گزارش کوتاه
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۷، اردیبهشت ۱۳۹۷، ۱۷۶-۱۶۹

ارزیابی اثر عصاره الکلی آرتمیزیا اولیوریانا بر بیان ژن‌های icaA ، icaD و ebps در استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین: یک گزارش کوتاه

غزاله شجاعی[۱]، عباس اخوان سپهی[۲]، رباب رفیعی طباطبایی[۳]، کامبیز تحویلداری[۴]

دریافت مقاله:۹۶/۰۷/۲۵ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح:۹۶/۱۰/۱۹ دریافت اصلاحیه از نویسنده:۹۶/۱۱/۲۹ پذیرش مقاله: ۹۶/۱۱/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: بیان ژن‌های مولد بیوفیلم در سطح سلول‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین می‌تواند نقش مؤثری را در مقاومت و بیماری زایی ایفاء کند. از آنجایی که فعالیت ضد میکروبی گیاهان گونه آرتمیزیا (درمنه) علیه ژن‌های مولد بیوفیلم حائز اهمیت است، لذا این مطالعه با هدف ارزیابی اثر عصاره الکلی آرتمیزیا اولیوریانا بر بیان ژن‌های icaA، icaD و ebps در استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین انجام شده است.

مواد و روش‌ها : این مطالعه از نوع مطالعات آزمایشگاهی بود. ابتدا عصاره گیاه آرتمیزیا اولیوریانا تهیه شد و سپس حداقل غلظت مهارکنندگی رشد برای عصاره گیاه به روش میکرو دایلوشن علیه سویههای S.aureus واجد ژن mecA به دست آمد، سپس در غلظت پایین‌تر، بیان ژن‌های icaA، icaDو ebps موجود در استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین با روش Real-Time PCR بررسی و نتایج به دست آمده با استفاده از آنالیز واریانس با اندازه گیری‌های مکرر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: عصاره الکلی آرتمیزیا اولیوریانا دارای حداقل غلظت مهارکنندگی رشد معادل ۵۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. پس از گذشت ۴، ۸ و ۱۶ ساعت، کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های مذکور در نمونه استاندارد تحت تیمار با گروه درمانی آرتمیزیا اولیوریانا مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه گیری: عصاره الکلی آرتمیزیا اولیوریانا دارای ترکیباتی برای مهار بیان ژن‌های مولد بیوفیلم بود و این کاهش بیان، در ژن مرجع Houskeeping DNA gyrase-B دیده نشد.

واژه‌های کلیدی: آرتمیزیا اولیوریانا، بیوفیلم، واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز، استافیلوکوکوس اورئوس، متی‌سیلین

۱- دانشجوی دکترای میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
۲- (نویسنده مسئول) دانشیار گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
تلفن: ۲۲۹۴۹۷۹۳-۰۲۱، دورنگار: ۲۲۹۷۷۸۵۳-۰۲۱، پست الکترونیکی:akhavansepahy@gmail.com
۳- دانشیار گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
۴- استادیار گروه آموزشی شیمی، دانشکده شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

مقدمه

مشابه سایر عفونت‌های استافیلوکوکی، عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin resistant Staphylococcus aureus; MRSA) با افزایش احتمال شکست در درمان و زیان اقتصادی همراه می‌باشند [۱]. از مهم‌ترین عوامل در اپیدمی و بیماری زایی این باکتری توانایی تشکیل بیوفیلم باکتریایی چندلایه و چسبناک، مقاومت بالا، توانایی زنده ماندن در محیط‌های زنده و غیر زنده، توانایی انتقال توسط پرسنل و تجهیزات بیمارستانی در بخش‌های مختلف بیمارستان می‌باشد [۲].

بیوفیلم‌ها به عنوان اجتماع سازمان یافته ای از باکتری‌ها هستند که به سطوح می‌چسبند و شامل ترکیبات مختلفی مانند پلیمرهای خارج سلولی و از جنس اگزو پلی ساکاریدها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها می‌باشند. تولید بالای این مواد در بازه زمانی کوتاه، باعث افزایش سایز تجمعی باکتری‌ها و در نهایت باعث جلوگیری از فاگوسیت شدن باکتری‌ها توسط نوتروفیل‌ها می‌شود [۳]. هم چنین، تولید بیوفیلم به عنوان یک مکانیسم کلیدی جهت ممانعت از فعالیت آنتی بیوتیک‌های مصرفی ضد عفونت‌های استافیلوکوکی می‌باشد [۴].

ترکیبات ضد میکروبی طبیعی همچون عصاره‌های گیاهی، بیوفیلم باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک را تحت تأثیر قرار داده است. عصاره‌های گیاهی و ترکیباتشان به عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهان محسوب شده و اثرات آنتی باکتریال آنها مدت‌ها است که شناخته شده است و کاربردهای زیادی خصوصاً در زمینه‌های دارو و درمان دارند [۵]. با توجه به اینکه *Methicillin-Resistan Staphylococcus aureus* تشکیل دهنده بیوفیلم، به طور گسترده در دنیا و نیز کشور ما سالانه مضرات فراوانی را به همراه داشته و می‌تواند به لحاظ صنعتی و بهداشتی بسیار مشکل آفرین می‌باشد، لذا بررسی توانایی گونه گیاهی مورد بررسی در این تحقیق علیه بیوفیلم باکتری مذکور از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. از این رو با توجه به مطالعات انجام شده در زمینه خواص ضد باکتریایی گونه‌های آرتمیزیا [۶]، این مطالعه با هدف ارزیابی اثر عصاره الکلی آرتمیزیا اولیوریانا بر بیان ژن‌های icaA ، icaDو ebps در استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین انجام شد. آرتمیزیا از گیاهان تیره آستراسه بوده و به صورت‌های علفی، بوته ای، پیچان یا درخت وجود دارد. گیاهان این تیره در تمام جهان پراکندگی دارند، ولی گستردگی آن‌ها در مناطق خشک و نیمه خشک تحت حاره و نیز ارتفاعات معتدل بیشتر است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع آزمایشگاهی است و در مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال در سال تحصیلی ۹۵-۹۴ انجام گرفت. در این مطالعه سویه استاندارد باکتری Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus ATCC33591 از بانک میکروبی انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط مولر هینتون آگار و مولر هینتون براث کشت داده شد (Heraeus, Germany)

و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت۲۴ ساعت انکوبه شد [۷].

گیاه آرتمیزیا اولیوریانا از مرکز ذخایر زیستی ایران (Accession No: IBRC P1000640, field No: 373) خریداری شد و عصاره گیری به روش Maseration به طور خلاصه به این صورت انجام شد که به ازای هر ۲۰ گرم گیاه از ۳۰۰ میلی‌لیتر حلال (اتانول ۸۰ درصد) استفاده شد و گیاه مدت زمان ۶ روز در حلال خیسانده شد و محلول به دست آمده توسط کاغذ صافی (whatman, England) فیلتر و سپس تا زمان تبخیر کامل حلال در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد (Valera, USA) قرار داده شد [۸]. به منظور بررسی خواص آنتی باکتریال عصاره الکلی آرتمیزیا اولیوریانا، بر پایه روش میکرودایلوشن عمل شد. پس از تعیین کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره، سریال‌های رقت از ۴۰۹۶ تا ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای عصاره گیاه آرتمیزیا اولیوریانا تهیه شد [۹]. بعد از گرم خانه‌گذاری، وجود کدورت در مقایسه با چاهک کنترل به عنوان رشد باکتری و وجود شفافیت به عنوان عدم رشد باکتری در نظر گرفته شد. البته جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر (Automatic Elisa TKA, USA) نیز خوانده شد. پایین‌ترین غلظتی که در آن هیچ گونه رشد باکتری مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی تعیین شد [۱۰].

یک غلظت کمتر از پایین‌ترین غلظت مهارکنندگی را در نظر گرفته و در زمان‌های ۴، ۸ و ۱۶ ساعت به واسطه عصاره گیاهان مورد نظر تیمار شد. سپس استخراج RNA با استفاده از کیت مخصوص RNAX-PLUS (شرکت سیناژن، ایران)، انجام و پس از آن غلظت و جذب نوری تمامی RNAهای استخراج شده با کمک نانودراپ (Nanodrop Bio Tek Epoch, USA) اندازه گیری شد.

به منظور ساخت cDNA از RNA استخراج شده از کیت مخصوص Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) استفاده شد. برای تعیین میزان بیان ژن‌های icaA، icaD و ebps از تکنیک Q-PCR استفاده شد [۱۱]. برای تعیین کارایی پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش، cDNA ژن‌های مولد بیوفیلم، رقیق شده و برای هر رقت Q-PCR انجام شد. Q-PCR طبق پروتکل کیت RealQ Plus 2X Master MIX Green (Amplicon, Denmark) در دستگاه Step One Plus Real-Tim (ABI, USA) PCR انجام شد. در انتها کلیه داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس با اندازه گیریهای مکرر Spss نسخه ۲۲ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و p<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج بررسی اثر عصاره الکلی آرتمیزیا اولیوریانا در ۱۴ غلظت مختلف (۴۰۹۶، ۲۰۴۸، ۱۰۲۴، ۵۱۲، ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴، ۲، ۱، ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر بیوفیلم MRSA تحت شرایط in vitro بعد از ۴، ۸ و ۱۶ ساعت بررسی شد. بر اساس نتایج به دست آمده کمترین غلظت مؤثر عصاره الکلی آرتمیزیا اولیوریانا برابر با ۵۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بود و عملکرد ضد باکتریایی عصاره الکلی آرتمیزیا اولیوریانا بر بیوفیلم MRSA وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت عصاره، افزایش معنی داری در فعالیت ضد میکروبی مشاهده شد (p<۰/۰۵).

میزان بیان ژنهای بیوفیلم (icaA، icaD و ebps) در مقایسه با ژن مرجع (housekeeping gene) gyrB در

فواصل زمانی ۴، ۸ و ۱۶ ساعت پس از تیمار با عصاره گیاه آرتمیزیا اولیوریانا معنی دار بود و پس از گذشت زمان‌های مذکور، میزان بیان هر سه ژن در مقایسه با ژن مرجع کاهش یافت (جدول ۱). مقایسه نتایج به دست آمده با ژن مرجع، اثر مهاری ترکیبات عصاره گیاه آرتمیزیا اولیوریانا بر ژن icaA را تأیید می‌کند.

سایر نتایج ثبت شده در جدول خاصیت مهاری عصاره الکلی گیاه آرتمیزیا اولیوریانا بر بیان ژن‌های بیوفیلم ebps و icaD پس از گذشت تیمارهای ۴، ۸ و ۱۶ ساعته در مقایسه با ژن gyrB را نشان می‌دهد.

جدول ۱ _ میزان بیان نسبی ژن‌های icaA icaD و ebps تحت تأثیر آرتمیزیا اولیوریانا در ساعت‌های مختلف اندازه‌گیری در نمونه استاندارد در مقایسه با gyr B با روش Relative Expression Software

زمان تیمار (ساعت)	ژن‌های مورد بررسی	نوع ژن	بازده واکنش	بیان ژن	خطای استاندارد	مقدار p	نتیجه
-	gyrB	ژن مرجع	۱	۱	-	-	-
۴	icaA	ژن هدف	۱	۰/۴۸۶	۰/۴۰۶-۰/۵۷۴	<۰/۰۰۱	**کاهش بیان**
۸	icaA	ژن هدف	۱	۰/۲۷۰	۰/۱۸۹-۰/۳۵۴	<۰/۰۰۱	**کاهش بیان**
۱۶	icaA	ژن هدف	۱	۰/۰۳۵	۰/۰۳۱-۰/۰۴۱	<۰/۰۰۱	**کاهش بیان**
۴	icaD	ژن هدف	۱	۰/۴۱۸	۰/۳۵۴-۰/۵۰۰	<۰/۰۰۱	**کاهش بیان**
۸	icaD	ژن هدف	۱	۰/۲۹۱	۰/۲۵۰-۰/۳۵۴	<۰/۰۰۱	**کاهش بیان**
۱۸	icaD	ژن هدف	۱	۰/۰۳۷	۰/۰۲۹-۰/۰۴۴	<۰/۰۰۱	**کاهش بیان**
۴	ebps	ژن هدف	۱	۰/۱۹۲	۰/۱۶۵-۰/۲۳۳	<۰/۰۰۱	**کاهش بیان**
۸	ebps	ژن هدف	۱	۰/۰۶۹	۰/۰۵۸-۰/۰۸۲	<۰/۰۰۱	**کاهش بیان**
۱۶	ebps	ژن هدف	۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶-۰/۰۱۰	<۰/۰۰۱	**کاهش بیان**

بحث

با توجه به اهمیت ترکیبات گیاهی در درمان عفونتهای باکتریایی و توجه روز افزون محققان به این موضوع، زمینه‌های مختلف کنترل بیوفیلم به واسطه این ترکیبات فراهم شده است. امروزه مشخص شده که MRSA قدرت بالایی جهت تشکیل بیوفیلم بر روی سطوح وسایل خارجی دارد. در واقع این باکتری‌ها می‌توانند به صورت بیوفیلم در سطح کاتترها و سوندهای ادراری رشد کنند و مقاومت فوق العاده ای نسبت به عوامل ضد میکروبی از خود نشان دهند [۱۳]. در پژوهش حاضر هدف تعیین اثر عصاره الکلی آرتمیزیا اولیوریانا بر بیان ژن‌های مولد بیوفیلم در MRSA سویه ATCC33591 بود. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره الکلی این گیاه در غلظت‌های بالاتر از ۵۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بر بیان ژن‌های icaA، icaD و ebps اثر مهاری دارد. این یافته با نتایج پژوهش Yang chio و همکاران [۱۳] که اثر مهاری سایر گونه‌های آرتمیزیا بر بیان ژن‌های تولید کننده بیوفیلم در MRSA را مورد ارزیابی قرار داده اند، همخوانی دارد. نتایج دو پژوهش دیگر [۱۵، ۱۴] که به بررسی اثر سایر عصاره‌های گیاهی بر روی انواعی از باکتری‌ها و نیز MRSA پرداخته اند، نیز با یافته‌های پژوهش حاضر همسو می‌باشد. تولید بیوفیلم ممکن است یکی از

مکانیسم‌های مقاومت باکتریایی محسوب شود که باکتری را در برابر شرایط نامساعد محیطی پایدار سازد، اما پیشرفت علم راه کارهایی را جهت مقابله با این مکانیسم پیش رو نهاده است. یکی از این مکانیسم‌ها استفاده از عصاره‌های طبیعی گیاهان است که به عنوان یک عامل ضد میکروبی، مکانیسم مقاومت برخی باکتری‌ها را مورد تهاجم قرار داده و مانع عملکرد صحیح آن می‌گردد [۱۴]. در مطالعه Moreno و همکاران خواص ضد میکروبی Rosmarinus officinalis بر روی بیوفیلم MRSA و Kelebsiella را مورد ارزیابی قرار دادند و نتیجه پژوهش آنها کاهش و در مواردی عدم بیان ژن‌های تولید کننده بیوفیلم در هر دو باکتری بود [۱۵]. در مطالعه Esmaeili و همکاران نیز تأثیر اسانس الکلی گیاه مرزه خوزستانی بر بیان ژن‌های مرتبط با بیوفیلم در اسینتوباکتر بومانی به روش Real-Time PCR مطرح و نتیجه آن اثر مهاری این اسانس بر ژن‌های مذکور ارائه گردید [۱۶]. پژوهش حاضر با محدودیت‌هایی نیز مواجه بوده است. به دلیل این که این پژوهش از نوع مطالعه آزمایشگاهی است نمی‌توان نتایج را در جامعه انسانی و حتی حیوانی تعمیم داد. امید است در آینده ای نزدیک بتوان با توجه به مثبت بودن نتایج مطالعه حاضر، آن را در جهت بهبود شرایط موجود، در جامعه انسانی به کار گرفت. هم چنین پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های آتی ضمن استفاده از نتیجه این پژوهش، به ارزیابی تأثیر ترکیبی گونه‌های متفاوت آرتمیزیا با یکدیگر و یا به همراه باکتریوسین‌های باکتری‌های اسید لاکتیک پرداخته و با به کارگیری مطالعات آزمایشگاهی و حیوانی به عنوان درمان و یا حتی مکمل درمانی و نیز به عنوان ماده ضد عفونی کننده محیط برای جلوگیری از انتشار و استقرار عفونت‌های ناشی از MRSA در محیط‌های بیمارستانی اقدام کنند.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان دهنده کاهش بیان ژنهای icaA، icaD و ebps در شرایط in vitro می‌باشد، ولی تأثیری بر بیان ژن Housekeeping DNA gyr-B ندارد. با توجه به تأثیر مهاری عصاره آرتمیزیا اولیوریانا علیه ژن‌های بیوفیلم MRSA احتمالاً بتوان در آینده از این عصاره به عنوان مکمل درمانی علیه این باکتری و مهار ژن‌های مولد بیوفیلم استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

از مجتمع آزمایشگاهی واحد تهران شمال و گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی به سبب حمایت اجرایی این پروژه صمیمانه تشکر و سپاسگزاری می‌نماییم.

References

[1] Lora-Tamayo J, Murillo O, Iribarren JA, Soriano A, Sanchez-Somolinos M, Baraia-Etxaburu JM, et al. A large multicenter study of methicillin-susceptible and *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* prosthetic

joint infections managed with implant retention. *Clin Infect Dis* 2013; 56(2): 182–94.

[2] Rawat D, Nair D. Extended-spectrum betalactamases in Gram Negative Bacteria. *J Glob Infect Dis* 2010; 2(3): 263-74.

[3] Olson ME, Ceri H, Morck DW, Buret AG, Read RR. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet Res* 2002; 66(2): 86-92.

[4] Dastgheyb S, Parvizi J, Shapiro IM, Hickok NJ, Otto1 M. Effect of Biofilms on Recalcitrance of Staphylococcal Joint Infection to Antibiotic Treatment. *J Infectious Dis* 2015; 211(4): 641–50. [Farsi]

[5] Sadeghi E, Karami F, Etminan A. The Effect of Ferulago angulata (Schlecht) Boiss Essential Oil on Stabilization of Sunflower Oil During Accelerated Storage. *J Food Process Pres* 2016; 8(1): 23-30. [Farsi]

[6] Gordanian B, Behbahani M, Carapetian J, Fazilati M. In vitro evaluation of cytotoxic activity of flower, leaf, stem and root extracts of five Artemisia species. *Res Pharm Sci* 2014; 9(2): 91–6. [Farsi]

[7] Monson Linda S. *Staphylococci*. In: Textbook of diagnostic microbiology. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Maryland Heights: Saunders Elsevier Company 2011; p: 322-6.

[8] Jamshidi M, Shabani E, Hashemi Z, Ebrahimzadeh MA. Evaluation of three methods for the extraction of antioxidants from leaf and aerial parts of Lythrum salicaria L.(Lythraceae) *International Food Research Journal* 2014; 21(2):783-88.

[9] Saderi H, Owlia P, Hashemi S. The Effect of essential oil of Matricaria chamomilla L. on biofilm formation of Pseudomonas aeruginosa. *Iran J Med Microbiol* 2007; 1(2):9-14. [Farsi]

[10] Elgayyar M, Draughon FA, Golden DA, Mount JR. Antimicrobial activity of Essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J Food Prot*. 2001; 64(7): 1019-24.

[11 Tong, Zhaoguo, et al. A modified protocol for RNA extraction from different peach tissues suitable for gene isolation and Real-Time PCR analysis. *Molecular Biotechnology* 2012; 50(3): 229-36.

[12] Petrelli D, Repetto A, D'Ercole S, Rombini S, Ripa S, Prenna M, et al. Analysis of methicillin-susceptible and *methicillin-resistant biofilm-forming Staphylococcus aureus* from catheter infections isolated in a large Ialian

hospital. *Journal of Medical Microbiology* 2008; 57(3): 364-72.

[13] Yang chio Na, Yang Kang, Kang-Ju Kim. Artemisia princeps Inhibits Biofilm Formation and Virulance-Factor Expression of Antibiotics-Resistant Bacteria. *Biomed Research International* 2015; 51(2): 243-56.

[14] de Souza EL, Stamford TLM, de Oliveira Lima E, et al. Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Braz Arch Biol Technol* 2005; 48(4): 549-58.

[15] Moreno S, Galva'n EM, Va'zquez N, Fiorilli G, Guido Ca'ceres PA. Antibacterial efficacy of Rosmarinus officinalis phytochemical against nosocomial multidrug resistant bacteria grown in planktonic culture and biofilm. *The Battle Against Microbial* 2015; 6(5): 154-63.

[16] Esmaeili D, Bahador A,Saghii H, Ataee R. The Study of Inhibition Effects Satureja khuzestaniae Essence against Expression bap *Acinetobacter baumannii* with Real-Time PCR Technique. *Iran J med Microbial*. 2015; 4(1): 42-9. [Farsi]

The Effects of Ethanolic Extract of *Artemisia oliveriana* on Expression of *icaA, icaD, and ebps* Genes in *MRSA*: A Short Report

Gh. Shojaei[1], A. Akhavan Sepahy[2], R. Rafiei Tabatabaei[3], K. Tahvildari[4]

Received:17/10/2017 Sent for Revision:09/01/2018 Received Revised Manuscript:18/02/2018 Accepted: 19/02/2018

Background and Objectives: Expression of genes related to biofilm formation in *methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA)* can play an effective role in biofilm formation and pathogenicity. Due to the significance of antimicrobial activity of Artemisia species against biofilm producer genes, this study aimed to evaluate the effect of ethanolic extract of Artemisia oliveriana on the expression of icaA, icaD, and ebps genes in *MRSA*.

Materials and Methods: This was a laboratory study. First, Artemisia oliveriana extract was prepared and then, the minimum inhibitory concentration (MIC) of growth for the extract of the plant against *s. aureus* strains containing mecA was obtained by microdilution method . Then, at the lower concentrations, levels of expression in the icaA, icaD, and ebps genes in *MRSA* were determined by Real-Time PCR, and the results were analyzed through repeated measures ANOVA.

Results: The MIC of ethanolic extract of A. oliveriana was 512 µg/ml. The reduction of the expression of the genes in the standard sample after 4, 8, and 16 hours was significant in the Artemisia oliveriana group ($p<0.05$).

Conclusion: The ethanolic extracts of Artemisia oliveriana had a significant effect on the expression of the genes involved in biofilm formation and this expression reduction was not seen in the housekeeping DNA gyrase-B as a reference gene.

Key words: Artemisia oliveriana, Biofilm, Real-Time PCR, Staphylococcus aureus, Methicillin

Funding: This study did not have any funds.

Conflict of Interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Islamic Azad University, North Tehran Branch approved the study.

How to cite this article: Shojaei Gh, Akhavan Sepahy A, Rafiei Tabatabaei R, Tahvildari K. The Effects of Ethanolic Extract of *Artemisia oliveriana* on Expression of *icaA, icaD, and ebps* Genes in *MRSA*: A Short Report. *Univ Med Sci* 2018; 17 (2): 169-76. [Farsi]

1- PhD Student of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0002-6106-8709

2- Associate Prof., Dept. of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0002-5314-6199

(Corresponding Author) Tel: (021) 22949793, Fax: (021) 22977853, E-mail: akhavansepahy@gmail.com

3- Associate Prof., Dept. of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0002-0343-6200

4- Assistant Prof., Dept. of Chemistry, Faculty of Chemistry, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0002-7023-7471