# حضور پمپ‌های افلاکس norA، norB و norC در استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به فلوروکینولون جدا شده از نمونه‌های عفونت ادراری

**مونا آزادی‌خواه، محسن زرگر*، راضیه نظری**

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۰۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۵)

## چکیده

**مقدمه:** استافیلوکوک‌ها به سرعت نسبت به اغلب آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت پیدا می کنند و مشکلات درمانی متعددی پدید می آورند. از این میان، پمپ‌های افلاکس مهمترین علت ایجاد کننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی می باشند و اصلی ترین این پمپ‌ها سیستم‌های ذاتی افلاکس ژن nor است. در استافیلوکوکوس اورئوس، norA، norBوnorC ، ژن‌های کروموزومی هستند که پمپ‌های افلاکسی (جریانی) را کدگذاری می کنند که بیان بالای ژن‌های مقاومت چند دارویی می تواند مقاومت نسبت به کینولون‌ها را ایجاد کند.

**هدف:** این مطالعه با هدف ارزیابی مولکولی حضور ژن‌های norA B,C مرتبط با پمپ‌های افلاکس ایجاد کننده مقاومت به آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده که از نمونه‌های عفونت ادراری انجام می‌شود.

**روش کار**: در این مطالعه نمونه‌های جدا شده از ۳۰۰ نمونه ادرار بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاههای شمال شهر تهران تعداد ۱۰۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جمع آوری و شناسایی گردید. پس از شناسایی سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون، استخراج DNA جدایه‌ها به منظور تایید وجود ژن‌های norA ، norB و norC توسط واکنش PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل آگارز بررسی گردید.

**نتایج:** از بین ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده ۶۰ جدایه (۶۰٪) نسبت به سیپروفلوکساسین، ۳۰ جدایه (۳۰٪) نسبت به نوروفلوکساسین و ۱۰ جدایه (۱۰٪) نسبت به افلوکساسین مقاومت نشان دادند. از بین ۱۰۰ جدایه، ۳۰ جدایه (۳۰٪) دارای ژن مقاومت norB، ۲۰ مورد (۲۰٪) دارای ژن norC و در ۲۰ جدایه (۲۰٪) نیز دارای ژن norA بودند. همچنین ۱۰ جدایه (۱۰٪) واجد هر سه ژن و ۱۵ جدایه (۱۵٪) واجد ۲ ژن از ۳ ژن مورد مطالعه بودند.

**نتیجه‌گیری:** شناخت الگوی مقاومت به لحاظ وجود درصد نسبتا بالای ژن‌های دخیل در مقاومت در این باکتری که از باکتری‌های شایع عفونت‌های بیمارستانی است و گزارش آن به مراکز درمانی می‌تواند راه کار مناسب انتخاب درمان به پزشکان در مواجهه با عفونت‌های شدید و تهدید کننده حیات بیماران ارائه نماید.

## کلیدواژگان

norA، norB و norC، استافیلوکوکوس اورئوس، پمپ‌های افلاکس.

* نویسنده مسئول، رایانامه: zmohsen2002@yahoo.com

## مقدمه

استافیلوکوک اورئوس، کوکسی غیرمتحرک بدون اسپور و گرم مثبتی است که می تواند در شرایط محیطی مختلف رشد کند(۱). این ارگانیسم دومین پاتوژن شایع عفونت‌های بیمارستانی است. این باکتری به علت قدرت تخریب بالقوه و مقاومت روز افزون در برابر داروهای ضد باکتری، به صورت یکی از نگرانی‌های سلامت عمومی و یکی از چالش‌های موجود در برابر پزشکان باقی مانده است. (۲). این باکتری یکی از مهم ترین پاتوژن‌های شناخته شده برای ایجاد عفونت به صورت تک گیر و اپیدمیک است و یکی از مهم ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌های کسب شده از اجتماع است که می‌تواند بیماری‌های مهمی هم چون باکتریمی، اندوکاردیت، استئومیلیت، سندرم شوک توکسیک و عفونت‌های پوستی باشد. توانایی وسیع این باکتری در ایجاد بیماری بخاطر تولید سموم و آنزیم‌های مختلف و توانایی کسب سریع مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌ها است علاوه بر این ساختار دیواره و پروتئین‌های استافیلوکوکوس اورئوس نیز تا حدودی در بیماری زایی آن نقش دارند. (۳).

مقاومت به آنتی بیوتیک در استافیلوکوکوس اورئوس شیوع بالایی دارد و در سال‌های اخیر با توجه به مصرف بالای آنتی بیوتیک الگوی حساسیت در این باکتری دستخوش تغییرات بوده است. یکی از مشکلات عمده در درمان و پیشگیری از بیماری‌های ناشی از این باکتری مقاومت آن به آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد که باعث بروز مشکلات فراوان از قبیل مرگ و میر و افزایش علایم بالینی بیمار در دوران بستری می‌باشد که این امر سبب ایجاد محدودیت در درمان برای این باکتری شده است(۴). مکانیسم‌های مقاومت به درمان این باکتری به سه روش کلی طبقه بندی می‌شود که شامل تولید آنزیم‌هایی که عوامل آنتی باکتریال را تغییر می‌دهند یا تخریب می‌کنند، استفاده از سیستم‌های افلاکس پمپ برای جلوگیری از تجمع آنتی بیوتیک در داخل سلول و نهایتا تغییر نقطه هدف می‌باشد. اگرچه تعداد زیادی از مقاومت‌های دارویی در باکتریها یک صفت ذاتی است اما در بسیاری از موارد نیز، این پدیده در اثر فشار آنتی بیوتیکی ایجاد شده و بوسیله ارگانیسم‌ها کسب می‌گردد(۵). پمپ‌های افلاکس تقریبا در تمام گونه‌های باکتریایی یافت شده اند و ژن‌های رمز گذار این گروه از پروتئین‌ها می‌توانند در کروموزوم‌ها یا پلاسمیدها قرار بگیرند. در میان این ناقلین، پمپ‌های افلاکس وابسته به انرژی وجود دارند که مواد سمی مانند آنتی بیوتیک‌ها را تشخیص داده و این مواد را از درون سلول به محیط خارج پمپ می‌کنند و بنابراین باعث کاهش تجمع داخل سلولی آنتی بیوتیک‌ها می‌گردند. بیان بالای یک یا چند پمپ افلاکس باعث ممانعت از ایجاد تجمع داخل سلولی در حد آستانه مورد نیاز برای فعالیت دارو می‌گردد(۶).

مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوک‌ها به عوامل مختلفی مانند نفوذپذیری غشای خارجی، حضور Ampcالقایی، بتالاکتاماز کروموزومی و فعالیت ناشی از سیستم‌های افلاکس چند دارویی وابسته است از این میان، پمپ‌های افلاکس مهمترین علت ایجاد کننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی می باشند و اصلی ترین این پمپ‌ها سیستم‌های ذاتی افلاکس ژن nor است. در استافیلوکوکوس اورئوس، norA، norB، norC، و tet38 ژن‌های کروموزومی هستند که پمپ‌های افلاکسی (جریانی ) را کدگذاری میکنند که بیان بالای ژن‌های مقاومت چند دارویی( MDR) میتواند مقاومت نسبت به کینولون‌ها و دیگر ترکیبات و یا تتراسایکلین ( tet 38) را ایجاد کند (۱۰). سیستم‌های پمپ افلاکس چنددارویی norA در S. aureus بسیار مورد مطالعه قرار گرفته است. در مطالعه ای ثابت شده است

افزایش بیان ژن norA ناشی از جهش در پروموتر، منجر به افزایش مقاومت باکتری به فلوروکینولون‌ها شده است (۱۰). همچنین ثابت شده است که پمپ‌های افلاکس norB و norC نقش مهمی در مقاومت باکتری دارد (۱۰،۱۱).

با توجه به اهمیت این موضوع و انجام مطالعات کمی که در این مورد انجام شده است، این مطالعه با هدف تشخیص مولکولی پمپ‌های افلاکس norA, norB و norC در جدایه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس و ارزیابی نقش آنها در ایجاد مقاومت انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

### نمونه‌گیری، کشت و جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس

در این مطالعه از نمونه بیماران آزمایشگاههای شمال شهر تهران به تعداد ۳۰۰ نمونه ادرار مشکوک به صورت تصادفی جمع آوری و بررسی گردید. نمونه‌های باکتری پس از کشت و رشد نمونه‌ها، فرآیند جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از رنگ آمیزی گرم و آزمایش‌های کاتالاز، کواگولاز DNase، و تخمیر مانیتول تشخیص داده شد.

### سنجش حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها

تست تعیین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها به روش انتشار از دیسک [Kirby-Bauer Method] انجام شد. حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، نوروفلوکساسین(۱۰ میکروگرم) و افلوکساسین(۵ میکروگرم) (Mast UK) در محیط کشت Muller Hinton Agar (مرک آلمان) تعیین گردید. نتایج آنتی بیوگرام با استفاده از جداول استاندارد Clinical and laboratory (CLSI) standards institute تفسیر شد.

### استخراج DNA و شناسایی مولکولی ژن‌های norA, norB, norC

استخراج DNA باکتری‌ها با استفاده از کیت تخلیص DNP (شرکت سیناکلون، ایران) بر طبق دستور عمل شرکت سازنده انجام گرفت.در نهایت جهت تائید استخراج نمونه را بر روی ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ میکرولیتر از پرایمر Forward از هر ژن و ۱ میکرولیتر از پرایمرهای Reverse (غلظت ۱۰ پیکومول)، ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده و ۱۲,۵ میکرولیتر از مستر میگس (شرکت سیناکلون ،ایران)و ۴,۵ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر انجام شد.توالی پرایمرها در مطالعه حاضربا استفاده از نرم افزار CLC Sequence viewer نسخه ۶ طراحی و جهت اطمینان اختصاصی بودن آن از سرویس Basic Local Alignment Search Tool(BLAST) بانک اطلاعاتی National Center for Biotechnology Information(NCBI) استفاده گردید. ترادف پرایمرهای و اندازه قطعات تکثیر شده در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

**جدول ۱- توالی پرایمرها، طول محصول واکنش و دمای واکنش**

| منبع | طول محصول | دمای اتصال | سکانس پرایمر | نام پرایمر |
|---|---|---|---|---|
| مطالعه حاضر | 160 bp | 54°C | 5'- GTGGTATGAGTGCTGGTATGG - 3' | norA-F |
| | | 54°C | 5'- GAAACTTCTGCCATAAATCCACC -3' | norA-R |
| مطالعه حاضر | 260 bp | 54°C | 5'- CAAACACTCGGATGCAAGAAAC - 3' | norB-F |
| | | 54°C | 5'- GACGCCAAATGCTCCACC - 3' | norB-R |
| مطالعه حاضر | 131 bp | 54°C | 5'- TGGGTTGGAGATGGATTTTC - 3' | norC-F |
| | | 54°C | 5'- ACAATTAGCCCTGCAACGTC - 3' | norC-R |

واکنش در دستگاه ترمال سایکلر با شرایط دمایی ۵ دقیقه دناتوراسیون در ۹۵ درجه و در ادامه ۳۳ سیکل تکرار در دمای دناتوراسیون ۹۴ درجه ۳۵ ثانیه، دمای اتصال ۵۳ درجه ۳۵ ثانیه و دمای تکثیر ۷۲ درجه ۳۵ ثانیه و در نهایت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه قرار داده می‌شود. در هر واکنش یک میکروتیوب به عنوان کنترل منفی با شرایط مشابه در نظر گرفته شد ولی به جای DNA، به آن ژنوم یک باکتری دیگر که برای این ژن‌ها منفی بود مثل استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس با شماره دسترسی ATCC 12228 اضافه می‌گردید. برای مشاهده نتایج از الکتروفورز و ژل آگارز ۲ درصد استفاده گردید.

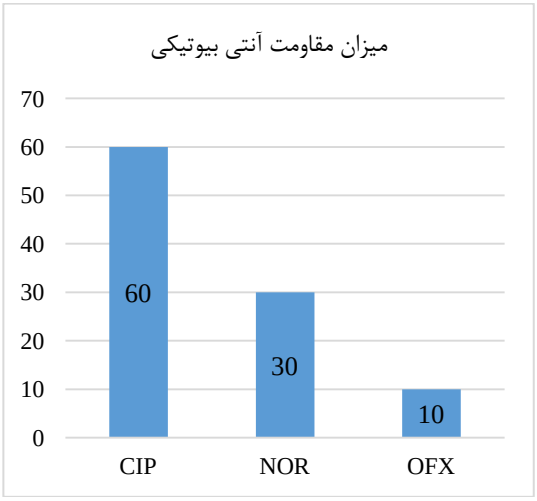
## نتایج

### جداسازی و تشخیص باکتری‌ها از نمونه‌های بالینی

از بین ۳۰۰ نمونه ادراری تعداد ۱۰۰ جدایه به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس بر مبنای آزمایش‌های استاندارد مورفولوژیک و بیوشیمیایی جداسازی و شناسایی گردید. پس از تشخیص، نمونه‌هایی که خصوصیات بیوشیمیایی آن‌ها با ویژگی‌های استافیلوکوکوس اورئوس منطبق بود به عنوان نمونه مثبت درج گردیدند.

### بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها نسبت به داروهای ضد میکروبی

حساسیت آنتی‌بیوتیکی ۱۰۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس با روش انتشار در آگار، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر تعیین گردید. نتایج نشان داد که از بین ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده ۶۰ جدایه به دیسک سیپروفلوکساسین (۶۰ درصد) ۳۰ جدایه به نوروفلوکساسین (۳۰درصد) و ۱۰ جدایه به افلوکساسین(۱۰درصد) مقاومت نشان دادند (شکل ۱).



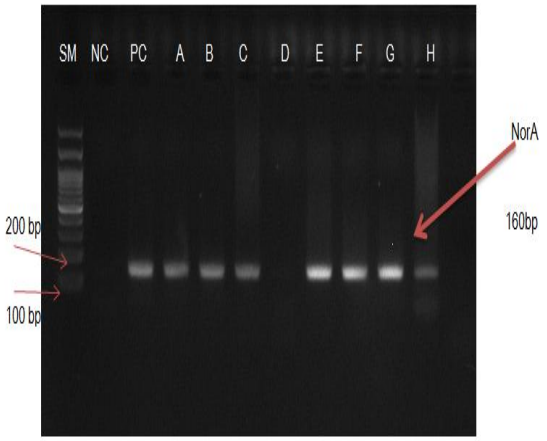

**شکل ۱- نتایج مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین (CIP)، نوروفلوکساسین (NOR) و افلوکساسین (OFX)**

### نتایج بخش مولکولی

از مجموع ۱۰۰ نمونه جمع آوری شده ۶۰ نمونه دارای مقاومت به آنتی بیوتیک‌های مورد آزمایش بودند. استخراج DNA این جدایه‌ها انجام شد و با پرایمرهای طراحی شده واکنش PCR بر روی آنها صورت گرفت.

### تکثیر توالی ژن nor A توسط واکنش PCR

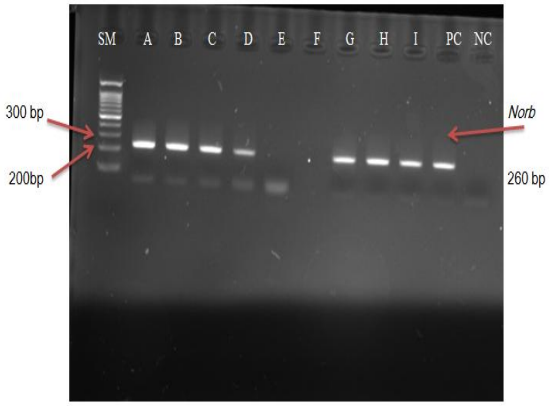
نتایج الکتروفورز نمونه‌ها در ژل آگارز ۲٪ در واکنش PCR اولیه باند 160جفت بازی مربوط به تکثیر ژن مورد نظر را نشان داد که از ۶۰ جدایه ی مقاوم، تعداد ۲۰ نمونه (۳۳٪) حضور ژن norA را نشان دادند (شکل ۲).




**شکل ۲- نتایج مربوط به واکنش PCR برای ژن *norA* می‌باشد که از سمت چپ SM:سایز مارکر 100 bp شرکت سیناکلون NC: کنترل منفی PC، : کنترل مثبت و از حرف A تا H نمونه‌های باکتری استافیلوکوکوس برای این ژن می‌باشند که برخی باند مورد نظر را داده و برخی فاقد ژن مورد نظر می‌باشند.**

## تکثیر توالی ژن nor B توسط واکنش PCR

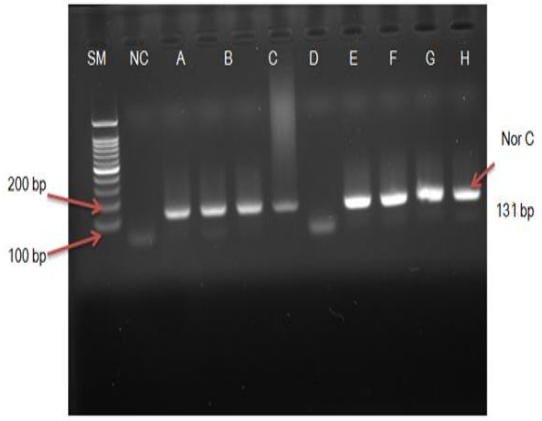
نتایج الکتروفورز نمونه‌ها در ژل آگارز ۲٪ در واکنش PCR اولیه باند 260جفت بازی مربوط به تکثیر ژن مورد نظر را نشان داد که از ۶۰ جدایه ی مقاوم تعداد ۳۰ جدایه (۵۰٪) حضور ژن *norB* را نشان دادند (شکل۳).




**شکل ۳- نتایج مربوط به واکنش PCR برای ژن *nor B* می‌باشد که از سمت چپ SM:سایز مارکر 100 bp شرکت سیناکلون ، و از حرف A تا I نمونه‌های باکتری استاف برای این ژن می‌باشند که برخی باند مورد نظر را داده و برخی فاقد ژن مورد نظر می‌باشندPC : کنترل مثبت. NC: کنترل منفی**

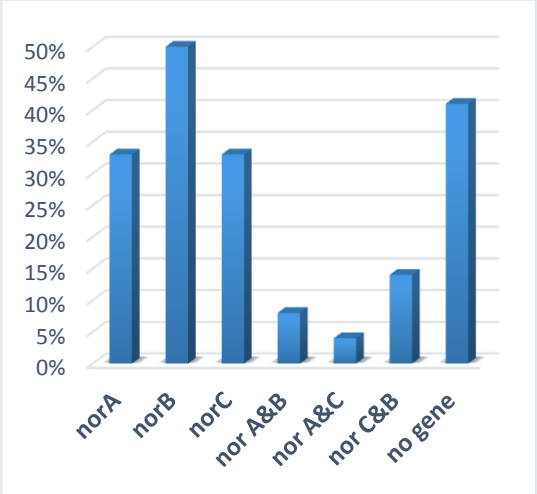
## تکثیر توالی ژن nor C توسط واکنش PCR

نتایج الکتروفورز نمونه‌ها در ژل آگارز ۲٪ در واکنش PCR اولیه باند ۱۳۱ جفت بازی مربوط به تکثیر ژن مورد نظر را نشان داد که از۶۰ جدایه ی مقاوم تعداد ۲۰ جدایه (۳۳٪) حضور ژن norC را نشان دادند (شکل۴).




**شکل ٤- نتایج مربوط به واکنش PCR برای ژن *nor C* می‌باشد که از سمت چپ SM:سایز مارکر 100 bp شرکت سیناکلون NC: کنترل منفی ، و از حرف A تا H نمونه‌های باکتری استاف برای این ژن می‌باشند که برخی باند مورد نظر را داده و برخی فاقد ژن مورد نظر می‌باشند PC: کنترل مثبت**

بررسی‌های مولکولی برای وجود ژن‌های norB،norA و norC بر اساس پرایمرهای موجود برای هر یک از ژن‌های مورد نظر بر این قرار بود که در ۳۳ درصد از باکتری‌های جدا شده دارای ژن norA می‌باشند و در ۵۰ درصد از باکتری‌ها با پرایمرهای ژن NorB پاسخ مثبت نشان داد همچنین در سویه‌های جدا شده برای ژن Nor C در ۳۳ درصد این ژن را شامل بودند. براساس نتایج مولکولی بدست آمده در ۲۵ درصد برای دو ژن (در ۱۴ درصد برای ژن norC و norB و در ۸ درصد برای ژنهای norA وnorB و در ۴ درصد دارای ژن‌های norA و norC می‌باشد) در ۱۶ درصد باکتری‌ها برای هر سه ژن مثبت می‌باشند حدود ۴۱ درصد باکتری‌های فاقد هیچکدام از این ژن‌ها می‌باشند (شکل۵).




**شکل ۵- توزیع فراوانی هر یک از ژن‌ها**

## بحث

استافیلوکوکوس اورئوس به روشنی به عنوان یک عامل بیماری زای قدرتمند که عفونت‌های متعددی را ایجاد می کند شناخته شده است. استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها همچنین یکی از عوامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی و اکتسابی از جامعه است که امروزه مقاومت چندگانه ای را نسبت به طیف وسیعی از آنتی بیوتیک‌ها از جمله بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها، تتراسایکلین‌ها، فلوروکوئینولون‌ها و ماکرولیدها کسب کرده است(۱۳).

گزارش‌های مربوط به مقاومت آنتی بیوتیکی بواسطه پمپ‌های افلاکس در S. aureus شامل گروه‌های متعددی از آنتی بیوتیک‌ها می‌شود و تاکید بیشتری بر تتراسایکلین‌ها، ماکرولیدها و فلوکینولون‌ها وجود دارد. از بین این آنتی بیوتیک‌ها نیز، فلوروکینولون‌ها مورد توجه بیشتری قرار دارند زیرا این گروه از داروها شامل سوبستراهای متعددی برای تعداد زیادی از سیستم‌های افلاکس مقاومت دارویی چندگانه می‌باشند. مقاومت ناشی از پمپ‌های افلاکس نسبت به فلوروکینولون‌ها، مانند سیپروفلوکساسین، نورفلوکساین، و اسپارفلوکساین در ایزوله‌های بالینی S. aureus در ۲دهه اخیر توضیح داده شده است. البته توضیح نقش جداگانه هر کدام از پمپ‌های افلاکس مشکل است زیرا اکثر پمپ‌های افلاکس MDR کروموزومی موجب انتشار فلوروکینولون‌ها به خارج از سلول باکتری می‌شوند. تمامی این عوامل در کنار هم باز هم نمی‌توانند ویژگی‌های معینی را برای مقاومت ایزوله‌های بالینی S. aureus نسبت به فلوروکینولون‌ها را توضیح دهند.

در مطالعه ای که در سال ۱۳۹۵ توسط حدادی زحمت کش و همکارانش با منظور بررسی فراوانی ژن‌های پمپ افلاگس nor A و norB در سویه‌های بالینی *استافیلوکوکوس اورئوس* و بررسی نقش آن در ایجاد مقاومت به سیپروفلوکساسین انجام گرفت ۲۵۰ نمونه بالینی از بیمارستانهای مختلف جمع آوری شد که ۵۰ نمونه استاف بودند که از این تعداد ۶۸ درصد نمونه‌ها به متی سیلین و ۲۴ درصد به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند و فراوانی ژنها برای norA و norB در سویه‌های مقاوم به ترتیب ۱۰۰ درصد و ۸۳ درصد بودند که نتایج نشان داد پمپ افلاگس در ایجاد مقاومت به سیپروفلوکساسین نقش اساسی دارند و بررسی حضور این ژن‌ها می‌تواند در پیشنهاد الگوی درمانی حائز اهمیت باشد(۱۱). در بررسی در بوستون آمریکا در ارتباط با بیان ژن nor B و ژن nor C در استافیلو کوکوس‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین بر روی ۱۱۵ نمونه جدا شده از سال‌های ۲۰۰۹ و ۲۰۱۱ جدا شده از کشور کره انجام گرفت nor B در ۴۲ درصد نمونه‌ها و ژنهای nor A و nor C به ترتیب در ۳۳,۶۲ درصد و ۵۳,۲ درصد نمونه حضور داشته اند(۱۴). بر اساس نقش پمپ افلاکس‌ها در مقاومت باکتری‌ها به برخی از آنتی بیوتیک‌ها مطالعاتی به همین منظور بر اساس جلوگیری از بیان هر یک از این ژن‌های پمپ افلاگس و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی در حال انجام می‌باشد. بر همین اساس مطالعاتی که توسط دکتر پورمند و همکارانش در سال ۲۰۱۴ بر روی بیان ژن

NorA در باکتری‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به سیپروفلوکساسین بر ضد مشتقات هگزاهیدروکینولین انجام دادند به این نتایج دست پیدا کردند.که مشتقات هگزا هیدروکینولین توانایی جلوگیری از رشد باکتری مقاوم به سیپروفلوکساسین را دارند و همچنین بیان ژن NorA را کاهش می‌دهد(۱۰).

در این مطالعه از نمونه‌های مورد بررسی در بخش حساسیت آنتی‌بیوتیکی ۱۰۰ جدایه استافیلوکوکوساورئوس که با روش آگار دیسک دیفیوژن انجام گردید حساسیت نمونه‌ها نسبیت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر تعیین گردید، که نتایج نشان داد که از بین ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده تنها ۶۰ مورد به دیسک سیپروفلوکساسین ۳۰ مورد به نوروفلوگساسین و ۱۰ مورد به افلوگساسین مقاومت نشان دادند. بررسی‌های مولکولی برای وجود ژن‌های Nor B،Nor A و NorC بر اساس پرایمرهای موجود برای هر یک از ژن‌های مورد نظر بر این قرار بود که در ۲۰ نمونه از باکتری‌های جدا شده دارای ژن NorA (۳۳ درصد) می‌باشند و در ۳۰ نمونه از باکتری‌ها با پرایمرهای ژن NorB پاسخ مثبت نشان داد(۵۰ درصد). همچنین در سویه‌های جدا شده برای ژن Nor C در ۲۰ نمونه این ژن را شامل بودند(۳۳ درصد). براساس نتایج مولکولی بدست آمده در ۱۵ باکتری برای دو ژن norA، norC و norB (۲۵ درصد) در ۱۰ باکتری می‌باشند برای هر سه ژن مثبت (۱۶ درصد) می‌باشند. علت اینکه در برخی از باکتری‌ها که فاقد ژن‌های مورد نظر بوده ولی نسبت به این آنتی بیوتیک‌های فلوروکینون از خود مقاومت نشان می‌دهند به دلیل وجود موتاسیون در ژن gyrA می‌باشد که با این موتاسیون باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌ها مقاوم می‌شوند.

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که پمپ افلاکس norB،norA و norC یکی از مکانیسم‌های مهم مقاومت به آنتی بیوتیک‌های فلورکینولون مانند سیپروفلوکساسین می‌باشد. اما نباید نقش سایر عوامل و مکانیسم‌های دخیل در مقاومت نادیده گرفته شود. در نهایت پیشنهاد می‌شود که مطالعات بیشتر برای تولید و گسترش مولکول‌های مهارکننده افلاکس انجام بگیرد. توسعه مهارکننده‌های پمپ افلاکس، امکان کنترل سویه‌های مقاوم حاوی پمپ‌های افلاکس را ایجاد می‌کند.

## تقدیر و تشکر

بدین وسیله بخش آزمایشگاه تحصیلات تکمیلی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم و بخصوص شرکت دانش بنیان سامان ژن آراد و تمام کسانی که در انجام این پروژه همکاری نموده اند، تشکر و قدرانی می‌نماییم.

## منابع و مآخذ


1. Parsonnet, J., Deresiewicz, R.L., Staphylococcal infections, 2001.In: Baunwald E, Fausi AS, editors. Harrison's Principles of internal medicine. 15 th ed. New york: McGrawHill; p. 889901.
2. Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C., 2006.Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed., Lippincott,: 834.
3. Shopsin, S. gomes, M. montgomery, L. smith. wadington, H. Dodge, E, 1999. Evaluation of protein A gene polymorphic Region DNA sequencing for typing of staphylococcus aureus strain. J, Clinical microbiology. P: 3556-3563.
4. Haddadi Zahmatkesh, M.S., Laripoor, M., Mirzaie, A., Ashrafi, F. 2016, Prevalence of norA and norB efflux pump genes in clinical isolates of Staphylococcus aureus and their contribution in ciprofloxacin resistance, IJMM; 10(5): 20-30.
5. Ruiz, J., 2003. Mechanisms of resistance to quinolones, target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. J Antimicrob Ch. 51, 1109-1117.
6. Koronakis, V, 2003.TolC-the bacterial exit duct for proteins and drugs. FEBS Lett;555:66-71.
7. Stuart, B.,1992.Active Efflux Mechanisms For Antimicrobial Resistance. Antimicrobial Agentsand Chemotherapy; 39(4):695-703.
8. Haruko, O., 1996.Acrab Efflux pumps plays a Major Role in the Antibiotic Resistance Phenotype of *Escherichia coli* Multiple-antibiotic-resistance Mutants Jonal of Bacteriology;178(1):306-308.
9. Tseng, T.T., Gratwick, K.S., Kollman, J., Park, D., Nies, DH., Goffeau, A., Saier, MH JR, 1999.The RND permease superfamily:an ancient, ubiquitous and divers family that includes human disease and development proteins.Jmol Microbiol Biotechnol;1(1):107-125.
10. Pourmand, M.R., Yousefi, M, Salami SA, and Amini M,2014. Evaluation of Expression of NorA Efflux Pump in Ciprofloxacin Resistant Staphylococcus aureus against Hexahydroquinoline Derivative by Real-Time PCR, Acta Medica Iranica, 2014;52(6):424-429.
11. Haddadi Zahmatkesh, M., Laripoor, M., Mirzaie, A., Ashrafi F, 2017. Prevalence of norA and norB efflux pump genes in clinical isolates of Staphylococcus aureus and their contribution in ciprofloxacin resistance, Iran J Med Microbiol: Volume 10, Number 5.
12. Truong-Bolduc Q.C., Strahilevitz, J., Hooper, D.C., 2006.NorC, a new efflux pump regulated by MgrA of Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother 50: 1104-7.
13. Suna, F., Lianga, H., Kongb, X., Xiea, S., Choc, H., Denga, X., Jia, Q., Zhanga, H., Alvarezd, S., Hicksd, L.M., Baec, T., Luob, C.H., Jiangb, H., & Hea, C.H., 2012. Quorum-sensing agr mediates bacterial oxidation response via an intramolecular disulfide redox switch in the response regulator AgrA. PNAS.10, 1073.
14. Kwak, Y.G., Truong-Bolduc, Q.C., Hong Bin Kim, H.B., Kyoung-Ho Song, Kim, E.S. and David, C. Hooper, 2013. Association of norB overexpression and fluoroquinolone resistance in clinical isolates of Staphylococcus aureus from Korea, J Antimicrob Chemother; 68: 2766–2772.
15. Kazemi, S.S., Mansoor, F.N., Amir Mirzaie, A., Fatemeh Ashrafi, 2017, Antibiotic resistance assessment, and genotypic and phenotypic detection of *norA* efflux pump in methicillin and ciprofloxacin resistant Staphylococcus aureus isolates, Journal of Microbial World Volume 9, No.4.