



التأثير التازري لدقائق الزنك النانوية والمضاد الحيوي Erythromycin على  
بكتريا *Staphylococcus aureus* المقاومة للمثيسيلين المعزولة من اصابات  
مختلفة

ريام ثامر غازي \* اسراء غانم السماك

قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل

\*E-mail: [Essra\\_alsammak@yahoo.com](mailto:Essra_alsammak@yahoo.com)

الملخص

جمعت 120 عينة من اصابات مرضية مختلفة (جروح، خراجات، اخماج مجاري بولية وعينات دم) للفترة من ايلول 2019 الى كانون الاول 2019 من مستشفيات السلام والخنساء ومختبر الصحة العامة في مدينة الموصل. زرعت العينات على وسط اكار ملح المانيتول Mannitol Salt Agar اظهرت 105 عينة نتيجة موجبة (للنمو الجرثومي). تم الحصول (منها) على 50 عزلة مخمرة لسكر المانيتول وبنسبة 47.6 % واستنادا الى الصفات المظهرية ونتاج انزيم التجلط شخضت 14 عزلة وبنسبة 13.3% تابعة للنوع *Staphylococcus aureus*, واكد التشخيص باستخدام نظام الفايثك. نسبة العزل الاعلى من الجروح 57% ثم الخراجات 21% وعينات الدم 14% واخماج المجاري البولية 7%. تم اختبار حساسية العزلات البكتيرية لـ 16 مضادا حيويا واظهرت العزلات تباينا من حيث مقاومتها للمضادات الحيوية وابدت اغلب العزلات مقاومة عالية وبنسبة 92.8% لمضاد الـ Oxacillin وبنسبة مقاومة 85.7% لمضاد الـ Erythromycin. حددت التركيز المثبط الادنى MIC لمضاد الـ Erythromycin وتراوحت ما بين (1250-5000) مكغم/سم<sup>3</sup>. وحدد التركيز المثبط الادنى لدقائق أكسيد الزنك النانوي ZnO ذي الاحجام (20,30, 50-150) nm والتي تراوح بين (5000-10000) مكغم/سم<sup>3</sup> للعزلات كافة. اظهرت نتائج الدراسة تأثيرا تازريا لمضاد Erythromycin مع دقائق الزنك النانوية وبفعالية جيدة من خلال تثبيط النمو البكتيري للسلاطات المقاومة للمضادات الحيوية اذ انخفضت قيمة الـ MIC لمضاد الـ Erythromycin من (1250-5000) مكغم/سم<sup>3</sup> الى (19.5-156.25) مكغم/سم<sup>3</sup> عند مزجه مع الدقائق النانوية ZnO بحجم 20 nm. وفي الوقت نفسه انخفضت قيمة الـ MIC للدقائق النانوية ZnO ذي الاحجام (20,30, 50-150) nm من (5000-10000) مكغم/سم<sup>3</sup> الى (78.125-312.5) مكغم/سم<sup>3</sup> عند مزجها مع الـ Erythromycin .

الكلمات الدالة: انزيم التجلط، دقائق الزنك النانوية، الفايثك.

### المقدمة

تعد المكورات العنقودية القححية من البكتريا المتعايشة على الجلد والانف والاعشوية المخاطية للجهاز التنفسي للإنسان، سواء كانت بكتريا طبيعية التواجد او بكتريا غازية فإنها تسبب العديد من الاصابات مثل تجرثم الدم والالتهاب الرئوي وأصابات الجلد والانسجة الرخوة مثل الخراجات والدمامل والتهابات الجروح ما بعد العمليات الجراحية ومتلازمة الصدمة السمية (TSS) Toxic Shock Syndrome ومتلازمة تقشر الجلد (SSS) Scalded Skin Syndrome (Reddy Asanin *et al.*, 2019) (Goudarzi *et al.*, 2016; *et al.*, 2017).

توجد المكورات العنقودية بشكل طبيعي عند حوالي 30 % من الاشخاص الاصحاء ومع ذلك فإنها واحدة من أكثر الانواع البكتيرية المسببة للأمراض المكتسبة من المجتمع والمستشفى (Tong *et al.*, 2015). الاصابات المرتبطة بالمكورات العنقودية القححية غالبا ما تكون معقدة بسبب قدرتها على مقاومة مختلف اصناف المضادات الحيوية وبذلك تصبح أكثر امراضية (Rao *et al.*, 2014).

اهم السلالات ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية هي المقاومة للمثيسيلين (Methicillin Resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* والتي اصبحت تشكل قلقا كبيرا لإصابات المستشفيات لذلك تم اختيار الفانكوميسين كخط اخير لعلاج اصابات الـ MRSA (Reddy *et al.*, 2017). مما ادى الى ظهور السلالات المقاومة للفانكوميسين Vancomycin Resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) والتي تم تشخيصها اول مرة في الولايات الامريكية المتحدة (Dezfulian *et al.*, 2011; Tortora *et al.*, 2018) Erythromycin، بالإضافة الى ظهور السلالات المقاومة للـ Erythromycin (ERSA) *Staphylococcus aureus* التي تم تشخيصها لاحقا (Tille, 2017).

ويزيادة المقاومة للمضادات الحيوية ازيد البحث لإيجاد عوامل وعلاجات بديلة ومنها استخدام الدقائق النانوية، والتي اظهرت تأثيرا تازريا مع المضادات الحيوية ضد البكتريا حيث ان نسبة تثبيط نمو البكتريا اعلى من نسبة التثبيط عند استخدام المضادات الحيوية والدقائق النانوية كلا على حده (Fayaz *et al.*, 2010).

يعد اوكسيد الزنك النانوي ZnO من اشهر اوكاسيد المعادن التي تمتلك العديد من الخصائص واهمها الفعالية المضادة للأحياء المجهرية والخصائص شبه الموصلية ويمتاز بكونه آمنا وغير سام (Maruthupandy *et al.*, 2016)، كذلك يدخل في صناعات عدة مثل صناعة المطاط، الاصباغ، مستحضرات التجميل، واقيات الشمس و المنتجات الغذائية والدوائية حيث يعمل كعامل دوائي في مجالات عديدة (Kolodziejczak-Radzimska و Jesionowski, 2014). الية عمل ZnO هي اختراق جدار الخلية البكتيرية عن طريق الانتشار والذي لوحظ بواسطة صور المجهر Scanning Electron Microscope (SEM) و Transmission Electron Microscopy (TEM) للخلايا البكتيرية حيث يعمل على تحطيم الغشاء الحيوي والتجمع في الساييتوبلازم والتفاعل مع الجزيئات الحيوية مسببا موت الخلية المبرمج (Siddiqi *et al.*, 2018).

الجسيمات النانوية لاوكسيد الفلز تتلف اولا غشاء الخلية البكتيرية ثم تتغلغل فيه، اذ يتم تكوين بيروكسيد الهيدروجين (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) من اوكسيد الزنك والذي يعمل كمضاد ميكروبي (Yamamoto *et al.*, 2004). بين الباحث (Pati *et al.*, 2014) ان الدقائق النانوية للـ ZnO بعد تمزيقها غشاء الخلية البكتيرية فإنها تختزل السطح الكاره للماء للخلية وتعمل على تقليل استتساخ جينات المقاومة للجهد التأكسدي في البكتريا كما انها تعزز القتل البكتيري داخل الخلايا عن طريق حث او تحفيز انتاج الـ Reactive Oxygen Spesies (ROS) وتثبط تحلل الدم الناجم عن سموم الهيمولايسين المنتجة من قبل الممرضات (Cho *et al.*, 2011).

الجسيمات النانوية لأوكسيد الزنك لها سمية انتقائية للبكتريا وتظهر آثارا جانبية قليلة على الخلايا البشرية ويوصى باستخدامها في الصناعات الغذائية والزراعية (Zhang *et al.*, 2007; Ahmadi shadmehri *et al.*, 2019). اذ تمنع الجسيمات النانوية تكوين الاغشية الحيوية (Hajipour *et al.*, 2012)، ZnO يثبط التصاق البكتريا مع بعضها البعض، وكما

كان الحجم اصغر وبنسبة اعلى من المساحة السطحية الى الكتلة كلما كان تحقيق منع اكبر لتكوين الاغشية الحيوية (Slomberg *et al.*, 2013)، ان اعاقه تكوين الاغشية الحيوية هي الية مهمة، حيث ان الاغشية الحيوية تؤدي دور مهما في تطوير المقاومة البكتيرية وقد اثبتت ايضا صور المجهر الالكتروني الماسح والنافذ (SEM) و (TEM). الصفات التي يتميز بها الـ ZnO النانوي والتي تعتمد على حجم هذه الجسيمات وشكلها وتركيزها وفترة التعرض (Wang *et al.*, 2016).

### المواد وطرائق العمل

تم جمع (120) عينة سريرية من اصابات مختلفة شملت التهابات المجاري البولية (10 عينات)، الجروح (65 عينة)، القيح (20 عينة)، الدم (25) ولكلا الجنسين من مرضى مستشفيات السلام والخساء ومختبر الصحة العامة في مدينة الموصل للفترة من شهر ايلول 2019 الى شهر كانون الاول 2019. زرعت على وسط اكار ملح المانيتول وشخصت *Staphylococcus aureus* اعتمادا على الصفات الزرعية والشكلية والكيماحيوية واجراء اختبارات الكتاليز والاكسيديز وانزيم التجلط وحساسيتها لمضاد الـ Bacitracin وكذلك على نتائج جهاز الفايك (Collee *et al.*, 1996 ; Winn *et al.*, 2006). اجري فحص الحساسية باستخدام طريقة الانتشار بالاقراص Disc diffusion method حسب توصيات هيئة القياسات المختبرية السريرية (CLSI, 2019) Clinical Laboratory Standard Institute. تم الاعتماد على طريقة الباحث Bauer *et al.*, 1966) في اختبار حساسية البكتريا لـ (16) نوعا من المضادات الحيوية المجهزة من شركة Bioanalyse.

### قياس التركيز المثبط الادنى لمضاد الـ Erythromycin:

استخدمت طريقة التخفيف المضاعفة، اجريت اعتمادا على طريقة Saginur *et al.*, 2006 كما يلي:

1. اضيف 1000 مايكروليتر من المرق المغذي الى 10 انابيب اختبار.
2. اضيف 1000 مايكروليتر من المضاد المحضر مسبقا بتركيز 10000 مايكروغرام/ سم<sup>3</sup> الى الانبوب رقم 1. وتم مزج المضاد من خلال استخدام micropipette وذلك بسحب المزروع (6-8) مرات للحصول على تركيز 5000 مايكروغرام/ سم<sup>3</sup>.
3. نقل 1000 مايكروليتر من الانبوبة رقم 1 الى الانبوبة رقم 2 ومزج بنفس الطريقة السابقة للحصول على تركيز 2500 مايكروغرام/ سم<sup>3</sup>.
4. كررت العملية وصولا الى الانبوبة رقم 10 سحب منها 1000 مايكروليتر واهملت وبهذا تم الحصول على التراكيز (5000,2500,1250,625,312.5,156.25,78.125,39,19.5) مايكروغرام / سم<sup>3</sup>.
5. اضيف 100 مايكروليتر من المعلق البكتيري وبعمر (18-24) ساعة وبتركيز 1.5 \* 10<sup>8</sup> خلية/ سم<sup>3</sup> مقارنة مع الانبوب الثالث من انابيب ماكفرلاند الى كل الانابيب.
6. اضيف للانبوب رقم 11 المرق المغذي والمعلق البكتيري فقط بوصفه سيطرة موجبة.
7. الانبوب رقم 12 يحتوي فقط على المرق المغذي والمضاد بوصفه سيطرة سالبة.
8. حضنت الانابيب في درجة (37) م° لمدة (18-24) ساعة.
9. فحص النمو البكتيري مرئيا وتم تسجيل قيمة الـ MIC (التركيز المثبط الادنى للمضاد).

### التركيز المثبط الادنى لدقائق الزنك النانوية بأحجام (20,30,50-150) nm:

استخدمت نفس الطريقة السابقة باستخدام تركيز 20000 مايكروغرام/ سم<sup>3</sup> المحضر مسبقا (حيث تم اذابة التركيز المطلوب من الدقائق النانوية في ماء مقطر خالٍ من الايونات ومعقم باللاوتوكليف الى الانبوبة رقم 1 وبهذا نحصل على التراكيز

(39, 78.125, 156.25, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000, 10000) مايكروغرام/ سم<sup>3</sup> للمواد النانوية (Saginur et al., 2006).

### دراسة التأثير التآزري للمضادات الحيوية مع الدقائق النانوية:

استخدمت طريقة التخفيف المضاعفة، اجريت اعتمادا على طريقة (Saginur et al., 2006) كما يلي:

- 1- اضيف 1000 مايكروليتر من المرق المغذي الى 10 انابيب اختبار.
- 2- اضيف الى الانبوب الاول 1000 مايكروليتر من تركيز الـ MIC المحدد من الخطوة السابقة لكل من المضاد والدقائق النانوية معا وذلك لدراسة التأثير التآزري للدقائق النانوية مع المضادات الحيوية وتم المزج من خلال استخدام micropipette وذلك بسحب المزيج (6-8) مرات.
- 3- نقل 1000 مايكروليتر من الانبوبة رقم 1 الى الانبوبة رقم 2 الحاوي ايضا على 1000 مايكروليتر من المرق المغذي ومزج بنفس الطريقة السابقة.
- 4- كررت العملية وصولا الى الانبوبة رقم 10 سحب منها 1000 مايكروليتر واهملت.
- 5- اضافة 100 مايكروليتر من المعلق البكتيري بعمر (24) ساعة وتركيز 1.5 \* 10<sup>8</sup> خلية اسم<sup>3</sup> مقارنة مع الانبوب الثالث من انابيب ماكفرلاند الى كل الانابيب.
- 6- حضنت الانابيب في درجة (37) م<sup>o</sup> لمدة (18-24) ساعة.
- 7- تم ملاحظة النمو البكتيري وتم تحديد الـ MIC التركيز المثبط الادنى للمضاد والدقائق النانوية المتآزرين.

### النتائج والمناقشة

جمعت 120 عينة شملت مسحات الجروح، الدم، القيح واخماج المجاري البولية لغرض عزل المكورات العنقودية القححية باستخدام وسط اكار الملح والمانيتول Mannitol Salt Agar، اظهرت 105 منها نموا على وسط MSA بنسبة 87.5% منها 50 عذلة مخمرة لسكر المانيتول وبنسبة 47.7% و55 عذلة غير مخمرة وبنسبة 52.3% كما موضح في (الجدول 1).

الجدول 1: اعداد ونسب نمو العزلات على وسط اكار الملح والمانيتول

عدد العينات الكلي	عدد العينات التي اظهرت نمو على وسط MSA	عدد العينات التي لم تظهر النمو	عدد العزلات المخمرة لسكر المانيتول	عدد العزلات غير المخمرة لسكر المانيتول
120	105	15	50	55
المجموع	87.5%	12.5%	47.6%	52.3%
	120		105	

اعتمدت الفحوصات الكيموحيوية الموضحة في (الجدول 2) لتشخيص العزلات التابعة للنوع *S. aureus* والمطابقة كما ذكر في أنظمة التشخيص المعتمدة دوليا (Collee et al., 1996; Winn et al., 2006). اذ اعطت 14 عذلة من مجموع 50 عذلة مخمرة للمانيتول نتيجة موجبة لاختبار انزيم التحلط وبنسبة 28%.

الجدول 2: الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة لتشخيص عزلات الـ *S. aureus* قيد الدراسة

نوع الاختبارات الكيموحيوية النوع الجرثومي المعزول	الاوكسيديز	الكتاليز	تحلل الدم	وسط المانيتول والملاح	اختبار الحركة	كلوكوز	لاكتوز	Bacitracin ؟؟؟؟	انزيم التجلط	صبغة كرام
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
	العدد والنسبة									
50	50	50	13	50	50	50	50	50	14	50
	%100	%100	%26	%100	%100	%100	%100	%100	%28	%100

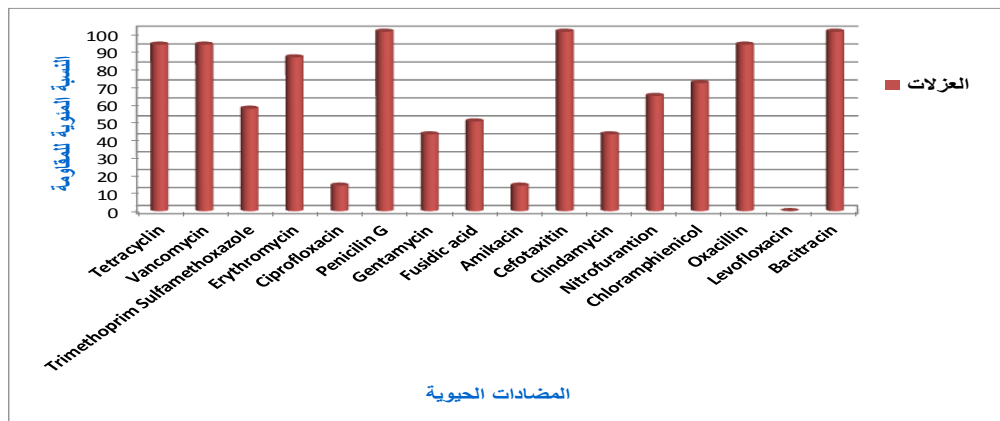
الجدول (3) يوضح ان اعلى نسبة عزل تم الحصول عليها كانت في عينات مسحات الجروح ما بعد العمليات الجراحية اذ بلغت 57.1% تليها عينات القيح بنسبة 21.4% و ثم عينات الدم بنسبة 14.2% وعينات اخماج المجاري البولية بنسبة 7.1%.

الجدول 3: نسب عزلات *S. aureus* بحسب نوع العينة

ت	نوع العينة	عدد العينات	عدد العزلات	نسبة العزل
1	مسحات الجروح	65	8	57.1
2	القيح	20	3	21.4
3	الدم	25	2	14.2
4	اخماج المجاري البولية	10	1	7.1
	المجموع	120	14	100

### اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

تم اجراء اختبار حساسية *S. aureus* المعزولة تجاه 16 مضادا بطريقة انتشار الاقراص على وسط مولر هنتون اكار تبعا لمنظمة المختبرات السريرية القياسية (CLSI) Clinical and Laboratory Standards Institute لتحديد مدى حساسية او مقاومة العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية من خلال قياس منطقة قطر التثبيط ومقارنة النتائج مع الجداول القياسية الواردة في (CLSI, 2019) وكما موضح في الشكل (1) حيث أظهرت *S. aureus* مقاومة عالية للعديد من المضادات الحيوية مثل مضاد Bacitracin و Cefoxitin بنسبة مقاومة 100% ومضاد الـ Oxacillin بنسبة مقاومة 92.8% والتي توافقت مع العديد من الدراسات بنسبة 93.42% ، 93.53% ، 95% (Flayyih, 2017) ، على التوالي.

الشكل 1: النسب المئوية لمقاومة عزلات بكتريا *S. aureus* تجاه عدد من المضادات الحيوية المدروسة.

وكذلك توافقت نتائج دراستنا مع دراسة (2011) Al-Geobory حيث اظهرت نسبة مقاومة للميثيسيلين بحدود 90.9% وكذلك دراسة (2013) Al-Dahbi and Al-Mathkhury أظهرت نسبة المقاومة للميثيسيلين بحدود 94.3%. في حين لم تتوافق مع دراسة (2009) Peck *et al.*, التي أظهرت نسبة المقاومة للميثيسيلين بحدود 51.4% و حساسة للميثيسيلين وبنسبة 48.6%.

تحتوي سلالات الـ MRSA على جين *Scc mec* المنحشر داخل الجين الكروموسومي *orfX* للـ *sccmec* وهي عبارة عن عناصر جينية متحركة تختلف بالحجم والترتيب الجيني بين مختلف سلالات الـ MRSA التي تحوي جين المقاومة للميثيسيلين *mecA* أو *mecC*، والتي تشفر انزيمات PBP2a التي تمتلك الفة قليلة او منخفضة لكل من مجموعة الـ  $\beta$ -lactams ماعدا الجيل الخامس من السيفالوسبورينات مثل Ceftaloridin و Ceftobiprole واحتمالية السبب في المقاومة ان *S. aureus* تنتج سموم Pantone-Valentine leukocidin (PVL) هو عبارة عن مكونين قادرين على احداث الثقوب التي تحطم leukocytes (Meyer *et al.*, 2009) ويعمل على حث التعبير عن عوامل الضراوة الأخرى (McDonald *et al.*, 2005).

الية المقاومة قد تحدث بسبب طفرة على *mecA* gene بشكل زيادة او نقصان والتي تنتج مقاومة الميكروب للمضادات بالإضافة الى جينات مقاومة المضادات الأخرى الموجودة ضمن الكاسيت مما يؤدي الى مقاومة متعددة للأدوية (Duran *et al.*, 2012).

ترتبط المضادات الحيوية بالبروتينات المسؤولة عن متانة وقوة الجدار الخلوي وتسمى بالبروتينات الرابطة للبنسلين PBPs وقد يكون السبب في المقاومة أيضا هو وجود جين *mecA* مما يقلل من ارتباط المضادات الحيوية بالبروتينات المسؤولة عن قوة الجدار الخلوي والمسماة ببروتينات ربط البنسلين (Ekrami *et al.*, 2010).

نتائج هذه الدراسة توافقت مع دراسة (2019) Talebi *et al.*، حيث كانت نسبة المقاومة للـ Oxacillin 90% ، تعمل مضادات البييتالاكتام على تثبيط عمليات تصنيع الجدار الخلوي من خلال التداخل في عملية تصنيع طبقة الببتيدوكلايكان. قد يعود سبب المقاومة الى افراز انزيمات البييتالاكتاميز والتي قد تكون بلازميدية او كروموسومية والتي تستخدم لتحديد او معادلة فعالية تأثير مضادات البييتالاكتام بواسطة كسر حلقة البييتالاكتام في مجموعة البنسلين والسيفالوسبورينات (Kolar *et al.*, 2010). يؤدي الجدار الخلوي دورا مهما في زيادة مقاومة البكتريا للمضادات، وذلك من خلال زيادة تصنيع الاحماض الامينية المطلوبة لبناء الجدار الخلوي مثل Alanin والسكريات مثل N-acetyl glucosamine مما يساعد الخلية لبناء جدار خلوي سميك لإظهار اعلى مستوى للمقاومة (Kuroda *et al.*, 2000).

ان نسبة 85.7% من العزلات اظهرت مقاومة للـ Erythromycin بينما كانت النسبة في دراسات أخرى 53%، 39.53%، 43.8% و 54.3% (Chen *et al.*, 2017; Kandala *et al.*, 2017 ; Al Ani and Al Meani, 2018) (Bouchiat *et al.*, 2015) على التوالي.

العديد من عزلات *Staph.aureus* المقاومة لمضادات Erythromycin تميزت بكونها محرضة لمقاومة الكليندامايسين التي تؤدي الى فشل العلاج بسبب كون الاريترومايسين له القدرة على حث مقاومة أنواع المايكروليديات (الماكروليديات) و Lincosamide ومجموعة Streptogramin بواسطة العديد من الاليات مثل الية الضخ *efflux pump* او اليات التحوير الانزيمي او التحوير في موقع الارتباط الريبوسومي الذي يعود الى طفرة او Methylation في وحدة 23srRNA الذي يحدث بواسطة عائلة الجينات *erm* genes اذ يوجد حوالي 40 نوعا من *erm* genes، إذ إن المقاومة للـ Macrolide-Lincosamid-Streptogramin يتطلب تعبيراً عن نوع واحد من هذه الجينات (Stefanie and Gallert, 2014).

قياس التركيز المثبط الأدنى لكل من مضاد الـ Erythromycin ودقائق الزنك النانوية

قياس التركيز المثبط الأدنى لمضاد الـ Erythromycin

تم تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC لمضاد الـ Erythromycin والذي اعطى نسبة مقاومة عالية ضد العزلات البكتيرية قيد الدراسة وتكمن اهميته لتحديد اقل كمية مستلزمة من المضاد لتثبيط نمو البكتريا مع أهمية مراعاة كون قيم MIC ليست ثابتة وتتأثر بعوامل متعددة كحجم اللقاح وطبيعة البكتريا المدروسة وفترة وظروف التحضين كدرجة الحرارة والتهوية والدالة الحامضية، ومكونات الوسط (Tskaris *et al.*, 2002). أظهرت النتائج الموضحة في (الجدول 4) قيم الـ MIC تراوحت ما بين (5000-1250) مكغم/سم<sup>3</sup> لمضاد الـ Erythromycin. وجاءت نتائج هذه الدراسة مقارنة لدراسة (Aleaghil *et al.*, 2016) اذ كان الـ MIC للـ Erythromycin 2103.45 مكغم/سم<sup>3</sup> للعزلات المقاومة بينما في دراسة كريم عام (2015) كانت قيم الـ MIC (512-16) مكغم/سم<sup>3</sup> لمضاد الـ Erythromycin.

#### الجدول 4: التركيز المثبط الأدنى لمضاد الـ Vancomycin ضد عزلات *S. aureus*

MIC مكغم اسم <sup>3</sup>														رقم العزلة
S14	S13	S12	S11	S10	S9	S8	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	المضادات الحيوية
2500	5000	2500	2500	5000	5000	5000	2500	1250	2500	5000	1250	5000	5000	Erythromycin

#### قياس التركيز المثبط الأدنى لدقائق الزنك النانوية

الجدول (5) يوضح التركيز المثبط الأدنى MIC للدقائق النانوية لأكسيد الزنك النانوي (ZnO-NP) ذي الحجم 20، 30 و (50-150)nm على عزلات *S. aureus* اذ ظهر بين (5000-10000) مكغم/سم<sup>3</sup>.

#### الجدول 5: التركيز المثبط الأدنى MIC لدقائق ZnO النانوي ضد عزلات *S. aureus* الـ MRSA و VRSA قيد الدراسة

MIC مكغم اسم <sup>3</sup>														رقم العزلة
S14	S13	S12	S11	S10	S9	S8	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	الدقائق النانوية واحجامها
10000	10000	5000	10000	5000	10000	5000	10000	5000	10000	5000	10000	5000	5000	20nm ZnO
10000	5000	10000	10000	5000	5000	5000	10000	10000	10000	5000	10000	10000	5000	30nm ZnO
10000	5000	10000	10000	5000	10000	5000	10000	10000	5000	10000	5000	10000	5000	ZnO 50-150nm

خالفنت نتائج الدراسة الحالية نتائج دراسات عدة ومنها دراسة الباحث كريم في سنة (2015) حيث كانت قيم الـ MIC (2500-325) مكغم/سم<sup>3</sup> للـ ZnO 20 و ZnO 150-50 و 30nm ZnO كانت قيم الـ MIC بين (126.5-2600) مكغم/سم<sup>3</sup> بينما في دراسة (Abdulrahman and Nssaif (2016) كانت قيم الـ MIC للـ ZnO 20 هو (256) مكغم/سم<sup>3</sup> والـ MIC للـ ZnO 30 هو (341) مكغم/سم<sup>3</sup> و ZnO 150-50 هو (160) مكغم/سم<sup>3</sup>. نتائج الـ MIC في دراسة (Nazoori and Kariminik (2018) للـ ZnO (2500 - 5000) مكغم/سم<sup>3</sup> ولكن لأنواع بكتيرية اخرى.

في دراسة الباحث (Aleaghil *et al.*, 2016) تراوحت قيم الـ MIC للـ ZnO ما بين (5000-625) مكغم/سم<sup>3</sup> والتي كانت مقارنة لنتائج الدراسة الحالية. يعتمد الاختلاف بالـ MIC على مصدر العزل ومقاومتها للـ Erythromycin وكذلك يعود الاختلاف في قيمة الـ MIC بين العزلات الى حجم الدقائق النانوية وكذلك الاختلافات بين السلالات البكتيرية وتركيزها

(Yamamoto *et al.*, 2001) إذ إن الدقائق النانوية الأصغر سوف تمتلك مساحة سطحية أعلى وبذلك تزداد المجاميع الفعالة وبالنتيجة السمية للدقائق النانوية تزداد (Aleaghil *et al.*, 2016).

البكتريا المقاومة لـ Erythromycin تزداد مقاومتها لدقائق ZnO إذ إن المقاومة لهذه المضادات ناجمة عن تغيير في المستقبلات خاصة في الريبوسوم أو مضخة الدفع وإن هذا التغيير في البروتينات الخاصة بالريبوسوم قد يختزل أو يقلل قابلية الـ ZnO للارتباط بالريبوسوم وبالتالي لا يؤثر على تصنيع البروتين بشكل كبير (Cihalova *et al.*, 2015). المقاومة العالية للـ MRSA في الدراسة الحالية اثبتت أيضا من قبل دراسة الباحث (Ansari *et al.*, 2012) إذ وجدوا أن MIC للـ ZnO للـ MRSA ممكن أن يصل إلى 2000 مكغم/سم<sup>3</sup>.

اقترحت العديد من الآليات لتوضيح فعالية ZnO منها إنتاج بيروكسيد الهيدروجين الذي يعتبر عامل مهم لتنشيط النمو البكتيري (Yamamoto, 2001)، آلية أخرى هي تحرير ايونات الزنك  $Zn^{+2}$  التي تعمل مع  $H_2O_2$  على تحطيم دهون وبروتينات غشاء الخلية وبالتالي تؤدي إلى تسرب المحتويات الداخلية للخلايا وفي نهاية المطاف موت الخلية والناجم عن صغر حجم الخلية مع زيادة بالمساحة السطحية مما يؤدي إلى زيادة فعالية ZnO (Xie *et al.*, 2011)، أو أكسيد الزنك يمكنه أن يتداخل مع بروتين Nor A وهو بروتين متطور لمنح المقاومة في البكتريا ويمتلك فعالية الضخ التي تؤدي إلى ضخ أو هروب hydrophilic fluoroquinolones من الخلية، توضيح آخر هو أن ZnO قد يتداخل مع بروتين Omf وهو بروتين غشائي مسؤول عن نفاذية الـ quinolones إلى داخل الخلية (Banoee *et al.*, 2010).

إن الآلية التي يتم فيها تفاعل الدقائق النانوية بصورة عامة مع الخلايا البكتيرية هي أن الكائنات الدقيقة تحمل شحنة سالبة بينما الأكاسيد المعدنية تحمل شحنة موجبة مما يؤدي إلى خلق تجاذب كهرومغناطيسي بين البكتريا وسطح الدقائق وإن الدقائق النانوية تطلق الأيونات التي تتفاعل مع مجموعة الثايول (-SH) للبروتينات الناقلة للمواد الغذائية التي تبرز من غشاء الخلية البكتيرية مما يخفف نفاذية الغشاء وبالتالي موت الخلية (Zhang and Chen, 2009).

#### دراسة التأثير التآزري لدقائق الزنك النانوية مع مضاد الـ Erythromycin

يبين (الجدول 6) تأثير العلاقة بين مضاد الـ Erythromycin المستخدم في الدراسة ودقائق الزنك النانوية على بكتريا *S.aureus* المقاومة للمثيسيلين MRSA عند مزجها معا باستخدام طريقة الانابيب، حيث أظهرت النتائج بأن معدل MIC لكل من المضادات والدقائق النانوية وبأحجامها المختلفة قد انخفض بصورة ملحوظة. حيث أظهرت النتائج بأن قيم الـ MIC لمضاد Erythromycin عند تآزره مع أكسيد الزنك النانوي بحجم 20 nm تراوحت بين (19.5 - 156.25) مكغم/سم<sup>3</sup> وبحجميه 30 nm و 50 nm تراوحت قيمة الـ MIC (39-156.25) مكغم/سم<sup>3</sup> في حين كانت قيمة الـ MIC للمضاد وحده ما بين (1250-5000) مكغم/سم<sup>3</sup>.



الجدول 6: التأثير التآزري بين مضاد الـ Erythromycin ودقائق الزنك النانوية على عزلات النوع *S. aureus* المقاومة للمثيسيلين والفانكوميسين

تأثير الدقائق النانوية لوحدها MIC			تأثير المضاد مع الدقائق النانوية MIC مكغم 1			تأثير المضاد لوحده MIC	المضاد الحيوي	رقم العزلة
ZnO 50nm	ZnO 30nm	ZnO 20nm	المضاد + ZnO 50nm	المضاد + ZnO 30nm	المضاد + ZnO 20nm			
5000	10000	5000	156.25 156.25	78.125 156.25	78.125 78.125	5000	Erythromycin	1
10000	10000	5000	156.25 312.5	156.25 312.5	156.25 156.25	5000	Erythromycin	2
5000	10000	10000	39 156.25	39 312.5	19.5 156.25	1250	Erythromycin	3
10000	5000	5000	78.125 156.25	78.125 78.125	78.125 78.125	5000	Erythromycin	4
5000	10000	10000	78.125 156.25	78.125 312.5	78.125 312.5	2500	Erythromycin	5
10000	10000	5000	39 312.5	39 312.5	19.5 78.125	1250	Erythromycin	6
10000	10000	10000	78.125 312.5	39 156.25	39 156.25	2500	Erythromycin	7
5000	5000	5000	156.25 156.25	78.125 78.125	78.125 78.125	5000	Erythromycin	8
10000	5000	10000	156.25 312.5	78.125 78.125	78.125 156.25	5000	Erythromycin	9
5000	5000	5000	156.25 156.25	78.125 78.125	78.125 78.125	5000	Erythromycin	10
10000	10000	10000	39 156.25	39 156.25	39 156.25	2500	Erythromycin	11
10000	10000	5000	78.125 312.5	39 156.25	39 78.125	2500	Erythromycin	12
5000	5000	10000	156.25 156.25	78.125 78.125	78.125 156.25	5000	Erythromycin	13
10000	10000	10000	78.125 312.5	39 156.25	39 156.25	2500	Erythromycin	14

اما بالنسبة لدقائق الزنك النانوية تراوحت قيم الـ MIC للـ ZnO بحجم 20، 30، 50-150 nm عند مزجه مع مضاد الـ Erythromycin ما بين (78.125-312.5) مكغم/ سم<sup>3</sup> في حين الـ MIC للـ ZnO لوحده تراوحت ما بين (10000-5000) مكغم/ سم<sup>3</sup>.

ذكر Bhande *et al.*, (2013) ان المضادات الحيوية أظهرت تأثيراً تآزرياً مع أكسيد الزنك النانوي ضد البكتريا المقاومة لأنزيمات البيبتاكتاميز الواسعة الطيف المسببة لآخماج المجاري البولية واقترح ان الجمع بين ZnO والمضادات الحيوية يزيد من نفاذية الغشاء الخلوي البكتيري وبالتالي يؤدي الى تسرب البروتين عبر الغشاء. كما أشار Thati *et al.*, (2010) في دراسته الى الدور الكبير لتنشيط نمو النوع *S. aureus* عند مزج ZnO مع المضادات الحيوية. تتفق دراستنا مع ما ذكره Bhande *et al.*, (2013) بان المضادات الحيوية أظهرت تأثيراً تآزرياً مع ZnO ضد البكتريا المنتجة لأنزيمات البيبتاكتاميز الواسعة الطيف، حيث ان الجمع بين ZnO والمضادات يزيد من نفاذية الغشاء الخلوي وبالتالي يؤدي الى تسرب البروتين من غشاء البكتريا، كما توصل الى ان تأثير المضاد الحيوي عموماً يرتفع إذا تم دمج مع ZnO النانوي.

كما بينت أيضاً ان الجمع بين ZnO النانوي والمضاد يزيد من نفاذية الغشاء البلازمي للبكتريا الذي يمكن بروتينات البلازما من التدفق خارج الخلية، وان اقتران Erythromycin مع الدقائق النانوية للـ ZnO يعطي نفس النتائج من ناحية توسيع مساحة التنشيط وهذه النتائج يدعمها Iram *et al.*, (2015) الذي وجد ان Erythromycin المقترن مع ZnO قد خفض قيمة الـ

MIC للسلاطات المقاومة من *S.aureus*. تم الحصول على نفس التأثير التآزري عند دمج Gentamycin مع ZnO من قبل Voicu et al., (2013). اثبتت دراسة Abo-Shama et al., (2020) ان التأثير التآزري للمضادات مع الدقائق النانوية يزداد بالتأثير مقارنة بالمضاد لوحده حيث ان التأثير التآزري لمضادات Oxacillin ، Azithromycin و Cefotaxime ضد الـ *E.coli* ازداد بشكل ملحوظ بوجود ZnO النانوي مقارنة بتأثير المضاد لوحده كذلك التأثير التآزري للمضادات Oxacillin ، Azithromycin ، Cefotaxime ، Chloramphenicol و Oxytetracyclin ضد بكتريا *S.aureus* ازداد بوجود ZnO النانوي مقارنة بتأثير المضاد لوحده.

الاليات الفعالة للدقائق النانوية يعود الى اتصالها بمستقبلات الخلية البكتيرية وتثبيط الانزيمات الايضية في السلسلة التنفسية مما يؤدي الى اضطراب في تضاعف الخلية البكتيرية ومن ثم موت الخلية. ان أكسيد الزنك النانوي الممزوج بالمضادات الحيوية يؤدي الى تحلل الجدار الخلوي البكتيري مما يزيد من تغلغل ZnO النانوي الى داخل البكتريا وتفاعله مع الحامض النووي ويمنع انتشار الـ DNA مما يؤدي الى اضرار كبيرة للخلية البكتيرية (Li et al., 2005).

يعطي اوكسيد الزنك النانوي أفضل النتائج عند اتحاده مع مضادات البيبتالاكتام والسيفالوسبورينات والكلايكوسيدات الامينية ضد مختلف الكائنات المجهرية الممرضة (Thati et al., 2010).

التآزر بين المضادات والدقائق النانوية فعال لتحسين الفعالية المضادة للبكتريا بالمقارنة مع فعالية المضادات وحدها عند استخدامها في العلاج، وذلك للعمل على اختزال او تقليل تطور مقاومة البكتريا او تقليل مدة وجرعة العلاج (Hwang et al., 2012).

#### المصادر العربية

كريم، بيمان علي (2015). التقييم البكتريولوجي والجزئي لتأثير بعض الدقائق النانوية على فعالية المضادات الحيوية. اطروحة دكتوراة، كلية العلوم، جامعة الموصل.

#### المصادر الاجنبية

- Abdulrahman, N.B.; Nssaif, Z.M. (2016). Antimicrobial activity of Zinc Oxide, Titanium Dioxide and Silver Nanoparticles against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Tikrit J. Pure Sci.*, **21**(3).
- Abo-Shama, U.S.; El-Gendy, H.; Mousa, W.S.A; Hamouda, R.; Yousuf, W.E.; Hetta, H.F.; Abdeen, E.E. (2020). Synergistic and antagonistic effects of metal nanoparticles in combination with antibiotics against some reference strains of pathogenic microorganisms. *Infection and Drug Resist.*, **13**, 351–362.
- Ahmadi Shadmehri, A.; Namvar, F.; Miri, H.; Yaghmaei, P.; Nakhaei Moghaddam, M. (2019). Assessment of antioxidant and antibacterial activities of Zinc Oxide nanoparticles, Graphene and Graphene decorated by Zinc Oxide nanoparticles. *International J. Nano Dimension*, **10**, 350–358.
- Al Ani, ATA.; Al Meany, S.A.A. (2018). Molecular screening of adhesion proteins genes in *staphylococcus aureus* strains isolated from different clinical infections in Baghdad city and identification of their relationship with some virulence factors. *J. Al-Nahrain University*. **21**(1), 79-89.
- Al-Dahbi, AM.; Al-Mathkhury, HJ. (2013). Distribution of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Iraqi patients and healthcare workers. *Iraqi J. Sci.*, **54**(2), 293-300.
- Aleaghil, S.A.; Fattahy, E.; Baei, B.; Saghali, M.; Bagheri, H.; Javid, N.; Ghaemi, E.A. (2016). Antibacterial activity of Zinc oxide nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *Internat. J. Advanced Biotechnol. and Research*, **7**, 1569-1575.
- Al-Geobory, H.A.H. (2011). Comparative study between Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), and detect the

- antimicrobial effects of some plant extracts on them. Msc. Thesis. College of Science, Baghdad University, Iraq.
- Ansari, MA.; Khan, HM.; Khan, AA.; Sultan, A.; Azam, A. (2012). Characterization of clinical strains of MSSA, MRSA and MRSE isolated from skin and soft tissue infections and the antibacterial activity of ZnO nanoparticles. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **28**(4), 1605-1613.
- Asanin, J.; Misic, D.; Aksentijevic, K.; Tambur, Z.; Rakonjac, B.; Kovacevic, I.; Spersger, J.; Loncaric, I. (2019). Genetic profiling and comparison of human and animal Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates from Serbia. *Antibiotics.*, **8**, 26. doi:10.3390/antibiotics8010026
- Banoee, M.; Seif, S.; Nazari, Z.E.; Jafari-Fesharaki, P.; Shahverdi, H.R.; Moballegh, A.; Moghaddam, K. M.; Shahverdi, A.R. (2010). ZnO Nanoparticles enhanced antibacterial activity of ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *J. Biomed. Mater. Research*, **93**, 557-561.
- Bauer, AW.; Kirby, M.M.; Sherris, J.C.; Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. *American J. Clinical Pathol.*, **45**(4), 493-496.
- Bhande, R.M.; Khobragade, C.N.; Mane, R.S.; Bhande, S. (2013). Synergism of antibiotic with zinc oxide nanoparticle against extended spectrum B-lactamase producers implicated in urinary tract infections. *J. Nanoparticle Research*, **15**, 1413-1417.
- Bouchiat, C.; El-Zeenni, N.; Chakrakodi, B.; Nagaraj, S.; Arakere, G.; Etienne, J. (2015). Epidemiology of *Staphylococcus aureus* in Bangalore, India: emergence of the ST217 clone and high rate of resistance to Erythromycin and Ciprofloxacin in the community. *New Microbes and New Infections*, **7**, 15-20.
- Chen, B.J.; Xie, X.Y.; Ni, L.J.; Dai, X.L.; Lu, Y.; Wu, X.Q.; Li, H.Y.; Yao, Y.D.; Huanget, S.Y. (2017). Factors associated with *Staphylococcus aureus* nasal carriage and molecular characteristics among the general population at a Medical College Campus in Guangzhou, South China. *Annals Clin. Microbiol. Antimicrob.*, **16**(28), 1-10.
- Cho, W.S.; Duffin, R.; Howie, S.E.; Scotton, C.J.; Wallace, W.A.; Macnee, W.; Bradley, M.; Megson, I.L.; Donaldson, K. (2011). Progressive severe lung injury by zinc oxide nanoparticles, the role of Zn<sup>2+</sup> dissolution inside lysosomes. *Part Fibre. Toxicol.*, **8**, 27.
- Cihalova, K.; Chudobova, D.; Michalek, P.; Moullick, A.; Guran, R.; Kopel, P.; Vojtech, A.; Rene, K. (2015). *Staphylococcus aureus* and MRSA Growth and Biofilm Formation after Treatment with Antibiotics and SeNPs. *International J. Molecular Sci.*, **16**, 24656-24672. doi:10.3390/ijms161024656.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI (2019). "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing". 29<sup>th</sup> ed. CLSI supplement M100., pp. 42-45, 58-67.
- Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmion, B.P.; Simmon, S.A. (1996). "Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology". 14<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone, U.S.A.
- Dezfulian, A.; Aslani, MM.; Oskoui, M. (2011). Identification and characterization of a high Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* harboring VanA gene cluster isolated from diabetic foot ulcer. *Iranian J. Medical Sci.*, **15**(2), 803-806.
- Duran, N.; Ozer, B.; Duran G. G.; Onlen, Y.; Demir, C. (2012). Antibiotic resistance genes and susceptibility patterns in *Staphylococci*. *Indian J. Medical Research*, **135**(3), 389-396.
- Ekrami, A.; Samarbafzadeh, A.R.; Alavi, M.; Kalantar, E.; Hamzeloi, F. (2010). Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus* sp. isolated from burn patients in a burn center, Ahvaz, Iran. *Jundishapur J. Microbiol.*, **3**, 84-91.
- Fayaz, A.M.; Balaji, K.; Girilal, M.; Yadav, R.; Kalaichelvan, PT.; Venketesan, R. (2010). Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine*, **6**(1), 103-9. doi: 10.1016/j.nano.2009.04.006.

- Goudarzi, G.; Tahmasbi, F.; Anbari, K.; Ghafarzadeh, M. (2016). Distribution of genes encoding resistance to macrolides among staphylococci isolated from the nasal cavity of hospital employees in Khorramabad, Iran. *Iranian Red Crescent Med. J.*, **18**, 25701.
- Hajipour, M.J.; Fromm, K.M.; Ashkarran, A.A.; Aberasturi, D.J.; Larramendi, I.R.; Rojo, T.; Serpooshan, V.; Parak, WJ.; Mahmoudi, M. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnol.*, **30**(10), 499–511.
- Hwang, I-S.; Hwang, JH.; Choi, H.; Kim, K-J.; Lee, DG. (2012). Synergistic effects between silver nanoparticles and antibiotics and the mechanisms involved. *J. Med. Microbiol.*, **61**(12), 1719–1726.
- Iram, S.; Nadhma, A.; Akhtar, N.; Hameed, A.; Zulfiqarand, Z.; Yameen, A.M. (2015). Potential efficacy of antibiotic conjugates with zinc oxide nanoparticles against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Digest J. Nanomater. Biostruct.*, **10**, 901-914.
- Kandala, NJ.; Abdulateef, A.; Imad, N. (2017). Genotyping of *Staphylococcus aureus* Isolated Based on Methicillin –Resistant Genes and its relatedness to some putative virulence factors. *Iraqi J. Sci.*, **58**(2A), 626-638.
- Kolář, M.; Bardoň, J.; Hanulík, V.; Sauer, P.; Babák, V.; Schlegelová, J. (2010). Resistance to methicillin in coagulase-negative *Staphylococci* and its detection. *Acta Veterinaria Brno*, **79**, 261-267.
- Kołodziejczak-Radzimska, A.; Jesionowski, T. (2014). Zinc oxide - from synthesis to application: a review. *Materials*, **7**, 2833–2881.
- Kuroda, M.; Kuwahara-Arai, K.; Hiramatsu, K. (2000). Identification of the up and down-regulated genes in vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strains Mu3 and Mu50 by cDNA differential hybridization method. *Biochem. Biophys. Research Communicat.*, **269**, 485-490.
- Li, P.; Li, J.; Wu, C.; Wu, Q.; Li, J. (2005). Synergistic antibacterial effects of  $\beta$ -lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. *Institute of Physics Publishing Nanotechnol.*, **16**, 1912–1917.
- Maruthupandy, M.; Anand, M.; Maduraiveeran, G.; Suresh, S.; Beevil, A.S.; Priyal, R.J. (2016). Investigation on the electrical conductivity of ZnO nanoparticles-decorated bacterial nanowires. *Advances in Natural Sci.*, **7**(9), 045011.
- McDonald, RR.; Antonishyn, NA.; Hansen, T.; Snook, LA.; Nagle, E.; Mulvey, MR.; Levett, PN.; Horsman, GB. (2005). Development of a triplex real-time PCR assay for detection of Panton-Valentine leukocidin toxin genes in clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Clinical Microbiol.*, **43**(12), 6147–6149. doi:10.1128/JCM .43 .12.6147-6149.
- Meyer, F.; Girardot, R.; Piemont, Y.; Prévost, G. ; Colin, DA .(2009). Analysis of the specificity of Panton-Valentine leucocidin and gamma-hemolysin F component binding. *Infection and Immunity*, **77**(1), 266–273.
- Mohammed, LS.; Flayyih, MT. (2017). Patterns of Phenotypic and Genotypic resistance to macrolides, Lincosamides and Streptogramins Group of antibiotics by Efflux Pump and enzymatic modification in Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Iraqi J. Sci.*, **58**(2B), 815-819.
- Nazoori1, E.S.; Kariminik1, A. (2018). In Vitro evaluation of antibacterial properties of Zinc Oxide nanoparticles on pathogenic prokaryotes. *J. Appl. Biotechnol. Reports*, **5**(4), 162-165.
- Pati, R.; Mehta, RK.; Mohanty, S.; Padhi, A.; Sengupta, M.; Vaseeharan, B.; Goswami, C.; Sonawane, A. (2014). Topical application of zinc oxide nanoparticles reduces bacterial skin infection in mice and exhibits antibacterial activity by inducing oxidative stress response and cell membrane disintegration in macrophages. *Nanomedic.*, **10**, 1195–1208.

- Peck, K. R.; Baek, J. Y.; Song, J-H.; Ko, K. S. (2009). Comparison of genotypes and enterotoxin genes between *Staphylococcus aureus* isolates from blood and nasal colonizers in Korean hospitals. *J. Korean Medical Sci.*, **24**, 585-591.
- Rao, KA.; Deepa, S.; Venkatsha, D. (2014). Screening for nasal colonizer: Mandatory to prevent surgical site infections. *International J. Scientif. Study*, **2**(5), 1-5.
- Reddy, P.N.; Srirama, K.; Dirisala, V.R. (2017). An update on clinical burden, diagnostic tools, and therapeutic options of *Staphylococcus aureus*. *Infectious Diseases: Research and Treatment*, **10**, 1–15.
- Saginur, R.; Denis, M.S.; Ferris, W.; Aron, S.D.; Chan, F.; Lee, C.; Ramotar, K. (2006). Multiple combination bactericidal testing of Staphylococcal biofilms from implant-associated infections. *Antimicrobial. Agents and Chemotherapy*, **50**(1), 55-61.
- Salih, R.M.H.; Rafiq, S.N.; Hamed, P.A. (2017). Vancomycin resistance among Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples in Erbil City, Iraq. *Kirkuk University J. \Scientific Studies. (KUJSS)*, **12**(2),1-14.
- Siddiqi, K.S.; Rahman, A.U.; Tajuddin; Husen, A. (2018). Properties of Zinc Oxide nanoparticles and their activity against microbes. *Nanoscale Research Letters*, **13**,141.
- Slomberg, DL.; Lu, Y.; Broadnax, AD.; Hunter, RA.; Carpenter, AW.; Schoenfisch, MH. (2013). Role of size and shape on biofilm eradication for nitric oxide-releasing silica nanoparticles. *ACS Applied Materials Interface.*, **5**(19), 9322–9329.
- Stefanie, H.; Gallert, C. (2014). Demonstration of staphylococci with inducible macrolide–lincosamide–streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) resistance in sewage and river water and of the capacity of anhydroerythromycin to induce MLS. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **88**(1), 48–59. doi.org/10.1111/1574-6941.12268
- Talebi, G.; Hashemia, A.; Goudarzi, H.; Shariati, A.; Bostanghadiri, N.; Sharahi, J.Y.; Abbsi, E. (2019). Survey of *ermA*, *ermB*, *ermC* and *mecA* genes among *Staphylococcus aureus* isolates isolated from patients admitted to hospitals in Tehran, Iran by PCR and sequencing. *Biomedical Research*, **30**.
- Thati, V.; Roy, A.S.; AmbikaPrasad, M.V.N.; Shivannavar, C.T.; Gaddad, S.M. (2010). Nanostructured zinc oxide enhances the activity of antibiotics against *Staphylococcus aureus*. *J. Bio Sci. and Biotechnol.*, **1**(2), 64–69.
- Tille, PM. (2017). “Baily and Scott's Diagnostic Microbiology”.14<sup>th</sup> ed. St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Tong, S.Y.; Davis, J.S.; Eichenberger, E.; Holland, T.L.; Fowler, V.G. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, path physiology, clinical manifestations and management. *Clinical Microbiol. Reviews*, **28**(3), 603-661.
- Tortora, G.J.; Funke, R.; Case, C.L. (2018). “Microbiology: an Introduction”.13<sup>th</sup> ed. Pearson Education, Inc. U.S.
- Tskaris, A.; Papadimition, E.; Douboyas, J.; Stylianopoulou, F.; Manolis, A. (2002). Emergency of vancomycin intermediate *Staphylococcus sciuri*, Greece. *Emerging Infectious Diseases*, **8** (5), 536-537.
- Voicu, G.; Opera, O.; Vasile, B.S.; Andronescu, E. (2013). Antibacterial activity of zinc oxide–gentamicin hybrid material. *Digest J. Nanomater. and Biostruct.*, **8**,1191-1203.
- Wang, C.; Lu, J.; Zhou, L.; Li, J.; Xu, J.; Li, W.; Zhang, L.; Zhong, X.; Wang, T. (2016). Effects of long-term exposure to zinc oxide nanoparticles on development, zinc metabolism and biodistribution of minerals (Zn, Fe, Cu, Mn) in mice. *PLoS One.*, **11**: e0164434.
- Winn, W.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schreckenberger, P.; Woods, G. (2006). “Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology”. 6<sup>th</sup> ed., Lippincott, Williams and Wilkins.

- Xie, Y.; He, Y.; Irwin, P.L.; Jin, T.; Shi, X. (2011). Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environm. Microbiol.*, **77**(7), 2325–2331.
- Yamamoto O. (2001). Influence of particle size on the antibacterial activity of Zinc oxide. *Internat. J. Inorganic Mater.*, **3**(7), 643-646.
- Yamamoto, O.; Komatsu, M.; Sawai, J.; Nakagawa, Z.E. (2004). Effect of lattice constant of zinc oxide on antibacterial characteristics. *J. Mater. Sci.: Mater. in Medic.*, **15**, 847–851
- Zhang, H.; Chen, G. (2009). Potent antibacterial activities of Ag/TiO<sub>2</sub> Nan composite powders synthesized by a One-Pot Sol-Gel method. *Environmental Sci. Technol.*, **43**(8), 2905-2910.
- Zhang, L.; Jiang, Y.; Ding, Y.; Povey, M.; York, D. (2007). Investigation into the antibacterial behavior of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *J. Nanopart. Research*, **9**(3), 479-489.

---

## Synergistic Effect of Zinc Oxide Nanoparticles and Erythromycin on Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Different Infections

Reyam Th. Ghazi

Essra Gh. Alsammak

Department of Biology/ College of Science/ University of Mosul

### ABSTRACT

One hundred and Twenty (120) samples were collected from various pathogenic sources (wounds, abscesses, urinary tract infections and blood samples) for the period from September 2019 to December 2019 from Al Salam and Al-Khansa Hospitals and the Public Health Laboratory in Mosul city.

Samples were cultured on Mannitol Salt Agar medium; 105 samples showed a positive result. 50 isolates fermented mannitol sugar, at a rate of 47.6% depending on the phenotypic characteristics and production of Coagulase, 14 isolates were identified, at a rate of 13.3%, belonging to *Staphylococcus aureus* the diagnosis were confirmed using VITEK system. The highest isolation rate from wounds was 57%, then abscesses 21%, blood samples 14%, and urinary tract infections 7%. The sensitivity of the isolates was tested for 16 antibiotics, the isolates showed variation in their resistance to antibiotics. Most of the isolates showed high resistance at 92.8% to Oxacillin, with a resistance rate of 85.7% for Erythromycin. The minimum inhibitory concentration (MIC) of Erythromycin was determined and ranged between (1250-5000) mg / cm<sup>3</sup>. The minimum inhibitory concentration of ZnO nanoparticles was determined at different sizes (30,20, 50-150) nm and ranged between (5000-10000) mg / cm<sup>3</sup> for all isolates. The results of the study showed a synergistic effect of Erythromycin with zinc nanoparticles and with good efficacy by inhibiting the bacterial growth of antibiotic-resistant strains as the MIC value of Erythromycin decreased from (1250-5000) mg / cm<sup>3</sup> to (19.5-156.25) mg / cm<sup>3</sup> when mixed with ZnO nanoparticles are 20 nm. Meanwhile, the MIC value of ZnO nanoparticles decreased from (30,20, 50-150) nm from (5000-10000) mg / cm<sup>3</sup> to (78.125-312.5) mg / cm<sup>3</sup> when mixed with Erythromycin.

**Keywords:** Coagulase, Zinc oxide, VITEK.