

اثر ضد میکروبی عصاره هیدروالکی مرزه سفید و نانوذره اکسید روی بر بیان ژن کوآگولاز 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، رضیه محسنی^۱، علی کرم علمداری^۱، اصغر شریفی^{۶*}

^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 ارئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA)، از پاتوژن‌های مهم بیمارستانی است و باعث بیماری‌های شدید و کشنده در سراسر جهان می‌شود. کوآگولاز 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 کوآگولاز در باکتری استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین بود.

روش‌بررسی: در این مطالعه نیمه تجربی با استفاده از روش میکروبراث دایلوژن و روش MTT، میزان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره هیدروالکی مرزه سفید و نانوذره اکسید روی بر علیه سویه‌های MRSA بررسی و تعیین شد. در مرحله بعد با استفاده از روش رونوشت برداری و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران (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 اسمیرنوف تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: میزان MIC عصاره هیدروالکی گیاه مرزه سفید برای سویه استاندارد و بالینی استافیلوکوکوس ارئوس به ترتیب ۳۰۰۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم 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 غلظت‌های MIC دارای اثر مهارتی 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 روش RT-PCR به وسیله مرزه سفید می‌باشد، ولی تأثیری بر بیان ژن *Housekeeping arcC* ندارد. همچنین نانوذرات اکسید روی دارای اثر مهارتی بر رشد باکتری بوده، ولی اثر مهارتی 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

آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، بیوسنتز لایه پپتیدوگلیکان متوقف نشده و باکتری 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 بسیار کم، 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 کرم‌های 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) و (۸). هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره مرزه سفید و نانوذره اکسید روی بر بیان ژن کوگولاز در باکتری استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین بود.

در سال‌های اخیر به دلیل مصرف بی‌رویه 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 می‌شود، از این رو درمان عفونت‌های بیمارستانی مشکل، پرهزینه و گاهی غیر ممکن می‌شود (۱). باکتری استافیلوکوکوس ارئوس از جمله این میکروارگانیسم‌هاست که علت اصلی عفونت‌های باکتریایی شامل؛ باکتری، 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 متی‌سیلین مقاوم هستند (۳). مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به متی‌سیلین، ناشی از حضور ژن *mecA* است که رمز کننده یک پروتئین متصل شونده به پنی‌سیلین ۸۷ کیلودالتونی PBP2a یا PBP2' می‌باشد. این پروتئین از میل ترکیبی پایینی نسبت به تمامی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام برخوردار می‌باشد. بنابراین، حتی در حضور

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 میکروپشاسی 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 - 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 سانتی‌گراد 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 میکروداپلوشن استفاده شد، حجم نهایی چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر و تعداد باکتری وارد شده 5×10^5 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 به منظور 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 5×10^5 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) $\times 100$

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

1-Husekeeping

حداقل غلظت مهاري تیمارهای مطالعه در سويه‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین در جداول ۲ ارایه شده است.

بر اساس جدول ۲، حداقل غلظت مهاري نانو ذره اکسید روی کمتر از حداقل غلظت مهاري عصاره مرزه سفید بود. به این ترتیب که حداقل غلظت مهاري به دست آمده برای نانوذره اکسید روی در نمونه‌های مورد مطالعه به طور میانگین برابر ۲۵/۳ میکروگرم 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 کیفی RT-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.

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 و طبق 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 کوگولاز 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.

یافته‌ها

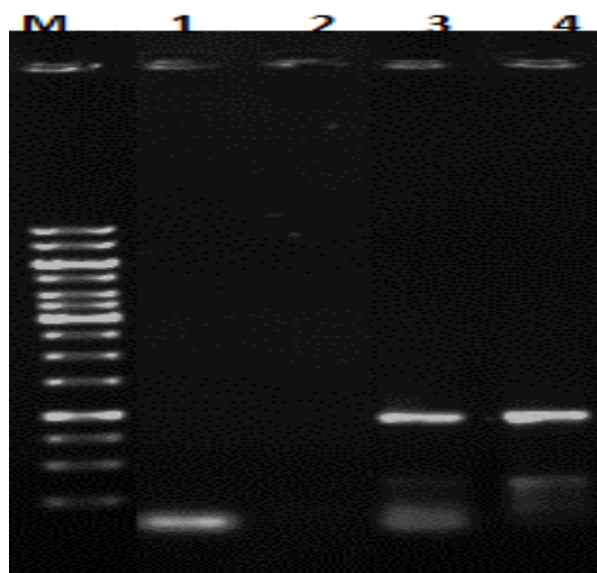
در این مطالعه، تعداد ۱۵ سويه استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین مشتمل بر یک سويه استاندارد و ۱۴ سويه بالینی که از زخم سوختگی بیماران بستری ایزوله شده و با تست‌های تشخیصی اختصاصی این باکتری تأیید شده‌اند، تحت بررسی و تیمار قرار گرفتند.

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

ژن	توالی پرایمر	دمای آنیلینگ (درجه سانتی‌گراد)	تعداد چرخه	طول زنجیره (جفت باز)
<i>coa</i>	F: CATAACAAGAAGCCAAGCGAA R: ACTTGACCGTTTGCATGTGT	۵۴	۳۴	۱۴۲
<i>arcC</i>	F: TTGATTCACCAGCGTATTGTC R: AGGTATCTGCTTCAATCAGCG	۵۶	۳۴	۵۷۰

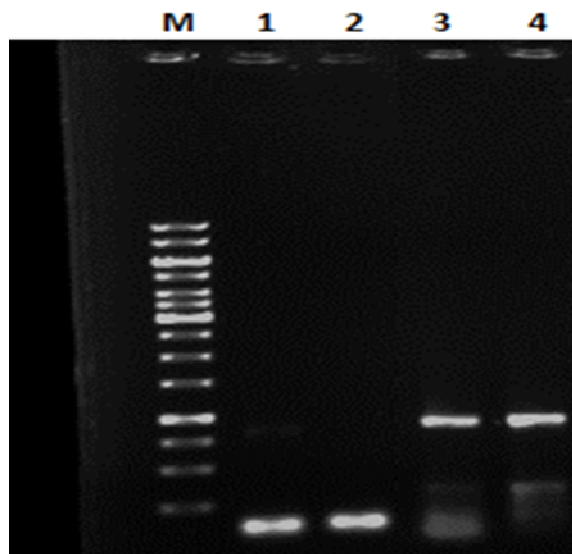
جدول ۲: حداقل غلظت مهاری تیمارهای مطالعه در سویه های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین

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



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* بعد از 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* بعد از 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

کوآگولاز مورد بررسی قرار گرفتند که نشان داد هم مرزه سفید و هم نانوذره اکسید روی دارای خاصیت مهارتی علیه باکتری استافیلوکوکوس ارئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین دارند و همچنین مرزه سفید دارای خاصیت مهار بیان ژن بیماری‌زای کوآگولاز 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).

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 باکتری، 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 کوآگولاز می‌باشد (۱۶). در این تحقیق سویه‌های ژن

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 مهارى مرزه خوزستانی بر روی ژن‌های اگزو آنزیم S، اگزوتوکسین A، سیستم‌های ترش‌حی و افلوکس پمپ‌های آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا با تکنیک RT-PCR نیمه کمی بررسی و مشخص شد که این گیاه دارای اثر مهارى 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 اشرشیاکلی K۸۸ 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 مهارى قابل توجهی بر بیان ژن گواگولاز در باکتری‌های مورد مطالعه دارد، لذا با مطالعه این عصاره بر روی سایر ژن‌ای ویرولانسی 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 TiO₂ 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. Yalcin 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. Jalalvandi¹ N, Bahador A, Zahedi B, Saghi H, Esmaeili D. The study of inhibitory effects of *satureja khuzestanica* essence against *mexa* and *mexr* efflux genes of *pseudomonas 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.

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 F¹, Khosrovani SAM², Ghaedi M³, Zoladl M⁴, Moridikia A⁵, Mohseni R¹, Alamdari AK⁴, Sharifi A^{2*}

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