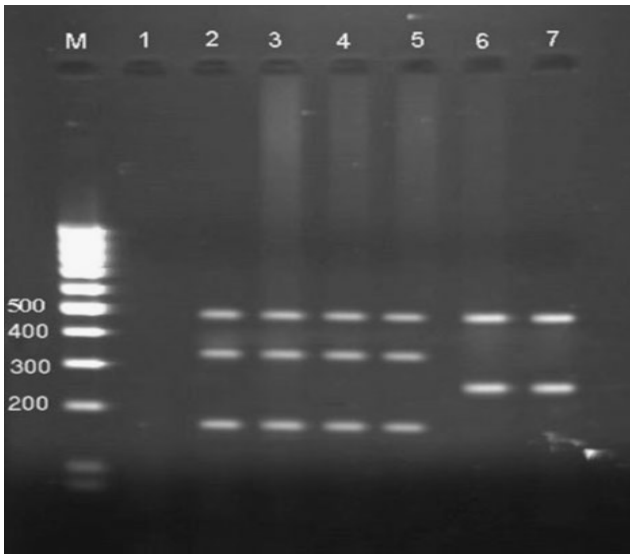
ژنوتیپ	محصول PCR (جفت باز)	RFLP (جفت باز)	تعداد (٪)
I	۹۷۰	٤٩٠ – ٣٢٠–١٦٠	(۷۰) ٤٢
II	۸۱۰	٤١٠– ٢٤٠– ١٦٠	–
III	۸۱۰	٤٩٠ – ٢٤٠ – ٨٠	–
IV	۸۱۰	٤٩٠ – ٢٤٠– ١٦٠	–
V	۸۹۰	٤١٠–٢٤٠–١٦٠–٨٠	–
VI	۸۱۰ – ١٠٥٠	٤٩٠–٤١٠–٣٢٠–١٦٠	–
VII	۸۹۰	٤٩٠ -٤١٠	–
VIII	۷۳۰	٤٩٠– ٢٤٠	(٢٦/٢٦) ١٦
IX	۷۳۰	٤١٠ – ٣٢٠	(۳/۳) ۲

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱: الکتروفورز حاصل از تکثیر ژن *کواگولاز* جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس های* جدا شده از ترشحات بینی: M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱) کنترل منفی، ستون های ۲ تا ٤) نمونه های مثبت با قطعات ۹۷۰ جفت بازی، ستون های ۵ تا ۷) نمونه های مثبت با قطعات ۷۳۰ جفت بازی.



شکل ۲: پلی مورفیسم شایع ترین ژنوتیپ های ژن *کواگولاز* جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس های* جدا شده از ترشحات بینی. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱) کنترل منفی، ستون های ۲ تا ۵) ژنوتیپ I ژن *کواگولاز*، ستون های ٦ و ۷) ژنوتیپ VIII ژن *کواگولاز*.

۲ نمونه (۳/۳٪) مربوط به ژنوتیپ IX بودند. به این ترتیب بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ I می باشد. در این مطالعه ژنوتیپ های II، III، IV، V، VI، VII گزارش نگردیدند.

در مطالعه کاراهان (Karahan) و همکاران در سال ۲۰۰۷ در ترکیه مشخص گردید که از مجموع ۲۰۰ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۱٦۱ جدایه (۸۰/۵٪) دارای پلی مورفیسم در ژن *coa* خود بودند. پس از هضم آنزیمی مشخص شد که ۸۳/۹٪ از این جدایه ها تنها دارای یک باند به اندازه ۵۰۰ تا ۱٤۰۰ جفت بازی می باشد و ۱٦/۱٪ دارای دو قطعه بودند.

Coa RFLP با استفاده از آنزیم برش دهنده *Alu*I ، ۲۳ الگوی متفاوت در جدایه های مورد بررسی را نشان داد. که ژنوتیپ XIV بیشترین فراوانی را (۳٤/۲٪) به خود اختصاص داده بود (۲۱).

در مطالعه طالبی (Talebi) و همکاران بر روی ۲٦ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از ادرار و پوست، پس از هضم آنزیمی محصول PCR با استفاده از آنزیم *Hae*III، ژنوتیپ های C1-C6 شناسایی گردیدند. به طوری که ژنوتیپ C1 با فراوانی ٦۹/۲٪ بیشترین میزان را به خود اختصاص داد. بنابراین ژنوتیپ C1 *گواگولاز استافیلوکوکوس اورئوس*، وجود خود را به عنوان یک عامل اتیولوژیک در غالب عفونت ها در پوست و ادرار نشان می دهد. در این تحقیق *استافیلوکوک* های متعلق به ژنوتیپ C1 از قدرت عفونت زایی و پایداری بیشتری نیز در دستگاه ادراری و پوست برخوردار بودند. زیرا این باکتری ها با دارا بودن ادهسین icaA که فاکتور چسبندگی محسوب می گردد توانایی اتصال به سلول های دستگاه ادراری میزبان را دارا می باشند. بنابراین به عنوان یکی از عوامل عفونت ادراری (UTI) عمل می نمایند (۲۲).

در تحقیق انجام شده توسط ممتاز (Momtaz) و همکاران بر روی شیرهای مربوط به گاوهای مبتلا به ورم پستان در استان چهارمحال و بختیاری از ۸٦ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۳۱ سویه (۳٦٪) متعلق به ژنوتیپ I و ۱۱ سویه (۱۲/۷۱٪) متعلق به ژنوتیپ VIII بودند. وجود الگوهای یکسان در میان جدایه های کلینیکی و جدا شده از شیر نشان می دهد که احتمالاً شیر عامل انتقال بیماری به انسان بوده است (۱۸).

در مطالعه انجام شده توسط اسلانتاس (Aslantas) و همکاران

Archive of SID

www.SID.ir

بر روی ٦٠ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از موارد ابتلا به ورم پستان گاو، ژنوتیپ I در ۳۰ نمونه و ژنوتیپ VIII در ٢٦ نمونه غالب ترین فراوانی را به خود اختصاص دادند. ژنوتیپ II در ۷ نمونه، ژنوتیپ IX در ۵ نمونه، ژنوتیپ VII در ٤ نمونه، ژنوتیپ V در ۲ نمونه و ژنوتیپ های III و IV در یک نمونه گزارش شدند (۱۹).

در مطالعه انجام شده توسط ساعی (Saei) و همکاران در شهرهای ارومیه و تبریز بر روی ۵۸ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان، ۹ ژنوتیپ متفاوت RFLP گزارش گردید (I-IX). بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ I (٣٩/٦٦٪) بود. همچنین در تحقیق یاد شده ژنوتیپ III با ٢٤/١٤٪ گزارش گردید (۲۳).

مونتشون (Montesinos) و همکاران با مطالعه بر روی ١٢٤ *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از نمونه های بالینی بیماران بیمارستان جزایر قناری در سال های ۱۹۹۷ تا ۲۰۰۰ و با استفاده از PCR-RFLP ژن *کوآگولاز*، چهار الگو مشاهده نمودند. الگوی *Coa1* (٨٩٪) به عنوان شایع ترین الگو که منجر به بروز تمام موارد اپیدمی می شد معرفی گردید. اما بقیه ژنوتیپ ها در موارد پراکنده مشاهده شدند (*Coa4* = ١٪، *Coa3*= ٨٪، *Coa2*= ٢٪ ، *Coa5*=) (۱۰).

مطالعات انجام شده توسط هوکی (Hookey) و همکاران بر روی ژن *کوآگولاز استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از روش RFLP به وسیله آنزیم های *Alu*I و *Cfo* هشت الگوی ژن *کوآگولاز* را نشان داد. سه الگو در بین ۲۰ نمونه بیشتر رایج بود. الگوهای ۲ و ۵ در ۱۸ نمونه مشاهده شدند. الگوی ۱ در ١٤ نمونه وجود داشت. الگوی ٤ در ١١ نمونه، الگوی ۷ در ۱۰ نمونه، الگوی ۸ در ۸ نمونه و الگوی ٦ نیز در ٦ نمونه مشاهده شد (۷).

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان می دهد که جدایه *های استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز* مثبت جدا شده از عفونت دستگاه تنفسی در شهرکرد بیشتر متعلق به ژنوتیپ نوع I بوده اند. بنابراین این فراوانی می تواند منبع بالقوه ای برای انتشار این ژنوتیپ در جامعه محسوب گردد. اطلاعات به دست آمده می تواند برای توسعه کارآمدتر در برنامه های کنترل عفونت های استافیلوکوکی مورد استفاده قرار گیرند. مطالعات ما تنها چند ژنوتیپ از انواع ژنوتیپ های غالب میان کشورها را نشان داد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از جناب آقای صفری کارشناس آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

Archive of SID

References

1. Garcia L S. *Staphylococcus*. In: Garcia L S. Clinical microbiology procedures handbook. USA .ASM Press. 2010. 1450-1480.
2. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, Kaplan SL, Karchmer AW, Levine DP, Murray BE , Rybak MJ, Talan DA, Chambers HF. Cinical practice guidelines by the infectious diseases society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. Clin Infect Dis. 2011; 52: 1-38.
3. Bashar H. The antibiotics market. Nat Rev Drug Dis. 2010; 9: 675-676.
4. Mehndiratta PL, Bhalla P. Typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: A technical review. Rev Art. 2012; 30(1): 16-23.

www.SID.ir

5. Mathews AA, Thomas M, Appalaraju B, Jayalakshmi J. Evaluation and comparison of tests to detect methicillin resistant *S. aureus*. Ind J Path Microbiol. 2010; 53(1): 79-82.

6. Harris SR , Feil EJ, Holden MTJ, Quail MA, Nickerson EK, Chantratita N, Gardete S, Tavares A, Day N, Lindsay JA, Edgeworth JD, Lencastre HD, Parkhill J, Peacock SJ, Bentley SD. Evolution of MRSA during hospital transmission and intercontinental spread. Sci. 2010; 327(5964): 469-474.

7. Saei H, Ahmadi M. Discrimination of *Staphylococcus aureus* isolates on the basis of gene coding protein a using PCR-restriction enzyme analysis. Comp Clin Path. 2011; 5(2): 1-8.

8. Saei HD. coa types and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolates from cases of bovine mastitis. Comp Clin Path. 2010; 21(3): 1-7.

9. Su C, Kanevsky I, Jayarao BM, Sordillo LM. Phylogenetic relationships of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis based on *coagulase* gene polymorphism. Vet Microbiol. 2000; 71(1-2): 53-58.

10. Montesinos I, Salido E, Delgado T, Cuervo M, Sierra A. Epidemiologic genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis at a university hospital and comparison with antibiotyping and protein A and *coagulase* gene polymorphisms. J Clin Microbiol. 2002; 40(6): 2119-2125.

11. Goh SH, Byrne SK, Zhang JL, Chow AW. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* on the basis of *coagulase* gene polymorphisms. J Clin Microbiol. 1992; 30(7): 1642-1645.

12. Schwarzkopf A, Karch H. Genetic variation in *staphylococcus aureus* coagulase genes: potential and limits for use as epidemiological marker. J Clin Microbiol. 1994; 32(10): 2407-2412.

13. Aarestrup FM, Dangler CA, Sordillo LM. Prevalence of *coagulase* gene polymorphism in *staphylococcus aureus* isolates causing bovine mastitis. Can J Vet Res. 1995; 59(2): 124-128.

14. Schlegelova J, Dendis M, Benedík J, Babak V, Rysanek D. *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cows and humans on a farm differ in *coagulase* genotype. Vet Microbiol. 2003; 92(4): 327-334.

15. Lawrence C, Cosseron M, Mimoz O, Brun-Buisson C, Costa Y, Samii K, Duval J, Leclercq R. Use of the *coagulase* gene typing method for detection of carriers of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother. 1996; 37(4): 687-696.

16. Rodrigues da Silva E, Silva N. *Coagulase* gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from cows with mastitis in southeastern Brazil. Can J Vet Res. 2005; 69(4): 260-264.

17. Omar NY, Ali HAS, Harfoush RAH, Khayat EHE. Molecular typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates on the basis of protein A and coagulase gene polymorphisms. Int J Microbiol. 2014; 10(1155): 1-11.

18. Momtaz H, Tajbakhsh E, Rahimi E. *Coagulase* gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and sub-clinical bovine mastitis in Isfahan and Chaharmahal va

Archive of SID

www.SID.ir

Bakhtiari provinces of Iran. Comp Clin Pathol. 2011; 20: 519-522.

19. Aslantas O, Demlr C, Turutoglu H, Cantekln Z, Ergun Y, Dogruer G. *Coagulase* gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis. Turk J Vet Anim Sci. 2007; 31(4): 253-257.

20. Raimundo O, Deighton M, Capstick J, Gerraty N. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* of bovine origin by polymorphisms of the *coagulase* gene. Vet Microbiol. 1999; 66 (4): 275-284.

21. Karahan M, Cetinkaya B. Coagulase gene polymorphisms detected by PCR in *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis in Turkey. Vet J. 2007; 174 (2): 428-431.

22. Talebi-Satlou R, Ahmadi M, Saei HD. Restriction fragment length polymorphism genotyping of human *Staphylococcus aureus* isolates from two hospitals in Urmia region of Iran using the *coa* gene. Jundishapur J Microbiol. 2012; 5(2): 416-420.

23. Saei HD, Ahmadi M, Mardani K, Batavani RA. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis based on polymorphisms of the *coagulase* gene in the north west of Iran. Vet Microbiol. 2009; 137(1-2): 202-206.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Microbial World
Volume 7, No. 3, October 2014

Original Article

Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical respiratory system infections in Shahrekord

Maryam Reisi[1], Elahe Tajbakhsh[2], Hassan Momtaz[3]

[1]M.Sc., Department of Microbiology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
[2]Assistant Professor, Department of Microbiology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
[3]Associate Professor, Department of Microbiology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Respiratory system infections is a common infectious disease and is an acute inflammation of the upper respiratory system caused by several bacterial infections including *Staphylococcus aureus*. The aim of this study was to investigate the *coagulase* gene polymorphism of *S. aureus* isolated from clinical respiratory system infections samples in Shahrekord of Iran.

Material & Methods: This study was conducted by a sectional-descriptive study on 200 persons suspected to the upper respiratory system infections who referred to Imam Ali clinic in Shahrekord. After growth of microorganisms on blood agar and manitol salt agar, the suspected colonies were identified by microbiological testing. Next, DNA samples were prepared and the products of PCR reactions were enzymatically digested and genes were genotyped using RFLP.

Results: Overall, 60 patients (30%) were infected to *S. aureus*. Among them 42 isolates showed a 970 bp fragments and 18 isolates showed a 730bp fragments. After enzymatic digestion with *Alu*I, 42 specimens contained three bands: 320, 490, and 160 bp (genotype I), while 16 specimens contained two bands: 490 and 240 bp (genotype VIII) and 2 specimens contained two bands: 410 and 320 bp (genotype IX).

Conclusion: The results obtained from present study showed that coagulase-positive *S. aureus* strains isolated from respiratory system infections in Shahrekord belonged mostly to genotype type I, which can be considered as a potential source for the release of the genotypes in the population.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *coagulase* gene, Respiratory system infections, RFLP.

Correspondence to: Maryam Reisi

Tel: +989139813707

E-mail: Maryam_r335@yahoo.com

Journal of Microbial World 2014, 7(3): 206-213.

Archive of SID

www.SID.ir