

تأثیر نقاط کوانتومی اکسید روی بر جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومايسين (VRSA) از بیمارستان بغداد با روش PCR برای ژن‌های vanA و mecA

زهرا نعمه عباس^{۱*}، هناء ناجی عبدالله^{۳*}، بیژن رنجبر^{۵*}

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- ۲- استادیار، گروه تکنیک‌های پزشکی، دانشکده بهداشت و تکنیک‌های پزشکی، دانشگاه فنی میانه، بغداد، عراق
- ۳- استاد، گروه تکنیک‌های پزشکی، دانشکده بهداشت و تکنیک‌های پزشکی، دانشگاه فنی میانه، بغداد، عراق
- ۴- استاد، گروه بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- ۵- استاد، گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

* صندوق پستی ۱۱۱-۱۴۱۱۵، تهران، ایران؛ ۲۹۰۳۸، بغداد عراق
ranjbarb@modares.ac.ir, hanaa.naji@mtu.edu.iq

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۲۴

دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۶

چکیده

در این مطالعه ۵۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس از بیمارستان بغداد جمع‌آوری و بررسی شد. ۱۷ نمونه آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و ۵ نمونه آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومايسين (VRSA) بودند. حساسیت جدایه‌ها در برابر عوامل ضد میکروبی مختلف با استفاده از سیستم استاندارد VITEK2 ارزیابی شد. با توجه به CLSI، مقادیر حداقل غلظت بازدارنده (MIC) نقاط کوانتومی اکسید روی نیز با روش رقت مولر-هیتون مورد آزمایش قرار گرفت. علاوه بر این، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) برای شناسایی ژن‌های vanA و mecA انجام شد. اثرات ضدباکتریایی نقاط کوانتومی اکسید روی بر روی VRSA بیشتر از جدایه‌های MRSA بود.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، ژن mecA، ژن vanA، اکسید روی، نقاط کوانتومی

۱- مقدمه

مقاومت / استافیلوکوکوس / اورئوس به متی سیلین، یکی از شایع ترین سازوکارهایی است که مربوط به اتصال پروتئینی پنی سیلین به نام ^۱ PBPs یا ^۲ PBP2a است. سازوکار دیگر مقاومت باکتری به متی سیلین تولید متی سیلیناز است که مقاومت به غلظت کم را کد می کند. انتشار سریع عوامل کد کننده مقاومت به متی سیلین بین گونه های ^۳ MRSA این نظریه را پیشنهاد می کند که مقاومت به متی سیلین ممکن است به وسیله پلاسمید کد شود [۱، ۲]. استفاده از آنتی بیوتیک های گلیکوپپتیدی در دهه ۱۹۶۰ آغاز شد و استفاده بی رویه از آن ها به تدریج باعث ظهور ایزوله های مقاوم شد [۳، ۴]. ژن *vanA* بیشتر در اتروکوکوس فکاليس دیده شده است. این ژن روی ترانسپوزون Tn1546 قرار دارد و دارای قسمت های محافظت شده *vanRSHAX* است. این ترانسپوزون باعث انتقال این ژن به / استافیلوکوکوس / اورئوس های مقاوم به متی سیلین شده و در نتیجه این جدایه ها را به جدایه های مقاوم به ونکومايسين تبدیل می کند. اولین ایزوله با مقاومت کامل به ونکومايسين ^۴ VRSA در سال ۲۰۰۲ از میشیگان آمریکا گزارش شد که قبل از شناسایی، بیمار به مدت ۵-۶ هفته از آنتی بیوتیک ونکومايسين استفاده کرده بود. رهاسازی فرومون جنسی از / استافیلوکوکوس / اورئوس مقاوم به ونکومايسين حاوی پلاسمید کد کننده ژن *vanA*، نقش اصلی را در دریافت *vanA* ایفا می کنند [۵-۸].

نانوذرات اکسید روی یک جایگزین مناسب برای آنتی بیوتیک ها هستند زیرا برای سلول های طبیعی بدن حتی در حداکثر ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بی ضرر است [۹]. در مطالعات مختلف، فعالیت ضد باکتریایی نانو ذرات اکسید روی در برابر MRSA بررسی شده است [۱۰-۱۲]. همچنین، نانو ذرات اکسید روی در برابر انواع پاتوژن ها از جمله باکتری ها و قارچ ها مانند آسپرژیلوس نایجر،

کاندیدا آلبیکنس، سودوموناس آئروژینوزا، شریشیا کلی، سودوموناس ولگاریس و کلبسیلا پنومونیا مؤثر بوده است [۱۳]. نقاط کوانتومی نانو ذراتی با اندازه ۱ تا ۱۰ نانومتر هستند و خواص بهبود یافته ای مانند فعالیت نوری در مقایسه با مواد حجیم دارند [۱۴]. کاربرد های نقاط کوانتومی بیشتر در زمینه های زیست پزشکی، سلول های خورشیدی و ابزار های اپتوالکترونیک است [۱۵]. نانو ذرات اکسید روی با اندازه ها و مورفولوژی های مختلف حتی در ابعاد نانومتری نقاط کوانتومی سنتز می شود [۱۶]. در مطالعه حاضر، بررسی اثر نقاط کوانتومی اکسید روی علیه MRSA و VRSA جدا شده با استفاده از فناوری PCR برای ژن های *mecA* و *vanA* انجام شده است.

۲- مواد و روش ها

۲-۱ سنتز نقاط کوانتومی اکسید روی

ابتدا ۰/۲۲ گرم از استات روی در ۵۰ میلی لیتر ایزوپروپانول مخلوط شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد بر روی همزن مغناطیسی قرار داده شد (محلول الف). ۰/۱۱۲ گرم پتاسیم هیدروکسید نیز در ۵۰ میلی لیتر ایزوپروپانول در شرایط یکسان مخلوط شد (محلول ب). محلول ب به صورت قطره ای به مدت یک ساعت به محلول الف که بر روی همزن مغناطیسی در حال گردش در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار داده شده است اضافه شد. پس از گذشت دو ساعت از فرایند واکنش، حذف یون های استات و پتاسیم اضافی از نانو ذرات با شستشوی مکرر نانو ذرات با ایزوپروپانول (سه بار) و سپس آب مقطر (سه بار) توسط سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه انجام شد. قبل از هر سانتریفیوژ، محلول به مدت ۱۵ دقیقه در معرض فراصوت قرار گرفت. در نهایت رسوب نانو ذرات پس از فیلتراسیون، در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد خشک شد.

^۳ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*^۴ Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*^۱ Penicillin-binding proteins^۲ Penicillin-binding protein 2A

۲-۲ جمع آوری نمونه‌ها

تعداد کل ۵۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس از بیماران سوختگی از اکتبر ۲۰۲۱ تا نوامبر ۲۰۲۲ جمع آوری شد. شناسایی باکتری‌های ناشی از جراحات سوختگی پوست از بیمارستان بغداد عراق با استفاده از رنگ آمیزی گرم، تست کواگولاز، سنجش کاتالاز، رشد روی مانیتول سالت آگار و تست DNase انجام شد [۱۷].

۳-۲ بررسی پروفایل مقاومت جدایه‌ها با سیستم VITEK2

برای بررسی دقیق‌تر میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شناسایی مشخصات فنوتیپی سازوکارهای مقاومت باکتریایی برای هر جدایه آزمایش شده، از سیستم شناسایی میکروبی اتوماتیک VITEK2 (BioMérieux) استفاده شده است که نتایج بسیار دقیق و با تکرارپذیری بالای ۹۸ درصد را به دست می‌دهد. VITEK2 یک سیستم خودکار شناسایی و تست حساسیت باکتریایی بر اساس بانک اطلاعاتی و استانداردهای CLSI است که از فناوری مبتنی بر فلورسانس استفاده می‌کند. این سیستم می‌تواند نتایج مقبولی را برای شناسایی و حساسیت باکتری‌های باکتریایی خالص ارائه دهد [۱۸]. این سیستم شامل یک سیستم تخصصی پیشرفته است که الگوهای حداقل غلظت مهارکنندگی را تجزیه و تحلیل می‌کند و فنوتیپ‌ها را برای اکثر جدایه‌های آزمایش شده تشخیص می‌دهد. این سیستم به بهینه‌سازی کارایی آزمایشگاه برای مدیریت نتایج آزمون‌های حداقل غلظت مهارکنندگی و تسریع در درمان آنتی‌بیوتیکی مؤثر آزمایشگاهی کمک می‌کند.

۴-۲ استخراج DNA باکتریایی

برای استخراج DNA از باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس جهت انجام آزمون‌های رنگ‌سنجی از کیت MiniPrep شرکت Zymo Research استفاده شد.

۵-۲ بررسی کیفیت DNA استخراج شده از نمونه‌ها

به منظور بررسی کیفیت DNA استخراج شده از نمونه‌ها از

دستگاه نانودراپ Nabi ساخت کشور کره که روش کار آن مبتنی بر جذب طول‌موج نور در محدوده معین از غلظت مختلف مواد است، استفاده شد. در این روش تعیین خصوصیات کیفی DNA با خواندن نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر صورت می‌گیرد که در آن میزان جذب نور برای DNA در طول‌موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار DNA تعیین می‌شود. بهترین حالت ۲۶۰/۲۸۰ حدود ۱/۸-۲ است که مقادیر کمتر از ۱/۸ نشانه آلودگی پروتئینی و دیگر جذب‌کننده‌های آشفته ماوراءبنفش است. نسبت بیشتر از ۲ هم نشانه وجود RNA زیاد در نمونه است [۱۹].

۶-۲ آزمون PCR در حضور پرایمرهای اختصاصی vanA و mecA

با استفاده از روش PCR حضور ژن vanA و mecA در جدایه‌های MRSA و VRSA مقاوم به آنتی‌بیوتیک بررسی شد.

۷-۲ شناسایی مقاومت متی‌سیلین در استافیلوکوکوس اورئوس با روش PCR

مقاومت متی‌سیلین با حضور ژن mecA توسط PCR تعیین شد. جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس برای حضور محصول PCR ۳۱۰ جفت باز ژن mecA با استفاده از پرایمر زیر آزمایش شدند (جدول ۱). استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923 به صورت کنترل مثبت در نظر گرفته شد. محصولات PCR تحت الکتروفورز ژل آگارز ۲ درصد قرار گرفتند.

۸-۲ شناسایی مقاومت ونکومايسين در استافیلوکوکوس اورئوس با روش PCR

بر روی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس برای تشخیص وجود محصول PCR ۷۳۲ جفت باز ژن vanA با استفاده از پرایمرهای موجود در جدول ۱ انجام شد. لوله‌های واکنش PCR برای مخلوط کردن و آوردن محتویات به کف لوله‌ها برای مدت کوتاهی سانتریفیوژ

شدند و در دستگاه PCR قرار گرفتند و محصولات PCR توسط ژل آگارز ۲ درصد آنالیز شدند.

۹-۲ بررسی صحت محصول PCR به وسیله الکتروفورز
برای ارزیابی قطعات ژنی تکثیرشده توسط PCR از دستگاه ژل الکتروفورز استفاده شد. پس از انجام الکتروفورز، ژل با دستگاه ژل نگار مشاهده شد.

۱۰-۲ تعیین مقاومت نانوذرات اکسید روی با آزمون حداقل غلظت مهاري روی سويه های MRSA و VRSA
حداقل غلظت مهاري روی سويه های MRSA و VRSA توسط محیط مایع مولر هیتون با رقت های بین ۰/۹ تا ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از نانوذرات نقاط کوانتومی

اکسید روی تعیین شد. به طور خلاصه، ۱۰۰ میکرولیتر از محیط در هر چاه میکروپلیت ریخته شد. در چاهک اول، ۱۰۰ میکرولیتر از بالاترین غلظت نقاط کوانتومی اکسید روی ریخته و از این چاهک، فرایند رقیق سازی آغاز شد. در نهایت، هر چاهک با تلقیح ۱۰ میکرولیتری از کشت های ۲۴ ساعته تلقیح شد. میکروپلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. فعالیت ضدباکتریایی MRSA و VRSA با مشاهده تغییر رنگ (قرمز: زنده و زرد: مرده) محیط کشت پس از افزودن ۱۰ میکرولیتر محلول نمک تترازولیوم در نرمال سالین ارزیابی شد [۲۰]. این فرایند برای هر سویه VRSA و MRSA تکرار می شود.

جدول ۱ مشخصات پرایمرهای vanA, mecA و شرایط واکنش PCR

اندازه محصول bp	تعداد چرخه ها	شرایط PCR			توالی پرایمر	پرایمره ۱
310	30	Initial denaturation	95°C	5min	F:5'-GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA-3' R:5'-CCAATTCACATTGTTTCGGTCTAA-3'	mecA
		Denaturation	94°C	1min		
		annealing	57°C	2min		
		extension	72°C	1min		
		Final extension	72°C	7min		
732	30	Initial denaturation	95°C	5min	F:5'-GGGAAAACGACAATTGC-3' R:5'-GTACAATGTGGCCGTTA-3'	vanA
		Denaturation	94°C	1min		
		annealing	50°C	45 sec		
		extension	72°C	1min		
		Final extension	72°C	10min		

۳- بحث

۱-۳ شنا سایی جدایه های / ستافیلوکوکوس اورئوس با آزمون های بیوشیمیایی

جدایه های / ستافیلوکوکوس اورئوس باکتری های کوکسی گرم مثبت، تخمیرکننده مانیتول، کوآگولاز مثبت، کاتالاز مثبت و Dnase مثبت هستند. از بین نمونه های موردبررسی، ۵۰ نمونه به عنوان جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی شدند. در مطالعات قبلی، این آزمایش ها برای شناسایی نمونه های جداشده از بیماران مبتلا به

سوختگی انجام شده است [۲۱، ۲۲]. مطالعات پروفایل مقاومت جدایه ها با سیستم VITEK2 نشان داد که از بین ۵۰ نمونه /ستافیلوکوکوس اورئوس گرفته شده از بیماران، ۱۷ نمونه آلوده به MRSA و ۵ نمونه آلوده به VRSA بودند. طبق نتایج جدول ۲ به دست آمده از دستگاه VITEK2، باکتری هایی که به آنتی بیوتیک های اگراسیلین، بنزیل پنی سیلین و سفوکسیتین مقاوم بودند از نوع MRSA، اما باکتری هایی که علاوه بر آنتی بیوتیک های ذکر شده به ونکومايسين نیز مقاوم بودند از نوع VRSA هستند (جدول ۲).

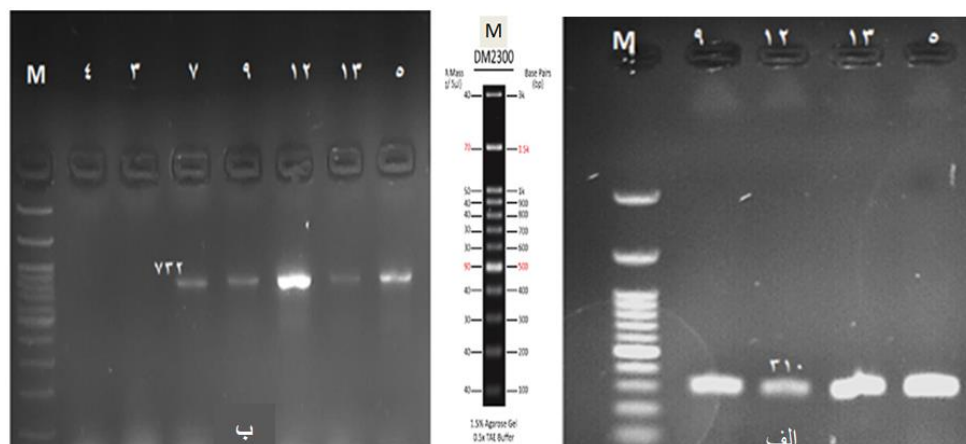
جدول ۲ تفسیر نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی در سیستم VITEK2 برای سویه‌های MRSA و VRSA

(S: سفید: حساس، R: نارنجی: مقاوم به متی‌سیلین، R: سبز: مقاوم به ونکومايسين، R*: نارنجی: مقاوم به متی‌سیلین شدیدتر)

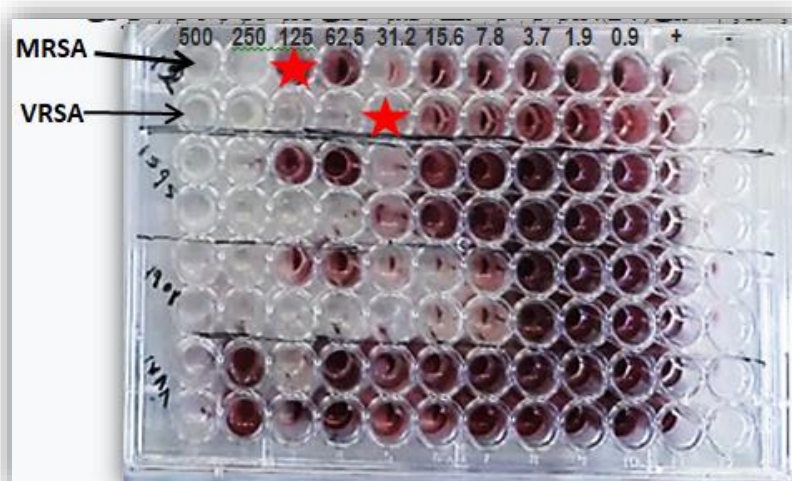
تفسیر نتایج نمونه																	MIC	آنتی‌بیوتیک
۱۷	۱۶	۱۵	۱۴	۱۳	۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱		
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	POS	سفوکسیتین
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	>=0.5	بنزیل پنی سیلین
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	>=4	اگزاسیلین
S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	<=0.5	جتامایسین
S	S	S	S	S	R*	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R*	R*	8	توبرامایسین
S	R*	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0.25	لوفلوکساسین
S	S	S	S	S	S	S	R*	S	S	S	S	S	S	S	S	S	<=0.25	موکسی فلوکساسین
R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	NEG	کلیندامایسین
R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	>=8	اریترومایسین
S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	2	لینزولید
R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	<=0.5	تیکوپلانتین
R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	<=0.5	ونکومايسين
R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R*	R*	8	تتراسایکلین
S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	<=0.12	تیگسایکلین
S	S	S	S	S	R*	R*	S	S	S	S	R*	R*	S	S	S	R*	8	فسفومايسين
R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R*	S	<=16	نیتروفرانتونین
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	---	موپروسین
R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R*	R*	1	ریفامپیسین
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	---	سولفامتوکسازول

۹، ۱۲، ۱۳ و ۵ جدایه‌های حاوی ژن *mecA* نشان داده شده است؛ اما ۵ جدایه VRSA در حضور ژن *vanA* بررسی شدند و باند اختصاصی ۷۳۲ جفت بازی را نشان دادند که حضور ژن *vanA* را در آن‌ها اثبات کرد. نتایج الکتروفورز محصول PCR برای ژن *vanA*، در چاهک ۴، ۳، ۷، ۹، ۱۲، ۱۳ و ۵ جدایه‌های حاوی ژن *vanA* نشان داده شده است. طبق نتایج به دست آمده از دو سیستم PCR و VITEK2، داده‌ها برهم منطبق بودند.

۲-۳ بررسی نتایج PCR برای ژن‌های *mecA* و *vanA*
برای تأیید جدایه‌های MRSA و VRSA به دست آمده از سیستم VITEK2، با توجه به شکل ۱ که ۵۰ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* توسط سیستم PCR بررسی شدند، ۱۷ جدایه MRSA در حضور ژن *mecA* بررسی شدند و باند اختصاصی ۳۱۰ جفت بازی را نشان دادند که حضور ژن *mecA* را در آن‌ها اثبات کرد. در چاهک



شکل ۱ نتایج الکتروفورز محصول PCR برای، الف) ژن *mecA*، ب) ژن *vanA*، M مارکر DNA به طول 2kb.



شکل ۲ بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی نقاط کوانتومی اکسید روی بر سویه‌های MRSA و VRSA

نقش موثرتری در مهار رشد باکتری VRSA در مقایسه با باکتری MRSA دارند، زیرا سویه باکتریایی VRSA سویه جدیدی است که هنوز سازوکار مقاومتی در برابر نانومواد از خود نشان نداده است بنابراین، به دلیل مقاومت MRSA به نقاط کوانتومی اکسید روی، این سویه نسبت به سویه VRSA کمتر تحت تأثیر نانوذرات قرار می‌گیرد (شکل ۲) [۲۳].

۳-۳ تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اثر نقاط کوانتومی اکسید روی برای سویه‌های MRSA و VRSA

۳-۳ تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اثر نقاط کوانتومی اکسید روی برای سویه‌های MRSA و VRSA
در این مطالعه، اثر مقادیر مختلف نقاط کوانتومی اکسید روی بر هر دوسویه بررسی شد. حداقل غلظت مهارکنندگی در محدوده ۰/۹ تا ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای سویه‌های مختلف MRSA ارزیابی شد، درحالی‌که حداقل غلظت مهارکنندگی در محدوده ۰/۹ تا ۳۱/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای سویه‌های مختلف VRSA ارزیابی شد. نتایج نشان داد که نقاط کوانتومی اکسید روی

تشکر و قدردانی: نویسندگان این مقاله از دانشگاه تربیت مدرس برای کمک‌های مالی در راستای پیشبرد این پژوهش کمال تشکر را دارند و همچنین از کارکنان بیمارستان بغداد برای جمع‌آوری نمونه‌ها قدردان هستند.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: زهرا نغمه عباس (نویسنده اول) پژوهشگر اصلی/ تحلیل گر داده ها / نگارنده مقدمه/ نگارنده بحث (۶۰٪)، هناء ناجی عبدالله (نویسنده دوم) پژوهشگر کمکی (۱۰٪)، بیژن رنجبر (نویسنده سوم) روش‌شناس/ نگارنده بحث (۳۰٪).

منابع مالی: پژوهش حاضر تحت حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است.

۵- منابع

- [1] Rahman, Mary, et al. "Diversity of staphylococci exhibiting high-level resistance to mupirocin." *Journal of medical microbiology* 33.2 (1990): 97-100.
- [2] Duckworth, G., J. Lothian, and J. Williams, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: report of an outbreak in a London teaching hospital. *Journal of Hospital Infection*, 1988. 11(1): p. 1-15.
- [3] Howden, Benjamin P., et al. "Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications." *Clinical microbiology reviews* 23.1 (2010): 99-139.
- [4] Mehrnejad, Faramarz, et al. "PCR-based gene synthesis, molecular cloning, high level expression, purification, and characterization of novel antimicrobial peptide, brevinin-2R, in *Escherichia coli*." *Applied biochemistry and biotechnology* 149 (2008): 109-118.
- [5] Chong, Yong Pil, et al. "Clinical and microbiologic analysis of the risk factors for mortality in patients with heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* bacteremia." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 59.6 (2015): 3541-3547.

در این مطالعه، اثر مقادیر مختلف نقاط کوانتومی اکسید روی بر هر دوسویه بررسی شد. حداقل غلظت مهارکنندگی در محدوده ۰/۹ تا ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای سویه‌های مختلف MRSA ارزیابی شد، درحالی‌که حداقل غلظت مهارکنندگی در محدوده ۰/۹ تا ۳۱/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای سویه‌های مختلف VRSA ارزیابی شد. نتایج نشان داد که نقاط کوانتومی اکسید روی نقش موثرتری در مهار رشد باکتری VRSA در مقایسه با باکتری MRSA دارند، زیرا سویه باکتریایی VRSA سویه جدیدی است که هنوز سازوکار مقاومتی در برابر نانومواد از خود نشان نداده است بنابراین، به دلیل مقاومت MRSA به نقاط کوانتومی اکسید روی، این سویه نسبت به سویه VRSA کمتر تحت تأثیر نانوذرات قرار می‌گیرد (شکل ۲) [۲۳].

۴- نتیجه‌گیری

یکی از بزرگ‌ترین تهدیدات سلامت در سراسر جهان، مقاومت آنتی‌بیوتیکی است که به‌طور طبیعی رخ می‌دهد، اما می‌تواند با استفاده غیرمنطقی از آنتی‌بیوتیک‌ها در انسان تسریع شود. مصرف ونکومايسين با افزایش بروز استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) افزایش یافته است. در نتیجه، سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به VRSA شروع به ظهور پیدا کرده‌اند؛ بنابراین، باید در این رابطه تدابیری اتخاذ شود. در مطالعه حاضر، فعالیت ضدباکتریایی نقاط کوانتومی اکسید روی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم (VRSA و MRSA) ارزیابی شد. نتایج یک اثر بازدارندگی قوی توسط این نانوذرات در برابر VRSA را با حداقل غلظت مهاری ۳۱/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد. همچنین، حداقل غلظت مهاری در برابر MRSA ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داده شد. در نتیجه، اثرات ضد باکتریایی نقاط کوانتومی اکسید روی در برابر VRSA موثرتر از MRSA است.

- [16] Spanhel, Lubomir, and Marc A. Anderson. "Semiconductor clusters in the sol-gel process: quantized aggregation, gelation, and crystal growth in concentrated zinc oxide colloids." *Journal of the American Chemical Society* 113.8 (1991): 2826-2833.
- [17] Salehzadeh, Ali, et al. "Molecular typing of nosocomial *Staphylococcus aureus* strains associated to biofilm based on the coagulase and protein A gene polymorphisms." *Iranian journal of basic medical sciences* 19.12 (2016): 1325.
- [18] Ling, Thomas KW, Z. K. Liu, and Augustine FB Cheng. "Evaluation of the VITEK 2 system for rapid direct identification and susceptibility testing of gram-negative bacilli from positive blood cultures." *Journal of clinical microbiology* 41.10 (2003): 4705-4707.
- [19] Ghaheri, M., et al. "A comparative evaluation of four DNA extraction protocols from whole blood sample." *Cellular and Molecular Biology* 62.3 (2016): 120-124.
- [20] Grare, Marion, et al. "Tetrazolium salts for MIC determination in microplates: Why? Which salt to select? How?." *Journal of microbiological methods* 75.1 (2008): 156-159.
- [21] Gebremedhin, Endrias Zewdu, et al. "Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from milk and milk products, associated factors for contamination, and their antibiogram in Holeta, Central Ethiopia." *Veterinary Medicine International* 2022 (2022).
- [22] Feyissa, Negassa, et al. "Isolation, identification, and determination of antibiogram characteristics of *Staphylococcus aureus* in cow milk and milk products (yoghurt and cheese) in West Showa Zone, Ethiopia." *International Dairy Journal* 137 (2023): 105503.
- [23] Mosselhy, Dina A., et al. "Nanotherapeutics: a possible solution for drug-resistant *Staphylococcus aureus* and their biofilms?." *Nanomaterials* 11.1 (2021): 82.
- [6] Ss, Eshraghi, Pourshafie MR, and Salari MH. "The prevalence and molecular characterization of vancomycin resistant gram positive cocci isolated from patients in Tehran." (2007): 9-15.
- [7] Lowy, Franklin D. "Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*." *The Journal of clinical investigation* 111.9 (2003): 1265-1273.
- [8] Horne, Kylie C., et al. "Prospective comparison of the clinical impacts of heterogeneous vancomycin-intermediate methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-susceptible MRSA." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 53.8 (2009): 3447-3452.
- [9] Dadgostar, Porooshat. "Antimicrobial resistance: implications and costs." *Infection and drug resistance* (2019): 3903-3910.
- [10] Shakerimoghaddam, Ali, et al. "Evaluate the effect of zinc oxide and silver nanoparticles on biofilm and *icaA* gene expression in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from burn wound infection." *Journal of Burn Care & Research* 41.6 (2020): 1253-1259.
- [11] Jesline, A., et al. "Antimicrobial activity of zinc and titanium dioxide nanoparticles against biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." *Applied Nanoscience* 5 (2015): 157-162.
- [12] Mihăescu, G. "Zno nanoparticles-modified dressings to inhibit wound pathogens." *Materials* 14 (2021): 3084.
- [13] Siddiqi, Khwaja Salahuddin, et al. "Properties of zinc oxide nanoparticles and their activity against microbes." *Nanoscale research letters* 13 (2018): 1-13.
- [14] Yamamoto, Osamu. "Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide." *International Journal of Inorganic Materials* 3.7 (2001): 643-646.
- [15] Valizadeh, Alireza, et al. "Quantum dots: synthesis, bioapplications, and toxicity." *Nanoscale research letters* 7 (2012): 1-14.

Effect of zinc oxide quantum dots on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and

vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) isolates from Baghdad Hospital by PCR-technique for *mecA* and *vanA* genes

Zahraa Neamah Abbas^{1, 2}, Hanaa N. Abdullah^{3*}, Bijan Ranjbar^{4, 5*}

1. PhD, Department of Nanobiotechnology, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Assistant professor, Department of Medical Techniques, Faculty of Health and Medical Techniques, Middle Technical University, Baghdad, Iraq
3. Professor, Department of Medical Techniques, Faculty of Health and Medical Techniques, Middle Technical University, Baghdad, Iraq
4. Professor, Department of Biophysics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
5. Professor, Department of Nanobiotechnology, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

ranjbarb@modares.ac.ir, hanaa.naji@mtu.edu.iq

Receipt: 2024/01/16

Accepted: 2024/04/12

Abstract

In this study, 50 *Staphylococcus aureus* samples from Baghdad Hospital were collected and examined, 17 samples were infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and 5 samples were infected with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA). The sensitivity of the isolates against different antimicrobial agents was evaluated using the VITEK2 standard system. According to CLSI, the minimum inhibitory concentration (MIC) values of zinc oxide quantum dots (ZnO-QDs) were also tested by the Muller-Hinton dilution method. In addition, polymerase chain reaction (PCR) was performed to identify *vanA* and *mecA* genes. The antibacterial effects of ZnO-QDs on VRSA were higher than MRSA isolates.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *mecA* gene, *vanA* gene, Zinc oxide, Quantum dots