

## بررسی حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با منشأ مواد غذایی

علی فضل آرا<sup>۱\*</sup>، داریوش غریبی<sup>۲</sup>، مسعود قربانپور<sup>۳</sup>، سمیه نوروزی بلداجی<sup>۴</sup>

۱- استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

۲- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

۳- استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

۴- دانش آموخته دکترای دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

(تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۲/۲۲)

### چکیده

استافیلوکوکوس اورئوس بواسطه توانایی کسب مقاومت نسبت به داروهای ضد میکروبی به یکی از نگرانی‌های عمده تبدیل شده است. هدف از این تحقیق بررسی ژن مقاومت به متی‌سیلین در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با منشأ مواد غذایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آنها بود. به منظور اجرای این تحقیق تعداد ۱۴۶ نمونه غذایی از نظر آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس بررسی و همچنین از تعداد ۳۴ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از مواد غذایی آرشیو دانشکده استفاده گردید. تمامی جدایه‌ها از نظر ویژگی‌های مورفولوژی و خصوصیات بیوشیمیایی استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار گرفتند. سپس طی دو مرحله آزمون PCR برای بررسی حضور ژن ترمونوکلاز (*nuc*) و نیز ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) انجام گردید. سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش انتشار از دیسک (کرپی بائر) انجام شد. نتایج PCR نشان داد که همه جدایه‌ها از نظر ژن ترمونوکلاز، اختصاصی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، مثبت بودند. همچنین از مجموع ۶۶ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت، تنها ۱ جدایه (۱/۵۱٪) واجد ژن *mecA* بود. بیشترین میزان مقاومت نسبت به پنی‌سیلین (۳۴/۸۴٪) و بعد از آن به ترتیب آزیترومایسین و اریترومایسین (۱۰/۶٪)، آگراسیلین (۷/۵۷٪)، تری متوپریم و سولفامتوکسازول (۶/۰۶٪)، کلواکساسیلین (۴/۵۴٪) و سیپروفلوکساسین، مروپنم و فلورفنیکل هر کدام (۱/۵۱٪) بود. هیچگونه مقاومتی نسبت به ریفامپین، سفتری‌زوکسیم، کلرآمفنیکل، نیتروفورانتوئین، جنتامایسین و نوبیوسین نیز مشاهده نشد. تلفیق نتایج مربوط به بررسی حضور ژن *mecA* و بررسی نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد سویه‌ای که واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین بود، نسبت به پنی‌سیلین و آگراسیلین مقاوم و نسبت به کلواکساسیلین، تری متوپریم سولفامتوکسازول، مروپنم و متی‌سیلین حساسیت نسبی و نسبت به بقیه آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بود.

کلید واژگان: استافیلوکوکوس اورئوس، مواد غذایی، مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*)، آنتی‌بیوگرام

\* مسئول مکاتبات: Fazlara2000@yahoo.com

## ۱- مقدمه

استافیلوکوک‌ها از جمله باکتری‌های مقاوم و با پراکندگی و گسترش بالا هستند. این باکتری‌ها از جمله نخستین پاتوژن‌های شناخته شده انسانی هستند که می‌توانند بر روی پوست و غشاهای مخاطی کلونیزه شوند [۱]. ظهور و گسترش میکروب‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در دهه‌ی گذشته به نگرانی عمده‌ای تبدیل گشته است و این افزایش مقاومت همچنان ادامه دارد. در سال ۱۹۶۱ اولین سویه‌ی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین در اروپا شناسایی شد و از آن زمان تا کنون و به ویژه طی دو دهه‌ی گذشته شیوع این سویه در بسیاری از قسمت‌های جهان افزایش یافته است. *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA)<sup>۱</sup> یکی از دلایل مهم عفونت‌های انسانی در سراسر دنیا می‌باشد. از آنجایی که تحقیقات در هلند نشان داده که عامل بیش از ۲۰ درصد عفونت‌های استافیلوکوکی مقاوم به متی‌سیلین غذاهای با منشأ دامی می‌باشند، لذا به دلیل اهمیت موضوع، سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۰۴، آئین کاری را به عنوان روش استاندارد ارزیابی آنتی‌بیوتیکی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در دام‌ها و مواد غذایی در نظر گرفت [۲]. بنابراین تحقیقات گسترده‌ای در سطح جهان در مورد استافیلوکوکوس‌های مقاوم به متی‌سیلین در غذاهای با منشأ دامی انجام شده است. متی‌سیلین آنتی‌بیوتیک نیمه‌سنتزی و مقاوم نسبت به آنزیم پنیسیلیناز است. سویه‌های MRSA، دارای ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) هستند که پروتئینی به نام PBP2a (پروتئین باند شونده به پنی‌سیلین<sup>۲</sup>) را کد می‌کند که میل ترکیبی آن در اتصال به متی‌سیلین کمتر از سایر پروتئین‌های متصل‌شونده به پنی‌سیلین در دیواره باکتری می‌باشد. در باکتری حساس (فاقد ژن *mecA*) متی‌سیلین با میل ترکیبی بیشتری به پروتئین PBP در دیواره سلول متصل می‌شود که سبب لیز شدن دیواره‌ی سلول باکتری و سرانجام مرگ آن می‌شود. سویه‌هایی که دارای این ژن هستند، به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های دیگر هم مقاومت نشان می‌دهند و این امر درمان بیماری‌های ناشی از این میکرواورگانیزم را مشکل ساخته و منجر به انتشار هرچه بیشتر آن در جامعه می‌شود [۳ و ۴]. در

1. Methicillin resistant *staphylococcus aureus*
2. Penicillin binding protein

ایران نیز بررسی‌های متعددی از نظر فراوانی آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در مواد غذایی در مناطق مختلف و از جمله در خوزستان صورت پذیرفته است. هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین در جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت با منشأ مواد غذایی جمع‌آوری شده از سطح شهر اهواز و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها بود.

## ۲- مواد و روش کار

## ۲-۱- جمع آوری نمونه‌ها

بررسی حاضر بر روی ۳۵ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از مواد غذایی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف شهر اهواز مربوط موجود در آرشیو بخش میکروب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران و همچنین ۳۱ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* که در این تحقیق از تعداد ۱۴۶ نمونه مواد غذایی پر خطر از سطح شهر اهواز شامل سمبوسه، فلافل، شیر محلی، سرشیر، گوشت، همبرگر جدا گردید، انجام پذیرفت.

## ۲-۲- آماده سازی، کشت نمونه‌ها و استخراج

## DNA

ابتدا ۳۵ جدایه‌ی *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از مواد غذایی که به صورت ذخیره شده در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد آزمایشگاه میکروب شناسی بودند، به محیط آزمایشگاه منتقل شدند و پس از ذوب، هر کدام به صورت جداگانه در یک پلیت حاوی محیط کشت بلاد آگار به صورت کشت خطی (منطقه) کشت داده شدند و پس از انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت از نظر رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بر اساس خصوصیات مورفولوژی پرگنه‌ها (پرگنه‌های گرد، صاف و درخشان و وجود همولیز) و همچنین خلوص پرگنه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. در مرحله بعد این نمونه‌ها جهت استخراج DNA استفاده شدند. از طرف دیگر مواد غذایی مانند شیر، فلافل، سمبوسه، خامه محلی، همبرگر، گوشت و سرشیر از مناطق مختلف شهر اهواز جمع‌آوری و در شرایط سرما به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل می‌شدند در آزمایشگاه ۵ گرم از هر ماده‌ی غذایی، داخل کیسه‌های سلفون

های مشکوک بدست آمده تا این مرحله با استفاده از شیر پس-چرخ استریل استوک شدند و به فریزر ۲۰- منتقل شدند تا متعاقباً با روش مولکولی از لحاظ استافیلوکوکوس/اورئوس بودن تایید شوند. جدایه‌های استوک شده از فریزر به محیط آزمایشگاه منتقل و مجدداً در محیط آگار خون‌دار به صورت خطی کشت داده شدند و جهت استخراج DNA آماده شدند. استخراج DNA از جدایه‌ها با استفاده از کیت استخراج DNA مخصوص باکتری‌های گرم مثبت (شرکت ژن بیوساینس)، مطابق با دستورالعمل کیت استفاده گردید.

## ۲-۳- PCR جهت بررسی حضور ژن ترمونوکلناز (*nuc*)

بر روی جدایه‌های استافیلوکوکوس، PCR به منظور بررسی وجود ژن ترمونوکلناز (*nuc*) (اختصاصی استافیلوکوکوس/اورئوس) انجام شد. توالی آغازگرهای های ژن ترمونوکلناز شامل آغازگر پیشرو 5'-F: CGATTGATGGTGATACGGTT-3' و آغازگر معکوس 5'-R: AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC-3' بودند که قطعه‌ای به طول ۲۸۰ bp را تکثیر می نمایند. به عنوان کنترل مثبت از سویه استاندارد استافیلوکوکوس/اورئوس (ATCC 33591-) در آزمایش PCR استفاده گردید. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر استفاده گردید. اجزای واکنش شامل مسترمیکس X ۲ (شرکت سیناژن)، آغازگرهای پیشرو و معکوس (۰/۴ mM)، DNA الگو و آب بودند. برنامه سیکل های حرارتی در دستگاه ترمال سایکلر (Eppendorf- آلمان) تنظیم و شامل سه سیکل، سیکل اول دناتوره شدن اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سیکل دوم شامل ۳ مرحله: مرحله اول دناتوره شدن در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله دوم اتصال پرایمرها دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله سوم سنتز در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه در نظر گرفته شد. سیکل دوم برنامه حرارتی PCR، ۳۵ مرتبه تکرار شد. سیکل سوم سنتز نهایی بود که در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. در صورت فراهم بودن

ریخته می‌شد (این کیسه‌ها از قبل تحت اشعه VU استریل شده بودند) و در نهایت به هر کیسه به میزان ۴۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل اضافه گردید، سپس جهت همگن شدن، کیسه مذکور در دستگاه استومکر به مدت ۳۰ ثانیه با دور متوسط قرار داده شد و در مرحله بعد به میزان ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون ماده غذایی، در محیط گوشت پخته انتقال داده شد و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شد. بعد از این مدت، از محیط‌های گوشت پخته شده در زیر هود و به طور استریل یک تا سه لوپ برداشته و در محیط برد پارکر به صورت چهارمنطقه‌ای کشت داده شد. محیط های کشت داده شده در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند و پرگنه‌های رشد کرده در محیط از نظر شکل و ظاهر پرگنه‌ها (گرد، مشکی و براق) و وجود هاله شفاف در اطراف پرگنه‌ها بررسی شدند. در ادامه از محیط بردپارکر، پرگنه‌های مشکوک انتخاب و بوسیله لوپ برداشته شد و در محیط مانیتول سالت آگار کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. بعد از ۲۴ ساعت، پرگنه‌های رشد کرده در سطح محیط مانیتول سالت آگار، بررسی و باکتری‌هایی که در این محیط، مانیتول را تخمیر کرده و محیط را به رنگ زرد در آورده بودند، به محیط کشت آگار خون-دار منتقل و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ضمن بررسی مورفولوژی پرگنه‌های استافیلوکوکوس و همولیز پرگنه‌ها، از این پرگنه‌ها برداشته شده و آزمایش کوآگولاز داخل لوله‌ای آن‌ها بررسی شد. بدین منظور یک یا دو پرگنه رشد کرده بر روی آگار خون‌دار انتخاب و در داخل پلاسمای سیتراته داخل لوله آزمایش، کشت داده شد. لوله‌ها به انکوباتور ۳۷ درجه منتقل شدند و بعد از ۳-۴ ساعت از نظر وجود لخته بررسی شدند. در صورت عدم ایجاد لخته در این مدت، انکوباسیون تا ۲۴ ساعت دیگر ادامه یافت. در صورت مثبت شدن آزمایش کوآگولاز جدایه‌ها، این جدایه‌ها در محیط‌های اوره و قندمالتوز نیز کشت داده شدند و پس از انکوبه شدن به مدت ۲۴ ساعت، نتایج کشت آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت (استافیلوکوکوس/اورئوس از نظر اوره‌آز و قند مالتوز مثبت می‌باشد). از آنجایی که باکتری‌هایی دیگری نظیر استافیلوکوکوس سودا/بیترومدیوس نیز کوآگولاز مثبت بوده و تفریق شیمیایی این دو گونه استافیلوکوکی سخت می‌باشد جدایه-

پلیت قرار داده شدند. در فاصله زمانی حداکثر ۱۵ دقیقه بعد از گذاشتن دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی، پلیت‌ها به داخل انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و این پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. پس از طی این مدت، قطر هاله عدم رشد در اطراف هر یک از این دیسک‌ها، اندازه‌گیری و ثبت شد و با جداول استاندارد تهیه شده از شرکت فراهم کننده دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مقایسه شد و میزان حساسیت یا مقاومت نمونه‌ها نسبت به هر یک از این آنتی‌بیوتیک‌ها تعیین شد. لازم به ذکر است در این مطالعه از *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی-سیلین (MRSA) (ATCC-3391) به عنوان کنترل مثبت در آزمایش سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیک استفاده گردید.

لیست دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده در این تحقیق (شرکت تدبیر فن آزما-ایران) شامل سفتریوکسیم (۳۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، متی‌سیلین (۵ میکروگرم)، آگراسیلین (۱ میکروگرم)، کلوزاسیلین (۱ میکروگرم)، ونکومایسین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، آزیترومایسین (۱۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰)، ریفامپین (۵ میکروگرم)، تریمتوپریم سولفامتوکسازول (۲۵ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، فلورفنیکل (۳۰ میکروگرم)، نوویوسین (۳۰ میکروگرم) و کلرآمفنیکل (۳۰ میکروگرم) بود.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- نتایج کشت و بررسی حضور ژن

##### ترمونوکلئاز

از تعداد ۱۴۶ ماده غذایی تهیه شده از سطح شهر اهواز تعداد ۳۱ نمونه از نظر *استافیلوکوکوس اورئوس* در خصوصیات مورفولوژی و برخی خواص بیوشیمیایی مورد تأیید قرار گرفتند. از ۳۱ جدایه مثبت، تعداد ۷ جدایه مربوط به سمبوسه (۲۲/۵۸ درصد)، ۲ جدایه مربوط به فلافل (۶/۴۵ درصد)، یک جدایه مربوط به خامه (۳/۲۲ درصد) و ۲۷ جدایه مربوط به شیر محلی گاو و گاومیش (۸۷/۰۹) بود. نتایج آزمون PCR مربوط به

شرایط مناسب و تکثیر موفق، آغازگرها **قطعه‌ای** به طول ۲۸۰ bp مربوط به ژن *nuc* را تکثیر می‌کردند [۱۱].

#### ۲-۴- PCR جهت جستجوی ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*)

پس از این که جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در مرحله اول توسط PCR تأیید شدند، در واکنش PCR جداگانه‌ای از نظر حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین مورد بررسی قرار گرفتند. همانند مرحله قبلی PCR از مسترمیکس 2x استفاده شد. همچنین از DNA استخراج شده *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) واجد ژن *mecA* نیز به عنوان کنترل مثبت در آزمایش PCR استفاده شد. مراحل آماده‌سازی، اجزای واکنش PCR و سیکل‌های حرارتی استفاده شده در این مرحله از PCR، شبیه مرحله قبل بود با این تفاوت که آغازگرهای به کار برده شده در این مرحله مربوط به تکثیر ژن *mecA* بودند. توالی نوکلئوتیدی این آغازگرها شامل آغازگر پیشرو -5' F: GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA-3' و آغازگر معکوس R: 5'AATTCCACATTGTTTCGGTCTAA-3' بود. در صورت فراهم بودن شرایط مناسب و تکثیر موفق، آغازگرها **قطعه‌ای** به طول ۳۰۷ bp مربوط به ژن *mecA* را تکثیر می‌کردند. محصولات PCR مربوط به ژن‌های *nuc* و *mecA* با الکتروفورز در ژل آگارز ۱ درصد در کنار مارکر کولکولی ۱۰۰bp مورد بررسی قرار گرفتند [۱۱].

#### ۲-۵- آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها

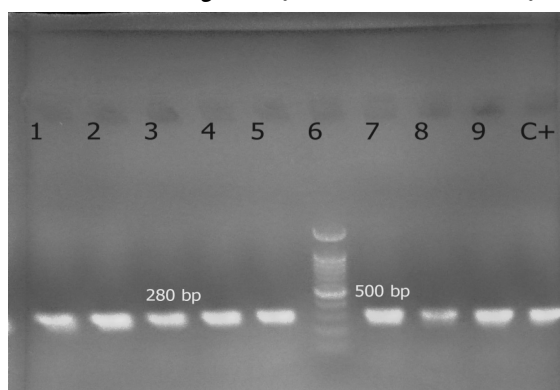
برای سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* از روش انتشار از دیسک (کربی بائر) مطابق با استاندارد CLSI استفاده گردید. ابتدا از کشت خالص ۲۴-۱۸ ساعته هر یک از جدایه‌های استوک شده *استافیلوکوکوس اورئوس*، سوسپانسونی معادل لوله ۰/۵ استاندارد مک‌فارلند تهیه شد. سواب استریل به این سوسپانسیون آغشته شد و بر روی سطح محیط کشت مولر هینتون به صورت کشت چمنی کشت داده شد. در فاصله زمانی حداکثر ۱۵ دقیقه پس از کشت باکتری-ها، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک به وسیله پنس استریل و در کنار شعله به فاصله تقریبی ۲۲ میلی‌متر از یکدیگر و ۱۶ میلی‌متر از جدار

۱۶۳۴ فراورده گوشتی و لبنی، ۱۲/۸ درصد فراورده به استافیلوکوکوس اورئوس (بدون بررسی ژن *mecA*) آلوده بودند و در این میان آلودگی مواد لبنی ۱۷ درصد بالاتر گزارش شد [۹]. همچنین کارگو و همکاران میزان شیوع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (بدون بررسی ژن *mec A*) را در ۶۹۳ نمونه ماده غذایی ۷۳ (۱۰/۵ درصد) نمونه اعلام کردند [۱۰]. آمارو و همکاران مطالعه‌ای را در مورد شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در شیرهای تازه و شیرهای تخمیری در کانادا و نیجریه انجام دادند. در این مطالعه از ۳۷۲ نمونه شیر نمونه گیری به عمل آمد و بعد از انجام آزمایشات مختلف مشخص شد که از این تعداد نمونه ۱۹۵ نمونه آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بودند که ۴۷ (۱۲/۶ درصد) نمونه استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت و ۸۰ نمونه (۲۱/۵ درصد) کوآگولاز منفی بودند [۱۱]. هتو و همکاران در سال ۲۰۰۸ شیوع استافیلوکوکوس اورئوس را در ۱۹۸۴ نمونه گوشت در کشور کره را ۲۱۸ (۱۱ درصد) نمونه گزارش کردند و از این تعداد ۲۳ نمونه مربوط به گوشت‌های تولیدی در کشور کره و ۱۹۵ نمونه مربوط به گوشت‌های وارداتی بود [۱۲].

### ۳-۲- نتایج مربوط به بررسی حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس

نتایج آزمون PCR مربوط به بررسی حضور ژن *mecA* در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت نشان داد که از تعداد ۶۶ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مربوط به ژن مقاومت به متی‌سیلین فقط ۱ جدایه (۱/۵۱ درصد) واجد ژن *mecA* می‌باشند و این جدایه هم از شیر محلی گاو جدا شده بود. متعاقب الکتروفورز محصولات PCR، باند ۳۰۷ bp مربوط به تکثیر ژن *mecA* در این جدایه و کنترل مثبت (سوش استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین (ATCC - 33591)) مشاهده گردید (شکل ۲).

بررسی حضور ژن ترمونوکلئاز (*nuc*) در ۳۱ جدایه‌های استافیلوکوکوس کوآگولاز مثبت از مواد غذایی و ۳۵ جدایه استوک شده در آزمایشگاه میکروبیولوژی نشان داد که از مجموع تعداد ۶۶ جدایه مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت، همه (۱۰۰ درصد) جدایه‌ها واجد ژن ترمونوکلئاز بودند و متعاقب الکتروفورز محصولات PCR، باند ۲۸۰ bp مربوط به تکثیر ژن *nuc* در آنها مشاهده گردید (شکل ۱).



**Fig 1** Gel electrophoresis of *nuc* gene fragments of *S. aureus*, wells (1-5 and 7-9): positive *S. aureus* isolates. Well 6: DNA marker, Well C<sup>+</sup>: positive control (*S. aureus* ATCC - 33591).

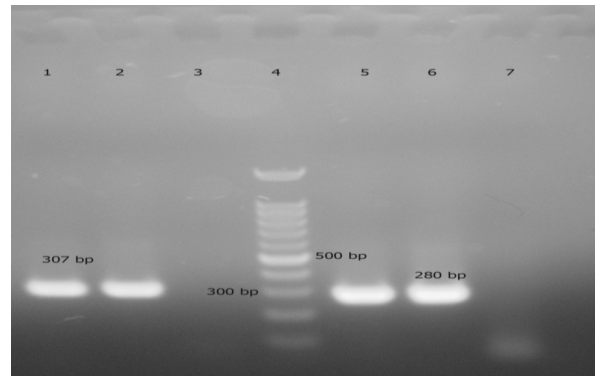
استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده بیماری‌های منتقله از راه غذا می‌باشد. آلودگی مواد غذایی به صورت مستقیم از طریق حیوانات آلوده به این باکتری و یا در نتیجه عدم رعایت بهداشت در مراحل تولید و توزیع، از جانب افراد شاغل در این زمینه که ممکن است ناقل این باکتری باشند، اتفاق می‌افتد. مطالعه سلطان دلال و همکاران در تهران نشان داد که از ۱۰۴۷ نمونه غذایی بررسی شده تعداد ۱۰۰ (۹/۵ درصد) نمونه از نظر آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس مثبت بودند [۷]. میرزایی و همکاران در سال ۱۳۹۱ مطالعه‌ای را در مورد شیوع استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در پنیر و کره محلی در تبریز انجام دادند در این مطالعه دیده شد که از ۱۰۰ نمونه پنیر ۱۹ نمونه (۱۹ درصد) و از ۱۵۰ نمونه کره ۱۱ (۷/۳۳ درصد) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت بودند [۸]. نورمان و همکاران طی مطالعه‌ی خود که بر روی شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در مواد غذایی با منشأ دامی بود، اعلام کردند که از

محصولات تولیدی از گوشت مرغ و ۱۱ جدایه مربوط به گوشت بوقلمون می‌باشد [۱۵]. جکسون و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مطالعه‌ای نشان دادند که از ۶۳ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت جدا شده از گوشت گاو، تعداد ۴ جدایه (۶/۳۴ درصد) واجد ژن *mecA* بودند [۱۶]. همچنین پکسارا و همکاران در سال ۲۰۱۳ با انجام مطالعه‌ای در ارتباط با میزان شیوع MRSA در شیر و لبنیات، بیشترین میزان شیوع را در اتیوپی آفریقا با ۶۰/۳ درصد و در کشورهای آسیایی بالاترین مقدار را با ۲۸/۳ درصد از ایران و کمترین میزان را از کره و ژاپن گزارش نمودند. همچنین این محققین در اکثر کشورهای اروپایی میزان شیوع MRSA را صفر تا کم گزارش نمودند [۱۷]. بررسی شیوع MRSA به عنوان ابزاری برای ارزیابی شرایط بهداشتی در گله‌های دام شیری و مخاطرات بهداشت عمومی در موارد آلودگی با سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک عمل می‌کند.

### ۳-۳- نتایج آنتی‌بیوگرام و تعیین بیشترین حساسیت، مقاومت و حساسیت نسبی جدایه‌های

#### *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت

نتایج سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی *استافیلوکوکوس* های کوآگولاز مثبت نشان داد که صددرصد جدایه‌ها به ریفامپین، سفتری‌زوکسیم، کلرامفنیکل، نیتروفوران‌توئین، جنتامایسین و نوبیوسین حساس هستند و بعد از آن به ترتیب بیشترین میزان حساسیت جدایه‌ها نسبت به فلورفنیکل، سپیروفلوکسازین و متی‌سیلین (۹۸/۴۸ درصد)، مروپنم (۹۵/۴۵ درصد)، تری متوپریم سولفامتوکسازول (۹۲/۴۲ درصد)، ونکومایسین (۸۹/۳۹ درصد)، آزیترومایسین و اریترومایسین (۸۷/۸۷ درصد)، کلوزاسیلین (۸۶/۳۶ درصد)، آگراسیلین (۸۰/۳ درصد) و پنی‌سیلین (۶۳/۶۳ درصد) بود. بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین (۳۴/۸۴ درصد) بود و بعد از آن به ترتیب بیشترین مقاومت نسبت به آزیترومایسین و اریترومایسین (۱۰/۶ درصد)، آگراسیلین (۷/۵۷ درصد)، سولفامتوکسازول (۶/۰۶ درصد)، کلوزاسیلین (۴/۵۴ درصد)، سپیروفلوکسازین، مروپنم و فلورفنیکل هر کدام (۱/۵۱ درصد) بود. از نظر حساسیت نسبی بیشترین حساسیت نسبی مربوط به آگراسیلین (۱۲/۱۲ درصد) بود و سپس به ترتیب ونکومایسین (۱۰/۶ درصد)، کلوزاسیلین



**Fig 2** PCR amplification of *mecA* and *nuc* gene in *S. aureus* isolates. Well 1 and 5: positive controls for *mecA* and *nuc* gene in *S. aureus* (*S. aureus* ATCC – 33591), Well 2 and 6: positive *S. aureus* isolates for *mecA* and *nuc*, well 3 and 7 negative controls and well 4 DNA marker.

در ارتباط با حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین نیز تحقیقاتی در مواد غذایی انجام شده است از جمله در تحقیقی که توسط رحیمی و عربستانی در سال ۱۳۹۳ بر روی جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین از شیرینی خامه‌ای در اصفهان انجام شد مشخص شد که از ۶۷۹ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت ۱۸ جدایه (۲/۶۵ درصد) واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین بودند [۱۳]. میرزایی و همکاران نشان دادند که از مجموع ۳۰ جدایه مثبت از نظر *MRSA* مورد تأیید قرار گرفتند [۸]. نورمانو و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان داد که از تعداد ۶۶ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت تعداد ۲ جدایه (۳/۰۳ درصد) واجد ژن *mecA* بودند [۹]. نانچی و همکاران در سال ۲۰۱۴ مطالعه‌ای را در مورد شیوع MRSA در گوشت خام و گوشت عمل آوری شده در نیجریه انجام دادند. در این مطالعه مشخص شد که از ۳۳ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت جدا شده از گوشت گاو و بز ۲۳ (۶۹/۶۹ درصد) جدایه حاوی ژن مقاومت به متی‌سیلین بودند که ۱۱ جدایه مربوط به گوشت گاو و ۱۲ جدایه مربوط به گوشت بز بود [۱۴]. همچنین فیلر و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که از ۸۶ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت تعداد ۳۲ جدایه (۳۷/۲ درصد) MRSA بودند که از این تعداد ۶ جدایه مربوط به گوشت مرغ تازه و ۴ جدایه مربوط به

متفاوت ناشی از استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در نواحی مختلف باشد.

### ۳-۴- تعیین میزان حساسیت یا مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در جدایه واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین

تلفیق نتایج مربوط به بررسی حضور ژن *mecA* و بررسی نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد که سویه استاندارد واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین (MRSA) نسبت به جنتامایسین، نوویوسین، ونکومایسین، ریفاپین، نیتروفورانتوئین و تری متوپریم سولفامتوکسازول حساس و نسبت به بقیه آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بود. جدایه‌ای که واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین بود نسبت به ریفاپین، اریترومایسین، سفتری‌زوکسیم، کلرآمفنیکل، نیتروفورانتوئین، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، آزیترومایسین، ونکومایسین، فلورفنیکل و نوویوسین حساس بود ولی نسبت به پنی‌سیلین و آگراسیلین مقاوم و نسبت به کلوگزاسیلین، تری متوپریم سولفامتوکسازول، مروپنم و متی‌سیلین حساسیت نسبی داشت.

در این تحقیق برخی از جدایه‌های فاقد *mecA* به تری متوپریم سولفومتوکسازول مقاوم بودند. باکتری‌های مقاوم از طریق افزایش تولید  $PABA^2$ ، کاهش نفوذپذیری دارو به داخل سلول باکتری، کاهش تمایل سولفونامید به آنزیم دی‌هیدروپتروات سنتتاز و افزایش تولید آنزیم با اثرات سولفونامیدها مقابله می‌کنند. همچنین در این تحقیق در جدایه‌های فاقد ژن *mecA*، مقاومت به کلوگزاسیلین ۴/۵۴ درصد و آگراسیلین ۶/۱ درصد و اریترومایسین ۳/۰۳ درصد بود. *Pesavento* و همکاران در سال ۲۰۰۵ طی مطالعه‌ای که بر روی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از گوشت خام اعلام کردند که از ۴۲ جدایه فاقد ژن *mecA* مقاومت نسبت به آگراسیلین ۳۵/۷۱ درصد، اریترومایسین ۱۹/۰۴ درصد، سولفامتوکسازول ۴/۷۶ درصد و پنی‌سیلین ۶/۶۶ درصد بوده است. همچنین در این تحقیق مشاهده شد که از ۱۱ جدایه دارای ژن *mecA*، ۱۴/۲۸ درصد مقاوم به آگراسیلین و ۹/۵۲ درصد به

۹/۰۹ درصد، مروپنم (۳/۰۳ درصد)، آزیترومایسین و تری متوپریم سولفامتوکسازول، پنی‌سیلین، اریترومایسین (۱/۵۱ درصد) بود.

نتایج سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی (آنتی‌بیوگرام) جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در این تحقیق نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین (۳۴/۳ درصد) بود. در مطالعه‌ای محسن‌زاده و رزمیار در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که از ۲۵ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از پنیرهای ایرانی، ۲۳ جدایه (۹۲ درصد) به پنی‌سیلین و ۱۷ جدایه (۷۳ درصد) به آمپی‌سیلین مقاوم بودند [۱۸]. میرزایی و همکاران اعلام کردند که ۱۰۰ درصد جدایه‌ها نسبت به پنی‌سیلین و سفنازیدیم مقاوم بودند [۸]. سینا و همکاران در سال ۲۰۱۱ طی مطالعه‌ی خود بر روی خصوصیات *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از غذاهای خیابانی و مسمومیت زایی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری‌ها مشاهده کردند که ۱۰۰ درصد جدایه‌ها به پنی‌سیلین و ۶۵ درصد به اریترومایسین مقاوم بودند [۱۹]. ادقونم و همکاران در سال ۲۰۱۴ طی مطالعه‌ای که بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*‌های با منشأ مواد غذایی داستند اعلام کردند که از ۳۱ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* همه جدایه‌ها به پنی‌سیلین و کلوگزاسیلین و ۲۵ جدایه به اریترومایسین مقاوم بودند [۲۰]. مقاومت بالا به این آنتی‌بیوتیک‌ها به خصوص گروه بتالاکتام‌ها و به ویژه پنی‌سیلین می‌تواند به علت مقاومت القایی ناشی از انتخاب سویه‌های موتان به علت استفاده مداوم این آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های عفونی در گذشته یا حال و یا دوز نامناسب آنها در درمان باشد. علاوه بر آن حضور  $PBP2a^1$  که تمایل کمی برای داروهای بتالاکتام دارد نیز باعث بروز مقاومت متقاطع نسبت به سایر داروهای بتالاکتام به غیر از پنی‌سیلین در این جدایه‌ها می‌شود. همچنین تولید آنزیم بتالاکتاماز که تخریب حلقه‌ی بتالاکتام و غیر فعال شدن پنی‌سیلین را باعث می‌شود دلیل دیگر مقاومت این جدایه‌ها به این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند باشد. اختلاف در درصد و میزان مقاومت یا حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف می‌تواند ناشی از اختلاف در منابع نمونه‌گیری (سمبوسه، فلافل، شیر، سرشیر و گوشت و...) و میزان انتخاب

2. Para amino banzonic acide

1. Penicillin binding protein

امروزه در بیشتر آزمایشگاه‌های تشخیصی از روش‌های فنوتیپی به خصوص روش دیسک دیفیوژن برای شناسایی استافیلوکوکوس-های مقاوم به متی‌سیلین استفاده می‌شود که عوامل مختلفی نظیر عوامل محیطی موثر در رشد باکتری از جمله pH، درجه حرارت انکوباسیون، اسمولاریتی محیط و غلظت املاح بویره نمک در محیط می‌تواند در نتایج حاصله تاثیرگذار باشد. با وجود اینکه CLSI برای استاندارد کردن روش‌ها و کاهش اثرات جانبی این عوامل دستورالعمل‌هایی تهیه و ارائه کرده است ولی با این حال درصدی از سویه‌ها هتروژن بوده و با این روش‌ها شناسایی نمی‌شوند و به طور کاذب حساس گزارش می‌گردند در صورتی که بالقوه مقاومت بالایی نسبت به متی‌سیلین دارند که در درمان‌های ناموفق عفونت‌های ناشی از سویه‌های هتروژن مقاوم به متی‌سیلین یا اگزاسیلین یا آنتی‌بیوتیک‌های دیگر به اثبات رسیده است [۲۴].

#### ۴- نتیجه گیری

با توجه به شیوع نسبتاً بالای استافیلوکوکوس اورئوس‌های کوآگولاز مثبت در مواد غذایی، باید با رعایت اصول بهداشتی طی فراوری و نگهداری مواد غذایی از میزان شیوع این باکتری در مواد غذایی کاسته شود. اگرچه خوشبختانه نتایج این تحقیق نشان داد که علی‌رغم شیوع نسبتاً بالای استافیلوکوکوس اورئوس‌های کوآگولاز مثبت، فراوانی مقاومت به متی‌سیلین در این جدایه‌ها پایین بود ولی باید به خاطر داشت که مصرف خودسرانه و فراوان آنتی‌بیوتیک‌ها و اعمال دوز نامناسب در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری به خصوص در دام‌های تامین‌کننده منابع غذایی انسان و همچنین مکانیسم‌های انتقال ژن بین جمعیت‌های متعدد باکتری‌ها از منابع مختلف (خاک، گیاهان، حیوانات و انسان) احتمال ظهور سویه‌های مقاوم در این جدایه‌های کوآگولاز مثبت و مهم از نظر بیماری‌زایی را بالا می‌برد. بنابراین بررسی اپیدمیولوژی استافیلوکوکوس‌های مقاوم به متی‌سیلین به منظور درک ظهور آشکار این سویه‌ها و توسعه استراتژی‌های کنترل مناسب این باکتری‌ها و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آنها برای درمان موفقیت آمیز و جلوگیری از گسترش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و انتقال آنها به زنجیره غذایی انسان ضروری می‌باشد.

پنی‌سیلین و ۷/۱۴ درصد به آمپی‌سیلین مقاوم بودند [۲۱]. Unakal و Kaliwal در سال ۲۰۱۰ طی مطالعه‌ای بر روی حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از شیر خام مشاهده کردند که از ۸۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس ۸۶/۷۶ درصد از جدایه‌ها به پنی‌سیلین، ۲۷/۹۴ درصد به اریترومايسين و ۲۶/۴۷ درصد به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند [۲۲]. Thacker و همکاران در سال ۲۰۱۲ اعلام کردند که ۷۰ درصد جدایه‌ها به اگزاسیلین و ۸۰ درصد به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند [۲۳].

در این مطالعه جدایه‌ای که واجد ژن *mecA* بود، بطور همزمان به پنی‌سیلین و اگزاسیلین نیز مقاومت داشت. مشابه همین نتیجه را آمارو و همکاران در سال ۲۰۱۳ اعلام کردند (۱۱). همچنین کریاسکون و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که همه جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس واجد ژن *mecA* نسبت به اگزاسیلین مقاوم اند (۲). در جدایه‌های واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین، علاوه بر مقاومت نسبت به داروهای بتالاکتام، مقاومت متقاطع نسبت به سایر گروه‌های آنتی‌بیوتیکی نیز می‌تواند مشاهده گردد که در این مطالعه این مورد یافت نگردید و جدایه مقاوم به متی‌سیلین، تنها به پنی‌سیلین و اگزاسیلین مقاوم بود در حالی که اغلب سویه‌های MRSA دارای مقاومت متقاطع نسبت به اریترومايسين، کلرآمفنیکل، جنتامایسین، نئومايسين، پنی‌سیلین و تریمتوپریم می‌باشند. در مطالعه‌ی حاضر جدایه‌ی واجد ژن *mecA* در روش دیسک دیفیوژن نسبت به متی‌سیلین حساسیت نسبی داشت. علت این امر را می‌توان به هتروژن بودن جدایه‌ها نسبت داد یعنی با وجود این که باکتری ممکن است از لحاظ ژنوتیپی اطلاعات ژنتیکی لازم برای مقاومت نسبت به متی‌سیلین را داشته باشد ولی از لحاظ فنوتیپی تعدادی از باکتری‌ها در شرایط محیطی یا آزمایشگاهی می‌توانند به طور واقعی ژن مقاومت به متی‌سیلین را بیان کنند. در این مطالعه ۸ جدایه فاقد ژن *mecA* بودند در حالی که به صورت فنوتیپی در روش دیسک دیفیوژن نسبت به اگزاسیلین و کلوزاسیلین مقاوم بودند، دلیل این امر نیز احتمالاً به خاطر تولید مقادیر فراوان آنزیم بتالاکتاماز توسط این سویه‌ها باشد. Pesavento و همکاران در سال ۲۰۰۵ موارد مشابهی را مشاهده نمودند که استافیلوکوکوس‌ها علیرغم نداشتن ژن *mecA* به اگزاسیلین مقاوم بودند (۲۱).



- [7] Soltandallal, M., Agha Amiri, S., Eshraghian, MR., Abbour Yaraghi, AA., Faramarzi, T., Mahdavi, V., Saberpour, F., Fazelifard, P., Peymaneh Mohtasab, TP. (2008). Prevalence and antibiotic resistant pattern of *Staphylococcus aureus* strain isolated from food stuff, The scientific Journal of Zanjan University of medical sciences, 16(64):65-74.
- [8] Mirzaei, A, Javadi, A., Farajli, M., Shah-Mohammadi, H.R., Barzegar, A. (2012). Prevalence of *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin in traditional cheese and cream: a study in city of Tabriz, Iran. Journal of veterinary research, 67(1):65-70.
- [9] Normanno, G.; Corrente, M.; Lasaladra, G.; Dambrosio, A.; Quaglia, N.; Parisi, A.; Greco, G.; Bellacicco, A.L.; Virgilio, S. and Celano, G. (2007). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in food of animal origin product in Italy. Journal of science direct food microbiology, 117:219-222.
- [10] Cargo, B., Ferrato, C., Drews, S.J, Severson, L.W., Tyrrell, G. and Louie, M. (2012). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) in food samples associated with food borne illness in Alberta, Canada from 2007 to 2010, Journal of science direct, 32, PP:202-205.
- [11] Umaru, G.A., Kabir, J., Umoh, V.J., Bello, M. and Kwage, J.P. (2013). Methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) in fresh and fermented milk in Zaria and Canada and Nigeria. Journal of drug research and technology, 3(3):67-75.
- [12] Heo, H.J., Kyung ku, B., Hwa bae, D., Kyupark, C.H. and Julee, Y. (2008). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from domestic and imported raw meat in Korea. Journal of vet res, 48(1):75-81.
- [13] Rahimi, f., Arabestani, M. (2014). Enterotoxin A Producing Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in Profiteroles (Text in Persian). Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine, 19(65):53-58.
- [14] Nnachi, A., Emele, F., Ukaegbu, C., VictorAgah, M., Ibiam, O., Chukwu, O. and Agwu, M. (2014). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in

## ۵- سپاسگزاری

این پژوهش در قالب پایان نامه از محل اعتبار پژوهانه سال ۹۴ دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شده است که بدین وسیله از حوضه معاونت پژوهشی دانشگاه صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

## ۶- منابع

- [1] Japooni, A., Alborzi, A., Orafa, F., Rasouli, M. and Farshad, S. (2004). Distribution patterns of methicillin resistance genes (*mecA*) in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens, I.B.J, 8:173-178.
- [2] Kreausukon, K., Fetsch, A., Kraushaar, B., Alt, K.;Muller, K. and Kromker, V. (2012). Prevalence antimicrobial resistance and molecular characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* from bulk tank milk of dairy herds. Journal of Dairy science, 95:4382-4388.
- [3] Pereira, V., Lopers, C., Castro, A., Silva, J., Gibbs, P. and Teizeira, P. (2009). Characterization for enterotoxin production, virulence factors and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from various food in Portugal. Food microbiology, 26:278-282.
- [4] Loo, I.H.M., Diederer, B.M., Savelkoul, P.H., Woudenberg, J.H., Roosendaal, R. and Belkum, A. (2007). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in meat products. Emerging Infection Diseases, 13(11):1753-1755.
- [5] Graber, H.U.; Casey, M.G.; Naskova, J.; Steiner, A. and Schaeren, W. (2007). Development of a highly sensitive and specific assay to detect *Staphylococcus aureus* in bovine mastitic milk. J. Dairy Sci, 90 (10):4661-4669.
- [6] Merlino, J., Watson, J., Rose, B., Beard-Pegler, M., Gottlieb, T., Bradbury, R. et al. (2002). Detection and expression of methicillin/oxacillin resistance in multidrug-resistant and non-multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in Central Sydney. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 49: 793-801.

- aureus* isolated from street foods: toxin profile and prevalence of antibiotic resistance. Journal of Applied biosciences, 46:3133-3134.
- [20] Udegbunam, S., Ijeoma, R. and Anyanwa, M. (2014). Occurrence of staphylococcal ocular infection of food producing animals in Nsukka Souteast, Nigeria. Journal of veterinary medicine international, pp: 1-6.
- [21] Pesavento, G.; Ducci, B.; Comodo, N. and LOnostro, A.(2005). Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from Raw Meat: A Research for methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA). Journal of Food Control, 18(2007):196-200.
- [22] Unakal, C.G. and Kaliwal, B.B. (2010). Prevalence and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. Journal Veterinary Research, 3(2):65-67.
- [23] Thacker, HC. Brahmbhatt, M.N. and Nayak, J. B. (2012). Isolation and identification of *Staphylococcus* from milk and milk products and their drug resistance patterns in Anand, Gujarat. Journal of Department of Veterinary Public Health, 6(10):10-13.
- [24] Kolbert, CP.; Connolly, JE.; Lee, MJ. and Persing, DH. (1995). Detection of *Staphylococcal mecA* gene by chemiluminescent DNA hybridization. Journal of Clinical Microbiology, 33(8): 2179-2182.
- raw meat and meat handler in Onitsha, Nigeria. Journal of preventive medicine, 2(1):9-15.
- [15] Febler, A. T., Kadlec, K., Hassel, M., Hauschild, T., Eidam, C.T., Ehricht, R., Monecke, S. and Schwarz, S. (2011). Characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from food and food products of poultry origin in Germany. Journal of applied and environmental microbiology, 77(20):7151-7157.
- [16] Jackson, C.R., Davis, J.A., Barrett, J.B. (2013). Prevalence and characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from retail meat and human Georgia. Journal of clinical microbiology, pp: 1199-1207.
- [17] Pexara, A., Solomakos, N., and Govaris, A. (2013). Prevalence of methicillin resistance *Staphylococcus aureus* in milk and dairy products. Journal of HVMS, 64(1):17-34.
- [18] Mohesnzadeh, M. and Razmyar, J. (2013). Isolation antimicrobial susceptibility and *mecA* gene analysis of methicillin resistant *staphylococcus aureus* in Iranian white cheeses. Journal of veterinary Research Shiraz University, 47:127-131.
- [19] Sina, H., Babamoussa, F., Noumavo, AP, Sezan, A., Hounhouigan, JD., Sezan, A., Kotchoni, S.;Prevost, G. and Baba moussa, L. (2011). Characterization of *Staphylococcus*

## The survey on presence of methicillin-resistant gene (*mecA*) in *Staphylococcus aureus* isolates from food origin

Fazlara, A. <sup>1</sup>, Gharibi, D. <sup>2\*</sup>, Ghorbanpoor, M. <sup>3</sup>, Norouzi, S. <sup>4</sup>

1. Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
  2. Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.
  3. Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.
  4. Graduated student from Faculty of veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
- (Received: 2016/01/29 Accepted: 2016/05/11)

*Staphylococcus aureus* has become a major concern because of the ability to acquire resistance to antimicrobial agents. The aim of this study was to survey methicillin-resistant gene (*mecA*) in *Staphylococcus aureus* isolates from food origin and determine their antimicrobial susceptibilities pattern. For this purpose, 146 food samples were evaluated. Also 34 isolates of *Staphylococcus aureus* with food origin were used available in the archives of the faculty. All isolates were cultured and evaluate by morphology and biochemical characteristics of *Staphylococcus aureus*. All isolates were subjected for two PCR. The first one was done to confirm *Staphylococcus aureus* species according to amplify the nuc gene specific for *Staphylococcus aureus*. The second PCR was done for evaluate the presence of methicillin resistant gene (*mecA*) in isolates. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates was determined using the Kirby–Bauer disc diffusion method. The result of the first PCR confirmed that all of the isolates were positive for the nuc gene. Second PCR for the presence of *mecA* gene showed that out of 66 coagulase positive *Staphylococcus aureus*, only 1 isolate (1.51%) had the *mecA* gene. Antibiotic susceptibility results showed that the highest resistance was to penicillin (34.84 %) followed by resistance to Azitromycin and Erytromycin (10.6%), Oxacillin (7.57%), Trimethoprim and Sulfametoxazol (6.06%), Cloxacillin (4.54%) and Cyprofloxazin, Meropenem and Florfenicole (1.51%). No resistance was found to Rifampin, Ceftizoxime, chloramphenicol, nitrofurantoin, gentamicin and novobiocin. The isolate with *mecA* gene was resistant to Penicillin and Oxacillin and had relative sensitivity to Cloxacillin, Trimethoprim, Sulfametoxazol, Meropenem and Methicillin.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, food product, Methicillin-resistant (*mecA*), antibiogram

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: Fazlara2000@yahoo.com