

## تحقیقی

## ارزیابی مقاومت پلاسمیدی به موپروسین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه‌های بالینی پوست کارکنان و بیماران بستری در بیمارستان

مارال خامه چی<sup>۱</sup>، دکتر محمدرضا مهرایی<sup>۲</sup>، دکتر رضا یاری<sup>۳\*</sup>

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیولوژی سلولی ملکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.  
۲- استادیار هماتولوژی و بانک خون آزمایشگاهی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده علوم پزشکی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.  
۳- استادیار بیولوژی سلولی ملکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** موپروسین آنتی‌بیوتیک ترشحی مهارکننده آنزیم ایزولوسین- *tRNA* سنتتاز باکتریایی است که علیه زرد زخم حاصل از استرپتوکوکوس پیوژن و استافیلوکوکوس اورئوس به کار می‌رود. این مطالعه به منظور تعیین مقاومت پلاسمیدی به موپروسین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه‌های بالینی پوست کارکنان و بیماران بستری در بیمارستان انجام شد.

**روش بررسی:** این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی روی ۱۵۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه‌های بالینی پوست بیماران و کارکنان سه بیمارستان در شهرستان قم طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ انجام شد. برای تایید هویت ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس از روش‌های بیوشیمیایی متداول استفاده شد. همچنین از PCR ناحیه *16srRNA* برای تایید ملکولی ایزوله‌ها استفاده شد. حضور ژن‌های *mupA* (*iles-2*) و *mupB* پلاسمیدی با استفاده از روش PCR بررسی شده و نقشه برش آنزیمی *AluI* برای آنها انجام پذیرفت. از روش دیسک دیفیوژن برای نشان دادن مقاومت به موپروسین استفاده شد.

**یافته‌ها:** ۷ ایزوله (۶/۶۶ درصد) مقاوم به موپروسین شناخته شدند. همگی ایزوله‌های مقاوم به موپروسین دارای PCR مثبت ژن‌های مقاومت به موپروسین پلاسمیدی *mupA* (*iles-2*) و *mupB* بودند و در تمام نمونه‌های مقاوم هر دو ژن پلاسمیدی مورد بررسی، مشاهده گردید. گروه‌بندی نمونه‌های باکتریایی براساس الگوی برش ژن پلاسمیدی *mupB* با آنزیم *AluI* و روش *UPGMA* توانست ایزوله‌های بالینی به دست آمده از افراد مذکر و مونث را در خوشه‌های (*Clusters*) مجزا قرار دهد.

**نتیجه‌گیری:** فراوانی مقاومت پلاسمیدی به موپروسین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه‌های پوست اندک بود.

**کلید واژه‌ها:** استافیلوکوکوس اورئوس، پلاسمید، موپروسین، پوست، بیمار

\* نویسنده مسؤول: دکتر رضا یاری، پست الکترونیکی [rezayari@yahoo.com](mailto:rezayari@yahoo.com)

نشانی: بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، دانشکده علوم، تلفن ۰۲۵۰۳۷۷۰۳۱۹۰، نمابر ۰۶۴-۴۲۵۰۵۸۷۸ (دانشکده پیرایشگی)

وصول مقاله: ۱۳۹۵/۱۰/۱۲، اصلاح نهایی: ۱۳۹۵/۱۱/۳۰، پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۱۲/۸

### مقدمه

پزشکی محسوب می‌شود (۳). DNA آن به صورت حلقوی و طول آن ۲/۷ Mb است. این DNA دارای ۲۶۶۵ ژن است که ۲۵۱۵ پروتئین را به رمز در می‌آورند (۴). باکتری استافیلوکوکوس اورئوس طیف وسیعی از عوامل مرتبط با سلول و همچنین عوامل حدت ترشحی را بیان می‌کند. این خصوصیت‌ها، استافیلوکوکوس اورئوس را مبدل به یک باکتری بیماری‌زای همه‌کاره با قابلیت ایجاد طیف گسترده‌ای از عفونت‌ها می‌کند (۵). برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری از آنتی‌بیوتیک‌های متعددی استفاده می‌شود که یکی از مهم‌ترین آنها، موپروسین است. موپروسین آنتی‌بیوتیک ترشحی است که به‌طور طبیعی توسط سودوموناس فلوروسنس سویه NCIMB 10586 و نیز به‌طور صنعتی تولید شده با

استافیلوکوک‌ها بر روی پوست و غشاهای مخاطی به‌وفور حضور دارند. میکروارگانیزم‌های گرم مثبت به‌خصوص استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) به‌عنوان عامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی شناخته شده‌اند. این باکتری‌ها می‌توانند عفونت‌های سطحی یا عمقی ایجاد کنند که بعضاً کشنده بوده یا موجب آسیب‌های گسترده‌ای در بدن می‌شوند. زیستگاه اکولوژیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس ناحیه قدامی مجاری بینی است و در حدود ۲۰ درصد از جمعیت ناقل آن هستند (۱ و ۲). استافیلوکوکوس اورئوس کوکسی گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری است که مهم‌ترین گونه در جنس استافیلوکوک از نظر

بیوشیمیایی افتراقی (Urea Broth و Mannitol Salt Agar، DNA Agar) و PCR ناحیه ۱۶srRNA شناسایی دقیق ایزوله‌ها انجام گردید.

برای تعیین الگوی مقاومت سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از روش دیسک دیفیوژن، حساسیت نسبت به موپروسین مطابق روش انتشار با استفاده از دیسک آنتی‌بیوتیکی ۵ میکروگرمی موپروسین و با رعایت استانداردهای CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) صورت گرفت. نمونه‌ها را در محیط مولر هیتون برات کشت دادیم. سپس محیط مورد نظر در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از رشد باکتری در محیط سوسپانسیونی با غلظت ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. بدین منظور ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی را در لوله ریخته و چند قطره از محیط کشت حاوی باکتری تا رسیدن به کدورت مورد نظر به آن اضافه گردید. از این سوسپانسیونی با استفاده از سوآب استریل به صورت سفره‌ای روی محیط مولر هیتون آگار کشت داده و دیسک آنتی‌بیوتیک موپروسین روی محیط قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت انکوبه کردن آنها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک اندازه‌گیری شد. اگر هیچ هاله‌ای اطراف دیسک موپروسین وجود نداشت؛ سویه به عنوان سویه مقاوم به موپروسین و در صورت وجود هاله اطراف دیسک موپروسین سویه به عنوان سویه حساس به موپروسین در نظر گرفته شد (۲۱ و ۲۲).

در روش ملکولی PCR، برای استخراج DNA باکتری از کیت استخراج DNA پلاسمیدی شرکت سینا کلون استفاده شد. پس از تخلیص ژنوم باکتری به منظور شناسایی ژن *mupA* (iles-2) برای پرایمر *mupA* و ژن *mupB* از پرایمر *mupB* (جدول یک). برای انجام PCR از دستگاه ترموسایکلر (Biorad USA PCR T100) استفاده شد (جدول ۲). مواد مورد نیاز برای انجام واکنش PCR ژن *mupA* و *mupB* در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ddH<sub>2</sub>O (DW)، 10X Buffer (x1)، MgCl<sub>2</sub> (۱/۵mM)، dNTP (۰/۲ mM)، Primer (۰/۶ mM)، Taq polymerase (۰/۴ U) و DNA (۴۰-۱۰) ng بود.

بعد از اتمام واکنش، ۴ میکرولیتر از مخلوط PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی رنگ DNA Safe Stain با استفاده از بافر TBE ۰/۵ x به مدت ۴۵ دقیقه با ولتاژ ۷۰ مورد الکتروفورز قرار گرفت و باند ایجاد شده به وسیله دستگاه آشکارساز (E-BOX VILBER) مورد مطالعه قرار گرفت. از نشانگر 100 bp ladder (Cat. No. PR911653) شرکت سینا کلون برای تخمین اندازه قطعه‌ها استفاده شد.

به منظور برش آنزیمی نمونه‌های PCR از آنزیم AluI شرکت سینا کلون استفاده گردید. بدین منظور ابتدا دو محلول Universal Buffer RapidDigest 10X و Blue Buffer RapidDigest 10X را به ترتیب به مقدار ۳۰۰

مهار آنزیم ایزولوسین-tRNA سنتتاز باکتریایی علیه عفونت‌های حاصل از استرپتوکوکوس پیوژن و استافیلوکوکوس اورئوس به کار می‌رود (۹-۶). از آنجایی که موپروسین ترجیحاً در مقابل پاتوژن‌های گرم مثبت فعال است؛ در طب به عنوان یک عامل ضدباکتریایی علیه استافیلوکوک‌ها از جمله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و استرپتوکوکوس استفاده می‌شود (۱۱ و ۱۰). برای نخستین بار در سال ۱۹۸۶ موپروسین به وسیله پزشکان برای بیماران تجویز و متعاقب مصرف بالینی آن، سوش‌های مقاوم سریعاً گزارش گردید (۱۲).

مقاومت در سه سطح پایین، بالا و بسیار بالا در استافیلوکوکوس اورئوس تشخیص داده شده است. مقاومت به موپروسین به دو صورت کروموزومی و پلاسمیدی وجود دارد و از لحاظ فنوتیپی به سه گروه تقسیم می‌شود. سطح پایین مقاومت با MIC ۸-۲۵۶ μg/ml (Minimum Inhibitory Concentration)، سطح بالای مقاومت با MIC مساوی و بالاتر از ۵۱۲ μg/ml و سطح بسیار بالای مقاومت با MIC بالای ۱۰۲۴ μg/ml تعیین می‌شود. سطح پایین مقاومت با جهش در ژن کروموزومی *iles-1* سطح بالای مقاومت به کمک ژن *mupA* پلاسمیدی و سطح بسیار بالای مقاومت به کمک ژن *mupB* پلاسمیدی صورت می‌پذیرد (۱۱ و ۱۳).

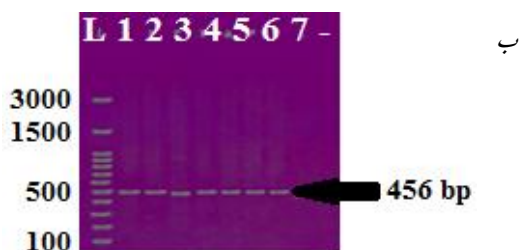
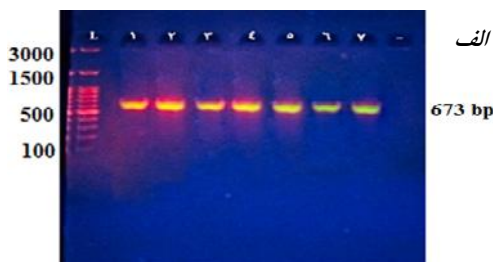
از سال ۱۹۵۱ روش فزائز تایپینگ استافیلوکوکوس اورئوس به صورت جهانی مورد استفاده قرار گرفته است. این روش مقرون به صرفه برای تایپ‌بندی بسیاری از جدایه‌ها معرفی شده؛ اما دارای محدودیت‌هایی است. برخی از محققین گزارش نموده‌اند که روش‌های مبتنی بر DNA، روش‌های تایپ‌بندی مولکولی، PFGE و MLST (Multi Locus Sequence Typing) روش‌های کارآمدی در تایپ‌بندی استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین هستند (۲۰-۱۴). این مطالعه به منظور تعیین مقاومت پلاسمیدی به موپروسین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه‌های بالینی پوست کارکنان و بیماران بستری در بیمارستان انجام شد.

## روش بررسی

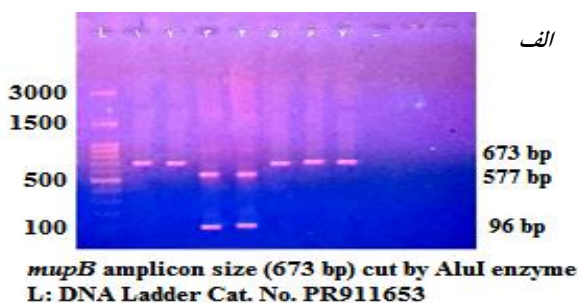
این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی روی ۱۵۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه‌های بالینی پوست بیماران و کارکنان سه بیمارستان کامکار، شهیدبهشتی و نکوئی (هدایتی) در شهرستان قم طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ انجام شد.

از بیماران رضایت‌نامه کتبی آگاهانه شرکت در مطالعه اخذ شد. نمونه‌ها از محیط انتقالی (BHI) بر روی محیط غنی بلاد آگار به روش استریک پلینت کشت داده شدند. سپس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. کلنی‌های مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس با رنگ‌آمیزی گرم و تست کاتالاز تشخیص اولیه داده شدند. سپس به کمک تست کوآگولاز،

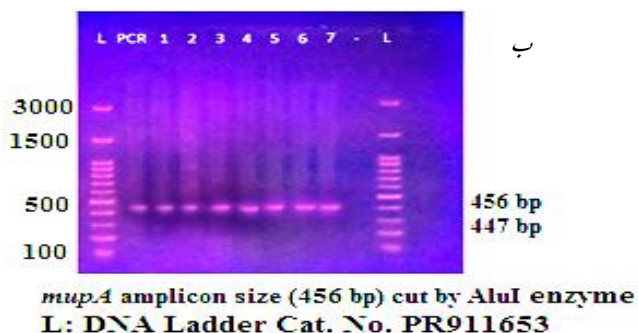
۲-ب) جداگانه با استفاده از آنزیم AluI برش داده شدند (شکل ۲). پس از برش با آنزیم AluI داده‌های حاصل از باندهای تولید شده به صورت ماتریکس یک و صفر وارد نرم‌افزار آماری SPSS-21 شد. سپس داده‌ها به برنامه‌های MVSP-3.22 (Multi Variate Statistical Package) و NTSYS-2.02 (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) منتقل گردید و از آن برای ترسیم دندروگرام‌ها با روش‌هایی نظیر (Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean Averages) UPGMA رسته‌بندی و ماتریس تشابه استفاده شد (اشکال ۳ و ۴).



شکل ۱: ژل آگارز محصولات آزمایش PCR هفت سویه مقاوم به موپروسین  
الف: ژن *mupA*، ب: ژن *mupB*  
L: DNA مارکر (Cat. No. PR911653)، (-): کنترل منفی



*mupB* amplicon size (673 bp) cut by AluI enzyme  
L: DNA Ladder Cat. No. PR911653



*mupA* amplicon size (456 bp) cut by AluI enzyme  
L: DNA Ladder Cat. No. PR911653

شکل ۲: ژل الکتروفورز برش امپلیکون‌ها با آنزیم AluI  
الف: ژن *mupA*، ب: ژن *mupB* آگارز ۲ درصد

میکرولیتر و ۱۲۰ میکرولیتر در یک میکروتیوب با یکدیگر مخلوط کردیم. ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR را همراه با ۳ میکرولیتر RapidDigest (محلول ذخیره مرحله اول) و ۱۷ میکرولیتر آب مقطر در یک میکروتیوب ریخته و به آرامی مخلوط کردیم. میکروتیوب را به منظور فعال شدن آنزیم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه کردیم. بعد از گذشت زمان فعال‌سازی آنزیم به منظور غیرفعال کردن آنزیم میکروتیوب را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد انکوبه نمودیم. پس از پایان زمان برش قطعات را با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز نمودیم.

جدول ۱: ژن‌های هدف توالی و پرایمرهای به کار رفته و طول قطعه تکثیر یافته پرایمرها

منبع	قطعه امپلیکون	توالی از سمت ۵' به ۳'	پرایمر
۱	۴۵۶ bp	<i>F : tatattatgcatggaaggttg</i>	<i>mupA</i>
		<i>R : aataaaatcagctggaaggttg</i>	
۱	۶۷۳ bp	<i>F : ctagaagtcgatttggagtag</i>	<i>mupB</i>
		<i>R : agtgtctaaatgataagacgatc</i>	

جدول ۲: چرخه دمایی-زمانی امپلیکون ژن *mupA* و *mupB* برای انجام واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر

چرخه	زمان	دما (درجه سانتی گراد)	Step
۱	۳ دقیقه	۹۵	Initial Denaturation
۳۴	۳۰ ثانیه	۹۴	Denaturation
	۴۰ ثانیه	۵۲	Annealing
	۵۰ ثانیه	۷۲	Extension
۱	۱۰ ثانیه	۷۲	Final extension

با آزمایش‌های تاییدی فنوتیپی (رنگ آمیزی گرم، تخمیر مانتیول، تست کاتالاز، آزمایش DNase، آزمایش اوره‌آز و تست کواگولاز) و PCR ناحیه ۱۶srRNA سویه‌ها تأیید هویت شدند.

### یافته‌ها

از بین ۱۵۰ سویه استافیلوکوکوس اورنوس تعداد ۷ سویه (۴/۶۶ درصد) با روش دیسک دیفیوژن مقاوم به دیسک موپروسین شناخته شدند و هیچگونه هاله‌ای در اطراف دیسک موپروسین دیده نشد. DNA پلاسمیدی سویه‌های مقاوم استخراج گردید. بعد از انجام PCR باندهایی با وزن ملکولی ۴۵۶ bp مربوط به ژن *mupA* (iles-2) و ۶۷۳ bp مربوط به ژن *mupB* شناسایی و تایید گردید (اشکال ۱-الف و ۱-ب).

همه ایزوله‌های مقاوم به موپروسین دارای PCR مثبت ژن‌های مقاومت به موپروسین پلاسمیدی *mupA* و *mupB* بودند و در تمام نمونه‌های مقاوم، هر دو ژن پلاسمیدی مشاهده شدند. از آنجایی که ژن *mupB* نشان‌دهنده مقاومت بسیار بالا به موپروسین است؛ ۷ سویه مقاوم بالایی را به موپروسین نشان دادند. بعد از انجام PCR نمونه‌ها، امپلیکون *mupA* (شکل ۲-الف) و امپلیکون *mupB* (شکل

منظور شناسایی ژن مقاومت به آنتی بیوتیک ها استفاده می شود (۶). مشابه مطالعه Udo و همکاران که در مطالعه خود ایزوله های مقاوم به موپروسین را با روش های فنوتیپی MIC و ژنوتیپی Real Time PCR مورد بررسی قرار دادند و هیچ سویه با مقاومت پایین را نیافتند (۸)؛ در این مطالعه نیز سویه های با مقاومت کم مشاهده نشد که نشان دهنده عدم وجود ژن کروموزومی مقاومت در سویه های مورد مطالعه است. در مطالعه Yun و همکاران که از روش میکروداپلوشن آگار برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی، PCR برای شناسایی ژن mupA و در نهایت تعیین توالی ایزوله ها برای شناسایی مقاومت به موپروسین استفاده کردند؛ ژن mupA نیز شناسایی شد (۱۰).

در مطالعه کابوسی و همکاران، کاربرد پماد موپروسین برای حذف استافیلوکوکوس اورئوس در بینی ناقلین شاغل در بخش ICU بیمارستان پنجم آذر گرگان به خوبی به اثبات رسید و هیچ ایزوله مقاوم به موپروسین گزارش نشد (۲۳). مشابه مطالعه Seah و همکاران (۹)، در مطالعه حاضر ۷ ایزوله مقاوم بسیار بالایی نشان دادند. در این ۷ ایزوله ژن mupB شناسایی گردید که نشان دهنده حضور پلاسمید حاوی ژن mupB در این ایزوله های مقاوم است.

مقاومت به موپروسین ممکن است به خاطر وجود ژن مقاومت کروموزومی *iles-1*، وجود ژن مقاومت پلاسمیدی mupA و وجود ژن مقاومت پلاسمیدی mupB باشد. با این وجود ممکن است باکتری هیچ کدام از این ژن ها را نداشته باشد؛ ولی باز هم به موپروسین مقاوم باشد که علت آن می تواند حضور ژن های *Efflux pump*، تغییر در نفوذپذیری غشاء، غیرفعال ساختن آنزیم و یا تغییر شیمیایی باشد (۲۴).

باتوجه به تشابه بالای ژنتیکی ۷ ایزوله مطالعه حاضر، این امر گردش احتمالی ایزوله های مقاوم را بین تجهیزات، کارکنان و یا همراهان حاضر در بیمارستان های مورد مطالعه نشان می دهد که ضرورت بازنگری در رعایت مسایل بهداشتی به منظور پیشگیری از گسترش این نوع ایزوله ها را متذکر می شود. نتایج به خوبی تاییننگ ایزوله ها را با کمک بررسی برش آنزیمی با نمونه افراد بیمار و سالم و نیز افراد مذکر از مونث انجام داد. با این وجود پیشنهاد می گردد از تعداد بیشتری از نمونه های مقاوم به موپروسین و سایر آنزیم های محدودالثر در مطالعات ژنوتایپینگ استفاده شود. هر چند شیوع این نمونه ها در ایران خوشبختانه هنوز افزایش نیافته؛ ولی توصیه می شود مراکز بهداشتی - درمانی اقدامات لازم را برای پیشگیری از شیوع و انتقال این باکتری ها به عمل آورند.

### نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان دهنده شیوع پایین استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به موپروسین بود.

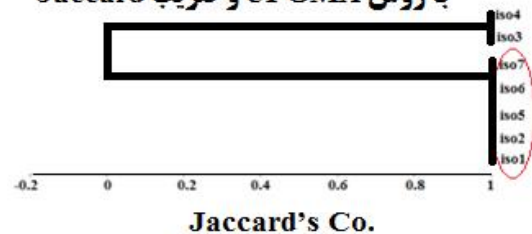
با توجه به نتایج دندروگرام و نمونه های مقاوم به موپروسین اخذ شده از بیماران و کارکنان به مراکز درمانی، مشخص گردید ژنوتایپینگ ژن mupB با استفاده از نقشه برش امپلیکون با آنزیم AluI به خوبی نمونه های بالینی پوست بیماران (شماره های ۱، ۲، ۵، ۶ و ۷) را از نمونه های کارکنان بیمارستان (شماره های ۳ و ۴) جدا نموده است. همچنین نمونه های گرفته شده از افراد مذکر این مطالعه (شماره های ۲، ۵، ۶ و ۷) به خوبی در خوشه ای مجزا از سایر نمونه ها طبقه بندی شدند و نمونه های افراد مونث (شماره های ۱، ۳ و ۴) نیز به جز نمونه شماره یک در خوشه ای مجزا از سایر نمونه ها در یک خوشه قرار گرفتند. نمونه های شماره ۳ و ۴ که در یک خوشه قرار گرفتند و نمونه های شماره ۱، ۲، ۵، ۶ و ۷ تشابه ژنتیکی بالایی با یکدیگر داشتند.

### Similarity matrix

	iso1	iso2	iso3	iso4	iso5	iso6	iso7
iso1	1.000						
iso2	1.000	1.000					
iso3	0.000	0.000	1.000				
iso4	0.000	0.000	1.000	1.000			
iso5	1.000	1.000	0.000	0.000	1.000		
iso6	1.000	1.000	0.000	0.000	1.000	1.000	
iso7	1.000	1.000	0.000	0.000	1.000	1.000	1.000
	iso1	iso2	iso3	iso4	iso5	iso6	iso7

شکل ۳: ماتریس تشابه ۷ ایزوله در بررسی الگوی برش امپلیکون bp 713 ژن mupB توسط آنزیم AluI

### خوشه بندی تک بعدی (Dendrogram) با روش UPGMA و ضریب Jaccard



شکل ۴: دندروگرام ۷ ایزوله مقاوم به موپروسین با روش UPGMA و ضریب Jaccard امپلیکون ژن mupB

### بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر در ۷ ایزوله که مقاومت بالایی را نشان دادند؛ ژن mupA شناسایی گردید که نشان دهنده حضور پلاسمید حاوی ژن mupA در این ایزوله های مقاوم است.

مطالعه الگوهای پلاسمیدی یکی از ساده ترین و ابتدایی ترین روش ها در تایپینگ ملکولی باکتری ها است. از پلاسمیدها برای بررسی حساسیت ضدباکتریایی نیز استفاده می شود (۲۰). سرعت تشخیص ایزوله های مقاوم در انتخاب آنتی بیوتیک مناسب برای درمان بیماران اهمیت زیادی دارد. بنابراین امروزه از روش PCR به

بدین وسیله از مسئولین محترم آزمایشگاه تحقیقاتی بیولوژی سلولی ملکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد تشکر می‌نمایم.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره ۱۶/۱۳۹۳۲۰۱۶/۱۱۲۳۰) خانم مارال خامه‌چی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیولوژی سلولی ملکولی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد بود.

## References

- Hesami S, Hosseini SD, Amouzandeh-Nobaveh A, Eskandari S, Ghaznavi-Rad E. [Phenotypic and genotypic determination of mupirocin resistance among Methicillin susceptibility and resistance in Staphylococci from nosocomial infections]. J Mazandaran Univ Med Sci. 2014; 23(1): 30-39. [Article in Persian]
- Rahimi-Alang S, Asmar M, Cheraghali F, Yazarlou S, Amini A, Shakeri F, et al. [Frequency of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in health care]. Zahedan J Res Med Sci. 2011; 13(1): 17-22. [Article in Persian]
- Teyhoo M, Mobin H, Mozafari N A, Moadab S R, Sedigh Bayan KH, Mones Rast SH. The prevalence of toxin shock syndrome oxin (TSST-1) producing clinical isolates of *Staphylococcus aureus* Strains isolated from Shohada Hospital in Tabriz, Iran. Med Lab J. 2011; 5(1): 38-44. [Article in Persian]
- Darabi N, Habibollahi H, Shahbabian K. [Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* isolated from patients and personnel in army hospital]. Ann Mil Health Sci Res. 2010; 8(3): 193-99. [Article in Persian]
- Rahimi F, Bouzari M, Katoli M, Pourshafi MR. [The prevalence Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains produce enterotoxin A in Tehran hospitals]. Iran J Infect Dis Trop Med. 2014; 19(65): 59-68. [Article in Persian]
- Saderi H, Owlia P, Habibi M. [Detection of resistance to mupirocin in *Staphylococcus aureus* Strains isolated from patients in four University Hospitals of Tehran by Polymerase Chain Reaction (PCR) method]. Daneshvar Med. 2009; 16(78): 31-38. [Article in Persian]
- Ramsey MA, Bradley SF, Kauffman CA, Morton TM. Identification of chromosomal location of mupA gene, encoding low-level mupirocin resistance in staphylococcal isolates. Antimicrob Agents Chemother. 1996 Dec; 40(12): 2820-23.
- Udo EE, Jacob LE, Mathew B. Genetic analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* expressing high- and low-level mupirocin resistance. J Med Microbiol. 2001 Oct; 50(10): 909-15. doi: 10.1099/0022-1317-50-10-909
- Seah C, Alexander DC, Louie L, Simor A, Low DE, Longtin J, et al. MupB, a new high-level mupirocin resistance mechanism in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2012 Apr; 56(4): 1916-20. doi: 10.1128/AAC.05325-11
- Yun HJ, Lee SW, Yoon GM, Kim SY, Choi S, Lee YS, et al. Prevalence and mechanisms of low- and high-level mupirocin resistance in staphylococci isolated from a Korean hospital. J Antimicrob Chemother. 2003 Mar; 51(3): 619-23.
- Godbeer SM, Gold RM, Lawhon SD. Prevalence of mupirocin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius*. J Clin Microbiol. 2014 Apr; 52(4): 1250-52. doi: 10.1128/JCM.03618-13
- Ghobadi Nejad M. [Antimicrobial multi-resistance Staphylococci and gene transferring in bacteria]. JBUMS. 2003; 5(1): 55-67. [Article in Persian]
- McNeil JC, Hulten KG, Kaplan SL, Mason EO. Mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus* causing recurrent skin and soft tissue infections in children. Antimicrob Agents Chemother. 2011 May; 55(5): 2431-33. doi: 10.1128/AAC.01587-10
- Farahani N, Mirnejad R, Ahmadi Z, Amirmozafari N, Masjedian F. [Molecular typing of *Acinetobacter Baumannii* clinical strains in Tehran by Pulsed-Field Gel Electrophoresis]. J Fasa Univ Med Sci. 2013; 2(4): 259-65. [Article in Persian]
- Khalafian H, Momtaz H. [Typing of the Shiga toxin – producing *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic children using Multi Locus Sequence Typing (MLST)]. Iran J Med Microbiol. 2015; 9(1): 14-21. [Article in Persian]
- Reisi M, Tajbakhsh E, Momtaz H. [Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical respiratory system infections in Shahrekord]. Journal of Microbial World. 2014; 7(3): 206-13. [Article in Persian]
- Ranjbar R, Mirzaie A, Sadeghifard N, Jonaidi N. [Molecular typing of *Salmonella infantis* clinical strains isolated in Tehran]. J Mil Med. 2014; 16(1): 17-22. [Article in Persian]
- Zaker Bostanabad S, Jabbarzadeh E, Pourazar S, Ghalami M. [Typing of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from patients in the Tehran city by Spoilgotyping]. New cellular and molecular biotechnology journal. 2011; 1(2): 55-60. [Article in Persian]
- Rafee Tabatabaei R, Pourbakhsh SA, Jalali Z. [The study of different methods of typing for diagnosis and differentiation of *E. coli* strains isolated from urinary tract infections]. Journal of Sciences (Islamic Azad University). 2010; 19(1): 1-14. [Article in Persian]
- Shokoohizadeh L. Molecular methods for bacterial strain typing. Med Lab J. 2016; 10(2): 1-7.
- Alder J, Farraro MJ, Hindler JA, Patel JB, Zimmer BL, Hecht DW, et al. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-third informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2013; 33(1): 3-76.
- McFarland J. Nephelometer: An instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. JAMA. 1907; 14: 1176-78. doi:10.1001/jama.1907.25320140022001f
- Kaboosi H, Khandan Del A, Ghaemi E A, Bakhshande Nosrat S, Ayatollahi AA, Golriz N. Effect of mupirocin treatment in eradication of *Staphylococcus aureus* nasal carriage among intensive care unit personnel. Med Lab J. 2016; 10(2): 14-18.
- Peerayeh ShN, Esmaeili D. [Antibiotic efflux pumps]. Ann Mil Health Sci Res. 2004; 2(1): 301-6. [Article in Persian]

## Original Paper

# Evaluation of plasmid resistance to Mupirocin in *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens of the skin of hospital employees and hospitalized patients

Maral Khomehchi (M.Sc)<sup>1</sup>, Mohammad Reza Mehrabi (Ph.D)<sup>2</sup>, Reza Yari (Ph.D)<sup>\*3</sup>

<sup>1</sup>M.Sc in Cell Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran. <sup>2</sup>Assistant Professor of Hematology and Blood Banking, Department of Laboratory Sciences, Medical Faculty, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran. <sup>3</sup>Assistant Professor of Cell Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran.

## Abstract

**Background and Objective:** Mupirocin is a secreted antibiotic inhibitor of Isoleucine-tRNA, a bacterial synthetase that is used against yellow wounds from *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus*. This study was carried out to determine the plasmid resistance of mupirocin in *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens of the skin of hospital employees and hospitalized patients.

**Methods:** This descriptive study was performed on 150 strains of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens of the skin of patients and employees of three hospitals in Qom, Iran during 2014-15. In order to confirm the identity of *Staphylococcus aureus* isolates, conventional biochemical methods were used. Also, PCR of srRNA16 was used for molecular confirmation of isolates. The presence of mupA (iles-2) and mupB plasmid genes was investigated using PCR method and AluI enzyme digestion plan was performed for them. Disc diffusion method was used to demonstrate resistance to mupirocin.

**Results:** Seven isolated samples (4.66%) were resistant to mupirocin. All Mupirocin-resistant isolates possessed PCR-positive mupacysin mupirocidal genes (iles-2) and mupB, and all plasmid genes were resistant to all resistant specimens. Genotyping of mupB gene was able to isolate samples from patients and staff as well as male and female.

**Conclusion:** The prevalence of mupirocin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from skin specimens was low.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, Plasmid, Mupirocin, Skin, Patient

\* Corresponding Author: Yari R (Ph.D), E-mail: rezayari@yahoo.com

Received 1 Jan 2017

Revised 18 Feb 2017

Accepted 26 Feb 2017