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

علی فضل آرا [1*]، داریوش غریبی [2]، مسعود قربانپور [3]، سمیه نوروزی بلداجی [4]

١- استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز
٢- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز
٣- استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز
٤- دانش آموخته دکترای دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

(تاریخ دریافت: ٩٤/١١/٠٩ تاریخ پذیرش: ٩٥/٠٢/٢٢)

چکیده

استافیلوکوکوس اورئوس بواسطه توانایی کسب مقاومت نسبت به داروهای ضدمیکروبی به یکی از نگرانی های 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 ١٤٦ نمونه غذایی از نظر آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی و همچنین از تعداد ٣٤ 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 قرارگرفتند. سپس طی دو مرحله آزمون PCR برای بررسی حضور ژن ترمونوکلئاز(*nuc*) و نیز ژن مقاومت به متی-سیلین(*mecA*)انجام گردید. سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی با استفاده از روش انتشار از دیسک (کربی بائر) انجام شد. نتایج PCR نشان داد که همه جدایه‌ها از نظر ژن ترمونوکلئاز، اختصاصی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، مثبت بودند. همچنین از مجموع ٦٦ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت، تنها ١جدایه (١/٥١٪) واجد ژن *mecA* بود. بیشترین میزان مقاومت نسبت به پنی سیلین(٣٤/٨٤٪) و بعد از آن به ترتیب آزیترومایسین و اریترومایسین(١٠/٦٪)، اگزاسیلین (٧/٥٧٪)، تری متوپریم و سولفامتوکسازول(٦/٠٦٪)، کلوگزاسیلین(٤/٥٤٪) و سیپروفلوکساسین، مروپنم و فلورفنیکل هر کدام(١/٥١٪) بود. هیچگونه مقاومتی نسبت به ریفامپین، سفتی‌زوکسیم، 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 اگزاسیلین مقاوم و نسبت به کلوگزاسیلین، تری متوپریم سولفامتوکسازول، مروپنم و متی‌سیلین حساسیت نسبی و نسبت به بقیه آنتی بیوتیک ها حساس بود.

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

*مسئول مکاتبات: Fazlara2000@yahoo.com

۱- مقدمه

استافیلوکوک‌ها از جمله باکتری‌های مقاوم و با پراکندگی وگسترش بالا هستند. این باکتری‌ها از جمله نخستین پاتوژن‌های شناخته شده انسانی هستند که میتوانند بر روی پوست وغشاهای مخاطی کلونیزه شوند [۱]. ظهور وگسترش 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)[1] 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 اهمیّت موضوع، سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۰٤، آئین کاری را به عنوان روش استاندارد ارزیابی آنتی‌بیوتیکی و مقامت 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 پنی-سیلین[2]) را کد می‌کند که میل ترکیبی آن در اتصال به متی‌سیلین کمتر از سایر پروتئین‌های متصل‌شونده به پنی‌سیلین در دیواره باکتری می‌باشد. در باکتری حسّاس (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 میکرواورگانیسم را مشکل ساخته و منجر به انتشار هرچه بیشتر آن در جامعه می‌شود [۳ و٤]. در 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 آرئوس* کواگولاز مثبت با منشأ مواد غذایی جمع‌آوری شده از سطح شهر اهواز وتعیین الگوی حسّاسیّت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها بود.

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

۲- مواد و روش کار

۲-۱- جمع آوری نمونه‌ها

بررسی حاضر بر روی ۳۵ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از مواد غذایی جمع آوری 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 ۱٤٦ 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 فریزر۲۰- 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 (٤منطقه)کشت داده شدند و پس از انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ساعت 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 استخراجDNA استفاده شدند. از طرف دیگر مواد غذایی مانند شیر، فلافل، سمبوسه، خامه محلی، همبرگر، گوشت و سرشیر از مناطق مختلف شهر اهواز جمع-آوری و در شرایط سرما به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل می‌شدند در آزمایشگاه ۵ گرم از هر ماده‌ی غذایی، داخل کیسه‌های سلفون

ریخته می‌شد(این کیسه‌ها از قبل تحت اشعهVU استریل شده بودند) و در نهایت به هر کیسه به میزان ٤٥ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل اضافه گردید، ،سپس جهت همگن شدن، کیسه مذکور در دستگاه استومکر به مدت ٣٠ ثانیه با دور متوسط قرار داده شد و در مرحله بعد به میزان ١ میلی لیتر از سوسپانسیون ماده غذایی، در محیط گوشت پخته انتقال داده شد و در انکوباتور ٣٧ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت گرم‌خانه-گذاری 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 انکوباتور٣٧ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ 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 مدت٢٤ ساعت در انکوباتور٣٧ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. بعد از ٢٤ 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 ٢٤ ساعت انکوباسیون، ضمن بررسی مورفولوژی پرگنه‌های استافیلوکوکوس و همولیز پرگنه‌ها، از این پرگنه‌ها برداشته شده و آزمایش کواگولاز 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 انکوباتور٣٧ درجه منتقل شدند و بعد از ٣-٤ ساعت از نظر وجود لخته بررسی شدند. در صورت عدم ایجاد لخته در این مدت، انکوباسیون تا ٢٤ 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 ٢٤ 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 سودانیترمدیوس* نیز کوآگولاز مثبت بوده و تفریق شیمیایی این دو گونه استافیلوکوکی سخت می‌باشد جدایه-های مشکوک بدست آمده تا این مرحله با استفاده از شیر پس-چرخ استریل استوک شدند و به فریزر ٢٠- منتقل شدند تا متعاقباً با روش مولکولی از لحاظ *استافیلوکوکوس اورئوس* بودن تایید شوند. جدایه‌های استوک‌شده 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.

٢-٣- PCR جهت بررسی حضور ژن ترمونوکلئاز(*nuc*)

بر روی جدایه های استافیلوکوکوس، PCR به منظور بررسی وجود ژن ترمونوکلئاز (*nuc*)(اختصاصی *استافیلوکوکوس اورئوس*) انجام شد. توالی آغازگرهای های ژن ترمونوکلئاز شامل آغازگر پیشرو F:5′-CGATTGATGGTGATACGGTT-3′ و آغازگر معکوس R:5′-AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC -3′ بودند که قطعه ای به طول ٢٨٠bp را تکثیر می نمایند. به عنوان کنترل مثبت از سویه استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس*(ATCC 33591 –) در آزمایش PCR استفاده گردید. واکنش PCR در حجم ٢٥ میکرولیتر استفاده گردید. اجزای واکنش شامل مسترمیکس X ٢(شرکت سیناژن)، آغازگرهای پیشرو و معکوس(٠/٤ mM)، DNA الگو و آب بودند. برنامه سیکل های حرارتی در دستگاه ترمال سایکلر (Eppenndorf– آلمان) تنظیم و شامل سه سیکل ، سیکل اول دناتوره شدن اولیه در ٩٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ٥ دقیقه ، سیکل دوم شامل ٣ مرحله: مرحله اول دناتوره شدن در ٩٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ٣٠ ثانیه، مرحله دوم اتصال پرایمرها دمای ٥٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ٣٠ ثانیه ، مرحله سوم سنتز در دمای ٧٢ درجه سانتی‌گراد ٤٥ ثانیه در نظر گرفته شد. سیکل دوم برنامه حرارتی PCR، ٣٥ مرتبه تکرار شد. سیکل سوم سنتز نهایی بود که در٧٢ درجه سانتی‌گراد به مدت ٥ دقیقه انجام شد . در صورت فراهم بودن

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

۲-٤- PCR جهت جستجوی ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*)

پس از این که جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* در مرحله اول توسط PCR تأیید شدند، در واکنش PCR جداگانه ای 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 F:5′-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 ژن های *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 جدایه ها

برای سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه های استافیلوکوکوس از روش انتشار از دیسک(کربی بائر) مطابق با استاندارد CLSI استفاده گردید. ابتدا از کشت خالص ۲٤- 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 مولرهینتون 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 تقریبی۲۲ میلی‌متر از یکدیگر و ۱٦ میلی متر از جدار 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 ۲٤ 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 آنتی بیوتیک 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 آنتی بیوتیک استفاده گردید.

لیست دیسک های آنتی بیوتیکی مورد استفاده در این تحقیق (شرکت تدبیر فن آزما-ایران) شامل سفتیزوکسیم (۳۰میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵میکروگرم)، متی‌سیلین (۵میکروگرم)، اگزاسیلین (۱میکروگرم)، کلوگزاسیلین (۱میکروگرم)، ونکومایسین (۳۰میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰میکروگرم)، آزیترومایسین (۱۵میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵میکروگرم)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰)، ریفامپین (۵میکروگرم)، تریمتوپریم سولفامتوکسازول (۲۵میکروگرم)، مروپنم (۱۰میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰میکروگرم)، فلورفنیکل (۳۰میکروگرم)، نووبیوسین (۳۰میکروگرم) و کلرآمفنیکل (۳۰میکروگرم) بود.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج کشت وبررسی حضور ژن ترمونوکلئاز

از تعداد ۱٤٦ 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 (٦/٤۵ 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

بررسی حضور ژن ترمونوکلئاز(*nuc*) در ۳۱ جدایه‌های استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت از مواد غذایی و ۳۵ جدایه استوک شده در آزمایشگاه میکروبیولوژی نشان داد که از مجموع تعداد ٦٦ جدایه مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت، همه(۱۰۰ درصد) جدایه‌ها واجد ژن ترمونوکلئاز بودند و متعاقب الکتروفورز محصولات PCR، باند bp ۲۸۰ مربوط به تکثیر ژن *nuc* در آنها مشاهده گردید(شکل ۱)

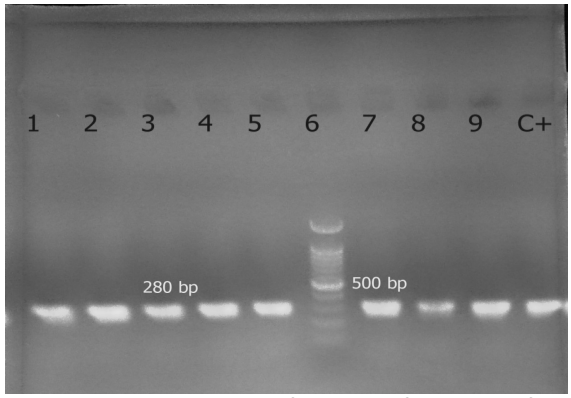

Fig 1 Gel electrophoresis of *nuc* gene fragments of *S. aureus*, wells (1-5 and 7-9): positive S. *aureus* isolates. Well 6: DNA marker, Well C^+: positive control (*S. aureus* ATCC – 33591).

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 می افتد. مطالعه سلطان دلال و همکاران در تهران نشان داد که از ۱۰٤۷ 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* کواگولاز 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 ١٦٣٤ 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 ٦٩٣ 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 ٤٧(١٢/٦ درصد) نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت و ۸۰ نمونه(۲۱/۵ درصد)کواگولاز منفی بودند [۱۱]. هئو و همکاران در سال ۲۰۰۸ شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* را در ١٩٨٤ 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* کواگولاز مثبت نشان داد که از تعداد ٦٦ 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 bp ۳۰۷ 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).

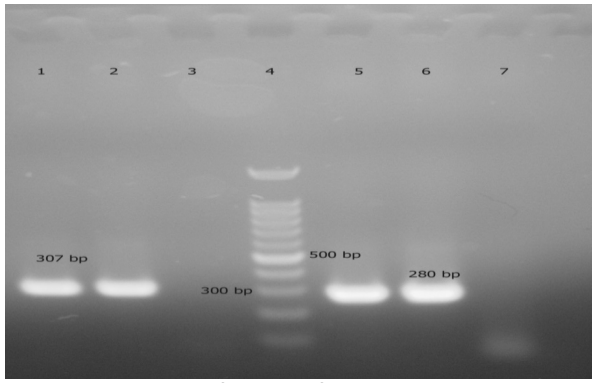

Fig 2 PCR amplification of *mecA* and *nuc* gene in *S. aureus* isolates. Well 1 and 5: positive controls for *mecA* and *nuc* gene in *S. aureus* (*S. aureus* ATCC – 33591), Well 2 and 6: positive S. *aureus* isolates for *mecA* and *nuc*, well 3 and 7 negative controls and well 4 DNA marker.

در ارتباط با حضور ژن مقاومت به متی سیلین 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 ٦٧٩ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت ١٨ جدایه (٢/٦٥ درصد) واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین بودند [١٣]. میرزایی و همکاران نشان دادند که از مجموع ٣٠ جدایه مثبت از نظر *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت ١١ جدایه به عنوان MRSA مورد تأیید قرار گرفتند [٨]. نورمانو و همکاران در سال ٢٠٠٧ نشان داد که از تعداد ٦٦ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت تعداد ٢ جدایه(٣/٠٣ درصد) واجد ژن *mecA* بودند [٩]. نانچی و همکاران در سال ٢٠١٤ 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 ٣٣ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت جدا شده از گوشت گاو و بز ٢٣ (٦٩/٦٩ درصد) جدایه حاوی ژن مقاومت به متی‌سیلین بودند که ١١ جدایه مربوط به گوشت گاو و ١٢ جدایه مربوط به گوشت بز بود [١٤]. همچنین فبلر و و همکاران در سال ٢٠١١ نشان دادند که از ٨٦ جدایه‌ی *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت تعداد ٣٢ جدایه (٣٧/٢ درصد)MRSA بودند که از این تعداد ٦ جدایه مربوط به گوشت مرغ تازه و ٤ جدایه مربوط به محصولات تولیدی از گوشت مرغ و١١ جدایه مربوط به گوشت بوقلمون می‌باشد [١٥]. .جکسون و همکاران در سال٢٠١٣ در مطالعه‌ای نشان دادند که از ٦٣ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت جدا شده از گوشت گاو، تعداد ٤ جدایه (٦/٣٤ درصد) واجد ژن *mecA* بودند [١٦]. همچنین پکسارا و همکاران در سال ٢٠١٣ با انجام مطالعه‌ای در ارتباط با میزان شیوع MRSA در شیر و لبنیات، بیشترین میزان شیوع را در اتیوپی آفریقا با ٦٠/٣ درصد و در کشورهای آسیایی بالاترین مقدار را با ٢٨/٣ 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 [١٧]. 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.

٣-٣- نتایج آنتی‌بیوگرام و تعیین بیشترین حساسیت، مقاومت و حساسیت نسبی جدایه‌های *استافیلوکوکوس آرئوس* کواگولاز مثبت

نتایج سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت نشان داد که صددرصد جدایه‌ها به ریفامپین، سفتی‌زوکسیم، کلرآمفنیکل، نیتروفورانتوئین، جنتامایسین و نوبیوسین حساس هستند و بعد از آن به ترتیب بیشترین میزان حساسیت جدایه‌ها نسبت به فلورفنیکل، سیپروفلوکساسین و متی‌سیلین (٩٨/٤٨ درصد)، مروپنم (٩٥/٤٥ درصد)، تری متوپریم سولفامتوکسازول (٩٢/٤٢ درصد)، ونکومایسین (٨٩/٣٩ درصد)، آزیترومایسین و اریترومایسین (٨٧/٨٧ درصد)، کلوگزاسیلین (٨٦/٣٦ درصد)، اگزاسیلین (٨٠/٣ درصد) و پنی‌سیلین (٦٣/٦٣ درصد) بود. بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک پنی-سیلین (٣٤/٨٤ درصد) بود و بعد از آن به ترتیب بیشترین مقاومت نسبت به آزیترومایسین و اریترومایسین (١٠/٦درصد)، اگزاسیلین (٧/٥٧درصد)، سولفامتوکسازول(٦/٠٦ درصد)، کلوگزاسیلین(٤/٥٤ درصد)، سیپروفلوکساسین، مروپنم و فلورفنیکل هر کدام (١/٥١ درصد) بود. از نظر حساسیت نسبی بیشترین حساسیت نسبی مربوط به اگزاسیلین (١٢/١٢ درصد) بود و سپس به ترتیب ونکومایسین (١٠/٦ درصد)، کلوگزاسیلین

(٩/٠٩ درصد)، مروپنم (٣/٠٣ درصد)، آزیترومایسین و تری متوپریم سولفامتوکسازول، پنی‌سیلین، اریترومایسین (١/٥١ درصد) بود.

نتایج سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی(آنتی‌بیوگرام) جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در این تحقیق نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین(٣٤/٣ درصد) بود. در مطالعه‌ای محسن‌زاده و رزمیار در سال ٢٠١٣ نشان دادند که از ٢٥ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده از پنیرهای ایرانی، ٢٣ جدایه (٩٢ درصد) به پنی‌سیلین و ١٧ جدایه (٧٣ درصد) به آمپی‌سیلین مقاوم بودند [١٨]. میرزایی و همکاران اعلام کردند که ١٠٠ درصد جدایه‌ها نسبت به پنی‌سیلین و سفتازیدیم مقاوم بودند [٨]. سینا و همکاران در سال ٢٠١١ طی مطالعه‌ی خود بر روی خصوصیات *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از غذاهای خیابانی و مسمومیت زایی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری‌ها مشاهده کردند که ١٠٠ درصد جدایه‌ها به پنی‌سیلین و ٦٥ درصد به اریترومایسین مقاوم بودند [١٩]. ادقبونم و همکاران در سال ٢٠١٤ طی مطالعه‌ای که بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*های با منشأ مواد غذایی داستند اعلام کردند که از ٣١ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* همه جدایه‌ها به پنی‌سیلین و کلوگزاسیلین و ٢٥ جدایه به اریترومایسین مقاوم بودند [٢٠]. مقاومت بالا به این آنتی‌بیوتیک‌ها به خصوص گروه بتالاکتام‌ها و به ویژه پنی‌سیلین می‌تواند به علت مقاومت القایی ناشی از انتخاب سویه های موتان به علت استفاده مداوم این آنتی بیوتیک ها 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 آنتی‌بیوتیک-های مختلف می‌تواند ناشی از اختلاف در منابع نمونه‌گیری (سمبوسه، فلافل، شیر، سرشیر و گوشت و...) و میزان انتخاب متفاوت ناشی از استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در نواحی مختلف باشد.

٣-٤- تعیین میزان حساسیت یا مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در جدایه واجد ژن مقاومت به متی سیلین

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، نووبیوسین، ونکومایسین، ریفامپین، نیتروفورانتوئین و تری متوپریم سولفامتوکسازول حساس و نسبت به بقیه آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بود. جدایه‌ای که واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین بود نسبت به ریفامپین، اریترومایسین، سفتی‌زوکسیم، کلرآمفنیکل، نیتروفورانتوئین، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، آزیترومایسین، ونکومایسین، فلورفنیکل و نوبیوسین حساس بود ولی نسبت به پنی‌سیلین و اگزاسیلین 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 دی هیدروپتروات سنتتاز و افزایش تولید آنزیم با اثرات سولفونامیدها مقابله می‌کنند. همچنین در این تحقیق در جدایه‌های فاقد ژن mecA، مقاومت به کلوگزاسیلین ٤/٥٤ درصد و اگزاسیلین ٦/١ درصد و اریترومایسین ٣/٠٣ درصد بود. Pesavento و همکاران در سال ٢٠٠٥ طی مطالعه‌ای که بر روی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از گوشت خام اعلام کردند که از ٤٢ جدایه فاقد ژن *mecA* مقاومت نسبت به اگزاسیلین ٣٥/٧١ درصد، اریترومایسین ١٩/٠٤ درصد، سولفامتوکسازول٤/٧٦ درصد و پنی‌سیلین ٦/٦٦ درصد بوده است. همچنین در این تحقیق مشاهده شد که از ١١ جدایه دارای ژن mecA، ١٤/٢٨ درصد مقاوم به اگزاسیلین و ٩/٥٢ درصد به

1. Penicillin binding protein

2. Para amino banzonic acide

پنی‌سیلین و۷/۱٤ 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* ۸٦/۷٦ درصد از جدایه‌ها به پنی‌سیلین، ۲۷/۹٤درصد به اریترومایسین و ۲٦/٤۷درصد به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند [۲۲]. Thacker و همکاران در سال ۲۰۱۲ اعلام کردند که ۷۰ درصد جدایه‌ها به اگزاسیلین و۸۰ 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 جدایه-های *استافیلوکوکوس اورئوس* واجد ژن *mecA* نسبت به اگزاسیلین مقاوم اند(۲). در جدایه های واجد ژن مقاومت به متی سیلین، علاوه بر مقاومت نسبت به داروهای بتالاکتام، مقاومت متقاطع نسبت به سایر گروه های آنتی‌بیوتیکی نیز می تواند مشاهده گردد که در این مطالعه این مورد یافت نگردید و جدایه مقاوم به متی سیلین، تنها به پنی سیلین و اگزاسیلین مقاوم بود در حالی که اغلب سویه‌های MRSA، دارای مقاومت متقاطع نسبت به اریترومایسین، کلرآمفنیکل، جنتامایسین، نئومایسین، 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 جدایه ها نسبت داد یعنی با وجود این که باکتری ممکن است از لحاظ ژنوتیپی اطلاعات ژنتیکی لازم برای مقاومت نسبت به متی-سیلین 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 کلوگزاسیلین 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 استافیلوکوکوس-ها علیرغم نداشتن ژن mecA به اگزاسیلین مقاوم بودند (۲۱).

امروزه در بیشتر آزمایشگاه‌های تشخیصی از روش‌های فنوتیپی به خصوص روش دیسک دیفیوژن برای شناسایی استافیلوکوکوس-های مقاوم به متی‌سیلین استفاده می شود که عوامل مختلفی نظیر عوامل محیطی موثر در رشد باکتری از جمله pH، درجه حرارت انکوباسیون، اسمولاریتی محیط وغلظت املاح بویژه 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 نمی-شوند و به طور کاذب حساس گزارش می‌گردند در صورتی‌که 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 [۲٤].

٤- نتیجه گیری

با توجه به شیوع نسبتاً بالای *استافیلوکوکوس اورئوس*‌های کواگولاز 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 علی رغم شیوع نسبتا بالای *استافیلوکوکوس اورئوس* های کوآگولاز مثبت، فراوانی مقاومت به متی سیلین در این جدایه ها پایین بود ولی باید به خاطر داشت که مصرف خودسرانه و فراوان آنتی‌بیوتیک‌ها و اعمال دوز نامناسب در درمان عفونت های ناشی از این باکتری به خصوص در دام های تامین کننده منابع غذایی انسان و همچنین مکانیسم‌های انتقال ژن بین جمعیت‌های متعدد باکتری ها از منابع مختلف(خاک، گیاهان، حیوانات و انسان) احتمال ظهور سویه های مقاوم در این جدایه های کوآگولاز مثبت و مهم از نظر بیماریزایی را بالا می برد. بنابراین بررسی اپیدمیولوژی استافیلوکوکوس های مقاوم به متی-سیلین 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.

٥- سپاسگزاری

این پژوهش در قالب پایان نامه از محل اعتبار پژوهانه سال ٩٤ دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شده است که بدین وسیله از حوضه معاونت پژوهشی دانشگاه صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

٦- 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., Diederen, 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.

[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, Sevenson, L.W., Tyrrell, G. and Louie, M. (2012). Prevalence of *Staphylococcus aures* 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

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 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.

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

Fazlara, A. [1], Gharibi, D. [2*], Ghorbanpoor, M. [3], Norouzi, S. [4]

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 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