

· 论著 ·

复方阿达帕林软膏的制备与稳定性研究

陶春¹, 杨慧丹^{1,2}, 黄爱文¹, 陈珍珍^{1,2}, 张倩², 宋洪涛¹ (1. 福建医科大学福总临床医学院(福州总医院)药学科, 福建福州 350025; 2. 福建医科大学药学院, 福建福州 350108)

[摘要] 目的 制备复方阿达帕林软膏并对其稳定性进行考察和优化。方法 以 PEG400 和 PEG3350 为基质, 制备含阿达帕林和莫匹罗星的复方软膏。采用影响因素试验考察和优化药物的稳定性, 再经加速试验和长期试验做进一步评价。结果 阿达帕林原料药在高温、高湿和强光照射下均有良好的稳定性, 莫匹罗星原料药的含量在高温下快速降低, 在高湿和强光照射下稳定性良好。在 $\text{pH} \leq 7$ 时, 阿达帕林和莫匹罗星有明显的降解现象, 而在 $\text{pH} = 7.5$ 时稳定性最佳, 10 d 时的含量 $> 95\%$ 。PEG400 和 PEG3350 的比例为 2 : 1 时, 软膏的黏度最佳, 易于涂展, 且采用 0.2% 三乙醇胺调节 pH, 显著改善了阿达帕林和莫匹罗星的稳定性。加速试验和长期试验(6 个月)结果显示, 软膏中阿达帕林和莫匹罗星的含量保持在 95% 以上。结论 本实验成功制备了复方阿达帕林软膏, 药物稳定性良好。

[关键词] 阿达帕林; 莫匹罗星; 软膏; 稳定性

[中图分类号] R943

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2019)01-0046-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.01.011

Development and stability test of compound adapalene ointment

TAO Chun¹, YANG Huidan^{1,2}, HUANG Aiwen¹, CHEN Zhenzhen^{1,2}, ZHANG Qian², SONG Hongtao¹ (1. Department of Pharmacy, Fuzong Clinical Medical College of Fujian Medical University (Fuzhou General Hospital), Fuzhou 350025, China; 2. School of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350108, China)

[Abstract] **Objective** To prepare, investigate and optimize the drug stability of compound adapalene ointment. **Methods** The ointment containing adapalene and mupirocin were prepared with PEG400 and PEG3350 as matrix. Stress test was used to evaluate and optimize the stability of drugs in the ointment. The drug stability was further tested by the acceleration test and long-term test. **Results** The raw adapalene was stable under high temperature, high humidity and strong light irradiation. The raw mupirocin was stable under high humidity and strong light irradiation, but was highly unstable under high temperature condition. Degradation of adapalene and mupirocin was found with $\text{pH} \leq 7$. At $\text{pH} 7.5$, the best stability was achieved, with over 95% of the drugs remaining at day 10. Favorable ointment was prepared with PEG400 : PEG3350 = 2 : 1. The drug stability was promoted by addition of 0.2% triethanolamine significantly. In the acceleration test and long-term test, the percentages of adapalene and mupirocin were above 95%. **Conclusion** The compound adapalene ointment was successfully prepared and the drug stability was excellent.

[Key words] adapalene; mupirocin; ointment; stability

痤疮是一好发于面部、严重者可累及胸背部的毛囊皮脂腺慢性炎症性疾病, 多发于青少年, 成人也有发生。其发病机制众多, 主要包括雄性激素分泌过多、皮脂成分改变、毛囊皮脂腺导管堵塞、细菌感

染、炎症因子诱发炎症反应、遗传因素、饮食、环境(温度、湿度、污染等)、生活方式等, 且各种致病因素之间可发生相互影响, 增加了痤疮的治疗难度^[1-6]。

根据中国痤疮治疗指南, 外用维 A 酸类药物是治疗轻度痤疮的一线用药, 也是中度痤疮联合用药的首选药物。阿达帕林是第三代维 A 酸类药物, 普遍用于轻-中度痤疮的治疗, 可调节组织细胞的分化, 防止毛囊上皮细胞过度角化, 同时, 通过下调鸟氨酸脱羧酶的活性, 抑制皮脂腺细胞增生及皮脂过度分泌, 具有明确的抗炎作用^[7]。

另外, 莫匹罗星是一种新型的局部外用抗生素, 是荧光假单胞菌的代谢产物, 可用于耐药金黄色葡

[基金项目] 福建省自然科学基金项目(2017J01822, 2018J01347); 福建医科大学启航基金项目(2017XQ1202); 福州总医院院立课题项目(2017Q06)

[作者简介] 陶春, 博士, 主管药师, Tel: (0591) 22859972, Email: pleciestao@163.com

[通讯作者] 宋洪涛, 博士, 博士生导师, Tel: (0591) 22859459, Email: sohoto@vip.163.com; 张倩, 副教授, Tel: (0591) 22862016, Email: 1009467948@qq.com

萄球菌等细菌感染的治疗。莫匹罗星具有耐药率低且无交叉耐药的优势^[8-10],原因在于莫匹罗星可与异亮氨酸的RNA合成酶特异性结合,从而阻断合成蛋白质所需的异亮氨酸,发挥抗菌作用^[11]。

目前,上述两种药物的市售产品主要是阿达帕林凝胶和莫匹罗星软膏,均为单方制剂,两者交替使用较为不便,患者用药依从性差。若将这两种药物制成复方制剂,可使患者用药更加方便。因此,本研究拟制备阿达帕林和莫匹罗星的复方软膏,并对药物的稳定性进行考察和优化。

1 试剂与仪器

阿达帕林对照品、莫匹罗星对照品、糠酸莫米松对照品(中国食品药品检定研究院);阿达帕林原料药(武汉东康源科技有限公司),莫匹罗星原料药(孝感深渊化工有限公司);聚乙二醇400、聚乙二醇3350(中国医药对外贸易公司),三乙醇胺(北京慧立达化工有限公司);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

高效液相色谱仪(Agilent1200,美国Agilent公司),稳定性试验箱(SHH-SDT,重庆永生实验仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 HPLC含量测定方法

色谱柱为Intersil ODS-3(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),柱温为30℃,流速为1 ml/min,进样量为10 μl。两种药物分别测定:阿达帕林的流动相为0.1%磷酸-乙腈(10:90),检测波长为321 nm;莫匹罗星的流动相为0.1%磷酸-乙腈(62:38),检测波长为220 nm。

专属性考察发现,阿达帕林和莫匹罗星峰形良好,对照品与供试品的保留时间基本一致,在阴性对照溶液的色谱图上,药物出峰相应位置未见色谱峰(图1)。

以浓度 $C(\mu\text{g/ml})$ 为横坐标,以峰面积 A 为纵坐标进行线性回归,得回归方程。阿达帕林的回归方程为 $A = 3.171C - 1.548$, $r = 0.9999$,在0.0448~0.896 mg/ml范围内线性关系良好。莫匹罗星的回归方程为 $A = 14.446C - 0.053$, $r = 0.9999$,在0.0108~0.432 mg/ml范围内线性关系良好。精密度的RSD < 2%,且低、中、高浓度的平均回收率在95%~105%范围内,RSD < 2%,表明精密度、回收率符合要求。

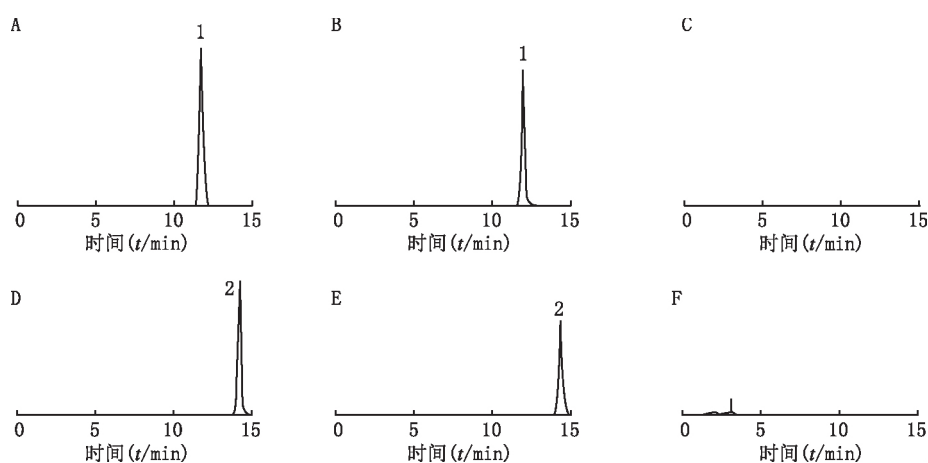


图1 专属性考察 HPLC 图

A. 阿达帕林对照品溶液;B. 阿达帕林供试品溶液;C. 阿达帕林阴性溶液;D. 莫匹罗星对照品溶液;
E. 莫匹罗星供试品溶液;F. 莫匹罗星阴性溶液;1. 阿达帕林;2. 莫匹罗星

2.2 原料药考察

2.2.1 溶解度

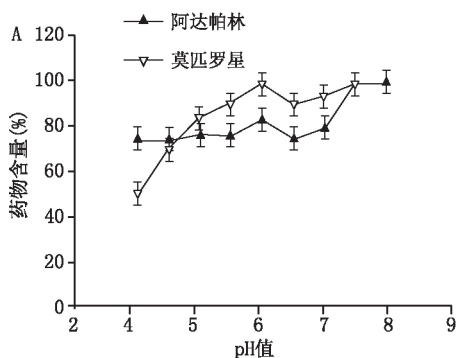
取过量的阿达帕林和莫匹罗星原料药,分别加入水、磷酸盐缓冲液(PBS, pH4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0)、无水乙醇、1,2-丙二醇及PEG400中,制成过饱和溶液,于37℃、100 r/min恒温水浴摇床中振摇48 h后,将样品以10 000 r/min离心20 min,上清液经0.45 μm的微孔滤膜过滤,

取续滤液进样,HPLC测定其中的药物含量,并计算相应的溶解度,结果如表1所示。

阿达帕林在水和不同pH PBS中未测得药物,在无水乙醇和1,2-丙二醇中的溶解度也较小,不足1 mg/ml,在PEG400中溶解度最高,为(4.30 ± 0.05)mg/ml。莫匹罗星在水中的溶解度较小,但伴随pH增大,溶解度逐渐提高,在无水乙醇、1,2-丙二醇和PEG400中的溶解度显著改善。

表1 不同介质中阿达帕林和莫匹罗星的溶解度(mg/ml)

介质	溶解度	
	阿达帕林	莫匹罗星
水	0	0.45±0.01
无水乙醇	0.81±0.02	127.95±2.14
1,2-丙二醇	0.13±0.01	184.08±2.99
PEG400	4.30±0.05	168.29±0.71
pH4.0 PBS	0	0.64±0.01
pH4.5 PBS	0	0.68±0.01
pH5.0 PBS	0	0.75±0.01
pH5.5 PBS	0	0.92±0.02
pH6.0 PBS	0	1.51±0.03
pH6.5 PBS	0	3.22±0.05
pH7.0 PBS	0	6.48±0.10
pH7.5 PBS	0	10.31±0.18
pH8.0 PBS	0	12.83±0.10



2.2.2 pH 稳定性

取阿达帕林和莫匹罗星溶于 PEG400 溶液中, 调节 pH 为 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0, 在 60℃ 条件下放置 10 d, 于 0、5、10 d 时取样, HPLC 测定药物含量, 并以 0 d 时的含量为 100% 计算。由图 2 可见, 在 pH4.0~7.0 范围内, 放置时间越长, 阿达帕林和莫匹罗星的含量降低越显著, 而在 pH7.0~8.0 范围内, 两种药物均保持了较高的含量。具体来说, 在 10 d 时, 莫匹罗星的含量随 pH 的增大呈升高趋势, 且在 pH7.5 时达到最大值, 为 (97.56±0.56)%。对阿达帕林, 当 pH<7 时, 含量变化不明显, 10 d 时的含量均低于 60%。pH7.5 时, 阿达帕林含量迅速增加, 并达到最大值, 为 (99.20±0.56)%。

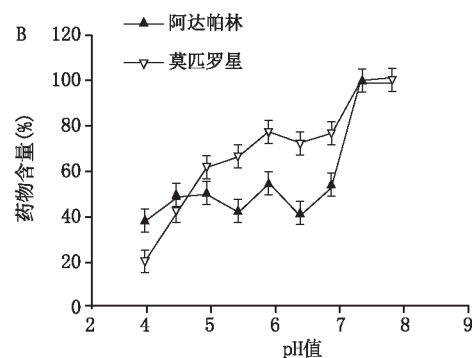


图2 60℃条件下阿达帕林和莫匹罗星在 PEG400 溶液中的稳定性

A 5 d; B 10 d

2.2.3 影响因素试验

取阿达帕林、莫匹罗星或两者的混合物(阿达帕林:莫匹罗星=1:20)置于洁净的表面皿中,放入稳定性试验箱,分别在高温(60℃)、高湿(相对湿度90%±5%)和强光照射试验(4500 lx±500 lx)条件下放置 10 d,于 0、5、10 d 时取样, HPLC 法测定药物含量,并以 0 d 时的含量为 100% 计算。

60℃ 条件下,阿达帕林在 5、10 d 的含量分别为 (98.11±1.27)% 和 (97.02±0.76)%, 稳定性良好(图 3A)。相同条件下,混合原料药中阿达帕林仍保持了较高的药物含量,均在 95% 以上。而莫匹罗星单独放置或在混合原料药中,其含量均显著降低,5 d 时样品中莫匹罗星含量少于 1%。

在高湿和强光照射条件下(图 3B、图 3C),阿达帕林与莫匹罗星单独或混合后放置,10 d 时的含量均在 97% 以上,表明药物在高湿和强光照射条件下稳定性良好。

2.3 软膏的制备与优化

2.3.1 软膏的制备

阿达帕林和莫匹罗星在 PEG400 溶液中均有相对较高的溶解度,因此参考市售莫匹罗星软膏(百多邦)的处方,采用 PEG3350 和 PEG400 为基质制备软膏。根据市售制剂的药物剂量,确定阿达帕林和莫匹罗星的含量分别为 0.1% 和 2%。

称取 PEG400,加入阿达帕林和莫匹罗星,40℃ 加热至溶解,再加至已在 70℃ 条件下熔化的 PEG3350 中,在 40℃ 水浴条件下搅拌 10 min,冷却后即得。调整 PEG400:PEG3350 为 2:1、3:2、1:1 制备软膏,观察其外观和涂展性能。所得软膏呈白色,PEG400:PEG3350 为 1:1 时,软膏黏度较大,不易涂抹;而两者比例为 3:1 时,软膏过稀;当比例为 2:1 时,软膏黏度适宜,易于涂抹,因此确定该比例用于软膏的制备。

2.3.2 软膏的高温稳定性

以 PEG400:PEG3350=2:1,阿达帕林和莫

匹罗星的含量分别为0.1%和2%制备软膏,并在稳定性试验箱(60℃)中放置10 d,于0、5、10 d时取样,HPLC法测定药物含量。高温稳定性试验结果显示,软膏中的药物含量均有显著降低,5 d时阿达帕林和莫匹罗星的含量分别为(57.87±1.53)%和(97.10±0.31)%,10 d时分别为(9.33±2.87)%和(7.97±1.19)%。

2.3.3 软膏的 pH 调节

取含0.1%阿达帕林和2%莫匹罗星的PEG400溶液,测定pH,结果显示PEG400的pH值为7.17,而含药PEG400的pH明显降低,pH值为6.32。因此,在原料药pH稳定性试验的基础上,在软膏中加入0.1%、0.2%和0.3%的三乙醇胺以调节pH,测定后发现pH值依次为(7.00±0.04)、(7.31±0.05)和(7.51±0.07)。

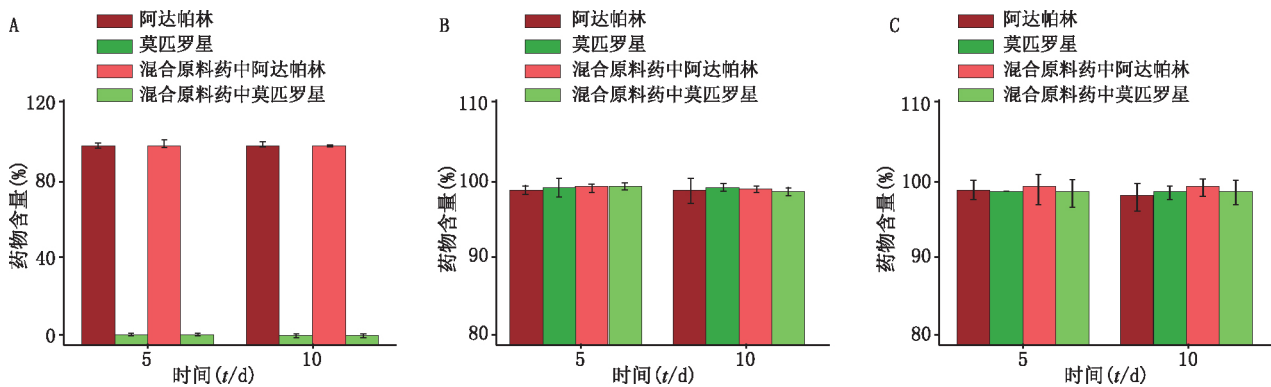


图3 不同条件下阿达帕林和莫匹罗星原料药的稳定性

A. 高温(60℃);B. 高湿(相对湿度90%±5%);C. 强光照射(4 500 lx±500 lx)

将上述药物溶液于60℃放置10 d,于0、5、10 d时取样,HPLC法测定药物含量,并以0 d时的含量为100%计算。结果如图4所示,加入三乙醇胺后,阿达帕林和莫匹罗星的含量显著提高。3种

比例的三乙醇胺中,0.2%的三乙醇胺对阿达帕林和莫匹罗星的稳定性有最佳的促进作用,10 d时的含量均达到96%以上,与市售制剂接近。因此,确定在处方中加入0.2%的三乙醇胺。

2.4 优选软膏的稳定性考察

2.4.1 影响因素试验

制备3批含0.2%三乙醇胺的复方阿达帕林软膏置于稳定性试验箱中,分别进行高温(60℃)、高湿(相对湿度90%±5%)和强光照射试验(4 500 lx±500 lx),于0、5、10 d取样进行检测,并以0 d时的含量为100%计算。如图5所示,10 d时在高温、高湿、强光照射下,软膏中阿达帕林和莫匹罗星的含量均大于97%,表明软膏中的药物具有良好的稳定性。

2.4.2 加速试验和长期试验

制备3批含0.2%三乙醇胺的复方阿达帕林软膏,装入铝塑管中,置稳定性试验箱中进行加速试验,温度为(30±2)℃,相对湿度为(65±5)%以及长期试验,温度为(25±2)℃,相对湿度为(60±10)%,放置6个月,定时取样观察软膏外观,同时测定阿达帕林和莫匹罗星的含量。在试验期间,软膏颜色(白色)无变化,无酸败、异臭、胀气。如表2、表3所示,6个月内,阿达帕林和莫匹罗星的含量均在95%以上。长期试验仍在进行中。

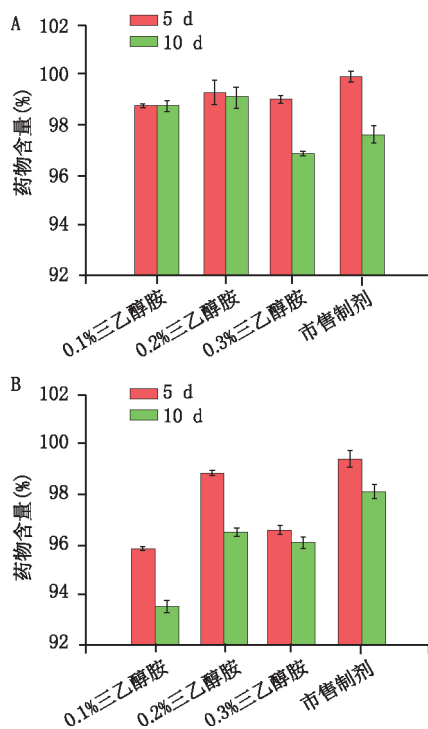


图4 60℃条件下含三乙醇胺的阿达帕林和莫匹罗星在PEG400溶液中的稳定性

A. 阿达帕林;B. 莫匹罗星

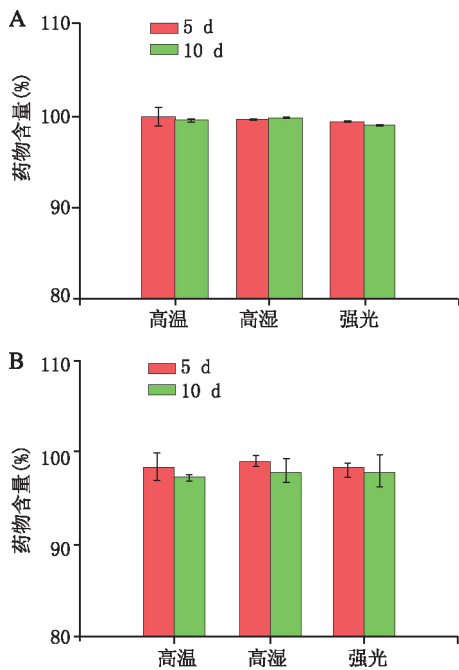


图5 不同条件下含0.2%三乙醇胺复方阿达帕林软膏中的药物稳定性
A. 阿达帕林; B. 莫匹罗星

表2 复方阿达帕林软膏加速试验结果

批次	时间(t/mon)	阿达帕林含量(%)	莫匹罗星含量(%)
1	0	100	100
	1	99.78±1.75	99.40±1.16
	2	99.38±0.51	98.11±1.05
	3	99.23±0.91	97.38±0.28
2	6	96.96±0.58	96.09±1.69
	0	100	100
	1	99.80±0.48	99.47±0.75
	2	98.80±0.46	98.21±0.61
3	3	98.88±0.54	97.56±0.92
	6	95.95±0.16	96.05±1.24
	0	100	100
	1	98.23±0.86	98.56±0.05
	2	98.04±1.39	98.84±1.32
	3	97.02±1.43	98.13±0.81
	6	95.19±0.63	96.62±0.64

表3 复方阿达帕林软膏长期试验结果

批次	时间(t/mon)	阿达帕林含量(%)	莫匹罗星含量(%)
1	0	100	100
	3	100.08±0.39	98.32±0.58
	6	97.36±1.48	97.99±1.86
2	0	100	100
	3	98.97±1.51	98.69±0.34
	6	96.69±1.00	97.66±1.76
3	0	100	100
	3	99.74±0.61	98.00±0.97
	6	96.97±0.65	96.46±0.74

3 讨论

本研究制备了阿达帕林和莫匹罗星的复方软膏,提供一种用于轻-中度痤疮治疗的复方制剂,旨在解决单方制剂使用不便的问题。

莫匹罗星和阿达帕林的市售剂型分别为软膏和凝胶。其中,市售莫匹罗星软膏含莫匹罗星、PEG400和PEG3350,市售阿达帕林凝胶含阿达帕林、卡波姆、泊洛沙姆、乙二醇四乙酸二钠、对羟基苯甲酸甲酯、丙二醇、氢氧化钠和水等。可见以PEG为基质的软膏成分简单,而凝胶成分复杂。另外,阿达帕林和莫匹罗星在PEG400溶液中均有相对良好的溶解度(表1),因此本研究以PEG400和PEG3350为基质进行复方软膏的制备。

研究发现,在高温下软膏中的两种药物含量快速降低,主要原因是受pH的影响。在酸性条件下,阿达帕林中的金刚烷基发生断裂,导致药物分解^[12]。同时,莫匹罗星中的环氧乙烷基团也易在酸性条件下发生开环而使药物含量降低^[13]。因此,本研究通过加入三乙醇胺调节pH,有效改善了软膏中的药物稳定性。但笔者尚未开展软膏的经皮渗透研究,后期将考察处方中是否需要加入促渗剂。

【参考文献】

- [1] ONEILL A M, GALLO R L. Host-microbiome interactions and recent progress into understanding the biology of acne vulgaris[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 177-192.
- [2] DRÉNO B, BETTOLI V, ARAVIISKAIA E, et al. The influence of exposome on acne[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2018, 32(5): 812-819.
- [3] 曾文心, 曹碧兰. 雄激素与痤疮相关研究进展[J]. 皮肤病与性病, 2017(6): 408-411.
- [4] 刘颖, 林新瑜. 遗传因素在寻常痤疮发病中的作用[J]. 临床皮肤科杂志, 2017(12): 891-892.
- [5] 冯舒, 陈颖旭, 吕晓晨, 等. 痤疮炎症机制中的炎症细胞因子及其基因表达的研究进展[J]. 中国医疗前沿, 2013(23): 17-19.
- [6] 孙莉, 李娟, 颜敏, 等. 痤疮的发病机制研究进展[J]. 山东医药, 2013, 53(32): 97-100.
- [7] 李丽, 王宝玺. 阿达帕林在治疗皮肤角化异常中的应用[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2004, 18(12): 753-755.
- [8] RUDRESH M S, RAVI G S, MOTAGI A, et al. Prevalence of mupirocin resistance among *Staphylococci*, its clinical significance and relationship to clinical use[J]. J Lab Phys, 2015, 7(2): 103-107.
- [9] HETEM D J, BONTEN M J. Clinical relevance of mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus* [J]. J Hosp Infect, 2013, 85(4): 249-256.

(下转第68页)

空间交联结构,将载体中的氟尿嘧啶溶解,进而得到释放,该过程速度较快,可在短时间内发挥突释作用,生产工艺研究回顾分析发现,24 h 释放量均能满足质量标准要求,而随着疏松的空间交联结构中氟尿嘧啶的释放,溶出介质将缓慢进入较为致密的交联结构中,从而缓慢释放其中的氟尿嘧啶,发挥缓释作用。360 h 时间点由于药粒与释放介质接触时间较长,硅橡胶在载体中的氟尿嘧啶基本可以得到完全释放,生产工艺回顾分析发现,360 h 平均释放度在 90 % 左右,120 h 时间点由于药粒与释放介质接触的时间较短,硅橡胶载体性质对氟尿嘧啶释放度影响更为显著,实验研究更具有针对性,因此本研究选择 120 h 时间点作为释放度的考察指标。

本研究通过对 X 变量和 Y 变量进行多元回归分析发现,数均分子量和黏度是影响氟尿嘧啶植入剂的关键因素,方差分析 $P < 0.05$,说明回归方程总效果良好,为了进一步提高分析的准确性,将 X 变量中分子量分布剔除,进行二次回归分析,最终得到回归方程: 120 h 释放度 $Y = -0.26 + 3.756 X_1 + 0.267 X_3$,也再次证明了数均分子量和黏度是影响释放度的关键参数($P < 0.05$),应作为硅橡胶的关键质量参数进行严格控制。

本研究的不足之处是整个研究过程中均未考虑大规模生产的工艺参数,因此硅橡胶分子量分布和黏度的关键质量参数,需在满足大规模生产工艺的条件下,制订合理、可控的质量控制标准,这将是下一步研究的方向。

【参考文献】

- [1] 徐刚,胡朝奇. 术中植入氟尿嘧啶植入剂在原发性肝癌切除术治疗中的应用价值[J]. 中国现代医生, 2015, 53(11): 112-114.
- [2] 刘琴,汤莉,丁宁,等. 缓释管组成结构对药物缓释速率的影响因素研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2012, 29(2): 296-300.
- [3] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T21863-2008 凝胶渗透色谱法(GPC)用四氢呋喃做淋洗液[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部): 2015年版[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 24.
- [5] 国家食品药品监督管理局. WS1-(X-103)-2005Z 氟尿嘧啶植入剂国家药品标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [6] 徐刚,战祥青,胡朝奇. 抗肿瘤植入剂在直肠癌根治术中的应用的可行性探讨[J]. 中国现代医生, 2016, 54(7): 129-131.
- [7] 叶世富,陈扬,首峰,等. 5-氟尿嘧啶与吉西他滨联合同期放疗治疗局部进展胰腺癌的临床效果[J]. 中国医药导报, 2017, 14(14): 84-87.
- [8] MURAKAMI M, SAITO T, TABATA Y. Controlled release of sphingosine-1-phosphate agonist with gelatin hydrogels for macrophage recruitment [J]. Acta Biomater, 2014, 10(11): 4723-4729.
- [9] 陈瑶. 高分子药用控释及缓释载体材料特点及在高血压治疗中的应用[J]. 中国组织工程研究, 2016, 29(43): 6530-6536.
- [10] 徐刚,胡朝奇. 正交试验设计优化氟尿嘧啶植入剂剂型工艺研究[J]. 中国医药导报, 2015, 12(19): 19-23.
- [11] NAGARWAL R C, KUMAR R, PANDIT J K. Chitosan coated sodium alginate-chitosan nanoparticles loaded with 5-FU for ocular delivery: in vitro characterization and in vivo study in rabbit eye[J]. Eur J Pharm Sci, 2012, 47(4): 678-685.
[收稿日期] 2018-01-02 [修回日期] 2018-06-12
[本文编辑] 陈盛新
- [12] TOLBA M M, EL-GAMAL R M. Determination of adapalene in gel formulation by conventional and derivative synchronous fluorimetric approaches. Application to stability studies and in vitro diffusion test[J]. Chem Cent J, 2016, 10(1): 33-43.
- [13] 吴晓彤. 莫匹罗星软膏在贮存过程中的主要降解产物研究[J]. 北方药学, 2014(10): 9.
[收稿日期] 2018-07-27 [修回日期] 2018-11-13
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 50 页)

- [10] SOULI M, KARAIKOS I, GALANI L, et al. Nationwide surveillance of resistance rates of *Staphylococcus aureus* clinical isolates from Greek hospitals, 2012-2013[J]. Infect Dis (Lond), 2016, 48(4): 287-292.
- [11] GHASEMZADEH-MOGHADDAM H, GHAZNAVI-RAD E, SEKAWI Z, et al. Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* from clinical and community sources are genetically diverse[J]. Int J Med Microbiol, 2011, 301(4): 347-353.