شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین در شیر خام گاو جمع‌آوری‌شده از تانک‌های ذخیره و مراکز عرضه شیر در شهرستان ارومیه و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها

روژان مدرسی[1]*، حسین تاجیک[2]، کریم مردانی[3]

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۰۲/۱۳ تاریخ پذیرش ۱۴۰۱/۰۸/۰۸

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس (S. aureus) از مهم‌ترین پاتوژن‌های بیماری‌زا با خواستگاه مواد غذایی است که در ایجاد مسمومیت استافیلوکوکوسی در انسان نقش دارد. این مطالعه با هدف جداسازی و شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس‌های* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) در شیر خام گاو، شناسایی فنوتیپی و ژنوتیپی و تعیین الگوی مقاومتی جدایه‌ها در شهرستان ارومیه انجام گردید.

مواد و روش کار: تعداد ۲۹۰ نمونه شیر خام گاو از اردیبهشت تا دی‌ماه ۱۳۹۵ از تانک‌های نگهداری شیر در گاوداری‌ها و محل‌های عرضه شیر در سطح شهرستان ارومیه جمع‌آوری و در شرایط استریل و سرد به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی جهت جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از روش‌های میکروبیولوژی و بیوشیمیایی معمول منتقل گردید. برای تأیید جدایه‌های کوآگولاز مثبت، از روش شناسایی ژن nuc استفاده گردید. جهت *شناسایی فنوتیپی جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین* از روش انتشار دیسک Kirby-Bauer و شناسایی ژنوتیپی وجود ژن mecA استفاده شد.

یافته‌ها: از ۲۹۰ نمونه شیر (۱۴۴ نمونه از تانک‌های نگهداری شیر و ۱۴۶ نمونه از محل‌های عرضه شیر) جمع‌آوری‌شده، ۴۴ جدایه جمع‌آوری شد که ۱۴ جدایه (۷/۹درصد) از تانک‌های نگهداری شیر و ۳۰ جدایه (۵/۲۰ درصد) از محل‌های عرضه شیر بود. وجود *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌ها توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تأیید شد. از مجموع ۴۴ جدایه ۷ جدایه (۱۶ درصد) نسبت به اگزاسیلین مقاوم بودند که یک جدایه (۱/۷ درصد) مربوط به تانک و ۶ جدایه (۲۰ درصد) مربوط به مراکز عرضه شیر خام بودند و به‌عنوان جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین شناسایی شدند. بیش‌ترین میزان مقاومت جدایه‌ها متعلق به پنی‌سیلین (۱/۵۹ درصد) بود. هیچ‌کدام از جدایه‌ها نسبت به دو آنتی‌بیوتیک توبرامایسین و جنتامایسین مقاومت نشان ندادند. پنج جدایه (۱/۴ درصد) دارای ژن mecA بودند که ۴ جدایه (۳/۱۳ درصد) مربوط به مراکز عرضه شیر و یک جدایه (۱/۷ درصد) مربوط به تانک‌های شیر بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: طبق نتایج به‌دست‌آمده شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* و MRSA در مراکز عرضه شیر نسبت به تانک‌های ذخیره شیر بیشتر است. این نتایج نشان‌دهنده آلودگی ثانویه و عدم رعایت اصول بهداشتی حین حمل‌ونقل و عرضه شیر است.

کلیدواژه‌ها: استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، شیر خام گاو، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و سوم، شماره سوم، ص ۱۹۳-۱۸۳، خرداد ۱۴۰۱

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، تلفن: ۰۹۱۴۴۴۱۲۹۰۹

Email: modaresi_r@yahoo.com

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس[4] یک باکتری گرم مثبت از خانواده میکروکوکاسه است. این باکتری از مهم‌ترین پاتوژن‌های بیماری‌زا با خواستگاه مواد غذایی است که در ایجاد مسمومیت *استافیلوکوکوسی* در انسان نقش دارد (۱). *استافیلوکوکوس اورئوس*، یک باکتری غیر متحرک است که در محیط کشت‌های خاص، تولید پرگنه‌های زرد طلایی (اورئوس به معنی طلا) می‌کند. این باکتری کاتالاز مثبت، بی‌هوازی اختیاری (بیشتر در شرایط هوازی رشد می‌کند)، مقاوم به

[1] دانشجوی دکتری تخصصی دانشگاه ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

[2] استاد دانشگاه ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، ارومیه، ایران

[3] استاد دانشگاه ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، ارومیه، ایران

[4] Staphylococcus aureus

نمک ۶/۵ تا ۱۰ درصد و تا حدودی مقاوم به حرارت و خشکی است. برخلاف برخی از گونه‌های *استافیلوکوکوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* باعث انعقاد سریع پلاسمای خرگوش نیز می‌گردد. این باکتری تعداد زیادی از پروتئین‌های خارج سلولی و توکسین تولید و ترشح می‌کند ولی مهم‌ترین توکسین، انتروتوکسین‌های *استافیلوکوکوسی*[1] (SE) است، که به لحاظ سرولوژیک ۱۷ نوع است (از A تا E و از G تا R). اغلب SE ها توانایی ایجاد مسمومیت غذایی، بیماری حاد، تب و کاهش فشار خون را دارند. SEA و بعد SED مهم‌ترین سروتیپ‌های عامل مسمومیت می‌باشند (۲).

انتروتوکسین های *استافیلوکوکوسی* بیشتر در مرحله رشد لگاریتمی و انتهای مرحله رشد تولید می‌گردند. وجود یک نانوگرم از انتروتوکسین *استافیلوکوکوسی* در هر گرم ماده غذایی، باعث مسمومیت در فرد می‌گردد. *استافیلوکوکوس‌های* تولیدکننده آنتروتوکسین، کوآگولاز مثبت هستند و *استافیلوکوکوس اورئوس* که یکی از بیماری‌زاترین گونه‌ها در انسان است در این گروه قرار دارد. کوآگولاز یک شاخص مهم در تشخیص بیماری‌زایی این باکتری بشمار می‌رود (۲). در انسان و حیوان، *استافیلوکوکوس* بخشی از فلورپوست و مخاط غشایی بدن به خصوص گلو، رکتوم و دستگاه گوارش است. در حیوانات این باکتری عامل ۱۸-۴/۱۸ درصد عفونت‌های باکتریایی داخل پستان است که گاهی وارد شیر می‌گردد و برخی با تولید توکسین باعث ایجاد مسمومیت غذایی ودیگر عفونت‌ها در انسان می‌گردند (۳, ۴).

شیر خام ماده غذایی مناسب برای انتقال میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا با اهمیت بهداشت عمومی بالا از جمله *سالمونلا*، *کمپیلوباکتر*، *یرسینیا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* است. گوشت و فرآورده‌های گوشتی، طیور، ماهی، شیر و به‌طور کلی هر غذایی که نمکی (۱۰ ـ ۵ درصد) و یا دارای فعالیت آبی پائین است می‌تواند عامل ایجاد بیماری گردد. امکان مسمومیت غذایی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* در اثر مصرف محصولات لبنی از جمله شیر خام، شیر کم‌چرب، شیر خشک و پنیر وجود دارد (۵).

استفاده از آنتی‌بیوتیک هنوز هم روش اصلی کنترل بیماری‌های باکتریایی در حیوانات و انسان‌ها است. ولی استفاده نابجا و بیش ازحد از این ترکیبات امکان مقاومت آنتی‌بیوتیکی را به وجود می‌آورد. در این بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برخی از باکتری‌ها از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* به دلیل توانایی تولید اگزوپلی‌ساکارید و آنزیم‌های غیرفعال کننده آنتی‌بیوتیک و نیز تشکیل بیوفیلم توسط آن اهمیت ویژه‌ای دارد (۴). در طول ۵۰ سال اخیر، *استافیلوکوکوس* به‌صورت عام و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌طور خاص دستخوش مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی بیوتیک‌های خانواده پنی‌سیلین شده‌اند. *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین(MRSA[2])، باکتری است که نسبت به برخی از آنتی بیوتیک‌ها از جمله اگزاسیلین، متی‌سیلین و دیگر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مقاوم هستند (۵). ورود MRSA در شیر یا به‌صورت مستقیم از پستان حیوان مبتلا به ورم پستان بالینی و تحت‌بالینی است و یا از طریق آلودگی محیطی حین حمل‌ونقل و فرآوری شیر و یا از طریق MRSA کلونیزه شده در فلور طبیعی پوست حیوان است (۶). ۳۰ درصد افراد سالم ناقل دائمی *استافیلوکوکوس اورئوس* هستند که در بینی فرد بدون هیچ علامتی کلونیزه می‌شود، ۶۰ درصد ناقل متناوب باکتری هستند و علایمی را نشان نمی‌دهند (۳).

در ابتدا مواجهه با جدایه‌های MRSA تنها در بیمارستان بود (به چنین جدایه‌هایی MRSA اکتسابی از بیمارستان گفته می‌شود) اما در اواخر دهه ۱۹۹۰ نخستین MRSA های اکتسابی از جامعه که مشخصه بارز آن وجود سم لکوسیدین پنتون ولنتاین بود، شناسایی و با سرعت غیرقابل باوری گسترش پیدا کرد. این‌ها به سرعت در سراسر جهان، ابتدا در جوامع و بعدها در مراکز درمانی گسترش یافتند و حتی جایگزین MRSA اکتسابی از بیمارستان شدند (۳). ظهور نوع سوم یعنی MRSA اکتسابی از حیوانات نیز در سال‌های اخیر مورد توجه قرارگرفته است.

مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* به متی‌سیلین ناشی از حضور ژن *mecA* است که پروتئینی تحت عنوان پروتئین متصل شونده به پنی‌سیلین[3] را کد می‌کند. ژن *mecA* توسط یک بخش متحرک ژنتیکی تحت عنوان مجموعه کروموزومی mec استافیلوکوکی یا SCCmec[4] حمل می‌شود (۶, ۷).

شناسایی میکروارگانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در شیر خام از نظر بهداشتی بسیار مهم می‌باشد، زیرا مانع گسترش این میکروارگانیسم‌ها در چرخه تولید محصولات لبنی می‌گردد. شیر گاو منبع مهمی برای سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین و اگزاسیلین به شمار می‌رود. خطر وجود این سویه‌ها هم در افرادی است که با دام ارتباط مستقیم دارند نظیر دامدار، دامپزشک و مصرف کنندگان شیر خام (۴, ۸, ۹). گزارشات مختلفی از انتقال MRSA بین انسان و حیوان وجود دارد (۱۰).

اگرچه نقش غذا به‌عنوان ناقل عفونت‌های انسانی ناشی از MRSA، از اهمیت ثانویه برخوردار است، ولی سویه‌های MRSA

[1] Staphylococcal enterotoxins
[2] Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA)
[3] Penicillin-binding protein
[4] Staphylococcal cassette chromosome *mec*

به سرعت درحال تغییر هستند و برخی از خصوصیات از جمله بیماری‌زایی و انتقال قابل تغییر است. بنابراین انتقال سویه‌های MRSA از حیوان به انسان و برعکس، باعث معرفی سویه‌های جدید به هر دو جامعه انسانی و حیوانی می‌گردد. تنوع ژنتیکی و توانایی به دست آوردن ژن‌های خارجی باعث شده که MRSA به راحتی به تغییرات محیطی سازگاری پیدا کرده و بیماری‌زایی خود را تعدیل نماید. سویه‌های MRSA بیشتر از بیمارستان جدا می‌شوند و احتمال جداسازی آن‌ها از جوامع و حیوانات کم است. ولی اخیراً گزارش‌های متعددی از جداسازی و ظهور سویه‌های MRSA از حیوانات و محصولات غذایی به خصوص محصولات غذایی با منشاء دامی وجود دارد.

این مطالعه با هدف جداسازی و شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* بویژه استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین در شیر خام گاو و هم‌چنین شناسایی فنوتیپی و ژنوتیپی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین در شهرستان ارومیه در سال ۱۳۹۵ انجام گردید.

مواد و روش کار

تعداد ۲۹۰ نمونه شیر خام گاو از اردیبهشت تا دی‌ماه ۱۳۹۵ از تانک‌های نگهداری شیر در گاوداری‌ها و محل‌های عرضه شیر در سطح شهرستان ارومیه جمع‌آوری و در شرایط استریل و سرد (۴ درجه سانتی‌گراد) به دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه و به آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی با استفاده از روش‌های میکروبیولوژی و بیوشیمیایی معمول منتقل گردید

شناسایی وجداسازی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس:*

شناسایی فنوتیپی جدایه‌ها: جداسازی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مطابق قوانین ISO 6888-1 انجام گرفت. ابتدا ۱/۰ میلی‌لیتر از نمونه شیر روی محیط کشت بردپارکر[1] آگار تلقیح و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، پرگنه‌های مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا و تست‌های کاتالاز، کوآگولاز، DNase و تخمیر مانیتول انجام گردید (۱۱, ۱۲). برای نگهداری نمونه‌ها، محیط مایع تریپتیک سوی براث[2] (Merck, Germany) حاوی ۲۰ درصدگلیسرول به‌عنوان نگهدارنده استفاده شد و سپس نمونه‌ها در فریزر با دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام تست‌های آنتی‌بیوگرام و آزمایش‌های ملکولی نگهداری شدند.

شناسایی مولکولی جدایه‌ها: برای تأیید جدایه‌های کوآگولاز مثبت، DNase مثبت که توانایی تخمیرمانیتول را داشتند از روش شناسایی ژن ترمونوکلئاز (nuc[3]) که اختصاصی *استافیلوکوکوس اورئوس* است استفاده گردید (۱۳). بدین منظور ابتدا DNA ژنومی با استفاده از روش جوشاندن استخراج گردید. مطابق این روش چند کلنی از باکتری به ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل اضافه شد و به خوبی ورتکس گردید و سپس در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد. سپس نمونه به مدت پنج دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. مقدار ۵ میکرولیتر از مایع رویی که حاوی DNA آزاد شده از سلول‌های باکتریایی بود در واکنش PCR استفاده شد. برای انجام PCR از یک جفت پرایمر که گونه *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت را شناسایی می‌نماید استفاده گردید. جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* پس از تشخیص قطعی وجود ژن nuc به طول تقریبی ۲۷۹ جفت باز به‌عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* در نظر گرفته شدند. پرایمرهای

NUC1 = 5′-GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT-3 و

NUC2 = 5′-AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC-3′

برای تکثیر ژن nuc استفاده شدند (۱۳). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR با غلظت ۱۰ برابر (10X)، یک میکرولیتر کلراید منیزیم با غلظت ۵۰ میلی‌مول، ۵/۰ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها با غلظت ۲۵ میکرومولار، چهار میکرولیتر dNTP با غلظت ۲۵/۱ میلی‌مول، ۵/۰ میکرولیتر آنزیم Taq DNA Polymerase با غلظت پنج واحد در میکرولیتر، پنج میکرولیتر از DNA استخراج شده باکتری و ۱۱ میکرولیتر آب مقطر استریل آماده شد. برنامه دمایی برای تکثیر ژن nuc به‌ترتیب شامل یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه DNA در دمای ۹۵°C به مدت پنج دقیقه، ۳۵ چرخه دمایی شامل واسرشت‌سازی در دمای ۹۵°C برای ۴۵ ثانیه، چسبیدن پرایمر در دمای ۵۵°C برای ۳۰ ثانیه، گسترش در دمای ۷۲°C برای ۶۰ ثانیه و در نهایت یک چرخه گسترش نهایی در دمای ۷۲°C برای پنج دقیقه بود. محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصدی حاوی رنگ مخصوص رنگ‌آمیزی DNA بارگذاری شدند. در نهایت با استفاده از اشعه UV باندهای PCR مشاهده و عکس‌برداری گردید.

شناسایی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین:

شناسایی فنوتیپی جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین: برای این منظور از روش انتشار دیسک Kirby-Bauer جهت بررسی مقاومت

[1]- Baird-Parker Agar
[2]- Tryptic Soy Broth (TSB)
[3]- Thermonuclease (nuc)

دارویی اولیه استفاده شد. دیسک‌های مورد استفاده از شرکت Himedia از کشور هندوستان بود. دیسک‌های آموکسی‌سیلین (۲۵ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، سفالوتین (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، کلوکزاسیلین (۵ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۱/۲۳،۲۵/۷۵ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، کاناماسین (۳۰ میکروگرم)، لینکومایسین (۱۵ میکروگرم)، اگزاسیلین (۱ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، استرپتومایسین (۱۰ میکروگرم) و تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم) درمحیط مولر هینتون آگار (MHA)[1]، دارای چهار درصد NaCl طبق توصیه CLSI[2] انجام شد. *استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923)* به‌عنوان کنترل مثبت در این آزمایش استفاده شد.

شناسایی مولکولی جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین: جهت تشخیص وجود ژن mecA در میان سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین از آزمون PCR با استفاده از جفت پرایمر اختصاصی استفاده گردید (۱۵). توالی پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن mecA درجدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس

mecA1= 5′-GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA-3′ و
mecA2= 5′-CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA-3′

بودند. واکنش PCR دارای همان اجزای PCR برا یتکثیر ژن nuc بود. برنامه دمایی برای تکثیر ژن mecA به‌ترتیب شامل یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه DNA در دمای ۹۴°C به‌مدت پنج دقیقه، ۳۰ چرخه دمایی شامل واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ °C برای یک دقیقه، چسبیدن پرایمر در دمای۵۰°C برای یک دقیقه، گسترش در دمای ۷۲°C برای دو دقیقه و در نهایت یک چرخه گسترش نهایی در دمای ۷۲°C برای ۱۰ دقیقه بود. محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصدی حاوی رنگ مخصوص رنگ‌آمیزی DNA بارگذاری شدند. در نهایت با استفاده از اشعه UV باندهای PCR مشاهده و عکس‌برداری گردید.

یافته‌ها

جداسازی و شناسایی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس:*

از تعداد ۲۹۰ نمونه شیر خام گاو (۱۴۴ نمونه از تانک‌های نگهداری شیر گاوداری‌ها و ۱۴۶ نمونه از محل‌های عرضه درسطح شهرستان ارومیه) جمع‌آوری شده، تعداد ۴۴ نمونه (۲٪/۱۵) به روش کشت و تست‌های بیوشیمیایی *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت جداسازی شد که ۱۴ نمونه (۷٪/۹) از تانک‌های نگهداری شیر و ۳۰ نمونه (۵٪/۲۰) از محل‌های عرضه شیر بود (جدول ۱).

جدول (۱): فراوانی نمونه‌های شیر خام گاو جمع‌آوری شده از تانک‌های نگهداری و مراکز عرضه شیر خام در شهرستان ارومیه و میزان آلودگی آن‌ها به *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین

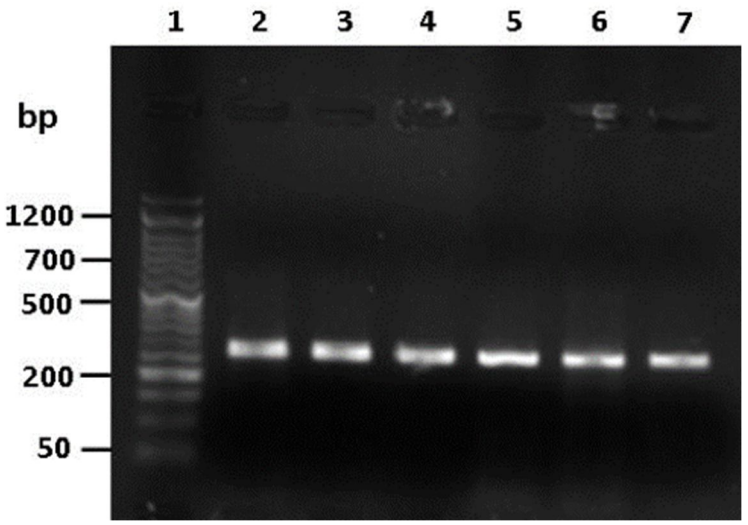
تعداد و درصد جدایه‌های دارای ژن mecA	تعداد و درصد جدایه‌های مقاوم به اگزاسیلین	تعداد ودرصد جدایه‌های دارای ژن nuc	تعداد و درصد نمونه‌های مثبت شیر	تعداد نمونه شیر	محل نمونه برداری
۱ (۱/۷)	۱ (۱/۷)	۱۴ (۷/۹)	۱۴ (۷/۹)	۱۴۴	تانک‌های شیر
۴ (۳/۱۳)	۶ (۲۰)	۳۰ (۵/۲۰)	۳۰ (۵/۲۰)	۱۴۶	مراکزعرضه شیر
۵ (۴/۱۱)	۷ (۱۶)	۴۴ (۲/۱۵)	۴۴ (۲/۱۵)	۲۹۰	تعداد کل

تکثیر ژن nuc جهت تأیید جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس:*

از مجموع ۴۴ *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های شیر که براساس روش کشت و تست‌های بیوشیمیایی افتراقی مثبت تشخیص داده شده بودند، همگی (۱۰۰ درصد) با نظر گرفتن آغازگرها و تکثیر قطعاتی به اندازه ۲۷۹ جفت نوکلئوتید بر مبنای سکانس ژن nuc در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* مثبت تشخیص و مورد تأیید قرار گرفتند (شکل ۱).

[1]- Muller-Hinton Agar (MHA)

[2]- Clinical and laboratory standards Institute



شکل (۱): تصویر ژل آگاروز محصولات تکثیر شده ژن nuc به اندازه ۲۷۹ جفت باز از جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*.
چاهک ۱: نشانگر مولکولی ۵۰ جفت بازی (SinaClon, Iran)، چاهک‌های ۲-۷: جدایه‌های استافیلوکوکوس دارای ژن nuc

نتایج آزمایشات مقاومت به آنتی‌بیوتیک جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس:

نتایج آزمون غربالگری جدایه‌های استافیلوکوکوس به‌روش دیسک دیفیوژن نشان دادکه از مجموع ۴۴ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس به‌دست آمده، هفت جدایه (۱۶ درصد) نسبت به اگزاسیلین مقاوم بودند که یک جدایه (۱/۷ درصد) مربوط به تانک و شش جدایه (۲۰ درصد) مربوط به مراکز عرضه شیر خام بودند و به‌عنوان جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین شناسایی شدند (جدول ۱).

بیش‌ترین میزان مقاومت جدایه‌ها متعلق به آنتی‌بیوتیک پنی سیلین شامل ۲۶ جدایه (۱/۵۹ درصد) بود (جدول ۲). پس ازآن مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۴/۵۴ درصد)، کلوگزاسیلین (۵/۴۵ درصد)، تتراسایکلین (۲/۴۳ درصد)، سفالوتین (۹/۴۰ درصد)، اگزاسیلین (۱۶ درصد)، آموکسی سیلین (۹/۱۵ درصد)، لینکومایسین و استرپتومایسین (۴/۱۱ درصد)، اریترومایسین (۱/۹ درصد)، کانامایسین (۸/۶ درصد) مشاهده شد. هیچ‌کدام ازجدایه‌ها نسبت به دو آنتی‌بیوتیک توبرامایسین و جنتامایسین مقاومت نشان ندادند. علاوه بر این، جدایه‌ها نسبت به دو آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول وکلرآمفنیکل (۵/۴ درصد) نیز از مقاومت بسیار پایینی برخوردارابودند (جدول ۲).

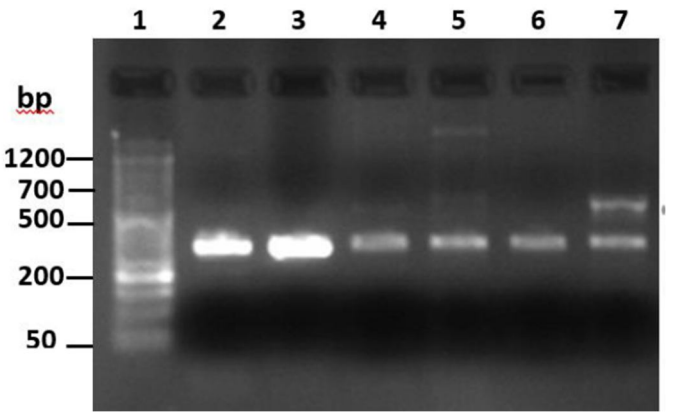
جدول (۲): نتایج آنتی بیوگرام به دست آمده از شیرهای خام گاو جمع‌آوری شده درسطح شهرستان ارومیه

	غلظت	درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی (٪)		
	(میکروگرم/واحد)	تانک ذخیره	مراکز عرضه شیر	تعداد کل
آموکسی سیلین	۲۵	۲ (۳/۱۴)	۵ (۷/۱۶)	۷ (۹/۱۵)
آمپی سیلین	۱۰	۶ (۹/۴۲)	۱۸ (۶۰)	۲۴ (۵/۵۴)
سفالوتین	۳۰	۵ (۷/۳۵)	۱۳ (۳/۴۳)	۱۸ (۹/۴۰)
کلرآمفنیکل	۳۰	۰	۲ (۷/۶)	۲ (۵/۴)
کلوکساسیلین	۵	۵ (۷/۳۵)	۱۵ (۵۰)	۲۰ (۵/۴۵)
کوتریموکسازول	۲۵/۱، ۷۵/۲۳	۰	۲ (۷/۶)	۲ (۵/۴)
اریترومایسین	۱۵	۱ (۱/۷)	۳ (۱۰)	۴ (۱/۹)
جنتامایسین	۱۰	۰	۰	۰
کانامایسین	۳۰	۱ (۱/۷)	۲ (۷/۶)	۳ (۸/۶)
لینکومایسین	۱۵	۲ (۳/۱۴)	۳ (۱۰)	۵ (۴/۱۱)
اگزاسیلین	۱	۱ (۱/۷)	۶ (۲۰)	۷ (۱۶)

پنی‌سیلین G	۱۰ واحد	۷ (۵۰)	۱۹ (۳/۶۳)	۲۶ (۱/۵۹)
استرپتومایسین	۱۰	۲ (۳/۱۴)	۳ (۱۰)	۵ (۴/۱۱)
تتراسایکلین	۳۰	۷ (۵۰)	۱۲ (۴۰)	۱۹ (۲/۴۳)
توبرامایسین	۱۰	۰	۰	۰
مقاومت به یک آنتی بیوتیک	-	۵ (۷/۳۵)	۷ (۳/۲۳)	۱۲ (۳/۲۷)
مقاومت به دو آنتی بیوتیک	-	۴ (۶/۲۸)	۵ (۷/۱۶)	۹ (۵/۲۰)
مقاومت چند دارویی	-	۵ (۷/۳۵)	۱۸ (۶۰)	۲۳ (۳/۵۲)

شناسایی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین با استفاده از تکثیر ژن mecA:

مقاومت به متی‌سیلین با آغازگرهای اختصاصی ژن mecA بررسی شد. شکل ۲ الکتروفورز ژل آگارز برای محصول تکثیر شده ژن mecA را با استفاده از PCR نشان می‌دهد.



شکل (۲): تصویر ژل آگاروز محصولات تکثیر شده ژن *nuc* به اندازه ۳۱۰ جفت باز از جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*. چاهک ۱: نشانگر مولکولی ۵۰ جفت بازی (SinaClon)، چاهک ۲: کنترل مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین) چاهک‌های ۳-۷: جدایه‌های *استافیلوکوکوس* دارای ژن *mecA*.

قطعه ژن تکثیر شده با آغازگرهای اختصاصی باند ۳۱۰ جفت باز است. از تعداد ۴۴ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس*، تعداد پنج جدایه (۴/۱۱ درصد) دارای ژن mecA بودند. از این پنج جدایه تعداد چهار جدایه (۳/۱۳ درصد) مربوط به جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مراکز عرضه شیر بود و تعداد یک جدایه (۱/۷ درصد) مربوط به تانک‌های شیر بودند (جدول ۱).

بحث و نتیجه گیری

حضور MRSA در مواد غذایی با منشاء دامی طی مطالعاتی گزارش شده است. برخی از این مطالعات بر روی گوشت بخصوص گوشت خوک و طیور انجام شده و بخش عمده دیگر در محصولات مختلف لبنی بوده است (۳, ۱۶-۲۰). نتایج کلی مطالعات نشان می‌دهد که درصد نمونه‌های مثبت MRSA در گزارشات مختلف متفاوت بوده و انواع مختلفی از MRSA در محصولات غذایی با منشاء دامی وجود دارد. در گاو، MRSA عامل ایجاد ورم پستان است. بنابراین در اغلب موارد منشاء MRSA حیوان مبتلا به ورم پستان است. در کنار آن، گزارشاتی از جداسازی MRSA از تانک نگهداری شیر وجود دارد. تشخیص اینکه علت حضور MRSA در شیر ورم پستان بوده و یا آلودگی در حین حمل‌ونقل مشکل است (۳).

از تعداد ۲۹۰ نمونه شیر خام گاو (۱۴۴ نمونه از تانک‌های نگهداری شیر گاوداری‌ها و ۱۴۶ نمونه از محل‌های عرضه درسطح شهرستان ارومیه) جمع‌آوری شده، تعداد ۴۴ نمونه (۲/۱۵ درصد) *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت جداسازی شد که ۱۴ نمونه (۷/۹ درصد) از تانک‌های نگهداری شیر و ۳۰ نمونه (۵/۲۰ درصد) از محل‌های عرضه شیر بود. همه جدایه‌های *استافیلوکوکوس* به‌روش بیوشیمیایی در آزمایش PCR و تکثیر قطعاتی به اندازه ۲۷۹ جفت نوکلئوتید بر مبنای سکانس ژن nuc به‌عنوان *استافیلوکوکوس*

اورئوس مثبت تشخیص و مورد تأیید قرار گرفتند. آراگون و همکاران در سال ۲۰۰۷ ضمن آنالیز ۱۷۲ نمونه غذایی شامل شیر، پنیر نرم و سخت، بستنی و غذاهای آماده مثل ساندویچ عرضه شده در بازار شهر برزیل، گزارش کردند که ۲۶ نمونه (۱/۱۵ درصد) از غذاهای آزمایش شده آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآکولاز مثبت بودند (۱۶). دستمالچی ساعی و همکاران نیز ۵۸ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* را از ۳۷۰ نمونه شیر خام که از سطح گاوداری‌های آذربایجان غربی و شرقی از گاوهای با ورم پستان بالینی و تحت بالینی موجود در ۹ گاوداری شیری جمع‌آوری کرده بودند، جدا کردند (۲۱). نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر با مطالعات قبلی که در آن‌ها سطح بالایی از آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* را در شیر خام و فرآورده‌های لبنی و غذایی با منشأ دامی نشان می‌دهد هم خوانی دارد (۲۲-۲۵).

نتایج آزمون غربالگری جدایه‌های *استافیلوکوکوس* به روش دیسک دیفیوژن نشان داد که از مجموع ۴۴ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* به دست آمده، هفت جدایه (۱۶ درصد) نسبت به اگزاسیلین مقاوم بودند که یک جدایه (۱/۷ درصد) مربوط به تانک و شش جدایه (۲۰ درصد) مربوط به مراکز عرضه شیر خام بودند و به‌عنوان جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین شناسایی شدند. هیچ‌کدام از جدایه‌ها نسبت به دو آنتی‌بیوتیک توبرامایسین و جنتامایسین مقاومت نشان ندادند. درصد بالای مقاومت به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، کلوگزاسیلین و تتراسایکلین نشان‌دهنده میزان بالای مصرف این آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان و کنترل عفونت‌ها در حیوانات می‌باشد (۲۶, ۲۷). علاوه براین، جدایه‌ها نسبت به دو آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول وکلرآمفنیکل (۵/۴ درصد) نیز ازمقاومت بسیار پایینی برخوردار بودند، که مشابه نتایج به دست آمده توسط جمالی و همکاران در استان مازندران (۱)، گائو و همکاران در چین (۲۷) و عارفی و همکاران در مشهد (۱۷) می‌باشد. طبق نتایج به‌دست آمده میزان مقاومت نسبت به سه آنتی‌بیوتیک لینکومایسین، کانامایسین و استرپتومایسین که جزو آنتی‌بیوتیک‌های دامی می‌باشند در تانک‌های ذخیره شیر نسبت به مراکز عرضه شیر بیشتر می‌باشد، که این نتایج نشان دهنده مقادیری از آلودگی‌های ثانویه است که از طریق انسان به شیر منتقل می‌شود. یکی از یافته‌های مهم در این مطالعه، مشاهده ۳/۵۲ درصد مقاومت چند دارویی در بین جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* بود که مشابه نتایج به دست آمده توسط هارن و همکاران در مینه سوتا و شیتا ندی و همکاران در کنیا می‌باشد (۲۸, ۲۹).

از تعداد ۴۴ جدایه *استافیلوکوکوساورئوس*، تعدادپنج جدایه (۱/۴ درصد) دارای ژن *mecA* بودند. از این پنج جدایه تعداد چهار جدایه (۳/۱۳ درصد) مربوط به جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مراکز عرضه شیر و یک جدایه (۱/۷ درصد) مربوط به تانک‌های شیر بودند. در مطالعه○ جامع، شیوع و مقاومت آنتی‌بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* در شیر خام گاو و گوسفند، پنیر و کشک عرضه شده در استان مازندران بررسی گردید. از مجموع ۲۶۵۰ نمونه، در ۳۲۸ نمونه (۴/۱۲ درصد) *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی گردید و ۵۳ نمونه (۲/۱۶ درصد) *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین بودند (۱). از مجموع ۳۸۳ نمونه شیر خام جمع‌آوری شده از گله‌های گاو شیری در شهر میلان ایتالیا، ۳۵ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شد. بیشتر از نیمی از جدایه‌ها انتروتوکسیژنیک بودند. در این مطالعه هفت جدایه MRSA تشخیص داده شدند (۶). شناسایی تیپ‌های اشاره شده نشان دهنده ورود سویه‌های MRSA اکتسابی از جامعه در شهر میلان و سویه‌های اکتسابی از بیمارستان است که نشان دهنده انتقال باکتری از انسان به حیوان است. همچنین در ۶۳۵ نمونه شیر خام جمع‌آوری شده از تانک‌های ذخیره شیر در آلمان توسط کروسون و همکاران در فاصله سال‌های ۲۰۰۹ و ۲۰۱۰، تعداد ۲۸ نمونه MRSA جدا شد (۳۰). نورمانو و همکاران در مطالعات جامعی که بروی ۱۶۳۴ نمونه که شامل ۶۴۱ نمونه فرآورده‌های شیری و ۹۹۳ نمونه فرآورده‌های گوشتی بودند انجام دادند، در مجموع ۲۰۹ جدایه (۱۲/۸ درصد) *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی نمودند که ۱۰۹ (۱۷ درصد) جدایه از فرآورده‌های شیری و ۱۰۰ جدایه (۱۰ درصد) از فرآورده‌های گوشتی بودند. آن‌ها از مجموع ۱۶۳۴ نمونه فرآورده‌های گوشتی و شیری، تعداد شش نمونه (۷۵/۳ درصد) را آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین گزارش کردند (۳۱). همچنین در مطالعاتی که میرزایی و همکاران در تبریز بر روی ۳۰۰ نمونه شیر خام، شیر پاستوریزه و بستنی انجام دادند، ۶۹ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی شد که ۲۰ نمونه MRSA بودند (۳۲). پکسار و همکاران طی تحقیقاتی که در سال ۲۰۱۳ بر روی شیر و لبنیات در رابطه با میزان شیوع MRSA انجام دادند، بیشترین شیوع را در اتیوپی آفریقا ۳/۶۰ درصد، و در کشورهای آسیایی بیشترین مقدار را در ایران با ۳/۲۸ درصد و کمترین مقدار را در کره و ژاپن گزارش کردند (۳۳). هارن و همکاران طی مطالعاتی که در سه فصل بهار، پاییز و زمستان سال ۲۰۰۹ بر روی ۱۵۰ نمونه شیر خام جمع‌آوری شده از تانک‌های ذخیره شیر خام از ۵۰ مزرعه پرورش گاوهای شیری انجام دادند، دو جدایه MRSA شناسایی نمودند (۲۸).

طبق نتایج به دست آمده شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* و MRSA در مراکز عرضه شیر نسبت به تانک‌های ذخیره شیر بیشتر می‌باشد. این نتایج نشان‌دهنده آلودگی ثانویه و عدم رعایت اصول بهداشتی حین حمل‌ونقل و عرضه شیر می‌باشد. از آنجایی که شیر

یک غذای کامل بوده و می‌تواند محیط مناسبی برای فعالیت باکتری‌های مختلف باشد و با توجه به اهمیت وافر این ماده غذایی در سبد غذایی خانوارها، رعایت اصول بهداشتی حائز اهمیت بالایی می‌باشد. بنابراین با توجه به میزان آلودگی شیر خام به *استافیلوکوکوس اورئوس*، آموزش دامداران در جهت رعایت اصول و موازین بهداشتی ضروری است. به‌طور کلی رعایت و کنترل اصول بهداشتی در تمام مراحل تهیه، عرضه و مصرف شیر می‌تواند از آلودگی انسان به عوامل بیماری‌زا جلوگیری نماید. محدودیت زمانی و تعداد کم نمونه از موانع این مطالعه بشمار می‌روند. لذا تکرار مطالعه با تعداد نمونه بیشتر و در فاصله زمانی طولانی‌تر توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات بی دریغ جناب آقای دکتر قاسم مهدی و گروه بهداشت مواد غذایی و مسئولین محترم آزمایشگاههای بهداشت مواد غذایی، میکروبیولوژی و انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه جناب آقای مهندس بدلی، جناب آقای مهندس کاظم نیا و جناب آقای مهندس عباس زاده نهایت تشکر و قدردانی را می‌نمایم.

References:

1. Jamali H, Paydar M, Radmehr B, Ismail S, Dadrasnia A. Prevalence and antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus isolated from raw milk and dairy products. Food Control 2015;54(Supplement C):383-8.
2. Bhunia AK. Staphylococcus aureus. Foodborne Microbial Pathogens: Springer; 2018. p. 181-92.
3. Wendlandt S, Schwarz S, Silley P. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a food-borne pathogen? Annu Rev Food Sci Technol 2013;4:117-39.
4. Rola J, Korpysa-Dzirba W, Czubkowska A, Osek J. Prevalence of enterotoxin genes and antimicrobial resistance of coagulase-positive staphylococci recovered from raw cow milk. Journal of Dairy Science 2015;98(7):4273-8.
5. Tsegmed U, Normanno G, Pringle M, Krovacek K. Occurrence of enterotoxic Staphylococcus aureus in raw milk from yaks and cattle in Mongolia. J Food Prot 2007;70(7):1726-9.
6. Riva A, Borghi E, Cirasola D, Colmegna S, Borgo F, Amato E, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in raw milk: Prevalence, SCC mec typing, enterotoxin characterization, and antimicrobial resistance patterns. J Food Prot 2015;78(6):1142-6.
7. Türkyılmaz S, Tekbıyık S, Oryasin E, Bozdogan B. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance mechanisms of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from bovine milk. Zoonoses and Public Health 2010;57(3):197-203.
8. McKay AM. Antimicrobial resistance and heat sensitivity of oxacillin-resistant, mecA-positive Staphylococcus spp. from unpasteurized milk. J Food Prot 2008;71(1):186-90.
9. Rola JG, Sosnowski M, Ostrowska M, Osek J. Prevalence and antimicrobial resistance of coagulase-positive staphylococci isolated from raw goat milk. Small Rumin Res 2015;123(1):124-8.
10. Ferreira JP, Anderson KL, Correa MT, Lyman R, Ruffin F, Reller LB, et al. Transmission of MRSA between companion animals and infected human patients presenting to outpatient medical care facilities. PLoS One 2011;6(11):e26978.
11. Vázquez-Sánchez D, López-Cabo M, Saá-Ibusquiza P, Rodríguez-Herrera JJ. Incidence and characterization of Staphylococcus aureus in fishery products marketed in Galicia (Northwest Spain). Int J Food Microbiol 2012;157(2):286-96.
12. Zouharova M, Rysanek D. Multiplex PCR and RPLA identification of Staphylococcus aureus enterotoxigenic strains from bulk tank milk. Zoonoses and Public health 2008;55(6):313-9.
13. Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA. Detection of Staphylococcus aureus by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. J Clin Microbiol 1992;30(7):1654-60.

14. Humphries R, Bobenchik AM, Hindler JA, Schuetz AN. Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100. J Clin Microbiol 2021;59(12):e00213-21..
15. Zhang K, Sparling J, Chow BL, Elsayed S, Hussain Z, Church DL, et al. New quadriplex PCR assay for detection of methicillin and mupirocin resistance and simultaneous discrimination of Staphylococcus aureus from coagulase-negative staphylococci. J Clin Microbiol 2004;42(11):4947-55.
16. Aragon-Alegro LC, Konta EM, Suzuki K, Silva MG, Júnior AF, Rall R, et al. Occurrence of coagulase-positive Staphylococcus in various food products commercialized in Botucatu, SP, Brazil and detection of toxins from food and isolated strains. Food control 2007;18(6):630-4.
17. Arefi F, Mohsenzadeh M, Razmyar J. Isolation, antimicrobial susceptibility and mecA gene analysis of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Iranian white cheeses. Iran J Vet Res 2014;15(2):127-31.
18. Can HY, Celik TH. Detection of enterotoxigenic and antimicrobial resistant S. aureus in Turkish cheeses. Food Control 2012;24(1-2):100-3.
19. Hyeon J-Y, Chung G-T, Bing S-H, Kwon K-S, Lee H-H, Kim S-J, et al. A foodborne outbreak of Staphylococcus aureus associated with fried chicken in Republic of Korea. Journal of microbiology and biotechnology 2013;23(1):85-7.
20. Ho J, O'donoghue M, Guardabassi L, Moodley A, Boost M. Characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates from pig carcasses in Hong Kong. Zoonoses and public health 2012;59(6):416-23.
21. Saei HD, Ahmadi M, Mardani K, Batavani R. Molecular typing of Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis based on polymorphism of the coagulase gene in the north west of Iran. Veterinary microbiology 2009;137(1-2):202-6.
22. Alian F, Rahimi E, Shakerian A, Momtaz H, Riahi M, Momeni M. Antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus isolated from bovine, sheep and goat raw milk. Global Veterinaria 2012;8(2):111-4.
23. Normanno G, Corrente M, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia N, Parisi A, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. Int J Food Microbiol 2007;117(2):219-22.
24. Jorgensen H, Mathisen T, Løvseth A, Omoe K, S Qvale K, Loncarevic S. An outbreak of staphylococcal food poisoning caused by enterotoxin H in mashed potato made with raw milk2005. P. 267-72.
25. Aakre Jakobsen R, Heggebo R, Bekvik Sunde E, Skjervheim M. Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes in Norwegian raw milk cheese production 2011. p.492-6.
26. Gao J, Ferreri M, Yu F, Liu X, Chen L, Su J, et al. Molecular types and antibiotic resistance of Staphylococcus aureus isolates from bovine mastitis in a single herd in China2011. 550-2 p.
27. Jamali H, Radmehr B. Frequency, virulence genes and antimicrobial resistance of Listeria spp. isolated from bovine clinical mastitis. The Veterinary Journal 2013;198(2):541-2.
28. Haran K, Godden S, Boxrud D, Jawahir S, Bender J, Sreevatsan S. Prevalence and characterization of Staphylococcus aureus, including methicillin-resistant Staphylococcus aureus, isolated from bulk tank milk from Minnesota dairy farms. J Clin Microbiol 2012;50(3):688-95.
29. Shitandi A, Sternesjö Å. Prevalence of multidrug resistant Staphylococcus aureus in milk from large- and small-scale producers in Kenya. Journal of dairy science 2004;87(12):4145-9.

from meat and dairy products. Int J Food Microbiol 2007;115(3):290-6.

30. Kreausukon K, Fetsch A, Kraushaar B, Alt K, Müller K, Krömker V, et al. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus from bulk tank milk of dairy herds. Journal of dairy science 2012;95(8):4382-8.
31. Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia N, Corrente M, Parisi A, et al. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated
32. Hamid M, Hosain F, Hesam T, Mahdi F, Alireza M. Presence and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in raw and pasteurized milk and ice cream in Tabriz by culture and PCR techniques. African Journal of Microbiology Research 2012;6(32):6224-9.
33. Pexara A, Solomakos N, Govaris A. Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in milk and dairy products. 2013.

Original Article

PREVALENCE OF METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN RAW COW'S MILK COLLECTED FROM STORAGE TANKS AND MILK SUPPLY CENTERS IN URMIA CITY, IRAN, AND DETERMINATION OF THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE

Rojan modaresi[1], Hossein Tajik[2], Karim Mardani[3]

Received: 30 June, 2020; Accepted: 17 October, 2022

Abstract

Background & Aims: Staphylococcus aureus (S. aureus) is one of the most important food-borne pathogens that causes staphylococcal poisoning in humans. This study aimed to isolate and identify Staphylococcus aureus and methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in raw cow milk, phenotypic and genotypic identification of them, and determination of the resistance pattern of isolates in Urmia city, Iran.

***Materials &Methods*:** 290 samples of raw cow's milk from May to December 2016 were collected from milk storage tanks in cattle farms and milk supply places in Urmia city, Iran, and were transferred to the food hygiene laboratory under sterile and cold conditions for their isolation process. Staphylococcus aureus was transferred using the usual microbiological and biochemical methods. To confirm coagulase positive isolates, nuc gene identification method was used. In order to identify the phenotypic isolates resistant to methicillin, Kirby-Bauer disk diffusion method and genotypic identification of mecA gene were used.

***Results*:** 44 isolates were collected from 290 milk samples (144 samples from milk storage tanks and 146 samples from milk supply places), which from them, 14 isolates (7.9%) were from milk storage tanks and 30 isolates (20.5%) were from the milk supply places. The presence of Staphylococcus aureus in the samples was confirmed by polymerase chain reaction. Out of a total of 44 isolates, 7 isolates (16%) were resistant to Oxacillin, which from them, one isolate (7.1%) was from the tanks and 6 isolates (20%) were from the raw milk supply centers. They were detected as Staphylococcus aureus isolates which were resistant to Methicillin. The highest level of resistance of the isolates belonged to Penicillin (59.1%). None of the isolates showed resistance to Vancomycin, Tobramycin, and Gentamicin. From five isolates (4.1%) which had mecA gene, 4 isolates (13.3%) were related to milk supply centers and one isolate (7.1%) were related to milk tanks.

***Discussion &Conclusion*:** According to the obtained results, the prevalence of Staphylococcus aureus and MRSA in milk supply centers is higher than that in the milk storage tanks. These results indicate secondary contamination and non-observance of hygienic principles during transportation and supply of milk.

Keywords: Staphylococcus Aureus, Antibiotic Resistance, Raw Cow's Milk, Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA)

Address: Urmia university, Faculty of veterinary medicine, Urmia, Iran
Tel: +989144412909
Email: modaresi_r@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2022: 33(3): 193 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2022 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[1] *PhD student, Urmia University, Faculty of veterinary medicine, Urmia, Iran (Corresponding Author)*
[2] *Professor, Urmia University, Faculty of veterinary medicine, Urmia, Iran*
[3] *Professor, Urmia University, Faculty of veterinary medicine, Urmia, Iran*