بررسی اثر ضد میکروبی فلز روی در سویه های استافیلوکوک اورئوس مقاوم و حساس به بنزآلکونیوم کلراید و دارنده ژن smr جدا شده از نمونه های کلینیکی و لبنی

محمد دادوک[1]، شهرزاد اشکر[1]، صدیقه مهرابیان[1]، محسن بیگلریان[2]، مونا زمانیان عضدی[2]، حکیمه زالی[2*]، شیما امینی[3]، حسن ولدبیگی[4]

1) گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد واحد تهران شمال
2) مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
3) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شمال تهران
4) مرکز تحقیقات میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت: 91/10/16 تاریخ پذیرش: 92/1/21

چکیده

مقدمه: با توجه به اهمیت فلز روی(zn^{+2}) به عنوان یک عنصر ضروری در سیستم های بیولوژیکی و اثرات سمی فلز روی، از طرفی پیدایش سویه های استافیلوکوک اورئوس smr^{+} مقاوم به ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم(QACs) به علت مصرف گسترده مواد بیوساید حاوی QACs منجر به این شد که در این مطالعه به بررسی حساسیت استافیلوکوک اورئوس به فلز روی در مقایسه با سویه های مقاوم و حساس به ماده بیوساید بنزآلکونیوم کلراید و دارنده ژن smr پرداخته شود.

مواد و روش ها: جداسازی سویه های استافیلوکوک اورئوس نمونه های لبنی و کلینیکی با استفاده از محیط کشت مانیتول سالت آگار در دمای 37 درجه سانتی گراد به مدت 48 ساعت انجام شد و شناسایی سویه ها با روش مورفولوژی و بیوشیمیایی انجام پذیرفت. وجود ژن smr توسط PCR مورد بررسی قرار گرفت و MIC سویه های باکتری به غلظت های مختلف فلز روی با روش ماکرودیلوشن براث تعیین گردید.

یافته های پژوهش: 20 سویه استافیلوکوک اورئوس از میان 40 نمونه لبنی و کلینیکی به طور انتخابی جدا شد. ژن smr در تمام سویه های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به ماده بیوساید بنزآلکونیوم کلراید مشاهده شد و MIC تمام سویه های استافیلوکوک اورئوس در غلظت 20 ppm گزارش شد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان داد که مهار رشد تمام سویه های استافیلوکوک اورئوس حساس و مقاوم به ماده بیوساید بنزآلکونیوم کلراید در غلظت 20 ppm فلز روی دیده شد و وجود ژن smr هیچ اثری در ایجاد مقاومت به فلز روی ندارد.

واژه های کلیدی: استافیلوکوک اورئوس، smr، $ZnSo_4$

***نویسنده مسئول:** مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

Email: Hakimehzali@yahoo.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئـــوس، یکی از مهم ترین پاتوژن های عفونت اکتسابی بیمارستانی می شود که در آبسه های بافت نرم، اندوکاردیت و باکتریمی دیده شده است،(1). منابع اصلـــی عفـــونت استافیلوکوکی، انتشار ارگانیسم ها از زخم و ضایعات انسانی، ترشحات آلوده زخم ها، سیستم تنفسی و پوست هستند. بعضی از استافیلوکوک ها، فـــلور طبـــیعی پوست و غشاهای مخاطی انســـان بوده و بـــرخی دیـــگر عامل بروز عفونت های چرکی، تشکیل آبسه و حتی سپتی سمی کشنده می باشند. در صنایع لبـــنی، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیـــلوکوک های غیربیماریزا(کوآگولاز منفی) موارد متـــداولی از عـفونت های پستانی هستند. استافیلوکوک های کوآگولاز منفی بخشی از میکروفلور طبیـــعی پوســـت چهـــارپایان می باشـــند،(2). جهت ضدعفونی کردن سطوح و جلوگیری از گسترش عفونت از آنتی سپتیک ها و دزانفکتانت ها به طور گسترده ای در مراکز بهداشتی مورد استفاده قرار می گیرند،(۳،۴). بیوسایدها اهـــداف چـــندگانه ای دارند. کـــاربرد وسیع فرآورده های آنتی سپتیکی و دزانفکتانتی سبب ایجاد افزایش مقاومت میکروبی به ویژه مقـــاومـــت متقابل نسبت به آنتی بیـــوتـــیک ها شده است،(۵،۶). کاربرد وسیع دزانفکتانت ها، باعث ایجاد استافـــیلوکوک های مقاوم به ترکیبات دزانفکـــتانـــت هـــا به ویژه QAC در فرآورده های لبنیاتی می گردد. بنا بر این وجود استافیلوکوک های مقاوم در شیر و فرآورده های لبنیاتی به ویژه برای افرادی که مســـتعد عـــفونت می باشند، نگران کننده است. از ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم (QAC)، دو ترکیب فعال جهت آماده سازی مقدماتی نوک پستان دام، بنزآلکونیوم کلراید و ستیل تری متیل آمونیوم بروماید می باشند که برای پیشگیری از تورم پستان در دامداری های لبنی به کار می روند،(7). یکی از مکانیسم های مقاومت نسبت به آنتی سپتیک ها و دزانفکـــتانت هـــا در استـــافیلوکوکوس اورئوس بوسیله سیستم دفع وابسته به انرژی(energy-dependent export system) فراهم شـــده که توسـط دو خانواده ژنی smr و qac کد می شود.(1)

فلزات سنگین به گـــروهی از عناصـــر اطلاق می گردد که دارای جرم اتمی بیش از 40 گرم و وزن مخصـــوص بیـــش از $5gr/cm^3$ می باشـــند،(8)، این ترکیب ها از طریق مصرف زیاد کودهای کشاورزی و فاضلاب های شهری و صنعـــتی به صـــورت برگشت ناپذیر وارد خاک می شوند،(9)، برخلاف آلاینده های آلی که می توانند به مواد غیر سمی تبدیل شوند، فلزات به طور ذاتی در طبیعت پایدار هستند،(10). برخی از این فلزات از جمله فلز روی(zn^{+2}) از عناصر ضروری در سیستم بیولوژیکی است. آن ها برای فعالیت آنزیمی در حفظ ساختار سه بعدی پروتئین ها برای سنتز اسیدهای نوکلئیک و پروتئین ها ضروری هستند، به همین دلیل اســـت که ســـطـــح مطلـــوب فلـــز روی برای تمام سیستم های بیولوژیکی مهم است،(11)، فلز روی در مقدار کم به عنوان ریز مغذی یک عنصر ضروری برای رشد و نمو گیاهان محسوب می شوند، در حالی که مقدار اضافی آن موجب اختلالات متابولیکی و در نهایت بازدارندگی رشد در بیشتر گونه های گیاهی و میکروارگانیسم ها می شوند،(12)، یکی از مهم ترین مکانیسم های سمیت فلزات سنگین از جمله فلز روی به عنوان عامل تنش زای محیطی از طریق تولید رادیکـــال های آزاد و ایجـــاد تنـــش اکـــسیـــداتیو می باشد،(13). در این مطـــالعه با تـــوجـــه به افزایش مقاومت اســـتافیلوکـــوک اورئـــوس به ماده بیوساید بنزآلکونیوم کلراید و اثر ضد میکروبی فلز روی، میزان مهار رشد سویه های استافیلوکوک اورئوس به فلز روی با استفاده از نمک سولفات روی($ZnSo_4$) در سویه های مقاوم و حساس به ماده بیوساید بنزآلکونیوم کلراید و دارنده ژن smr در شـــرایط آزمایشگـــاهی بررســـی می شود.

مواد و روش ها

نمونه برداری

30 نمونه کلینیکی از بیمارستان شرکت نفت و 10 نمونه لبنی شیر غیر پاستوریزه در طـــی ماه های فروردین و اردیبـــهشت ســـال 1391 جـــمـــع آوری و در ظـــروف ستـــرون به آزمـــایشگاه انتقال داده شد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

جداسازی استافیلوکوک اورئوس از نمونه های لبنی و کلینیکی

به منظور جداسازی سویه های استافیلوکوک اورئوس از نمونه های لبنی و کلینیکی رقت سریال 10-10-1-10 تهیه و در محیط کشت مانیتول سالت آگار پور پلیت گردید. نمونه ها در دمای 37 درجه سانتی گراد به مدت 48 ساعت گرمخانه گزاری شد و از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی مورد ارزیابی قرار گرفتند. جهت شناسایی سویه ها از روش متداول میکروبیولوژی شامل تست های بیوشیمیایی استفاده گردید.(14)

تهیه کشت تلقیح

کلنی های ایزوله شده در محیط کشت BHI آگار کشت داده شد و پس از گرمخانه گذاری در دمای 37 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت کلنی باکتری در سرم فیزیولوژی سترون حل شده و در طول موج 600 نانومتر بر روی 1-0/8 تنظیم گردید که معادل cfu/ml 8-5x10 می باشد.

شناسایی ژن smr

برای این منظور باکتری های ایزوله شده در محیط LB براث در شرایط هوازی و در دمای 37 درجه سانتی گراد کشت داده شد و بعد از 18 ساعت گرمخانه گذاری جهت رسوب گیری در دور 12000rpm به مدت 2 دقیقه سانتریفیوژ گردید. جهت تخلیص DNA ژنومیک از کیت استخراج MBSA DNA Extraction ساخت شرکت رشد استفاده گردید.

واکنش PCR

واکنش PCR در حجم نهایی 25 میکرولیتر(18 میکرولیتر آب PCR، 2/5 میکرولیتر بافر PCR، 1 میکرولیتر dNTPs، 1 میکرولیتر پرایمر Forward، 1 میکرولیتر پرایمر Reverse، 1 میکرولیتر DNA ژنومی، 0/5 میکرولیتر آنزیم Taq DNA Polymeraze) انجام گرفت. توالی پرایمر استفاده شده به ترتیب زیر بوده است:

Forwarde:
ATAAGTACTGAAGTTATTGGAAGT
Reverse:
TTCCGAAAATGTTTAACGAAACTA

واکنش به صورت دناتوراسیون DNA به مدت 5 دقیقه در دمای 95 درجه سانتی گراد، دناتوراسیون ثانویه با قرار دادن در دمای 95 درجه سانتی گراد به مدت 60 ثانیه الحاق پرایمرها به DNA هدف در دمای 50 درجه سانتی گراد به مدت 45 ثانیه و توسعه پرایمر در 72 درجه سانتی گراد به مدت 30 ثانیه در 30 چرخه تکرار و سرانجام 5 دقیقه واکنش در 72 درجه سانتی گراد صورت گرفت.

مشاهده محصول PCR

محصول PCR توسط ژل الکتروفورز 1 درصد آگارز در بافر 1x TAE ارزیابی و تایید گردید.

سنجش حساسیت سویه های استافیلوکوک اورئوس به ماده بیوسایدی(بنزآلکونیوم کلراید)

سری 13 تایی از لوله های حاوی 1 میلی لیتر محیط مولر هینتون براث استریل تهیه شد. سپس از ماده ضد میکروبی با پیپت استریل، 1 میلی لیتر برداشته از لوله های 1 تا 12 سریال رقت تهیه شد، لوله 13 شاهد مثبت و فاقد ماده ضد میکروبی می باشد. بدین ترتیب لوله های اول تا دوازدهم دارای غلظت های 1/2، 1/4، 1/8، 1/16، 1/32، 1/64 و غیره بودند. و از کشت تلقیح باکتری 100 میکرولیتر به رقت های مختلف ماده ضد میکروبی اضافه شد، به استثنای لوله 12 که شاهد منفی و فاقد میکروب بود. پس از گرمخانه گذاری در دمای 37 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت، رشد و عدم رشد سویه ها بررسی گردید.

تعیین حساسیت سویه های ایزوله شده به غلظت های مختلف نمک سولفات روی

برای این منظور غلظت های 10ppm تا 100ppm فلز روی در محیط LB براث به حجم 1 میلی لیتر تهیه شد و از کشت تلقیح باکتریایی به میزان 100 میکرولیتر به رقت های مختلف فلز روی اضافه شد. پس از گرمخانه گذاری در دمای 37 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت، رشد و عدم رشد نمونه ها بررسی شد.

یافته های پژوهش

از مجموع 40 نمونه کلینکی و لبنی تهیه شده 20 سویه باکتری جدا شد و نتایج تست های بیوشیمیایی سویه های استافیلوکوک اورئوس را تایید کرد،(جدول شماره 1) 10 سویه استافیلوکوک اورئوس

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

مقاوم به بنزآلکونیوم کلراید از منابع کلینیکی و لبنی جدا شد و 10 سویه استافیلوکوک اورئوس حساس به بنزآلکونیوم کلراید نمونه های کلینیکی و لبنی به طور انتخابی جدا شد. 8 سویه از نمونه های کلینیکی و 2 سویه از نمونه های لبنی به ماده بنزآلکونیوم کلراید مقاوم بودند و 8 سویه از نمونه های لبنی و 2 سویه از نمونه های کلنیکی به ماده بنزآلکونیوم کلراید حساس بودند و این سویه های جدا شده از نظر حساسیت به فلز روی(Zn) مورد بررسی قرار گرفته اند.

جدول شماره 1. نتایج تست های شناسایی استافیلوکوک اورئوس

رنگ کلنی	تخمیر مانیتول	کاتالاز	کوآگولاز	همولیز	نئومایسین	باسیتراسین	نوبیوسین	DNase	تحمل نمک 15%	نام گونه
زرد	+	+	+	β	حساس	مقاوم	حساس	+	+	استافیلوکوک اورئوس

نتایج تست های شناسایی نشان داد که تمام سویه های مورد بررسی استافیلوکوک اورئوس می باشند.

نتایج سنجش حساسیت سویه های استافیلوکوک اورئوس به بنزآلکونیوم کلراید

سنجش حساسیت سویه های استافیلوکوکسی به روش ماکرودیلوشن براث در حضور ماده بنزآلکونیوم کلراید و در این بررسی 8 سویه از نمونه های کلینیکی و 2 سویه از نمونه های لبنی به ماده بنزآلکونیوم کلراید مقاوم بودند و 8 سویه از نمونه های لبنی و 2 سویه از نمونه های کلنیکی به ماده بنزآلکونیوم کلراید حساس بودند.(جدول شماره 2)

جدول شماره 2. نتایج میانگین MIC سویه های استافیلوکوک اورئوس به ماده بیوسایدی بنزآلکونیوم کلراید

MIC range µg/ml	ژن های اعطا کننده مقاومت smr		سویه ها
BC(QACs)			
1/25-2/5	دارای ژن smr	مقاوم	استافیلوکوک اورئوس
0/01-0/078	فاقد ژن smr	حساس	

نتایج سنجش حساسیت سویه های استافیلوکوک اورئوس به فلز روی

سنجش حساسیت سویه های مورد بررسی به روش ماکرودیلوشن براث و کدورت سنجی انجام شد. آخرین لوله ای که فاقد کدورت است، لوله MIC می باشد. نتایج به دست آمده از سنجش کدورت رشد لوله های MIC سویه های استافیلوکوک اورئوس در جدول شماره 3 نشان داده شده است. در بررسی نتایج کدورت رشد سویه های باکتری در غلظت های مختلف فلز روی مشاهده می شود که منطقه ممانعت از رشد باکتری های مقاوم و حساس به ماده بنزآلکونیوم کلراید و تمام باکتری های دارای ژن smr و فاقد ژن smr در غلظت 20ppm فلز روی(Zn) می باشد.

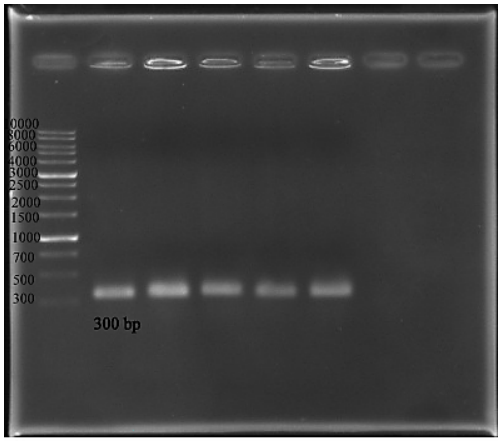
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

جدول شماره 3. MIC فلز روی، حاصل از مطالعه بر روی سویه های استافیلوکوک اورئوس مقاوم و حساس به دزانفکتان بنزآلکونیوم کلراید

نمونه	سویه های باکتری ها	غلظت مهار رشد فلز رویZn ppm
	St1	20
	St2	20
کلینیکی مقاوم به بنزآلکونیوم کلراید	St3	20
	St4	20
	St5	20
	St6	20
	St7	20
	St8	20
لبنی مقاوم به بنزآلکونیوم کلراید	St9	20
	St10	20
کلینیکی حساس به بنزآلکونیوم کلراید	St11	20
	St12	20
	St13	20
	St14	20
	St15	20
	St16	20
لبنی حساس به بنزآلکونیوم کلراید	St17	20
	St18	20
	St19	20
	St20	20

نتایج PCR

نتایج PCR نشان داد که تمام 10 سویه استافیلوکوک اورئوس مقاوم به بنزآلکونیوم کلراید دارای ژن smr بودند و سویه های حساس فاقد ژن smr می باشند، طول قطعه ژنی smr 300bp در تصویر شماره 1 نشان داده شده است.



تصویر شماره 1. باند ژنی(300bp) smr

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

بحث و نتیجه گیری

هدف از این بررسی، جداسازی سویه های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به ماده بیوسایدی بنزآلکونیوم کلراید از فرآورده های لبنی و منابع کلینیکی، بررسی حضور ژن smr در سویه های جدا شده و مطالعه اثر ضد میکروبی فلز روی در سویه های استافیلوکوک اورئوس مقاوم و حساس به ماده بنزآلکونیوم کلراید می باشد. در این بررسی از مجموع 40 نمونه کلینیکی و لبنی 20 سویه باکتری به طور انتخابی جدا شده است که 8 سویه از نمونه های کلینیکی و 2 سویه از نمونه های لبنی به ماده بنزآلکونیوم کلراید مقاوم و 8 سویه از نمونه های لبنی و 2 سویه از نمونه های کلینیکی به ماده بنزآلکونیوم کلراید حساس بودند، تمام سویه های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به ماده بنزآلکونیوم کلراید دارای ژن smr بوده و تمام سویه های استافیلوکوک اورئوس حساس به ماده بیوساید بنزآلکونیوم کلراید فاقد ژن smr بوده اند. و غلظت مهار رشد تمام سویه های حساس و مقاوم به ماده بنزآلکونیوم کلراید در غلظت 20 ppm فلز روی می باشد. ژن smr مقاومت به اتیدیوم بروماید و بعضی ترکیبات چهارظرفیتی آمونیومی را ایجاد می کند، این ژن انتقال دهنده چند دارویی از خانواده کوچک مقاومت چندداروی SMR (small multidrug resistance family) را کد می کند. این ژن، پروتئین هایی را کد می کند که قادر به دفع داروهای آبگریز شامل QAC و بعضی بیوسایدهای دارای کاتیون فعال می باشند،(15). در مطالعاتی که توسط Amornrut Leelaporn و همکاران در اوایل دهه 1980 در مورد وقوع مقاومت به آنتی سپتیک ها و دزانفکتانت ها در جدایه های استافیلوکوک های کوآگولاز منفی انجام شد، از 164 سویه استافیلوکوک کوآگولاز منفی جدا شده، 65 سویه (39/63 درصد) به cetyltrimethyl ammonium bromide مقاوم بودند،(15). که نتیجه بررسی آن ها با نتیجه بررسی حاضر از نظر وجود مقاومت سویه های استافیلوکوک به ماده دزانفکتان ها مطابقت داشت. هم چنین در بررسی صورت گرفته توسط جاستین بجورلند و همکاران در سال 2001، در مجموع 55 سویه استافیلوکوکوس اورئوس از شیر گاوها با ورم پستانی جمع آوری شد مقاومت به QAC را نشان دادند که بررسی حاظر با بررسی آن ها مطابقت داشت،(7). در مطالعات دیگری که توسط جاستین بجورلند و همکاران در سال 2005، بررسی مقاومت از نمونه های لبنی صورت گرفت، از مجموع 194 نمونه، 42 سویه استافیلوکوکوس مقاوم به QAC جدا شد. که بررسی حاضر با بررسی آن ها از نظر وجود و ایجاد مقاومت به دزانفکتان ها مطابقت داشت،(2). در مطالعات انجام شده توسط Amornrut Leelaporn و همکاران در اوایل دهه 1980، از 164 سویه استافیلوکوک کوآگولاز منفی جدا شده، 65 سویه به cetyltrimethyl ammonium bromide مقاوم بودند. 50 درصد از سویه ها فقط qacA ،10 درصد فقط qacC(smr) و 40 درصد هر دو ژن qacA و qacC را دارا بودند. که نتایج بررسی حاظر با نتایج بررسی آن ها مطابقت داشت،(15). هم چنین در سال 1999، نوگوچی و همکاران فراوانی ژن smr را در سویه استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین گزارش کردند که نتیجه بررسی آن ها از نظر وجود ژن smr در سویه های استافیلوکوک اورئوس با نتایج بررسی حاضر مطابقت داشت،(16). در مطالعاتی که به وسیله Qingzhong Liu و همکاران در سال 2009 انجام شد، ژن smr از سویه های استافیلوکوک اورئوس که در مجاورت ترکیب چهار ظرفیتی آمونیومی(QAC) بوده اند مشاهده شد که نتایج بررسی حاظر با نتایج بررسی آن ها مطابقت داشت،(17). بابیچ و همکاران تحقیقاتی در زمینه فلز روی بر باکتری های خاک انجام دادند و بررسی آن ها نشان داد که فلز روی در حدود 2 میلی مول فعالیت باکتری های خاک را کاهش می دهد،(18). در مطالعاتی که توسط نیلوفر سویک و همکاران در سال 2003 در مورد حساسیت باکتری های خاک به فلز روی طی یک آزمایش گلدانی انجام شد، باکتری ها در غلظت بیش از 50ppm فلز روی حساسیت نشان داده بودند که نتیجه بررسی حاضر با نتایج بررسی آن ها مشابه بود،(19). در مطالعاتی که محمد ملکوتیان و همکاران در سال

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

1389 در مورد حساسیت باکتری های فاضلاب شهری به نانوذره روی(ZnO) انجام دادند، نشان داده شده که باکتری ها در غلظت 80ppm حساسیتی را نشان ندادند و میزان 100ppm از نانوذره روی باعث حذف 36 درصد و 1000ppm از نانوذره روی باعث حذف 84 درصد از باکتری ها شده است. نتیجه بررسی حاضر با نتایج آن ها تفاوت داشت. این تفاوت در حساسیت باکتری هـا می توانـد به دلیـل تـفاوت در محل نمونه گیری و تنوع میکروارگانیسم های مورد بررسی هم چنین در نوع ترکیب فلز مورد مصرف باشد. در آزمایش حاضر از ترکـیب سـولـفات روی(ZnSo4) استفاده شده و در بررسی آن ها از نانوذره روی(ZnO) استفاده شده و نوع ترکیـب فلـزی و قـطر نانوذره می تواند دلیل تفاوت نتایج حاضر با آن ها باشد،(20). در مطالعات انجام شده توسط شکیبایی و همکاران در سال 2008 در بررسـی فلـز روی(zn) بر مقـاومت و جهش باکتری ها مشاهده شده که باکتری های غیر مقاوم در غلظت بیش از 30ppm فلز روی حـساس می باشند که نتیجـه بررسـی حاضر با نتیجه بررسی آن ها مطابقت داشت،(21). در مطالعات انجام شده توسط راجاپاکشا و همکاران در سال 2004 در بررسی اثر کوتاه مدت فلز روی بر روی میکروارگانیسم ها نشان داده شده که افزایش میزان فلز روی در خاک به طور خطی باعث کاهش جمعیت باکتری های خاک شده است. نتایج بررسی حاضر با نتایج بررسی آن ها مطابقت داشت،(22). به طور کلی، نتایجی که از این بررسی گرفته شد، نشان داد که تمام سویه های حساس و مقاوم به ماده بنزآلکونیوم کلراید به فلز روی حساس می باشند و فلز روی برای سویه های مورد بررسی دارای خاصیت سمی می باشد. مقاومت به ماده بیوساید بنزآلکونـیوم کلراید و وجود ژن smr هیچ نـقـشـی در ایـجـاد مـقـاومـت سـویـه های استافیلوکوک اورئـوس به فلز روی نـدارد و خاصیت ضـد میـکروبی فـلز روی و مهار رشد سویه های اسـتافـیلوکوک اورئوس در غلظت 20ppm فلز روی می باشند.

References

1-Vali L, Davies SE, Lai LL, Dave J, Amyes SG. Frequency of biocide resistance genes, antibiotic resistance and the effect of chlorhexidine exposure on clinical methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates. Jo Antimicrob Chemother 2008; 61:524- 32.

2-Bjorland J, Steinum T. Widespread distribution of disinfectant resistance genes among Staphylococci of bovine and caprine origin in Norway. J Clin Microbiol 2005; 43:4363-8.

3-Russell AD, Suller MT, Maillard JY. Do antiseptics and disinfectants select for antibiotic resistance? J Med Microbiol 1999;48: 613-5.

4-Rutala WA. APIC guidelines for selection and use of disinfectants. Am J Infect Control 1995;23:313-42.

5-Denyer SP, Hugo WB, Harding VD. Synergy preservative combinations. Int J Pharm 1985;25:245-53.

6-Russell AD, Tattawasart U, Maillard JY, Furr JR. Possible link between bacterial resistance and use of antibiotics and biocides. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42:21-5.

7-Bjorland J, Sunde M, Waage S. Plasmid-borne smr gene causes resistance to quaternary ammonium compounds in bovine Staphylococcus aureus. J Clin Microbiol 2001;39:3999-4004.

8-Canli M, Alti G. The relationship between heavy metal (Cd, Cr, Cu , Fe, Pb, Zn) levels and size of six mediterranea Fish species. Environ Pollut 2003;121:129-36.

9-Chen X, Ping S, Shen C, Dou-Chang M. Interaction of Pseudomonas putida CZ1 with clays and ability of the composite to immobilize Copper and Zinc from solution. Bioresource Technol 2008;23:151-3.

10-Bruins MR, Kapils-Oeheme FW. Microbial resistance to metals in the environment. Ecotoxical Environ saf 2000;45: 198-207.

11-Khan F, Patoare Y, Karim P, Rayhan I, Quadir MA, Hasnat A. Effect of magnesium and zinc on antimicrobial activities of some antibiotics. Pak J Pharm Sci 2005; 18:57-61.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

12-Ashraf R, Adam T. Effect of heavy metals on soil microbial community and mung beans seed germination. Pak J Bot 2007;39:626-36.
13-Nies DH. Microbial heavy-metal resistance. Appl Microbial Biotechnol 1999;51: 730-50.
14-Boerlin P, Kuhnert P, Hu¨ssy D, Schaellibaum M. Methods for Identification of Staphylococcus aureus Isolates inCases of Bovine Mastitis. Clin Microbiol 2003;6: 767-71.
15-Leelaporn A, Paulsen IT. Multidrug resistance to antiseptics and disinfectants in coagulase-negative staphylococci. J Med Microbiol 1994;40:214-20.
16-Noguchi N, Hase M, Kitta M, Sasatsu M, Deguchi K, Kono M. Antiseptic susceptibility and distribution of antiseptic-resistance genes in methicillin-resistant Staphylococcus aureus, FEMS Microbiol Lett 1999;172:247-53.
17-Liu Q, Liu M, Wu Q, Li C, Zhou T, Ni Y. Sensitivities to biocides and distribution of biocide resistance genes in quaternary ammonium compound tolerant Staphylococcus aureus isolated in a teaching hospital. Scand J Infect Dis 2009;41:403-9.
18-Babich H, Stotzky G. Heavy metal toxicity to microbe-mediated ecologic processes: a review and potential application to regulatory policies. Environ Res 1984;36: 111-37.
19-Cevik N, Karaca A. Effect of Cadmium, Zinc, Copper and Fluranthene on Soil Bacteria. Ankara Dept Soil Sci 2003;611:1-14.
20-Malakootian M, Toolabi A. Determining and comparing the effect of nanoparticle CuO, TiO_2 and ZnO in removing gram positive and negative bacteria from wastewater Iran. J Yazd Uni Health 2011;29:1-11.
21-Shakibaie MR, Khosravan A, Frahmand A, Zare S. Applicayion of metal resistant bacteria by mutational enhamcment technique for bioremediation of Copper and Zinc from industrial wastes. Iran J Environ Health Sci Eng 2008;5:251-6.
22-Rajapaksha RM. Metal toxicity affects fungal and bacterial activities in soil differently. Appl Environ Microbiol 2004;8: 2966-73.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

Antimicrobial Effects of Zinc in S. Aureus Strains Resistant and Sensitive to Benzalkonium Chloride and Holder smr Gene Isolated From Clinical and Dairy Samples

Dadouk M[1], Ashkar Sh[1], Mehrabian S[1], Biglaryan M[2], Zamanian azodi M[2], Zali H[2], Amini Sh[3], Valadbigi H[4]*

(Received: 5 Jan. 2013 Accepted: 10 Aprl. 2013)

Abstract

Introduction: Given the importance of zinc metal (zn^{+2}) as an essential element in boilogical systems and the toxic effects of metals, on the other hand, and the emergence of strains of Staphylococcus aureus (S. aureus) smr^{+} resistant to tetravalent ammonium compounds (QACs) due to widespread use of materials containing Biocide QACs led to compare the sensitivity of S. aureus strains resistant to zinc and those strains having the biocide benzalkonium chloride and smr genes.

Materials & Methods: S. aureus strains isolation from dairy and clinical samples was performed by using of mannitol-salt-agar medium at 37 ° C for 48 hours and the strains was identified with morphological and biochemical methods. The Smr gene was investigated by PCR and the minimum inhibitory concentration (MIC) of zinc for the bacterial strains was determined using broth microdilution.

Findings: 20 strains of S. aureus were selectively isolated from 40 samples of dairy and clinical. Smr genes were observed in all S. aureus strains resistant to the biocide benzalkonium chloride. The MIC concentration was reported to be ppm 20.

Discussion & Conclusion: The results showed that the growth of all strains of S. aureus, that is, the susceptible and the resistant to benzalkonium biocide zinc chloride substance is inhibited in 20 ppm concentration of zinc and the presence of smr gene has no effect on resistance to zinc.

Keywords: staphylococcus aureus, smr, Zn-So_4

1. Dept of Microbiology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran
2. Proteomics Research Center, Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Dept of Microbiology, School of Sciences, Islamic AZAD University, Tehran-North Branch, Tehran, Iran
4.Clinical Microbiology Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
** (corresponding author)*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]