تحقیقی

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

مارال خامه چی[۱]، دکتر محمدرضا مهرابی[۲]، دکتر رضا یاری*[۳]

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 : *موپیروسین آنتی‌بیوتیک ترشحی مهارکننده آنزیم ایزولوسین- tRNA سنتتاز باکتریایی است که علیه زرد زخم حاصل از استرپتوکوکوس پیوژن و استافیلوکوکوس اورئوس به‌کار می‌رود. این مطالعه به منظور تعیین مقاومت پلاسمیدی به موپیروسین 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 ۱٦srRNA برای تایید ملکولی ایزوله ها 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 موپیروسین استفاده شد.*

یافته‌ها : *۷ ایزوله (٤/٦٦ درصد) مقاوم به موپیروسین شناخته شدند. همگی ایزوله‌های مقاوم به موپیروسین دارای PCR مثبت ژن‌های مقاومت به موپیروسین 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 mup B با آنزیم Alu I و روش UPGMA توانست ایزوله‌های بالینی به‌دست آمده از افراد مذکر و مونث را در خوشه‌های (Clusters) مجزا قرار دهد.*

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

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

* نویسنده مسؤول : دکتر رضا یاری ، پست الکترونیکی rezayari@yahoo.com

نشانی : بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، دانشکده علوم، تلفن ۰۲۵-۳۷۷۰۳۱۹۰، نمابر ٠٦٤-٤٢٥٠٥٨٧٨ (دانشکده پیراپزشکی)

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

مقدمه

استافیلوکوک‌ها بر روی پوست و غشاهای مخاطی به‌وفور حضور دارند. میکروارگانیسم‌های 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 (۱و۲). استافیلوکوکوس اورئوس کوکسی گرم مثبت و بی هوازی اختیاری است که مهم‌ترین گونه در جنس استافیلوکوک از نظر پزشکی محسوب می شود (۳). DNA آن به‌صورت 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 می کند. این خصوصیت ها، 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، موپیروسین است. موپیروسین آنتی بیوتیک ترشحی است که به‌طور طبیعی توسط سودوموناس فلوروسنس سویه NCIMB 10586 و نیز به‌طور صنعتی تولید شده با

مهار آنزیم ایزولوسین- tRNA سنتتاز باکتریایی علیه عفونت‌های حاصل از استرپتوکوکوس پیوژن و استافیلوکوکوس اورئوس به‌کار می‌رود (۹-۶). از آنجایی که موپیروسین ترجیحاً در مقابل پاتوژن های گرم مثبت فعال است؛ در طب به عنوان یک عامل ضدباکتریایی علیه استافیلوکوک‌ها از جمله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و استرپتوکوکوس استفاده می شود (۱۰و۱۱). برای نخستین بار در سال ۱۹۸۶ موپیروسین به‌وسیله پزشکان برای بیماران تجویز و متعاقب مصرف بالینی آن، سوش های مقاوم سریعاً گزارش گردید (۱۲).

مقاومت در سه سطح پایین، بالا و بسیار بالا در استافیلوکوکوس اورئوس تشخیص داده شده است. مقاومت به موپیروسین 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 (۱و۱۱و۱۳).

از سال ۱۹۵۱ روش فاژ تایپینگ استافیلوکوکوس اورئوس به‌صورت 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 موپیروسین 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 پلیت کشت داده شدند. سپس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. کلنی‌های مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس با رنگ‌آمیزی گرم و تست کاتالاز تشخیص اولیه داده شدند. سپس به کمک تست کوآگولاز، بیوشیمیایی افتراقی (DNA Agar، Mannitol Salt Agar و Urea Broth) 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 موپیروسین مطابق روش انتشار با استفاده از دیسک آنتی‌بیوتیکی ۵ میکروگرمی موپیروسین و با رعایت استانداردهای CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) صورت گرفت. نمونه ها را در محیط مولر هینتون براث 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 سوسپانسیون با استفاده از سواپ استریل به صورت سفره‌ای روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده و دیسک آنتی‌بیوتیک موپیروسین روی محیط قرارگرفت. پس از ۲۴ ساعت انکوبه کردن آنها در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک اندازه‌گیری شد. اگر هیچ هاله‌ای اطراف دیسک موپیروسین وجود نداشت؛ سویه به عنوان سویه مقاوم به موپیروسین و در صورت وجود هاله اطراف دیسک موپیروسین سویه به عنوان سویه حساس به موپیروسین در نظر گرفته شد (۲۱و۲۲).

در روش ملکولی PCR، برای استخراج DNA باکتری از کیت استخراج DNA پلاسمیدی شرکت سیناکلون استفاده شد. پس از تخلیص ژنوم باکتری به منظور شناسایی ژن mupA (iles-2) از 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 ddH2O(DW)، 10X Buffer (x۱)، MgCl2 (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، ۴میکرولیتر از مخلوط PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی رنگ DNA Safe Stain با استفاده از بافر ۰/۵ x TBE به مدت ۴۵ دقیقه با ولتاژ ۷۰ مورد الکتروفورز قرار گرفت و باند ایجاد شده به‌وسیله 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.

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

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 ۲درصد الکتروفورز نمودیم.

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

منبع	قطعه امپلیکون	توالی از سمت '۵ به '۳	پرایمر
۱	٤٥٦ bp	F : tatattatgcgatggaaggttgg R : aataaaatcagctggaaagtgttg	mupA
۱	٦٧٣ bp	F : ctagaagtcgattttggagtag R : agtgtctaaaatgataagacgatc	mupB

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

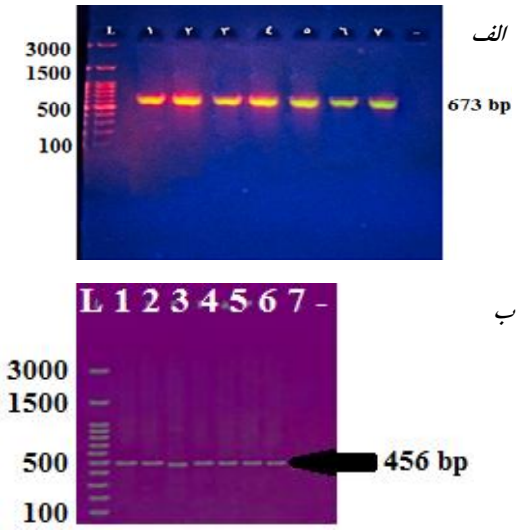
چرخه	زمان	دما (درجه سانتی‌گراد)	Step
۱	۳ دقیقه	۹۵	Initial Denaturation
۳٤	۳۰ ثانیه	۹٤	Denaturation
	٤۰ ثانیه	۵۲	Annealing
	۵۰ ثانیه	۷۲	Extension
۱	۱۰ ثانیه	۷۲	Final extension

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

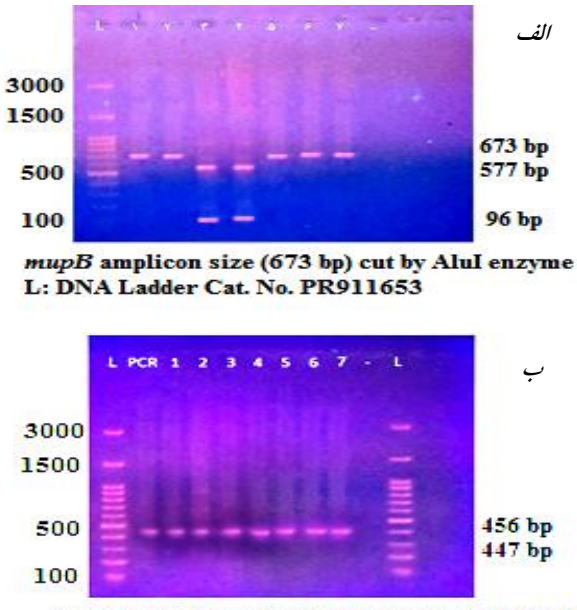
یافته‌ها

از بین ۱۵۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس تعداد ۷ سویه (۴/۶۶ درصد) با روش دیسک دیفیوژن مقاوم به دیسک موپیروسین شناخته شدند و هیچگونه هاله‌ای در اطراف دیسک موپیروسین 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 موپیروسین دارای PCR مثبت ژن‌های مقاومت به موپیروسین 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 موپیروسین است؛ ۷ سویه مقاومت بالایی را به موپیروسین نشان دادند. بعد از انجام PCR نمونه‌ها، امپلیکون mupA (شکل ۲-الف) و امپلیکون mupB (شکل 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 UPGMA (Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean Averages)، رسته‌بندی و ماتریس تشابه استفاده شد (اشکال ۳و۴).



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



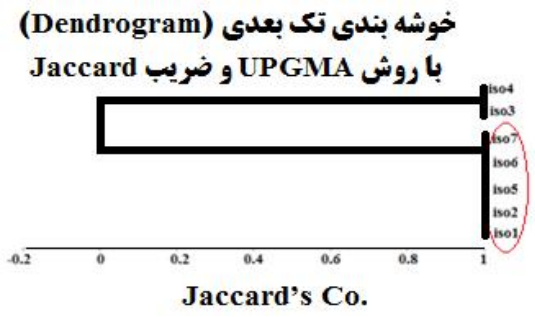
شکل ۲ : ژل الکتروفورز برش امپلیکون ها با آنزیم AluI
الف: ژن mupA ، ب: ژن mupB، آگارز ۲درصد

با توجه به نتایج دندروگرام و نمونه‌های مقاوم به موپیروسین 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 نمونه‌های بالینی پوست بیماران (شماره‌های ۱، ۲، ۵، ۶ و ۷) را از نمونه‌های کارکنان بیمارستان (شماره‌های ۳ و ۴) جدا نموده است. همچنین نمونه‌های گرفته شده از افراد مذکر این مطالعه (شماره‌های ۲، ۵، ۶ و ۷) به‌خوبی در خوشه‌ای مجزا از سایر نمونه‌ها طبقه‌بندی شدند و نمونه‌های افراد مونث (شماره‌های ۱، ۳ و ۴) نیز به‌جز نمونه شماره یک در خوشه‌ای مجزا از سایر نمونه‌ها در یک خوشه قرار گرفتند. نمونه‌های شماره ۳ و ۴ که در یک خوشه قرار گرفتند و نمونه‌های شماره ۱، ۲، ۵، ۶ و۷ 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 ۶۷۳ ژن mupB توسط آنزیم AluI



شکل ٤ : دندروگرام ۷ ایزوله مقاوم به موپیروسین 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 نشان‌دهنده حضور پلاسمید حاوی ژن mupA در این ایزوله‌های مقاوم است.

مطالعه الگوهای پلاسمیدی یکی از ساده‌ترین و ابتدایی‌ترین روش‌ها در تایپینگ ملکولی باکتری‌ها است. از پلاسمیدها برای بررسی حساسیت ضدباکتریایی نیز استفاده می‌شود (۲۰). سرعت تشخیص ایزوله های مقاوم در انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب برای درمان بیماران اهمیت زیادی دارد. بنابراین امروزه از روش PCR به منظور شناسایی ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌شود (۶). مشابه مطالعه Udo و همکاران که در مطالعه خود ایزوله‌های مقاوم به موپیروسین را با روش‌های فنوتیپی MIC و ژنوتیپی Real Time PCR مورد بررسی قرار دادند و هیچ سویه با مقاومت پایین را نیافتند (۸)؛ در این مطالعه نیز سویه‌های با مقاومت کم مشاهده نشد که نشان‌دهنده عدم وجود ژن کروموزومی مقاومت در سویه‌های مورد مطالعه است. در مطالعه Yun و همکاران که از روش میکرودایلوشن آگار برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی، PCR برای شناسایی ژن mupA و در نهایت تعیین توالی ایزوله‌ها برای شناسایی مقاومت به موپیروسین استفاده کردند؛ ژنmupA نیز شناسایی شد (۱۰).

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

مقاومت به موپیروسین 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 هیچ‌کدام از این ژن‌ها را نداشته باشد؛ ولی باز هم به موپیروسین مقاوم باشد که علت آن می‌تواند حضور ژن‌های 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 بیمارستان‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد که ضرورت بازنگری در رعایت مسایل بهداشتی به منظور پیشگیری از گسترش این نوع ایزوله ها را متذکر می‌شود. نتایج به خوبی تایپینگ 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 نمونه‌های مقاوم به موپیروسین و سایر آنزیم‌های محدودالاثر در مطالعات ژنوتایپینگ استفاده شود. هرچند شیوع این نمونه‌ها در ایران خوشبختانه هنوز افزایش نیافته؛ ولی توصیه می‌شود مراکز بهداشتی – درمانی اقدامات لازم را برای پیشگیری از شیوع و انتقال این باکتری‌ها به‌عمل آورند.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان‌دهنده شیوع پایین استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به موپیروسین بود.

تشکر و قدردانی

ایـن مقالـه حاصـل پایـان‌نامـه (شـماره ۱۱۲۳۰۵۱۳۹۳۲۰۱۶) خانم مارال خامه‌چی بـرای اخـذ درجـه کارشناسـی ارشـد در رشـته بیولوژی سلولی ملکولی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد بـود.

بدین‌وسیله از مسؤولین محترم آزمایشگاه تحقیقاتی بیولوژی سـلولی ملکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد تشکر می‌نماییم.

References

1. 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]

2. 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]

3. 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]

4. 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]

5. 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]

6. 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]

7. 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.

8. 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

9. 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

10. 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.

11. 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

12. Ghobadi Nejad M. [Antimicrobial multi-resistance Staphylococci and gene transferring in bacteria]. JBUMS. 2003; 5(1): 55-67. [Article in Persian]

13. 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

14. 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]

15. 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]

16. 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]

17. 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]

18. 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]

19. 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]

20. Shokoohizadeh L. Molecular methods for bacterial strain typing. Med Lab J. 2016; 10(2): 1-7.

21. 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.

22. 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

23. 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.

24. 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 Khamehchi (M.Sc)[1], Mohammad Reza Mehrabi (Ph.D)[2], Reza Yari (Ph.D)*[3]

[1]M.Sc in Cell Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran. [2]Assistant Professor of Hematology and Blood Banking, Department of Laboratory Sciences, Medical Faculty, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran. [3]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* pyogenic 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

Cite this article as: Khamehchi M, Mehrabi MR, Yari R. [Evaluation of plasmid resistance to Mupirocin in *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens of the skin of hospital employees and hospitalized patients]. J Gorgan Univ Med Sci. 2018 Winter; 19(4): 100-105. [Article in Persian]