مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۱، شماره۳، خرداد ۱۳۹۵(شماره پی در پی ۱۱۰)

اثر ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی مرزه سفید و نانوذره اکسید روی بر بیان ژن کواگولاز در نمونه های بالینی و استاندارد استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین

فروغ مریدی کیا [۱]، سید عبدالمجید خسروانی [۲]، مهراورنگ قائدی[۳]، محمد ذوالعدل [۴]، عبد الله مریدی کیا[۵]، راضیه محسنی[۱]، علی کرم علمداری[۴]، اصغر شریفی[۲*]

[۱]کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۲]مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران،[۳]مرکز تحقیقات شیمی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران،[۴]مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران،[۵]مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۹/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۲/۲۶

چکیده:

زمینه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین(MRSA)، از پاتوژن‌های مهم بیمارستانی است و باعث بیماری‌های شدید و کشنده در سراسر جهان می‌شود. کواگولاز یک فاکتور بیماری‌زایی مهم برای این باکتری محسوب می‌شود و در تمام ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس وجود دارد. در سال‌های اخیر مطالعه‌های در رابطه با اثرات گیاهان دارویی، نانوذرات بر علیه باکتری‌ها و همچنین بیان ژن‌های بیماریزای باکتری‌ها انجام شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره مرزه سفید و نانوذره اکسید روی بر بیان ژن کواگولاز در باکتری استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین بود.

روش‌بررسی: در این مطالعه نیمه تجربی با استفاده از روش میکروبراث دایلوشن و روش MTT، میزان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره هیدروالکلی مرزه سفید و نانوذره اکسید روی برعلیه سویه‌های MRSA بررسی و تعیین شد. در مرحله بعد با استفاده از روش رونوشت برداری و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز(RT- PCR) بیان ژن *coa* در تیمارهایی که تحت تأثیر عصاره مرزه سفید و نانوذره اکسید روی قرار گرفتند، به صورت کیفی مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری کروسکال والیس و تست تعقیبی شفه، فیشر، آنالیز واریانس و کولموگروف اسمیرنف تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: میزان MIC عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه سفید برای سویه استاندارد و بالینی استافیلوکوکوس ارئوس به ترتیب ۳۰۰۰ و ۱۵۰۰میکروگرم در میلی‌لیتر بود همچنین MIC نانوذره اکسید روی بر ایزوله‌های استاندارد و بالینی به ۴۰ و ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. عصاره مرزه سفید در علظت‌های MIC دارای اثر مهاری بر بیان ژن coa بود در حالی که نانوذره اکسید روی تأثیری بر بیان ژن مورد نظر نداشت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان دهنده کاهش بیان ژن *coa* در شرایط آزمایشگاهی به روشRT- PCR به وسیله مرزه سفید می‌باشد، ولی تأثیری بر بیان ژن *Housekeeping arcC* ندارد. همچنین نانوذرات اکسید روی دارای اثر مهاری بر رشد باکتری بوده، ولی اثر مهاری بر بیان ژن *coa* نداشت.

اژه‌های کلیدی: استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین ، *coa* ، RT- PCR

[*]**نویسنده مسئول: اصغر شریفی**، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی

Email: asgharsharifi@yahoo.com

مقدمه

در سال‌های اخیر به دلیل مصرف بی رویه آنتی‌بیوتیک‌ها، عفونت‌های بیمارستانی گسترش پیدا کرده‌اند که این امر نه تنها باعث صدمات جدی به بیماران می‌شود، بلکه باعث افزایش هزینه‌های بیمارستانی می‌شود. اهمیت این موضوع زمانی مشخص می‌شود که مصرف بی‌رویه و غیر ضروری آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضد میکروبی سبب مقاومت میکروارگانیسم‌ها به این مواد می شود، از این رو درمان عفونت‌های بیمارستانی مشکل، پر هزینه و گاهی غیر ممکن می‌شود(۱). باکتری استافیلوکوکوس ارئوس از جمله این میکرو ارگانیسم‌هاست که علت اصلی عفونت‌های باکتریایی شامل؛ باکتریمی، عفونت دستگاه تنفس تحتانی، پوست و بافت نرم در بسیاری از کشورهای توسعه یافته و بیماران بستری در بیمارستان می‌باشد(۲). به دلیل تنوع ژنتیکی زیاد در استافیلوکوکوس ارئوس و توانایی این باکتری در تغییر حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها ، اغلب ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس ارئوس به برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله متی سیلین مقاوم هستند(۳). مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به متی سیلین، ناشی از حضور ژن *mecA* است که رمز کننده یک پروتئین متصل شونده به پنی سیلین ۸۷ کیلودالتونی PBP2a یا PBP2' می‌باشد. این پروتئین از میل ترکیبی پایینی نسبت به تمامی‌آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام برخوردار می‌باشد. بنابراین، حتی در حضور آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، بیوسنتز لایه پپتیدوگلیکان متوقف نشده وباکتری می‌تواند به حیات خود ادامه دهد(۴). اخیراً مطالعه‌های زیادی بر روی نانوذرات و گیاهان دارویی به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها صورت گرفته است.

نانوذرات فلزی به دلیل خواص متفاوت نوری، شیمیایی، فوتوالکتروشیمیایی و الکتریکی، مورد توجه دانشمندان هستند. مشخص شده است که بسیاری از فلزات سنگین در غلظت‌های بسیارکم، باکتری‌ها را از بین می‌برند. مکانیسم اصلی تأثیر نانو ذرات بر باکتری‌ها از طریق آسیب به DNA، پروتئین و تخریب دیواره سلولی می‌باشد(۵). نانوذرات اکسید روی کاربردهای متعددی در داروسازی و پزشکی دارند که معمولاً در کرم های ضد آفتاب و به عنوان عامل ضد باکتریایی استفاده می‌شوند(۶). مکانیسم مستقیم برای سمیت نانوذرات اکسید روی انحلال و آزادسازی یون روی می‌باشد (۷).

گیاه مرزه سفید یا مرزه جنگلی که در شمال غرب ایران رشد می‌کند از خانواده نعناع، که گیاهی بوته‌ای، علفی و چندساله می‌باشد. به طور سنتی به عنوان محرک معده ، ضد نفخ ، خلط‌آور و به عنوان تقویت کننده قوای جنسی مورد استفاده قرار می‌گیرد(۹ و۸). هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره مرزه سفید و نانوذره اکسید روی بر بیان ژن کواگولاز در باکتری استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین بود.

روش بررسی

در این مطالعه نیمه تجربی سویه‌های استافیلوکوکوس ارئوس مورد مطالعه از بیماران سوختگی بیمارستان‌های منتخب شهر اهواز جداسازی شد و با استفاده از روش ای استاندارد میکروب‌شناسی تعیین هویت شدند. حضور ژن *coa* با تکنیک PCR تأیید شد. در کنار نمونه‌های بالینی از سویه استاندارد MRSA سوش co1 نیز استفاده شد که این عمل موجب می‌شود تا شرایط آزمایش از لحاظ کیفیت تحت کنترل باشد(۱۰).

عصاره هیدروالکلی (اتانولی ـ آبی)گیاه مرزه سفید از اندام هوایی این گیاه و به روش ماسراسیون تهیه شد و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد(۱۱).

نانوذرات اکسید روی از روش هیدروترمال با استفاده از پودر روی برماید تحت حرارت ۶۵۰ درجه سانتی گراد به دست آمد(۱۲).

در این مطالعه به منظور بررسی اثرات بازدارندگی، از رشد نانوذرات اکسید روی و عصاره گیاه مرزه سفید به وسیله از پلیت ۹۶ چاهکی و روش میکرودایلوشن استفاده شد، حجم نهایی چاهک ها ۱۰۰ میکرولیتر و تعداد باکتری وارد شده ۵×۱۰^{۵} باکتری در نظر گرفته شد. جهت حصول اطمینان از هر یک از غلظت‌های مختلف مواد ضد باکتریایی مذکور آزمایش‌ها برای هر باکتری سه بار تکرار انجام شد(۱۳).

اساس این آزمایش بر احیا شدن و شکسته شدن کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم(MTT) و تبدیل آن به کریستال‌های آبی رنگ و نامحلول فورمازان در سیتوپلاسم باکتری است. این کریستال‌ها به وسیله ماده‌ی حلالی نظیر DMSO به حالت محلول در می‌آیند.

این مطالعه به‌منظور تعیین درصد حیات باکتری به وسیله مواد مورد مطالعه با استفاده از پلیت ۹۶ چاهک انجام گرفت. در این آزمایش مجموع حجم‌های مواد ضد باکتریایی، باکتری و محیط کشت در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر و تعداد باکتری‌ها در هر چاهک معادل ۵×۱۰^{۵} در نظر گرفته شد. پس از ۲۰ ساعت انکوبه کردن پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، مقدار ۵ میکرولیتر از ماده‌ی MTT با غلظت ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه شد و به مدت یک ساعت در شرایط تاریک در انکوباتور قرار گرفت. سپس به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از حلال DMSO به تمام چاهک‌ها اضافه و پس از سپری شدن دو ساعت، جذب آن در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. از طریق فرمول زیر درصد حیاتی محاسبه شد و جهت حصول اطمینان از هر یک از غلظت‌های مختلف مواد ضد باکتریایی مذکور آزمایش‌ها برای هر باکتری سه بار تکرار انجام شد(۱۴).

درصد حیاتی= ۱- (جذب نوری باکتری تیمار شده/جذب نوری کنترل)×۱۰۰

انتخاب قطعات ژنی و طراحی پرایمرهای مناسب، دو جفت پرایمر برای ژن کواگولاز(*coa*) و یک ژن خانه‌داری[1] کربامات کیناز(*arcC*) به عنوان کنترل داخلی (جدول ۱) با نرم افزار Genscript طراحی گردید.

1-Husekeeping

ابتدا یک بار باکتری‌ها در معرض غلظت MIC از مواد ضد باکتریایی مورد مطالعه قرار گرفتند و هم‌چنین به عنوان شاهد، باکتری‌ها در عدم حضور مواد ضد باکتریایی مورد مطالعه کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. سپس با استفاده از رسوب به دست آمده از کشت باکتری‌ها مرحله استخراج و تلخیص RNA با استفاده از کیت bioneer وطبق دستورالعمل کیت انجام شد. سپس با استفاده از RNAهای استخراج شده از هرکدام از نمونه‌های شاهد و تیمار شده cDNA ساخته شد و تغییرات در سطح بیان ژن‌های کواگولاز و کربامیت کیناز با استفاده از روش RT_PCR و طبق پروتوکل کیت bioneer انجام شد(۱۵).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری کروسکال والیس و تست تعقیبی شفه. فیشر، آنالیز واریانس و کولموگروف اسمیرنف تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

در این مطالعه، تعداد ۱۵ سویه استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین مشتمل بر یک سویه استاندارد و ۱۴ سویه بالینی که از زخم سوختگی بیماران بستری ایزوله شده و با تست‌های تشخیصی اختصاصی این باکتری تأیید شده‌اند، تحت بررسی و تیمار قرار گرفتند.

حداقل غلظت مهاری تیمارهای مطالعه در سویه‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین در جداول۲ ارایه شده است.

بر اساس جدول ۲، حداقل غلظت مهاری نانو ذره اکسید روی کمتر از حداقل غلظت مهاری عصاره مرزه سفید بود. به این ترتیب که حداقل غلظت مهاری به دست امده برای نانوذره اکسید روی در نمونه‌های مورد مطالعه به طور میانگین برابر ۲۵/۳ ماکروگرم بر میلی‌لیتر و این غلظت برای عصاره مرزه سفید به طور میانگین برابر ۱۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

شکل ۱ نتایج حاصل از میزان بیان ژن coa قبل و بعد از تیمار با عصاره و ژن arcC به عنوان ژن Housekeeping قبل و بعد از تیمار با عصاره مرزه سفید به روش کیفیRT_PCR نشان می‌دهد.

نتایج نشان دهنده مهار بیان ژن coa به وسیله مرزه سفید بود و بیان ژن arcC قبل و بعد از تیمار تفاوتی نداشته است.

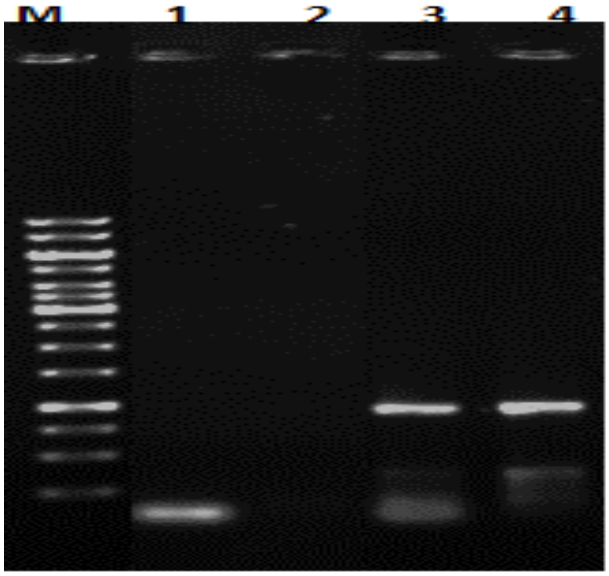
شکل ۲ نتایج حاصل از میزان بیان ژن coa قبل و بعد از تیمار با نانوذره اکسید روی و ژن arcC به عنوان ژن Housekeeping قبل و بعد از تیمار با نانوذره اکسید روی به روش کیفی RT_PCR نشان می‌دهد.

جدول ۱ : توالی پرایمرها و دمای آنیلینگ آنها در مطالعه حاضر

ژن	توالی پرایمر	دمای آنیلینگ(درجه سانتی‌گراد)	تعداد چرخه	طول زنجیره (جفت باز)
coa	F: CATACAAGAAGCCAAGCGAA R: ACTTGACCGTTTGCATGTGT	۵۴	۳۴	۱۴۲
arcC	F: TTGATTCACCAGCGCGTATTGTC R: AGGTATCTGCTTCAATCAGCG	۵۶	۳۴	۵۷۰

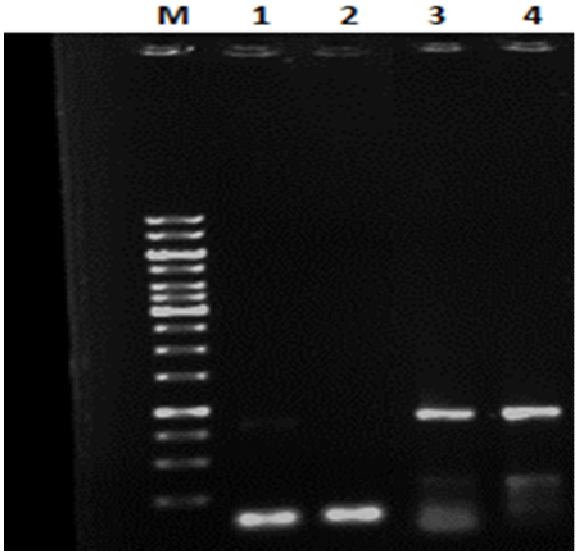
جدول ۲: حداقل غلظت مهاری تیمارهای مطالعه در سویه های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین

نوع مداخله سویه مورد مطالعه	عصاره مرزه سفید(میکروگرم بر میلی لیتر)	نانوذره اکسید روی (میکروگرم بر میلی لیتر)
سویه استاندارد	۳۰۰۰	۴۰
سویه بالینی شماره ۱	۳۰۰۰	۲۰
سویه بالینی شماره ۲	۳۰۰۰	۴۰
سویه بالینی شماره ۳	۱۵۰۰	۲۰
سویه بالینی شماره ۴	۱۵۰۰	۲۰
سویه بالینی شماره ۵	۱۵۰۰	۲۰
سویه بالینی شماره ۶	۱۵۰۰	۴۰
سویه بالینی شماره ۷	۱۵۰۰	۲۰
سویه بالینی شماره ۸	۱۵۰۰	۴۰
سویه بالینی شماره ۹	۱۵۰۰	۲۰
سویه بالینی شماره ۱۰	۱۵۰۰	۲۰
سویه بالینی شماره ۱۱	۱۵۰۰	۲۰
سویه بالینی شماره ۱۲	۱۵۰۰	۲۰
سویه بالینی شماره ۱۳	۱۵۰۰	۲۰
سویه بالینی شماره ۱۴	۱۵۰۰	۲۰
سویه بالینی شماره ۱۵	۱۵۰۰	۲۰



شکل ۱ : تصویر الکتروفورز حاصل از بیان ژن *coa* و *arcC* تحت تیمار با عصاره مرزه سفید

ردیف m نشان دهنده مارکر میباشد ردیف ۱ ژن *coa* قبل از تیمار ، ردیف ۲ ژن *coa* بعد از تیمار ، ردیف ۳ ژن *arcC* قبل از تیمار و ردیف ۴ ژن *arcC* بعداز تیمار با عصاره مرزه سفید را نشان می‌دهد.



شکل ۲ : تصویر الکتروفورز حاصل از بیان ژن *coa* و *arcC* تحت تیمار با نانوذره اکسید روی

که ردیف m نشان دهنده مارکر میباشد ردیف ۱ ژن *coa* قبل از تیمار ، ردیف ۲ ژن *coa* بعد از تیمار ، ردیف ۳ ژن *arcC* قبل از تیمار و ردیف ۴ ژن *arcC* بعداز تیمار با عصاره مرزه سفید را نشان می‌دهد. که مطابق شکل ، ردیف ۲ دارای باند میباشد و نشان دهند عدم توانایی تاثیر این ماده بر بیان ژن *coa* می‌باشد. همچنین بیان ژن *arcC* قبل و بعد از تیمار نیز تفاوتی نداشته است.

بحث

استافیلوکوکوس ارئوس یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌های کسب شده از بیمارستانی و عفونت‌های کسب شده از اجتماع می‌باشد که می‌تواند عامل عفونت‌های مهمی از جمله باکتریمی، اندوکاردیت، استئومیلیت و عفونت‌های پوستی شود. مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوکوس ارئوس به پنی‌سیلین و متعاقب آن به متی‌سیلین زمینه‌ساز چاره جویی برای یافتن راه‌های درمان دیگر برای درمان عفونت‌های ناشی از این پاتوژن می‌باشد(۲) از جمله این راه‌ها، تحقیق‌های متعدد در حیطه گیاهان دارویی و نانوذرات می‌باشد .

در سال ۲۰۰۵ گیل و همکاران توانستند ژنوم کامل استافیلوکوکوس ارئوس تحت گونه COL را شناسایی کنند که یکی از هزاران ژن این گونه گواگولاز می‌باشد(۱۶). در این تحقیق سویه‌های ژن کواگولاز مورد بررسی قرار گرفتند که نشان داد هم مرزه سفید و هم نانوذره اکسید روی دارای خاصیت مهاری علیه باکتری استافیلوکوکوس ارئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین دارند و هم‌چنین مرزه سفید دارای خاصیت مهار بیان ژن بیماری‌زای کواگولاز می‌باشد در حالی که نانوذره اکسید روی فاقد این خاصیت بود.

مطالعه‌های مختلفی در مورد اثرات ضد باکتریایی اسانس گیاهان مختلف از خانواده مرزه و نانوذره اکسید روی انجام شده است و مطالعه‌ای مبتنی بر بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره مرزه سفید یافت نشد.

در تحقیق حدادیان و همکاران اثر ضد میکروبی اسانس چند گونه مرزه مورد بررسی قرار گرفت نتایج این مطالعه نشان داد ترکیب‌های شیمیایی اسانس این گیاهان به یکدیگر شباهت دارد و همگی از اثرات ضد باکتریایی برخوردار هستند(۱۷).

حیدری و همکاران در یک تحقیق اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و اتانولی مرزه بختیاری را بر اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس ارئوس بررسی کردند، نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره اتانولی مرزه بختیاری اثر بازدارندگی بیشتری بر سوش‌های مورد مطالعه دارد(۱۸).

در تحقیق اسماعیلی و همکاران، اثر مهاری مرزه خوزستانی بر روی ژن‌های اگزو آنزیمS ، اگزوتوکسینA ، سیستم‌های ترشحی و افلوکس پمپ‌های آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا با تکنیک RT-PCR نیمه کمی بررسی و مشخص شد که این گیاه دارای اثر مهاری علیه ژن‌های مذکور می‌باشد(۱۵).

در تحقیق اعظم و همکاران، اثر ضد باکتریایی چند نانو اکسید را بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی شد که نتایج این تحقیق نشان داد که نانوذره اکسید روی اثر بهتری بر هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی داشته است(۱۹).

در مطالعه ونگ و همکاران اثرات ضد باکتریایی نانوذره اکسید روی را بر باکتری اشرشیاکلیK۸۸ نشان داد که این نانوذره با آسیب به غشا سبب مرگ باکتری می‌شود(۲۰).

با توجه به مقاومت بالای استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به پنی‌سیلین نسبت به داروها و اهمیت این باکتری در عفونت‌های بیمارستانی و سوختگی‌ها و هم‌چنین با توجه به این که اغلب عوامل بیماری‌زا در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی می‌باشد، بنابراین یافتن یک مکمل درمانی موثر و کم خطر ضروری می‌باشد .بنابراین شناسایی ترکیب مؤثری که بتواند ژن‌های بیماری‌زای این باکتری را مهار نماید اهمیت به سزایی دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به این که در این مطالعه عصاره گیاه مرزه سفید اثر مهاری قابل توجهی بر بیان ژن گواگولاز در باکتری‌های مورد مطالعه دارد، لذا با مطالعه این عصاره بر روی سایر ژن ای ویرولانس استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین و مطالعه نتایج حاصل، می‌توان از این عصاره در آینده با مطالعه‌های آزمایشگاهی بیشتر به عنوان درمان و یا مکمل درمانی مورد استفاده قرار داد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه علوم پزشکی یاسوج می‌باشد که با پشتیبانی مرکز تحقیقاتی بیولوژی مولکولی و حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

REFERENCES

1.Josefsson E, Hartford O, O'Brien L, Patti JM, Foster T. Protection against experimental Staphylococcus aureus arthritis by vaccination with clumping factor A, a novel virulence determinant. Journal of Infectious Diseases 2001; 184(12): 1572-80.
2.Weichhart T, Horky M, Söllner J, Gangl S, Henics T, Nagy E, et al. Functional selection of vaccine candidate peptides from Staphylococcus aureus whole-genome expression libraries in vitro. Infection and Immunity 2003; 71(8): 4633-41.
3.Salehzadeh A, Asadpour L ,Naeemi AS, Houshmand E. Antimicrobial activity of methanolic extracts of Sambucus ebulus and Urtica dioica against clinical isolates of methicillin resistant Staphylococcus aureus. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines 2014; 11(5): 38-40.
4.Deurenberg R, Vink C, Kalenic S, Friedrich A, Bruggeman C, Stobberingh E. The molecular evolution of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Clinical Microbiology and Infection 2007;13(3): 222-35.
5.Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, Dubourguier HC, Kahru A. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO 2 to bacteria Vibrio fischeri and crustaceans Daphnia magna and Thamnocephalus platyurus. Chemosphere 2008; 71(7): 1308-16.
6.Yamamoto O. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. International Journal of Inorganic Materials 2001; 3(7): 643-6.
7.Gulson B, McCall M, Korsch M, Gomez L, Casey P, Oytam Y, et al. Small amounts of zinc from zinc oxide particles in sunscreens applied outdoors are absorbed through human skin. Toxicological Sciences 2010: kfq243.
8.Sefidkon F, Jamzad Z. Chemical composition of the essential oil of three Iranian Satureja species (S. mutica, S. macrantha and S. intermedia). Food Chemistry 2005; 91(1): 1-4.
9.Sefidkon F, ASKARI F, Sadeghzadeh L, Oulia P. Antimicrobial effects of the essential oils of Satureja mutica, S. edmondi and S. Bachtiarica Against Salmonella Paratifi A and B. en.journals.sid.ir. 2009.
10.Robicsek A, Beaumont JL, Peterson LR. Duration of colonization with methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Clinical Infectious Diseases 2009; 48(7): 910-3.
11.Sharifi A, Naghmachi M, Bahrami S. Antimicrobial activities of Dorema auchri. armaghanj.yums.ac.ir. 2011.
12.Wang H, Xie J, Yan K, Duan M. Growth mechanism of different morphologies of ZnO crystals prepared by hydrothermal method. Journal of Materials Science & Technology 2011; 27(2): 153-8.
13.Sachidananda M, Murari S, Channe Gowda D. Characterization of an antibacterial peptide from indian cobra (Naja naja) venom. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases 2007; 13(2): 446-61.
14.Yalcın HT, Ozen MO, Gocmen B, Nalbantsoy A. Effect of Ottoman viper (Montivipera xanthina (Gray, 1849)) venom on various cancer cells and on microorganisms. Cytotechnology 2014; 66(1): 87-94.
15.Jalalvandi[1] N, Bahador A, Zahedi B, Saghi H, Esmaeili D. The study of inhibitory effects of satureja khuzestanica essence against mexa and mexr efflux genes ofpseudomonas aeruginosa by rt-pcr. International Journal of Biotechnology 2015; 4(1): 1-8.
16.Gill SR, Fouts DE, Archer GL, Mongodin EF, DeBoy RT, Ravel J, et al. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant Staphylococcus aureus strain and a biofilm-producing methicillin-resistant Staphylococcus epidermidis strain. Journal of Bacteriology 2005; 187(7): 2426-38.
17.Hadian J, Akramian M, Heydari H, Mumivand H, Asghari B. Composition and in vitro antibacterial activity of essential oils from four Satureja species growing in Iran .Natural Product Research 2012; 26(2): 98-108.
18.Heidari Sureshjani M, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi A, Shahidi F, Alizadeh Behbahani B. Antimicrobial effect of satureja bachtiarica extracts aqueous and ethanolic on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Scientific Journal of Biological Sciences 2013; 2(2): 24-31.
19.Azam A, Ahmed AS, Oves M, Khan MS, Habib SS, Memic A. Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: a comparative study. International Journal of Nanomedicine 2012; 7: 6003.
21.Wang C, Liu L-L, Zhang A-T, Xie P, Lu J-J, Zou X-T. Antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles on Escherichia coli K 88. Frican Journal of Biotechnology 2012; 11(44): 10248-54.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

The Antimicrobial Effect of Satureja Mutica Hydroalcoholic Extract, Zinc Oxide Nanoparticle, and Zinc Complex on the Coagulase Gene Expression in Clinical and Standard Isolates of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA)

Moridikia F[1], Khosrovani SAM[2], Ghaedi M[3], Zoladl M[4], Moridikia A[5], Mohseni R[1], Alamdari AK[4], Sharifi A[2*]

[1]Student Research Committee, Yasuj University of Medical Sciences, [2]Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Yasuj, Iran, [3]Institute of Chemistry, Yasuj University, Yasuj, Iran, [4]Social Determinants of Health Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Yasuj, Iran, [5]Chemical Injuries Research Center, Baghiatollah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 12 Dec 2015 Accepted: 15 May 2016

Abstract:

Background & aim: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) as nosocomial pathogens have been causing severe and deadly diseases around the world. Coagulase is an important virulence factor for this bacterium and exisist in all staphylococcus aureus isolates. In recent years, studies carried out into the effects of medicinal plants, nanoparticles against bacteria and pathogenic bacteria's expression genes. The aim of this study was to investigate the antimicrobial effect of satureja mutica hydroalcoholic extract, zinc oxide nanoparticle, and zinc complex on the coagulase gene expression in clinical and standard isolates of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA)

Methods: In the present quasi-experimental study, using micro dilution and MTT, the minimum inhibitory concentration (MIC) of hydro-alcoholic extracts of satureja mutica and zinc oxide nanoparticles were tested against MRSA strains. By polymerase chain reaction ((RT- PCR) coa gene expression in satureja mutica extract and zinc oxide nanoparticles treated were qualitatively evaluated. Data were analyzed using statistical tests

Results: The MIC of hydro alcoholic extract of Satureja mutica for standard strains and clinical S. aureus were 3000 and 1500 µg/ml respectively, whereas, the MIC of nanoparticle zinc oxide on Standards and clinical isolates were 40 and 20 µg/ml.The hydro alcoholic extract of Satureja mutica on MIC concentration has significant inhibitory effect on coagulase gene expression but no effect was seen for clinical and standard MRSA.

Conclusion: The results show a decline in the coa gene expression in vitro by RT- PCR method using satureja mutica , but no effect on gene expression Housekeeping arc C. An inhibitory effect was observed on bacterial growth by zinc oxide nanoparticles, but no inhibitory effect on gene expression was seen.

Keywords: MRSA, CuO; Cu complex; coagulase; Satureja Mutica

[*]**Corresponding author: Sharifi A**, Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
Email: asgharsharifi@yahoo.com

Please cite this article as follows:
Moridikia F, Khosrovani SAM, Ghaedi M, Zoladl M, Moridikia A, Mohseni R, et al. The Antimicrobial Effect of Satureja Mutica Hydroalcoholic Extract, Zinc Oxide Nanoparticle, and Zinc Complex on the Coagulase Gene Expression in Clinical and Standard Isolates of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA). Armaghane-danesh 2016; 21 (3): 305-313.