شناسایی و بررسی جهش های ژن norA توسط توالی یابی نوکلئوتیدی در استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به سیپروفلوکساسین در شهرستان سنندج

شیدا السادات ذوالنوری*[۱]، صبریه امینی[۲]

۱) باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۲) گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۸/۱۱ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۵**

چکیده

مقدمه: فلوروکوینولون ها از جمله آنتی بیوتیک های مفید در مقابل عفونت های ناشی از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می باشند اما امروزه ایجاد مقاومت نسبت به این دسته از آنتی بیوتیک ها یکی از مشکلات جدی در روند درمان بیماران به شمار می رود. از جمله مکانیسم های ایجاد مقاومت فلوروکوینولونی در این باکتری ها بیان بیش از حد ژن norA می باشد که در این مطالعه بررسی شده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه تعداد ۵۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس از بیماران مبتلا به عفونت بینی در شهرستان سنندج جدا گردید و با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی مرسوم تعیین هویت شدند، آزمایش دیسک دیفیوژن برای بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی و آزمایش PCR برای بررسی ژن norA انجام گرفت، سپس محصولات آزمایش PCR برای آزمایش توالی یابی DNA به شـرکت Bioneer ارسال شدند. بر اساس نتایج توالی یابی و ترجمه گر Expasy جهش های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی بررسی شد.

یافته های پژوهش: نتایج آزمایشات بیوشیمیایی به صورت کواگولاز، تخمیر قند مانیتول، DNase و همولیز مثبت، حساس به نوبیوسین و مقاوم به پلی میکسین بودند. مقاومت به آنتی بیوتیک های استفاده شده به صورت اکساسیلین(۴۲ درصد)، اریترومایسین(۴۶ درصد)، داکسی سیلین(۱۰ درصد)، آمیکاسین(۲۰ درصد)، تتراسایکلین(۲۴ درصد)، پنی سیلین(۶۸ درصد)، سیپروفلوکـساسین(۱۰ درصد)، ونکـومایسـین(۶ درصد) و نالیدیکسیک اسید(۷۰ درصد) بود. همه سویه های مقاوم دارای ژن norA بودند و با بررسی توالی DNA، ۴ جهش نقطه ای نوکلئوتیدی یکسان، به ترتیب G491-> A، C537-> T، A585-> G و C593-> T شناسایی و پس از ترجمه در جایگاه ۳۱۵ آمینواسید آسپارتیک اسید(D) به گلایسین(G) تبدیل شده بود.

بحث و نتیجه گیری: در ۴ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به سیپروفلوکساسین جهش نوکلئوتیدی و آمینواسیدی مشترک مشاهده شد لذا لازم است مطالعات بیشتر انجام شود که آیا جهش های ذکر شده قطعاً عامل افزایش بیان این ژن هستند یا خیر.

واژه های کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، دیسک دیفیوژن، بلاست، Expasy، توالی یابی

* نویسنده مسئول: باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

Email: sheidazonoori@gmail.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.133]

مقدمه

امروزه استفاده گسترده از آنتی بیوتیک های فلوروکوینولونی باعث ایجاد و ظهور مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک ها در گونه های باکتریایی مختلف مخصوصاً استافیلوکوکوس اورئوس شده است(۱). استافیلوکوکوس اورئوس عامل طیف وسیعی از بیماری ها مانند اندوکاردیت، استئومیلیت، مسمومیت غذایی، سپتی سمی، عفونت های پوستی، کورک، کفگیرک، عفونت های بافت نرم و سندرم پوسته پوسته شدن پوست در انسان است(۲). آنتی بیوتیک های فلوروکوینولونی از جمله عوامل درمانی قابل استفاده در مقابل عفونت های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس است. هدف اصلی و اولیه فلوروکوینولون ها در استافیلوکوکوس اورئوس، توپوایزومراز IV است که توسط ژن های grlA و grlB کد می شوند، و هدف ثانویه این آنتی بیوتیک ها DNA جیراز است که توسط ژن های gyrA و gyrB کد می شوند(۳). یکی دیگر از مکانیسم هایی که باعث مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به کوینولون ها می شود مقاومت با واسطه پروتئین NorA است که محصول ژن norA می باشد(۴) NorA یکی از اعضای خانواده بزرگ MFS (Major Facilator Superfamilly) است که دارای ۳۸۸ آمینواسید است و شامل ۱۲ قطعه داخل غشایی سراسری و یک پمپ دفعی مقاومت چند دارویی(MDR) وابسته به(PMF) Proton motive force می باشد(۵). NorA اولین بار در ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس در سال ۱۹۸۶ در بیمارستان ژاپن جمع آوری شد(۶) و عوامل دارویی از جمله فلوروکوینولون ها، اتیدیوم برماید، بنزوالکونیوم کلراید، تترا فنیل فسفونیوم برماید و آسریفلاوین را به خارج دفع می کند(۷) برخی از جهش های گزارش شده در ژن norA که عامل مقاومت به آنتی بیوتیک های کوینولونی هستند با افزایش سطح بیان این ژن مرتبط است(۳). در این مطالعه به بررسی جهش هایی که در ژن norA و هم چنین پروتئین NorA سویه های مقاوم به سیپروفلوکساسین جدا شده از مبتلایان به عفونت بینی در شهرستان سنندج رخ داده شده است پرداخته و با ژن norA در سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به سیپروفلوکساسین NCTC8325(نماد ژن: SAOUHSC_00703) مقایسه گردیده است.

مواد و روش ها

جمع آوری و تعیین هویت نمونه: در این مطالعه تجربی تعداد ۵۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس، از بیماران مبتلا به عفونت بینی مراجعه کننده به مراکز درمانی شهرستان سنندج، در طی سه ماه از شهریور تا آبان سال ۱۳۹۴ جمع آوری شدند. شناسایی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از رنگ آمیزی گرم و آزمایشات بیوشیمیایی رایج از جمله آزمایش کواگولاز، حساسیت به نوبیوسین، تخمیر قند مانیتول، DNase، همولیز و حساسیت به پلی میکسین B شناسایی شدند.

آزمایش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی: آزمایش تعیین حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف با استفاده از روش دیسک دیفیوژن kirby-Bauer روی محیط مولر هینتون آگار و طبق استاندارد ۰/۵ مک فارلند و انکوباسیون ۱۸ ساعته در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد انجام گرفت. با استفاده از دستورالعمل CLSI مقاومت و حساسیت نسبت به دیسک های آنتی بیوتیکی سیپروفلوکساسین، ونکومایسین، آمیکاسین، اکساسیلین، اریترومایسین، نالیدیکسیک اسید، داکسی سیلین، تتراسایکلین، پنی سیلین و کوتریموکسازول خریداری شده از شرکت Mast بررسی شد.

استخراج DNA و تایید حضور ژن norA و پمپ دفعی NorA در سویه های استافیلوکوکوس جدا شده: سپس DNA سویه های جمع آوری شده با استفاده از کیت استخراج DNA باکتری های گرم مثبت خریداری شده از شرکت سیناکلون استخراج شد و کیفیت DNA های استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

واکنش PCR برای ژن norA تحت شرایط مندرج در جدول شماره ۱ انجام گرفت. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر تهیه شد. مشخصات پرایمر در جدول شماره ۲ ذکر شده است. نتیجه آزمایش PCR با تزریق محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد(به منظور وضوح تشخیص باندهای حاصله

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.133]

در رنج bp ۴۰۰۰-۲۰۰ معمولاً غلظت آگارز ۱/۵ درصد استفاده می شود) با ولتاژ ۱۰۰v به مدت ۴۰ دقیقه و با استفاده از مارکر bp ۱۰۰ (شرکت سیناکلون) تعیین گردید. جهت بررسی کنترل کیفیت، سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC۲۹۲۱۳ به عنوان کنترل مثبت و از آب به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

جدول شماره ۱. زمان و دمای دناتوراسیون، اتصال و بسط در PCR

	Initial Deanatiration	94°c	10 min
30 cycle	Deanatiration	94°c	30s
	Annealing	53.1	30s
	Extention	72°c	1 min
	Final Extention	72°c	10 min

جدول شماره ۲. توالی پرایمرهای استفاده شده

پرایمر	توالی	محصول اندازه	منبع
norA-Fw	5'-TTCACCAAGCCATCAAAAAG-3'	۷۰۵ bp	۸
norA-Rv	5'-CTTGCCTTTCTCCAGCAATA-3'		

تعیین توالی DNA: مقدار ۲۰µl از محصول PCR ژن norA و هم چنین پرایمرهای استفاده شده، برای انجام آنالیزهای توالی یابی به شرکت ژن فناوران ارسال شد. پس از دریافت توالی های مورد نظر برای بررسی جهش های یکسان توالی دریافت شده از ژن مورد نظر در هر سویه را با توالی ژن norA در سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس NCTC8325 مقاوم به کوینولون(نماد ژن: SAOUHSC_00703) بلاست انجام گرفت. سپس با استفاده از ترجمه گر Expasy توالی های DNA در هر سویه به توالی آمینواسیدی تبدیل و تغییرات ایجاد شده در توالی آمینواسیدی با استفاده از بلاست پروتیین بررسی و گزارش شد.

یافته های پژوهش

در طی ۳ ماه از شهریور تا آبان سال ۱۳۹۴ تعداد ۵۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس از عفونت بینی جدا گردید و نتایج حاصل از آزمایشات بیوشیمیایی به صورت کواگولاز مثبت، حساس به نووبیوسین، تخمیر قند مانیتول مثبت، DNase مثبت، همولیز مثبت و مقاوم به پلی میکسین بودند.

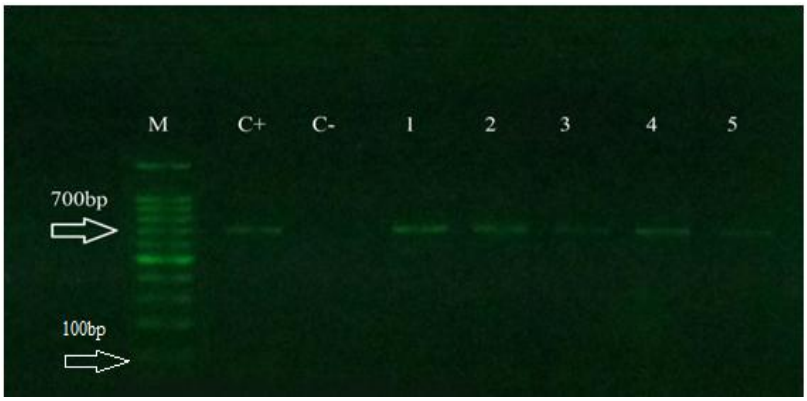
پس از بررسی پرونده افراد مراجعه کننده به مراکز درمانی ۴۳ درصد افراد مبتلا خانم و ۵۷ درصد آقایان بودند. پس از انجام آزمایشات دیسک دیفیوژن و بررسی فنوتیپی حساسیت به آنتی بیوتیک ها، میزان مقاومت نسبت آنتی بیوتیک های استفاده شده به صورت زیر گزارش شد:

اکساسیلین(۴۲ درصد)، اریترومایسین(۴۶ درصد)، داکسی سیلین(۱۰ درصد)، آمیکاسین(۲۰ درصد)، تتراسایکلین(۲۴ درصد)، پنی سیلین(۶۸ درصد)، سیپروفلوکساسین(۱۰ درصد)، ونکومایسین(۶ درصد) و نالیدیکسیک‌اسید(۷۰ درصد).

پس از انجام آزمایش تعیین حساسیت و مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها، سویه های مقاوم نسبت به سیپروفلوکساسین برای آزمایشات بعدی جدا شدند، از بین ۵۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس ۵ مورد از آن ها نسبت به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند. با استفاده از آزمایش PCR و پرایمرهای اختصاصی حضور ژن norA تایید گردید و مشخص شد همه سویه ها دارای پمپ دفعی NorA فعال می باشند(شکل شماره ۱).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.133]



شکل شماره ۱. نتایج الکتروفورز محصول PCR حاصل از قطعه مورد نظر ژن norA (۷۰۵bp): M: مارکر ۱۰۰bp، +C سویه استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۹۲۱۳ به عنوان کنترل مثبت و -C آب به عنوان کنترل منفی

پس از ارسال محصولات PCR به شرکت تکاپوزیست و انجام آزمایش توالی یابی نوکلئوتیدی توسط شرکت Bioneer نتایج حاصل از خوانش نوکلئوتیدی مربوط به رشته رفت و برگشت این ژن در هر سویه به طور مجزا دریافت شد، با استفاده از این نتایج بلاست نوکلئوتید برای هر کدام از توالی ها با توالی استاندارد انجام گرفت و در چهار سویه چهار جهش نقطه ای یکسان G491->A، C537->T، A585->G، C593->C شناسایی شد(شکل شماره ۲).

```
EMBOSS_001     370 TTGGGGCACTTTTCCAAATCTATTTCTTCGATAAATTTATGAAGTATTTC  419
                   |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
EMBOSS_001     749 TTGGGGCACTTTTCCAAATCTATTTCTTCGATAAATTTATGAAGTATTTC  798

EMBOSS_001     420 TCAGAGTTAACATTTATAGCTTGGTCATTATTATATTCAGTTGTTGTCTT  469
                   |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
EMBOSS_001     799 TCAGAGTTAACATTTATAGCTTGGTCATTATTATATTCAGTTGTTGTCTT  848

EMBOSS_001     470 AATATTATTAGTTTTTGCTAATGGCTATTGGTCAATAATGTTAATCAGTT  519
                   ||||||||||||||||||.|||||||||||||||||||||
EMBOSS_001     849 AATATTATTAGTTTTTGCTAATGACTATTGGTCAATAATGTTAATCAGTT  898

EMBOSS_001     520 TTGTTGTCTTCATAGGTCTCGATATGATACGACCAGCCATTACAAATTAT  569
                   ||||||||||||||.|.||||||||||||||||||||||||||||||||||
EMBOSS_001     899 TTGTTGTCTTCATAGGTTTTGATATGATACGACCAGCCATTACAAATTAT  948

EMBOSS_001     570 TTTTCTAATATTG-TAGAAAAAGGGAA  595
                   |||||||||||| |.||.|||||.||
EMBOSS_001     949 TTTTCTAATATTGCTGGAGAAAGGCAA  975
```

شکل شماره ۲. نتیجه بلاست توالی نوکلئوتیدی ایزوله مقاوم شماره ۱ با سویه استافیلوکوکوس NCTC8325، چهار جهش A->G، T->C، G->A، C->G در چهار سویه مشترک بودند.

سپس توالی نوکلئوتیدها با استفاده از ترجمه گر Expasy به توالی آمینواسیدی تبدیل شدند و قسمت هایی که به پروتیین ترجمه می شوند را جدا کرده و بلاست پروتئین برای مقایسه تغییرات آمینواسیدی رخ داده صورت گرفت در جایگاه ۳۱۵ در ۴ سویه آمینواسید آسپارتیک اسید به گلایسین تبدیل شده بود(شکل شماره ۳). GGU--> GAU

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.133]

```
EMBOSS_001       1 METAEVSHRMETPFYFAGALGILAFIMETSIALIHDPKKVSTNGFQKLEP   50
                   ||||||||||||||||||||||||||||||.||||||.:|:|||||||
EMBOSS_001     166 METAEVSHRMETPFYFAGALGILAFIMETSIVLIHDPKKSTTSGFQKLEP  215

EMBOSS_001      51 QLLTKINWKVFITPVILTLVLSFGLSAFETLYSLYTADKVNYSPKDISIA  100
                   ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
EMBOSS_001     216 QLLTKINWKVFITPVILTLVLSFGLSAFETLYSLYTADKVNYSPKDISIA  265

EMBOSS_001     101 ITGGGIFGALFQIYFFDKFMETKYFSELTFIAWSLLYSVVVLILLVFANG  150
                   ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||.
EMBOSS_001     266 ITGGGIFGALFQIYFFDKFMETKYFSELTFIAWSLLYSVVVLILLVFAND  315

EMBOSS_001     151 YWSIMETLISFVVFIGFDMETIRPAITNYFSNIA  184
                   ||||||||||||||||||||||||||||||||
EMBOSS_001     316 YWSIMETLISFVVFIGFDMETIRPAITNYFSNIA  349
```

شکل شماره ۳. بلاست پروتئین norA سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به سیپروفلوکساسین شماره ۱ برای تعیین جهش های آمینو اسیدی. در چهار سویه D->G تبدیل شده بود.

بحث و نتیجه‌گیری

استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یک عامل بیماری زای قدرتمند که عفونت های متعددی را ایجاد می کند شناخته شده است، این باکتری هم چنین یکی از عوامل اصلی عفونت های بیمارستانی و اکتسابی از جامعه است که امروزه مقاومت چندگانه ای را نسبت به طیف وسیعی از آنتی بیوتیک ها از جمله بتالاکتام ها، آمینوگلیکوزیدها، تتراسایکلین ها و فلوروکوینولون ها و ماکرولیدها کسب کرده اند، بنا بر این امروزه تعداد محدودی از آنتی بیوتیک ها به عنوان داروهای ضد استافیلوکوکی هم چون ونکومایسین، سیپروفلوکساسین و تیکوپلانین در دسترس هستند(۶).

مکانیسم های مختلفی برای ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی در استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم نسبت به فلووروکوینولون ها از جمله سیپروفلوکساسین وجود دارد که یکی از آن ها وجود پمپ های دفعی می باشد که باعث خروج آنتی بیوتیک ها و افزایش غلظت آنتی بیوتیک های درون سلولی می شود(۹). مطالعات مختلفی برای بررسی ارتباط پمپ دفعی norA و مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های فلوکوینولونی صورت گرفته است که نمونه هایی از نتایج به دست آمده بحث خواهد شد. دیدگاه یکسانی که در برخی مطالعات انجام شده به منظور افزایش بیان ژن norA و ایجاد مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین وجود داشت گزارش جهش های مختلف در ناحیه پروموتور بود و هم چنین در برخی از مطالعات هیچ گونه جهشی مشاهده نشده و تفسیر دلیل ایجاد مقاومت نسبت به فلوروکوینولون ها را امکان وجود سیستم پمپ دفعی دیگر در نظر گرفتند.

کاتز و همکاران در طی مطالعات خود در سال ۱۹۹۷-۱۹۹۳ به این نتیجه رسیدند که بیان بیش از حد ژن norA عامل مقاومت به فلوروکوینولون ها می باشد و می تواند در حضور یا عدم حضور تغییر توپوایزومراز صورت بگیرد(۵،۱۰) و در سال ۲۰۰۴ بیان کردند جهش در ناحیه پروموتور ژن norA یا القای تغییر در عملکرد پروتئین های تنظیمی نیز از عوامل بیان بیش از حد این ژن است(۱۱). در سال ۱۹۹۴ مطالعه ان جی و همکاران تغییر آمینواسیدی تیامین با آدنین در پروموتور ژن norA را عامل این دسته از مقاومت دانستند. در مطالعه دیگر هیچ جهشی در ژن norA و پروموتور آن دیده نشد و مقاومت به فلوروکوینولون ها مستقیماً مربوط به پمپ دفعی افلاکس دانستند(۱۲) سال ۲۰۰۳ در مطالعه لورا و همکاران با بررسی توالی norA و پروموتور آن هیچ تفاوتی بین سویه های مقاوم نسبت به سیپروفلوکساسین وجود نداشت و northern blotting هیچ تفاوتی بین بیان ژن norA در سویه ها را تایید نکرد آن ها با توجه به این دستاوردها وجود سیستم دفعی دیگر را عامل این دسته

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.133]

از مقاومت دانستند(۳). در مطالعه فورنیر و همکاران روی پروموتور ژن norA در ناحیه bp ۸۹ بالادست کدون آغاز و موتیف ۱۰- پایین دست ناحیه UTR-"۵ جهش هایی را مشاهده کردند(۱۳). در سال ۲۰۰۰ سیرا و همکاران هیچ ارتباطی بین مقاومت آنتی بیوتیکی و جهش های رخ داده در ناحیه کننده ژن norA مشاهده نکردند(۸). در سال ۲۰۰۷ در مطالعه کارمن و همکاران نیز عامل بیان بیش از حد ژن norA ایجاد جهش حذف یا اضافه شدن در ناحیه پروموتور بود(۱۴).

در مطالعه حاضر در سال ۲۰۱۶ در ۴ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به سیپروفلوکساسین ۴ جهش نقطه ای مشترک در جایگاه های مختلف شناسایی شد(C593->C, A585->G, C537->T, G491->A) و پس از بررسی توالی آمینواسیدی در جایگاه ۳۱۵ آمینو اسید آسپارتیک اسید GGU به گلایسین GAU تبدیل شد که جهش نقطه ای G->A عامل آن بود. یکی از سویه ها هیچ گونه جهش مشابهی با سایر سویه ها نداشت که علت آن خوانش نامناسب در حین آزمایش توالی یابی بود و امکان تفسیر آن وجود نداشت. با توجه به اطلاعات کسب شده از مطالعات مشابه مشخص است که عوامل و جهش های مختلف و در جایگاه های گوناگون می تواند عامل بیان بیش از حد ژن norA و دلیل مقاومت به فلوروکوینولون ها باشد، که می تواند به دلیل منشاء جداسازی و محیط قرارگیری باکتری باشد. لذا نتایج حاصل شده در مطالعات مختلف وجود جهش های مختلف و حتی عدم جهش را به عنوان عامل مقاومت در این دسته از آنتی بیوتیک ها عنوان کرده است و انتظار هم خوانی بین نتایج بررسی های مختلف وجود ندارد. بررسی های بیشتری لازم است که تاییدکننده قطعی این موضوع باشد که جهش آمینواسیدی ذکر شده باعث بیان بیش از حد ژن norA و مقاومت به سیپروفلوکساسین می باشد. هم چنین با توجه به شیوع کم سویه های مقاوم به سیپروفلوکساسین یافتن راه هایی برای جلوگیری از گسترش آن ضروری و اجتناب ناپذیر می باشد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی باشگاه پژوهشگران و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج می باشد و با حمایت مالی این مرکز به انجام رسیده است، لذا بر خود لازم می دانیم از حامیان این طرح تشکر و سپاسگزاری نماییم.

References

1. Scmitz F, Jones M, Hofmann B, Hansen B, Scheuring S. Characterization of grlA grlB gyrA and gyrB mutation in 116 unrelated isolates of staphylococcus aureus and effects of mutation on ciprofloxacin MIC. Antimicrob Agents Chemotherap1998; 42: 1249-52

2. Ahmadi Z, Tajbakhsh E, Momtaz H. Antibiotic resistance pattern in staphylococcus aureus isolated from clinical sampels in imam Reaza hospital of Kermanshah. Microbs Worlds 2013: 17: 299-311

3. Laura J, Piddock V, Jin Y, Mark A, Webber J, Martin J. Novel Ciprofloxacin resistant, nalidixic acid susceptible mutant of staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemotherap 2002; 46: 2276-8.

4. Kaatz G, Seo S. Inducible NorA mediate multidrug resistance in staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemotherap1995; 39: 2650-5.

5. Neyfakh AA, Borsch CM, Kaatz GW. Fluoroquinolone resistance protein NorA of Staphylococcus aureus is a multidrug efflux trans-porter. Antimicrob Agents Chemotherap1993; 37: 128-9.

6.Costa S, Viveiros M, Amaral L, Couto I. Multidrug efflux pumps in Staphylococcus aureus an update. Open Microbiol J 2013; 7: 59-71.

7. Mohammed F, Marjani A, Ahlam K. Dawood S. Identification of an efflux pump gene NorA in methicillin resistant Staphylococcus aureus in Baghdad. World J Pharmaceutical Res2015; 4: 346-56.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.133]

8.Sierra J, Ruiz J, Jimenez D, Vila J. Prevalance of two different genes encoding NorA in 23 clinical strains of Staphylococcus aureus. J Antimicrobi Chemotherap2000; 46: 145-6.
9. Purmand R, Yusefi M, Salami S, Amini M. Evaluation of expression of NorA efflux pump in Ciprofloxacin resistant Staphylococcus aureus against Hexahydroquinoline derivative by Real-Time PCR. Acta Med Iran 2014; 52:424-9.
10. Kaatz GW, Seo SM. Mechanisms of Fluoroquinolone resistance in genetically related strains of Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemotherap 1997; 41: 2733-7.
11. Kaatz GW, Seo SM. Effect of substrate exposure and other growth condition manipulations on NorA expression. J Antimicrob Chemotherap 2004; 54: 364-9.
12.Ng E Y, Trucksis M, Hooper D C. Quinolone resistance mediated by NorA physiologic characterization and relationship to flqB, a quinolone resistance locus on the Staphylococcus aureus chromosome. Antimicrob Agents Chemotherap1994; 38:1345-55.
13. Fournier B, Truongbolduc QC, Zhang X. A mutation in the 5 untranslated region increases stability of NorA mRNA encoding a multidrug resistance transporter of Staphylococcus aureus. J Bacteriol2001; 183: 2367-71.
14. Carmen E, Laurel A, Emmanuel F, Susan M, Tinevimbo A, Kaatz W. Efflux related resistance to Norfloxacin Dyes and Biocides in bloodstream isolates of Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemotherap 2007; 51: 3235-9.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.133]

Identification and Investigation of norA Gene Mutations by Nucleotide Sequencing in Ciprofloxacin Resistance Staphylococcus aureus Isolated from Nasal Infection in Sanandaj Town, Western Iran

Sadatzonouri S[1], Amini S[2]*

(Received: November 1, 2016 Accepted: March 5, 2017)

Abstract

Introduction: Fluoroquinolones are among useful antibiotics against infections caused by Staphylococcus aureus, but today resistance to these classes of antibiotics is a serious problem in patient's treatments. Overexpression of norA gene is a Fluoroquinolone resistance mechanism in Staphylococcus aureus to be studied through our investigation.

Materials & Methods: In this study, 50 Staphylococcus aureus strains were isolated from nasal infection in Sanandaj town. These strains were then identified by conventional biochemical tests. Disk diffusion testing for antibiotic resistance assessment and PCR for existence of norA gene were done. Then, PCR products were sent to Bioneer Company for sequential testing. As a result, nucleotides and amino acid mutations were studied, based on sequencing results and Expasy translator.

Findings: The results of biochemical tests were as coagulase, mannitol fermentation, DNase and hemolysis positive, novobiocin sensitive and polymyxin resistance. Oxacillin (42%), erythromycin (46%), doxycyclin (10%), amikacin (20%), tetracycline (24%), penicillin (68%), ciprofloxacin (10%), vancomycin (6%), nalidixic acid (70%) were the antibiotics to which resistance rate was assessed. All the resistance strains had norA gene and 4 identical points of mutation were identified as, G491->A, C537-> T, C593-> C and A585->G respectively. Then, after translation in D315 base, aspartic acid (D) had been converted into Glycine (G).

Discussion & Conclusion: According to our results, common nucleotide and amino acid mutations were observed in four strains of ciprofloxacin resistant Staphylococcus aureus. Therefore, more studies are needed to find out if the mentioned mutation is the cause of overexpression of norA.

Keywords: staphylococcus aureus, disk diffusion, blast, expasy, sequencing

1. Young Researchers and Elite Club, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
2. Dept of Cellular and Molecular Biology, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
** Corresponding author Email: sheidazonoori@gmail.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.133]