Iranian Journal of Medical Microbiology | ISSN:2345-4342

Molecular Typing and Drug Resistance Patterns of *Staphylococcus aureus* Isolated From Raw Beef and Chicken Meat Samples

Samaneh Farahmand[1], Mehri Haeili[1]*, Davood Darban-Sarokhalil[2]

1. *Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran*
2. *Department of Microbiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

10.30699/ijmm.14.5.468

ABSTRACT

Background: *Staphylococcus aureus* is one of the most important food-borne pathogens. The objective of this study was to determine the prevalence, molecular types and drug resistance pattern of *S. aureus* isolated from retail meat in Tabriz city.

Materials & Methods: 60 raw meat samples (chicken and beef) were taken from different markets and were inoculated in selective Mueller Hinton broth media supplemented with 10% NaCl. Identification of *S. aureus* isolates was performed using conventional biochemical tests. Susceptibility to different antibiotics and genotypes of isolates were determined by disc diffusion and *spa* typing methods respectively.

Results: Fifteen *S. aureus* strains were isolated from 60 different meat samples which belonged to *spa* types t14870, t3802, t1814, t491, t386, t3424 and *spa* type t14870 with the frequency of 33.3% was the most prevalent genotype among *S. aureus* isolates. *spa* types of three isolates were not found in Ridom Spa Server data base and were considered as novel types. About 46.6% of isolates were resistant to more than one antibiotic and 13.3% of isolates were identified as methicillin resistant *S. aureus* (MRSA). Tigecycline, imipenem and ceftaroline were found to be the most effective agents against *S. aureus* isolates.

Conclusion: Oure results revealed a 25% contamination rate with *S. aureus*. Most of the molecular types of isolates were found to be linked to human infections. High rate of antibiotic resistance was observed among the isolates which poses a great threat to public health.

Keywords: *Staphylococcus aureus,* MRSA, *spa* typing, Meat, Antibiotic resistance

Received: 2020/05/07; **Accepted**: 2020/08/17; **Published Online:** 2020/09/26

Corresponding Information: **Mehri Haeili,** Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
Email: m.haeili@tabrizu.ac.ir

Copyright © 2020, This is an original open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribution of the material just in noncommercial usages with proper citation.

Use your device to scan and read the article online

Farahmand S, Haeili M, Darban-Sarokhalil D. Molecular Typing and Drug Resistance Patterns of Staphylococcus aureus Isolated from Raw Beef and Chicken meat Samples. Iran J Med Microbiol. 2020; 14 (5) :478-489

Download citation: BibTeX | RIS | EndNote | Medlars | ProCite | Reference Manager | RefWorks

Send citation to: Mendeley Zotero RefWorks

Introduction

Staphylococcus aureus is one of the most important foodborne pathogens and the most common causes of food poisoning (1). This bacterium is known in many countries as the third leading cause of foodborne illnesses after *Salmonella* and *Vibrio parahaemolyticus* (2). Milk, dairy products and meat are some of the foods associated with staphylococcal food poisoning [1]. This bacterium multiplies quickly at room temperature and secretes its heat-resistant enterotoxins, causing food poisoning following consumption of foods contaminated with these toxins. *S. aureus* is also a cause of various diseases in humans such as skin and soft tissue infections, bacteremia and pneumonia and is a serious problem in hospitals and the food industry (3). The pathogenicity of

S. aureus is mediated by the bacterial specific structure and extracellular secretions such as various toxins. In recent decades, the widespread use of antibiotics has led to the emergence of multidrug-resistant (MDR) bacterial strains. *S. aureus* has a high adaptive capacity to varying environmental conditions and quickly becomes resistant to virtually all antibiotics **(4)**. Recently, MDR strains of *S. aureus* have been frequently reported from food poisoning outbreaks and isolated from various food products **(3, 5, 6)**. In particular, isolation of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) from meat products raises concerns that these contaminated meats may be a means of transmitting MRSA to human communities **(7)**. The term livestock-associated MRSA (LA-MRSA) is used to differentiate methicillin-resistant *S. aureus* of human origin (acquired from hospital or community) from those isolated from livestock. LA-MRSA strains have the potential to cause disease in humans and often show multidrug resistance profiles **(8)**. Genotyping of microbial strains is important to understand how bacteria spread, to find a possible source of infection, and to identify the dominant types. There are several molecular methods for typing of *S. aureus* and MRSA strains. These methods include DNA fingerprinting by PFGE, SCC *mec* typing and sequencing-based methods such as *spa*-typing and MLST **(3, 9)**. In *spa* typing, the polymorphism of x-region of the *spa* gene (encoding surface protein A) is examined by PCR and sequencing. Because x-region has high degrees of polymorphism, it can be used in genotyping studies. The discriminatory power of *spa* typing method is lower than PFGE and higher than MLST. This method is more cost-effective than methods such as MLST that require sequencing of at least 7 genes, or the PFGE method **(10, 11).**

Since meat and meat products are known as important reservoirs of *S. aureus* and have been involved in various outbreaks, the aim of this study was to investigate the contamination rate of meat samples collected from different parts of Tabriz city with *S. aureus* and to determine the drug resistance pattern and genotypes of obtained isolates.

Materials and Methods

Isolation of *S. aureus* from meat samples

Raw beef and chicken samples were collected from various meat shops in Tabriz from June 2019 to January 2020. For sampling, 10 grams of meat sample was taken and placed in sterile tubes containing Mueller-Hinton broth supplemented with 10% NaCl. The tubes were transferred to the laboratory at cold temperature and placed in an incubator at 37°C for 24 hours. Then, different dilutions were prepared and 10 to 20 µL of each dilution was transferred to mannitol salt agar medium and placed at 37 ° C for 24 hours. Colonies with yellow halo on mannitol salt agar medium were selected and after purification on nutrient agar medium were subjected for identification by microscopic observation and conventional biochemical methods (catalase, coagulase and DNase tests).

Antimicrobial Susceptibility Testing

For this purpose, disk diffusion was performed by Kirby Bauer method and using paper disks containing the following antibiotics: ampicillin, ceftaroline, imipenem, levofloxacin, ciprofloxacin, sulfamethoxazole-trimethoprim (BBL Sensi-Disc ™, MD, BBL) and tigecycline (Mast Co, Merseyside, UK). Interpretation of disk diffusion results was performed according to the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) **(12)**. Interpretation of the results for tigecycline was performed using FDA guidelines, according to which bacteria with an inhibition zone diameter of 19 mm and more were considered susceptible to tigecycline.

Identification of Methicillin-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus*

Two phenotypic and genotypic methods were used to identify MRSA strains. In the phenotypic method, the susceptibility of the studied isolates to cefoxitin 30 µg (BBL Sensi-Disc ™, Becton – Dickinson, Sparks, MD) was evaluated by disk diffusion method. Strains with an inhibition zone diameter of 21 mm or less were considered as cefoxitin resistant and categorized as MRSA. In the genotypic method, detection of *mecA* and *mecC* genes was performed by PCR method using primers listed in Table 1.

Determination of Molecular types of *S. aureus* Isolates by *spa* Typing Method

DNA extraction was performed by boiling method as follows; a loop full of bacterial colonies grown on the nutrient agar medium was dissolved in 950 µL of PBS buffer. The tubes were centrifuged for 10 minutes at 7000 rpm. The precipitate was dissolved in 200µl of sterile TE buffer (1x) and boiled for 10 minutes. After centrifugation at 13,000 rpm for 20 minutes, the supernatant was transferred to another container and 1:10 dilution of supernatant was used as DNA template in PCR reaction (https: // www. eurl-ar.eu/CustomerData/Files/Folders/21-protocols/278_mcr-multiplex-pcr-protocol-v2-oct16.pdf).

To amplify the *spa* gene, PCR was performed in a final volume of 50 µL containing 25 µL of Taq DNA Polymerase Master Mix Red solution (Ampliqon, Denmark), 2.8 µL of each of the reverse and forward primers (Table 1), 17.4 µL of distilled water, 2 µL of template DNA and according to the following program:

One cycle at 95°C for 10 minutes (First denaturation), 30 cycles including 1-95°C for 30 seconds (Denaturation), 2 -58 °C for 45 seconds (Annealing), 3-72°C for 45 seconds (Extension), and final extension at 72°C for 10 minutes. The sequences of PCR products were determined by Codon company and analyzed by ChromasPro software. Isolates were assigned to

particular *spa* types using the *spa* typing website ((http://www.spaserver.ridom.de).

Table 1. Nucleotide sequences of primers used in PCR reaction

Primer name	Sequence (5' to 3')	Size of product (bp)	Reference
MecA-F MecA-R	TGGCTCAGGTACTGCTATCCAC AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC	777	This study
MecC-F MecC-R	GAAAAAAAGGCTTAGAACGCCTC TGGCTCCTAATGCTAATGCAATG	594	This study
spa-1113f spa-1514r	TAAAGACGATCCTTCGGTGAGC CAGCAGTAGTGCCGTTTGCTT	Variable	[11]

Results

Determination of the Frequency and Drug Susceptibility of *S. aureus* Isolated from Meat Samples

A total of 60 raw meat samples (chicken (18 samples) and beef (42 samples)) were collected from meat markets in Tabriz during the study period. Fifteen isolates (25%) were obtained from these samples which were identified as *S. aureus* being observed as Gram-positive cocci with grape-like cluster arrangement under microscopic examination and being positive for catalase, coagulase and DNase tests. The contamination rates in chicken and beef samples were 27.7% and 23.8%, respectively. All isolates were evaluated for multi-drug resistance phenotype, the results of which are shown in Table 2. According to drug susceptibility testing results, all isolates (100%) were susceptible to imipenem, tigecycline and ceftaroline. The observed resistance rate to ampicillin, cefoxitin, quinolones and sulfamethoxazole-trimethoprim were 100%, 13.3%, 33.3% and 20%, respectively.

Identification of Methicillin-resistant *S. aureus* Isolates

MRSA isolates were identified by disk diffusion (cefoxitin disk) and PCR methods (detection of *mecA/C* gene). Among 15 *S. aureus* isolates obtained from meat samples, two were resistant to cefoxitin (with halo diameters of 17 and 19 mm) and harbored *mecA* gene. The *mecC* gene was not detected in any of the isolates.

Determination of Molecular Types of *S. aureus* Isolates by *spa* Typing Method

For all isolates identified as *S. aureus* by phenotypic methods, PCR for *spa* gene was performed using specific primers. Types t14870 and t3802 were the most abundant *spa* types observed in five (33.3%) and two (13.3%) isolates respectively. *spa* types of three isolates were not detected in the database and were considered as new types. Also, in terms of distribution of molecular types among different meat samples, t14870, which was the most common *spa* type was found in 40% and 30% of chicken and beef isolates, respectively. While multidrug resistance phenotype was observed in three of five isolates belonging to t14870 type (60%), the strains belonging to t3802 type (the second most common type) were associated with single drug resistance phenotype. Methicillin-resistant strains also belonged to *spa* types t1814 and t386, which were isolated from beef and chicken samples, respectively (Table 2).

Table 2. Genotype and drug susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolated from meat samples

Isolate	*spa* type	Type of meat sample	Antimicrobial resistance profile
SA1	t14870	Chicken	AM, CIP, LVX
SA2	New type	Beef	AM
SA3	t3802	Chicken	AM
SA4	t1814	Beef	AM, FOX
SA5	t14870	Chicken	AM, CIP, LVX,SXT
SA6	t14870	Beef	AM, CIP, LVX,SXT
SA7	t491	Beef	AM
SA8	New type	Chicken	AM
SA9	t3802	Beef	AM

Isolate	*spa* type	Type of meat sample	Antimicrobial resistance profile
SA10	New type	Beef	AM
SA11	t386	Chicken	AM,FOX
SA12	t14870	Beef	AM
SA13	Non typeable	Beef	AM
SA14	t3424	Beef	AM, CIP, LVX
SA15	t14870	Beef	AM, CIP, LVX,SXT

CIP, ciprofloxacin; LVX, levofloxacin; SXT, trimethoprim/sulphamethoxazole; AM, ampicillin; FOX, cefoxitin;

Discussion

Improper use of human antibiotics in agriculture as a growth promoter or as a prophylactic agent with a dose lower than the treatment dose causes selective pressure on the bacterial populations living in the intestines of animals and the development of resistance. These resistant bacteria can be transmitted directly or indirectly to humans through animal products and cause disease in humans, or they can be a repository for the transmission of antibiotic resistance genes to human pathogenic bacteria **(13, 14)**.

There are evidences supporting the transmission of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* clones, from livestock to human being presumably through the food chains **(15)**. Numerous studies have described the colonization of various animals with *S. aureus*, and methicillin resistant isolates have also been reported from food producing animals **(16)**. In 2017, the World Health Organization recognized MRSA as one of the 12 families of bacteria that pose a serious threat to human health **(17)**. In the present study, a 25% contamination rate with *S. aureus* (27.7% chicken, 23.8% beef) was observed among meat samples collected from different parts of Tabriz city. The rate of contamination observed in this study was similar to the results of Ge *et al.*, who reported a *S. aureus* contamination rate of 27.9% in meat samples studied in the United States **(18)**. This rate of contamination is also lower than that reported by Tang *et al.*, who described *S. aureus* contamination rate of 68% in meat samples from Denmark **(19)**.

In the present study, 46.6% of the isolates were resistant to more than one antibiotic. Imipenem, tigecycline, and Ceftaroline fosamil were the most effective agents against *S. aureus* isolated from meat samples. In contrast, 100, 20 and 33% of isolates were resistant to ampicillin, sulfamethoxazole-trimethoprim and quinolones respectively. This amount of resistance observed against quinolones, as one of the most important antibiotics used for the treatment of upper respiratory and genitourinary tract infections, can be attributed to the widespread use of these antibiotics in farm animals.

In a study performed by Wu *et al.*, who studied 1,850 raw meat samples and meat products from 39 cities in China, 35% of the samples were found to be contaminated with *S. aureus*. Only 1.26% of *S. aureus* isolates obtained from meat samples were sensitive to all 26 tested antibiotics, 94.6% were non-susceptible to more than 3 antibiotics and 12% of isolates showed resistance to more than 10 antibiotics (6). Xing *et al.*, reported that 98.4% and 58.6% of the studied *S. aureus* were resistant to more than one and three antibiotics respectively **(20)**.

We found methicillin-resistant bacteria in 10 and 20% of the isolates obtained from beef and chicken samples, respectively. Isolates SA4 and SA11 (13.3%) belonging to *spa* types t1814 and t386 were classified as MRSA. Resistance to methicillin in these two strains was confirmed by both phenotypic and genotypic methods.

The frequency of MRSA observed in this study was higher than the values reported by Wu *et al.*, in which 7.14% of *S. aureus* strains isolated from meat samples were identified as MRSA **(6)**.

The prevalence of MRSA in meat samples varies in different geographical regions and rates of 1.9% in the United States, 0.5% in Korea, 13% in Denmark and 24.8% in Canada have been reported **(18, 19, 21, 22)**.

The source of microbial contamination of meat can be endogenous originating from the animal microbiota or it can be exogenous, which is related to environmental pollutants and people involved in processing and transporting meat from slaughterhouses to meat markets. Using *spa* typing technique, type t14870 with a frequency of 33.3% was identified as the predominant *spa* type in *S. aureus* isolates obtained from meat samples being observed in 40% and 30% of chicken and beef isolates, respectively. In three of the five isolates belonging to this type (60%) the multidrug resistance phenotype was observed, so that 80% of quinolones resistant isolates and all isolates resistant to sulfamethoxazole-trimethoprim belonged to type t14870. This type is one of the rare types in the world and there are few studies reporting detection of this genotype in human samples **(23)**. Also, *spa* types t3802,

t1814, t491 and t386 that were identified among the studied samples are common human types **(24-26)**. Identification of common *spa* types of human infections among isolates obtained from meat samples in this study indicates that these contaminants are probably of human origin and therefore have the potential to be pathogenic in human. Also, 3 isolates characterized with new *spa* types that were not found in the Ridom *spa* Server database and were reported for the first time in the world. Drug susceptibility testing in these isolates revealed the single drug resistance phenotype (ampicillin resistance).

The high genetic diversity observed among the studied strains indicates that the clonal expansion was not occurred and the contaminating bacteria may have originated from various sources. Wu *et al.* reported ST1-t127 and ST7-t091as the two dominant *spa* types in 10.7% and 10.6% of *S. aureus* isolates obtained from meat samples, respectively **(6)**. Narvaez *et al.* examined the prevalence of MRSA in meat samples from three pork factories in Canada. According to their results, most LA-MRSA isolates belonged to *spa* types t034 and t011. A 10% resistance rate to tigecycline was observed and less than 3% of isolates were resistant to daptomycin, gentamicin and trimethoprim-sulfamethoxazole **(22)**.

Conclusion

Overall, the results of this study showed a 25% contamination rate with *S. aureus* in raw meat samples and most of the identified molecular types were linked with human infections. Identification of MRSA as an important human pathogen, in meat samples is a serious threat to food safety as there is always a potential for these resistant isolates to easily spread across the country via food chain or direct contact. Reducing the agricultural use of important medical antibiotics such as quinolones and other families of antimicrobials in the farm animals can contribute to reduced resistance to these antibiotics. Therefore, proper control should be done on the consumption of antibiotics in food animals and food hygiene in different stages of their preparation (animal husbandry, slaughterhouse, packaging, etc.) to prevent the emergence and dissemination of drug resistant bacteria.

Acknowledgment

This study was supported by the University of Tabriz.

Conflict of Interest

Authors declared no conflict of interests.

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۴ ـ شماره ۵ ـ مهر و آبان ۱۳۹۹

Journal homepage: www.ijmm.ir

تعیین تیپ‌های مولکولی و الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های گوشت گوساله و مرغ خام

سمانه فرهمند[۱]، مهری هائیلی[۱*]، داوود دربان ساروخلیل[۲]

۱. گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲. گروه میکروب‌شناسی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم‌پزشکی ایران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچهٔ مقاله

دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۱۸

پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۲۷

انتشار آنلاین: ۱۳۹۹/۰۷/۰۶

موضوع:

میکروبیولوژی مواد غذایی

نویسندهٔ مسئول:

مهری هائیلی، گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

ایمیل: m.haeili@tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه و اهداف: *استافیلوکوکوس اورئوس* یکی از پاتوژن‌های مهم منتقله از غذا می باشد. اهداف این مطالعه تعیین فراوانی، تیپ های مولکولی و الگوی مقاومت دارویی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های گوشت در شهر تبریز بود.

مواد و روش کار: شصت نمونه گوشت گوساله و مرغ خام از فروشگاه های مختلف گرفته شد و در محیطهای انتخابی مولر هینتون براث حاوی ۱۰٪ NaCl تلقیح گردید. شناسایی جدایه‌ها با روشهای بیوشیمیایی معمول انجام گرفت. حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش دیسک دیفیوژن و ژنوتیپ جدایه‌ها با روش *spa* typing تعیین شد.

یافته‌ها: پانزده سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* از ۶۰ (۲۵٪) نمونه گوشت مختلف جداسازی شد که به ژنوتیپ های t14870 ، t3802، t1814، t491 ، t386 وt3424 تعلق یافتند و t14870 با فراوانی ۳۳.۳٪ به‌عنوان فراوانترین *spa* type شناخته شد. *spa* type سه جدایه نیز در پایگاه داده‌ای Ridom Spa Server یافت نشد و به‌عنوان تیپ های جدید در نظر گرفته شدند. حدود ۴۶/۶٪ از جدایه‌ها به بیش از یک آنتی‌بیوتیک مقاوم بوده و ۱۳/۳٪ به‌عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین شناخته شدند. تایگی سیکلین، ایمی پنم و سفتارولین موثرترین ترکیبات علیه جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نرخ آلودگی ۲۵٪ با *استافیلوکوکوس اورئوس* را نشان می دهد. غالب تیپ های مولکولی مشاهده شده به عفونت‌های انسانی ارتباط داده شد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالایی در میان جدایه‌ها مشاهده شد که هشدار جدی برای سلامت عمومی محسوب می‌شود.

کلید واژه‌ها: *استافیلوکوکوس اورئوس*، MRSA، *spa* typing، گوشت، مقاومت آنتی‌بیوتیک

کپی‌رایت © مجله میکروب شناسی پزشکی ایران: دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده غیرتجاری با ذکر منبع آزاد است.

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از پاتوژن‌های مهم منتقله از غذا است و از شایع‌ترین علل مسمومیت‌های غذایی به شمار می‌آید (۱). این باکتری در بسیاری از کشورها به‌عنوان سومین عامل بروز بیماری‌های غذایی بعد از *سالمونلا* و *ویبریو پاراهمولیتیکوس* شناخته شده است (۲). شیر، فراورده های شیری و گوشت از جمله‌های غذاهای مرتبط با مسمومیت استافیلوکوکوسی محسوب می‌شوند (۱). این باکتری در دمای اتاق به‌سرعت تکثیر یافته و انتروتوکسین‌های مقاوم به حرارت خود را ترشح می‌کند و مصرف غذاهای آلوده به این توکسین‌ها باعث ایجاد مسمومیت غذایی می‌شود. *استافیلوکوکوس اورئوس* همچنین عامل بیماری‌های مختلفی در انسان مثل عفونت‌های پوست و بافت نرم، باکتریمی و پنومونی بوده و به‌عنوان یک مشکل جدی در بیمارستان‌ها و صنعت غذایی به شمار می رود (۳). بیماریزایی *استافیلوکوکوس اورئوس* توسط ساختار باکتریایی و ترشحات خارج سلولی مثل انواع توکسین ها ایجاد می‌شود. در دهه های اخیر استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها عامل ظهور سویه‌های باکتریایی مقاوم چند دارویی شده است. *استافیلوکوکوس اورئوس* ظرفیت تطابق پذیری بالایی به شرایط محیطی مختلف داشته و به سرعت به تقریبا تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌شود (۴). اخیرا سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به چند دارو مکررا از همه‌گیری‌های ناشی از مسمومیت‌های غذایی گزارش و از محصولات غذایی متعددی جداسازی شده‌اند (۳، ۵، ۶). به‌ویژه

جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin Resistant *S. aureus* (MRSA)) از محصولات گوشتی این نگرانی را ایجاد می‌کند که این گوشت‌های آلوده وسیله‌ای برای انتقال MRSA به جوامع بشری باشند (۷). اصطلاح Livestock-Associated MRSA (LA-MRSA) یا MRSA مرتبط با احشام برای افتراق *استافیلوکوکوس اورئوس* های مقاوم به متی‌سیلین با منشا انسانی (کسب شده از بیمارستان یا جامعه) از انواع جدا شده از احشام بکار برده می‌شود. سویه‌های LA-MRSA توانایی ایجاد بیماری در انسان را داشته و غالبا مقاوم به چند دارو هستند (۸).

تیپ‌بندی سویه‌های میکروبی برای پی بردن به نحوهٔ انتشار باکتری، یافتن منبع احتمالی عفونت‌ها و شناسایی تیپ‌های غالب موجود بسیار حائز اهمیت است. روش‌های مولکولی متعددی برای تیپ بندی و شناسایی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و MRSA وجود دارد. از جمله این روش‌ها می‌توان به انگشت‌نگاری DNA با روش PFGE، SCC *mec* typing و روش‌های مبتنی بر توالی‌یابی مانند *spa*-typing و MLST اشاره کرد (۳, ۹).

در روش *spa* typing ناحیهٔ x از ژن *spa* (رمز کننده‌ی پروتئین سطحی A) با PCR گسترش یافته و توالی‌یابی می‌شود. به دلیل اینکه ناحیهٔ x دارای پلی‌مورفیسم بالایی است، می‌تواند در بررسی‌های افتراقی و تیپ‌بندی استفاده شود. این روش در مقایسه با روش PFGE قدرت تمایز کمتر و نسبت به روش MLST قدرت تمایز بالاتری دارد. این روش نسبت به روش‌هایی مثل MLST که نیاز به توالی‌یابی حداقل۷ ژن دارد و یا روش PFGE مقرون به‌صرفه‌تر است (۱۰, ۱۱). با توجه به اینکه گوشت و محصولات گوشتی به‌عنوان مخازن مهم *استافیلوکوکوس اورئوس* شناخته شده و در گسترش شیوع دخیل بوده‌اند، هدف از این مطالعه، بررسی میزان آلودگی نمونه‌های گوشت جمع‌آوری شده از مناطق مختلف شهر تبریز، ایران با باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و تعیین الگوی مقاومت دارویی و ژنوتیپ جدایه‌های به‌دست آمده بود.

روش پژوهش

جداسازی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه‌های گوشت

نمونه‌های گوشت گوساله و مرغ خام از فروشگاه‌های گوشت مختلف سطح شهر تبریز از خرداد ۹۸ تا دی ماه ۹۸ جمع‌آوری شدند. جهت نمونه برداری ۱۰ گرم گوشت گرفته شد و در لوله‌های استریل حاوی محیط مولر هینتون براث دارای ۱۰٪ NaCl قرار داده شد. لوله‌ها در دمای سرد به آزمایشگاه منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. سپس رقت‌های مورد نظر تهیه شده و از هر رقت ۱۰ تا۲۰ میکرولیتر بر روی محیط مانیتول سالت آگار انتقال داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. کلنی‌های دارای هاله زرد بر روی محیط مانیتول سالت آگار انتخاب شده و پس از خالص سازی بر روی محیط نوترینت آگار با مشاهده میکروسکوپی و روش‌های بیوشیمیایی مرسوم (تست های کاتالاز، کواگولاز و DNase) شناسایی شدند.

تست حساسیت ضد میکروبی

بدین منظور دیسک دیفیوژن با روش Kirby Bauer و با استفاده از دیسک های کاغذی حاوی آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سفتارولین، ایمی‌پنم، لووفلوکساسین، سیپروفلوکساسین، سولفامتو-کسازول-تری‌متوپریم، (BBL Sensi-Disc™, Becton–Dickinson, Sparks, MD) و تایگی سایکلین (Mast Co, Merseyside, UK) انجام شد. تفسیر نتایج روش انتشار از دیسک در مورد همه آنتی‌بیوتیک‌ها به جز تایگی سایکلین با توجه به استانداردهای Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) انجام گرفت (۱۲). تفسیر نتایج مربوط به تایگی سایکلین با استفاده از دستورالعمل سازمان FDA انجام شد که بر اساس آن باکتری‌هایی با قطر هاله عدم رشد ≤ ۱۹ میلیمتر به‌عنوان حساس به تایگی‌سیکلین در نظر گرفته شدند.

شناسایی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین

جهت شناسایی سویه‌های MRSA از دو روش فنوتیپی و ژنوتیپی استفاده شد. در روش فنوتیپی حساسیت جدایه‌های مورد مطالعه به سفوکسیتین ۳۰ میکروگرم (BBL Sensi-Disc™, Becton–Dickinson, Sparks, MD) با روش انتشار از دیسک مورد ارزیابی قرار گرفت. سویه‌هایی که دارای قطر هاله عدم رشد ۲۱ mm≤ بودند به‌عنوان سویه‌های مقاوم به سفوکسیتین تلقی گردیده و به‌عنوان MRSA در نظر گرفته شدند. در روش ژنوتیپی ردیابی ژن‌های *mecA* و *mecC* در تمامی جدایه‌های به‌دست‌آمده با روش PCR و با استفاده از پرایمرهای لیست شده در جدول ۱ انجام گرفت.

تعیین تیپ‌های مولکولی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با روش *spa*-typing

برای استخراج DNA برای واکنش PCR از روش جوشاندن به شرح زیر استفاده شد:

یک لوپ پر از کلنی باکتری رشدیافته روی محیط نوترینت اگار در ۹۵۰ میکرولیتر بافر PBS موجود در تیوپ های ۱/۵ میلی‌لیتری استریل حل شد. تیوپ‌ها در میکروفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی بیرون ریخته شد. رسوب در ۲۰۰ میکرولیتر بافر TE (1x) استریل حل شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجهٔ سلسیوس جوشانده شد. مایع رویی بعد از انجام سانتریفوژ به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه به ظرف دیگری انتقال داده شد و پس از عمل رقیق سازی ۱:۱۰ به‌عنوان عصارهٔ حاوی DNA در واکنش PCR مورد استفاده گرفت (لینک). برای تکثیر ژن *spa*، واکنش PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر حاوی ۲۵ µL محلول Taq DNA Polymerase Master Mix Red (Ampliqon, Denmark)، ۲/۸ µL از هرکدام از پرایمرهای ریورس و فوروارد (جدول ۱)، ۱۷/۴ µL آب مقطر، ۲ µL DNA الگو و طبق برنامه زیر انجام گردید: یک سیکل دمای ۹۵°C به مدت ۱۰ دقیقه (First denaturation)، ۳۰ سیکل شامل ۱- دمای ۹۵°C به مدت ۳۰ ثانیه (Denaturation) ، ۲- دمای ۵۸ °C به مدت ۴۵ ثانیه (Annealing)، ۳- دمای ۷۲°C به مدت ۴۵ ثانیه (Extension)، در پایان دمای ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه (Final Extension).

توالی محصولات PCR توسط شرکت کدون تعیین و توسط نرم افزار ChromasPro آنالیز شد. در نهایت نوع و ترتیب توالی‌های تکراری در نتیجه مقایسه آنها با توالی‌های موجود در پایگاه داده‌ای Ridom *Spa* Server پیدا شده و *spa* تایپ هر جدایه مشخص گردید.

جدول ۱. توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR

نام پرایمر	توالی (5' to 3')	اندازه محصول (bp)	منبع
MecA-F MecA-R	TGGCTCAGGTACTGCTATCCAC AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC	۷۷۷	این مطالعه
MecC-F MecC-R	GAAAAAAAGGCTTAGAACGCCTC TGGCTCCTAATGCTAATGCAATG	۵۹۴	این مطالعه
1113f-spa 1514r-spa	TAAAGACGATCCTTCGGTGAGC CAGCAGTAGTGCCGTTTGCTT	متغیر	[11]

یافته‌ها

تعیین فراوانی و حساسیت دارویی *استافیلوکوکوس اورئوس* های جدا شده از نمونه‌های گوشت

در مجموع ۶۰ نمونه گوشت خام (گوشت مرغ (۱۸ نمونه) و گوشت گوساله (۴۲ نمونه)) از فروشگاه‌های گوشت سطح شهر تبریز در مدت زمان مطالعه جمع‌آوری شد. از این تعداد نمونه ۱۵ جدایه (۲۵٪) به‌دست آمد که به صورت کوکوس‌های گرم مثبت با آرایش خوشه انگوری در بررسی میکروسکوپی مشاهده شدند و دارای نتایج مثبت در تست‌های کاتالاز، کواگولاز و DNase بوده و به‌عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی شدند. میزان آلودگی مشاهده شده در گوشت مرغ و گوساله به ترتیب ۲۷/۷٪ و ۲۳/۸٪ بود. تمام نمونه‌ها از نظر میزان مقاومت دارویی چند گانه مورد ارزیابی قرار گرفتند که نتایج آنها در جدول ۲ نشان داده شده است. در تست تعیین حساسیت دارویی تمامی جدایه‌ها (۱۰۰٪) به ایمی‌پنم، تایگی سایکلین و سفتارولین حساس بودند. میزان مقاومت مشاهده شده علیه آمپی‌سیلین، سفوکسیتین، کوئینولون‌ها و سولفامتوکسازول-تری متوپریم به ترتیب ۱۰۰، ۱۳/۳، ۳۳/۳ و ۲۰ درصد بود.

شناسایی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین

شناسایی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) با دو روش دیسک دیفیوژن با دیسک سفوکسیتین و ردیابی ژن *mecA/C* صورت گرفت. از میان ۱۵ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌دست‌آمده از نمونه‌های گوشت دو جدایه مقاوم به سفوکسیتین بوده (با قطر هاله های ۱۷و ۱۹ میلی‌متر) و در هر دو جدایه ژن *mecA* شناسایی شد. لازم به ذکر است ژن *mecC* در هیچ کدام از جدایه‌های مورد بررسی شناسایی نشد.

تعیین تیپ‌های مولکولی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با روش *spa* typing

برای تمامی ایزوله‌هایی که در روش فنوتیپی به‌عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* تعیین هویت شدند، PCR ژن *spa* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام گرفت. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده

تیپ‌های t14870 و t3802 از فراوان‌ترین *spa* type های مشاهده شده در جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌دست‌آمده از نمونه‌های گوشت بودند که به ترتیب در ۵ (۳۳/۳٪) و ۲ (۱۳/۳ ٪) جدایه مشاهده شدند. *spa* type سه جدایه در پایگاه داده‌ای مورد بررسی ردیابی نشده و به‌عنوان تیپ های جدید در نظر گرفته شدند. همچنین از نظر توزیع تیپ‌های مولکولی در میان نمونه‌های گوشت مختلف، t14870 که شایع‌ترین *spa* type در میان نمونه‌های مورد بررسی بود به‌ترتیب در ۴۰٪ و ۳۰٪ از جدایه‌های گوشت مرغ و گوساله مشاهده شد. درحالی‌که در سه جدایه از پنج جدایه متعلق به تیپ t14870 (۶۰٪) فنوتیپ مقاومت چند دارویی مشاهده گردید سویه‌های متعلق به تیپ t3802 (دومین تیپ شایع در مطالعه حاضر) با مقاومت تک دارویی همراه بودند. سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین نیز به *spa* type های t1814 و t386 تعلق یافتند که به‌ترتیب از نمونه‌های گوشت گوساله و مرغ جداسازی شدند (جدول ۲).

جدول ۲. ژنوتیپ و الگوی حساسیت دارویی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های گوشت

جدایه	*spa* type	نوع نمونه گوشت	الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی
SA1	t14870	مرغ	آمپی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین
SA2	New type	گوساله	آمپی‌سیلین
SA3	t3802	مرغ	آمپی‌سیلین
SA4	t1814	گوساله	آمپی‌سیلین، سفوکسیتین
SA5	t14870	مرغ	آمپی‌سیلین، سولفامتوکسازول-تری متوپریم، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین
SA6	t14870	گوساله	آمپی‌سیلین، سولفامتوکسازول-تری متوپریم، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین
SA7	t491	گوساله	آمپی‌سیلین
SA8	New type	مرغ	آمپی‌سیلین
SA9	t3802	گوساله	آمپی‌سیلین
SA10	New type	گوساله	آمپی‌سیلین
SA11	t386	مرغ	آمپی‌سیلین، سفوکسیتین
SA12	t14870	گوساله	آمپی‌سیلین
SA13	Non typeable	گوساله	آمپی‌سیلین
SA14	t3424	گوساله	آمپی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین
SA15	t14870	گوساله	آمپی‌سیلین، سولفامتوکسازول-تری متوپریم، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین

بحث

استفاده بی رویه و نادرست از آنتی‌بیوتیک‌های قلمرو پزشکی در کشاورزی به‌عنوان محرک رشد یا به‌عنوان عامل پیشگیری کننده با دوز کمتر از دوز درمان باعث ایجاد فشار انتخابی روی جمعیت‌های باکتریایی ساکن روده حیوانات و بروز مقاومت می‌شود. این گونه باکتری‌های مقاوم می‌توانند به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق فرآورده‌های دامی به انسان انتقال یافته و در انسان ایجاد بیماری کنند یا اینکه مخزن انتقال ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها به باکتری‌های بیماری‌زای انسان باشند (۱۳, ۱۴). شواهدی مبنی بر انتقال سویه‌های *اشریشیا کلی* مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف از احشام به انسان از طریق زنجیره‌های غذایی وجود دارد (۱۵).

مطالعات متعددی کلونیزه شدن حیوانات مختلف با *استافیلوکوکوس اورئوس* را توصیف کرده‌اند و جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین نیز از حیوانات با کاربرد غذایی گزارش شده‌اند (۱۶). سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۷ MRSA را به‌عنوان یکی از ۱۲ خانواده باکتریایی که تهدید جدی برای سلامت انسان است معرفی نمود (۱۷). در مطالعه حاضر نرخ آلودگی ۲۵٪ درصدی با

استافیلوکوکوس اورئوس (گوشت مرغ ۲۷/۷٪، گوشت گوساله ۲۳/۸٪) در میان نمونه‌های گوشت جمع‌آوری شده از مناطق مختلف شهر تبریز مشاهده شد. میزان آلودگی مشاهده شده در این تحقیق مشابه با نتایج Ge و همکاران بود که نرخ آلودگی *استافیلوکوکوس اورئوس* ۲۷.۹٪ را در نمونه‌های گوشت مورد مطالعه در امریکا گزارش کردند (۱۸). همچنین این نرخ از آلودگی کمتر از مقادیر گزارش شده توسط Tang و همکاران است که میزان آلودگی *استافیلوکوکوس اورئوس* ۶۸٪ در نمونه‌های گوشت به دست آمده از دانمارک را گزارش کردند (۱۹). در مطالعه حاضر ۴۶/۶٪ از جدایه‌ها به بیش از یک آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. آنتی‌بیوتیک‌های ایمی پنم، تایگی‌سایکلین و سفتارولین موثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* های جدا شده از نمونه‌های گوشت بوده و هیچ مقاومتی علیه انها مشاهده نشد. در مقابل مقاومت بسیار بالا به آمپی‌سیلین (۱۰۰٪)، مقاومت ۲۰ درصدی علیه سولفامتوکسازول-تری متوپریم و مقاومت ۳۳ درصدی علیه کینولون‌ها مشاهده گردید. این میزان مقاومت مشاهده شده علیه کوئینولون ها -که به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در حوزه پزشکی برای درمان عفونت‌های ناحیه تنفسی فوقانی و ناحیه تناسلی-ادراری هستند – می‌تواند به استفاده گسترده دامی این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها مرتبط باشد. در مطالعه Wu و همکاران که در چین ۱۸۵۰ نمونه گوشت خام و محصولات گوشتی از ۳۹ شهر چین جمع‌آوری کرده بودند ٪۳۵ نمونه‌ها با *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند. تنها ۱/۲۶٪ از جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌دست‌آمده از نمونه‌های گوشت به تمامی ۲۶ آنتی‌بیوتیک مورد بررسی حساس بوده، ۹۴/۶٪ از جدایه‌ها به بیش از ۳ آنتی‌بیوتیک مقاومت یا حساسیت حدواسط داشتند و ۱۲٪ جدایه‌ها به بیش از ۱۰ آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند (۶). در مطالعه Xing و همکاران ۹۸/۴٪ از *استافیلوکوکوس اورئوس* های مورد مطالعه به بیش از یک آنتی‌بیوتیک و ۵۸/۶٪ به بیش از سه آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند (۲۰).

نکته حائز اهمیت در تحقیق حاضر مشاهده باکتری‌های مقاوم به متی‌سیلین بود که به ترتیب در ۱۰ و ۲۰ درصد از جدایه‌های به‌دست‌آمده از نمونه‌های گوشت گوساله و مرغ مشاهده گردید. دو جدایه SA4 و SA11 (۱۳.۳٪) که به *spa* تیپ های t1814 و t386 تعلق داشتند به‌عنوان MRSA طبقه‌بندی شدند. مقاومت به متی‌سیلین در این دو سویه با هر دو روش فنوتیپی و ژنوتیپی تایید شد. فراوانی MRSA مشاهده شده در این مطالعه بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط Wu و همکاران بود که در ان ۷/۱۴٪ از سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از گوشت به‌عنوان MRSA شناسایی شدند (۶). شیوع MRSA در نمونه‌های گوشت مورد مطالعه در مناطق جغرافیایی مختلف متفاوت بوده و نرخ های ۱/۹٪ از نمونه‌های گوشت در امریکا، ۰/۵٪ در کره، ۱۳٪ در دانمارک و ۲۴/۸٪ در کانادا گزارش شده‌اند (۱۸, ۱۹, ۲۱, ۲۲).

منشا جدایه‌های باکتریایی موجود در گوشت می‌تواند درون‌زاد و از باکتری‌های فلور نرمال خود حیوان بوده یا اینکه برون‌زاد باشد که به آلودگی‌های محیط و افرادی که در فراوری و حمل گوشت از کشتارگاه تا مراکز فروش نقش دارند مربوط است. با استفاده از تکنیک *spa* typing، تیپ t14870 با فراوانی۳۳/۳٪ به‌عنوان غالب‌ترین *spa* type در جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌دست‌آمده از نمونه‌های گوشت شناخته شد که به‌ترتیب در ۴۰٪ و ۳۰٪ از جدایه‌های گوشت مرغ و گوساله مشاهده گردید. لازم به ذکر است که در سه جدایه از پنج جدایه متعلق به این تیپ (۶۰٪) فنوتیپ مقاومت چند دارویی مشاهده شد، طوری که ۸۰ درصد از جدایه‌های مقاوم به کوئینولون‌ها و تمامی جدایه‌های مقاوم به سولفامتوکسازول-تری متوپریم به تیپ t14870 تعلق داشتند. این تیپ جزو تیپ های نادر در جهان است وگزارشات معدودی راجع به آن وجود دارد که جداسازی این ژنوتیپ را از نمونه‌های انسانی توصیف کرده‌اند (۲۳). همچنین *spa* تیپ‌های t3802، t1814، t491 و t386 که در میان نمونه‌های مورد مطالعه شناسایی شدند نیز از تیپ های شایع در نمونه‌های انسانی هستند (۲۴-۲۶). بنابراین مشاهده *spa* تیپ های شایع عامل عفونت‌های انسانی در میان سویه‌های جداشده از نمونه‌های گوشت در این مطالعه بیانگر این امر است که این آلودگی‌ها احتمالا منشا انسانی داشته و در نتیجه دارای پتانسیل پاتوژن بودن در انسان هستند. همچنین ۳ جدایه نیز *spa* type جدید داشتند که در پایگاه داده‌ای Ridom *spa* Server یافت نشدند و برای نخستین بار در جهان گزارش می‌شوند. بررسی حساسیت دارویی در این سه جدایه، فنوتیپ مقاومت تک‌دارویی (مقاومت به آمپی‌سیلین) را مشخص نمود. تنوع ژنتیکی بالای مشاهده شده در میان سویه‌های مورد بررسی نشان‌دهنده این امر است که پدیدهٔ گسترش کلونال در سویه‌های آلوده‌کننده نمونه‌های گوشت وجود ندارد و باکتری‌های جداسازی شده احتمالا از منابع متنوع باعث آلودگی نمونه‌های گوشت شده‌اند. در مطالعه Wu و همکاران دو *spa* تیپ غالب شامل ST1-t127 و ST7-t091 بودند که به ترتیب در ۱۰/۷ و ۱۰/۶ درصد جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌دست‌آمده از نمونه‌های گوشت مشاهده شد (۶) Narvaez و همکاران شیوع MRSA را در نمونه‌های گوشت به‌دست‌آمده از سه

کارخانه تولید گوشت خوک در کانادا بررسی نمودند. بر اساس نتایج آنها اغلب جدایه‌های LA-MRSA به *spa* تیپ های t034 و t011 تعلق داشتند و مقاومت ۱۰ درصدی به تایجی سایکلین و مقاومت کمتر از ۳٪ به آنتی‌بیوتیک‌های داپتومایسین، جنتامایسین و تری متوپریم-سولفامتوکسازول مشاهده شد (۲۲).

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج این تحقیق نرخ آلودگی ۲۵٪ با *استافیلوکوکوس اورئوس* را نشان داد و غالب تیپ های مولکولی مشاهده شده به عفونت‌های انسانی ارتباط داده شد. مشاهده جدایه‌های MRSA در این نمونه‌ها که از مهمترین پاتوژن‌های مطرح در پزشکی است به‌عنوان یک خطر جدی برای بهداشت مواد غذایی بوده و همواره پتانسیلی برای انتقال این سویه‌های مقاوم به انسان از طریق زنجیره غذایی و انتشار آنها در جامعه وجود دارد. کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌های مهم پزشکی نظیر کوئینولون‌ها و دیگر خانواده‌ها در صنعت پرورش دام می‌تواند در کاهش مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها دخیل باشد. بنابراین باید کنترل مناسبی بر میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در حیوانات با کاربرد غذایی و بهداشت مواد غذایی در مراحل مختلف تهیه آنها از پرورش دام، کشتارگاه، بسته‌بندی و..... صورت گیرد تا از پیدایش و انتقال باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها ممانعت شود.

سپاسگزاری

مقاله حاضر از پایان‌نامه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی در آزمایشگاه میکروبیولـوژی دانشـگاه تبریز استخراج گردیده و بدینوسیله از حمایـت دانشـگاه تبریـز تشکرو قدردانی می‌شود.

تعارض در منافع

این مقاله پژوهشی مستقل است که بدون حمایت مالی سازمانی انجام شده است. در انجام مطالعهٔ حاضر، نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافعی نداشته‌اند.

Referance

1. Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. Staphylococcus aureus and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. BioMed research international. 2014;2014. [DOI:10.1155/2014/827965] [PMID] [PMCID]
2. Wei-Wei L, Zhu J, Zhen S, Liang X, Jiang Y, Ning L. Analysis of foodborne disease outbreaks in China mainland in 2011. Chin J Food Hygiene. 2018;30:283-8.
3. Jackson CR, Davis JA, Barrett JB. Prevalence and characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates from retail meat and humans in Georgia. Journal of clinical microbiology. 2013;51:1199-207. [DOI:10.1128/JCM.03166-12] [PMID] [PMCID]
4. McCallum N, Berger-Bächi B, Senn MM. Regulation of antibiotic resistance in Staphylococcus aureus. International Journal of Medical Microbiology. 2010;300:118-29. [DOI:10.1016/j.ijmm.2009.08.015] [PMID]
5. Papadopoulos P, Papadopoulos T, Angelidis AS, Boukouvala E, Zdragas A, Papa A, et al. Prevalence of Staphylococcus aureus and of methicillin-resistant S. aureus (MRSA) along the production chain of dairy products in north-western Greece. Food microbiology. 2018;69:43-50. [DOI:10.1016/j.fm.2017.07.016] [PMID]
6. Wu S, Huang J, Wu Q, Zhang J, Zhang F, Yang X, et al. Staphylococcus aureus isolated from retail meat and meat products in China: incidence, antibiotic resistance and genetic diversity. Frontiers in microbiology. 2018;9:2767. [DOI:10.3389/fmicb.2018.02767] [PMID] [PMCID]
7. Voss A, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf M. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in pig farming. Emerging infectious diseases. 2005;11:1965. [DOI:10.3201/eid1112.050428] [PMID] [PMCID]
8. Kadlec K, Entorf M, Peters T. Occurrence and characteristics of livestock-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus in quarter milk samples from dairy cows in Germany. Frontiers in microbiology. 2019;10. [DOI:10.3389/fmicb.2019.01295] [PMID] [PMCID]
9. Wang X, Li G, Xia X, Yang B, Xi M, Meng J. Antimicrobial susceptibility and molecular typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in retail foods in Shaanxi, China. Foodborne pathogens and disease. 2014;11:281-6. [DOI:10.1089/fpd.2013.1643] [PMID]
10. Koreen L, Ramaswamy SV, Graviss EA, Naidich S, Musser JM, Kreiswirth BN. spa typing method for discriminating among Staphylococcus aureus isolates: implications for use of a single marker to detect genetic micro-and macrovariation. Journal of clinical microbiology. 2004;42:792-9. [DOI:10.1128/JCM.42.2.792-799.2004] [PMID] [PMCID]
11. Strommenger B, Braulke C, Heuck D, Schmidt C, Pasemann B, Nübel U, et al. spa typing of Staphylococcus aureus as a frontline tool in epidemiological typing. Journal of clinical microbiology. 2008;46:574-81. [DOI:10.1128/JCM.01599-07] [PMID] [PMCID]
12. Patel JB. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.

13. Founou LL, Founou RC, Essack SY. Antibiotic resistance in the food chain: a developing country-perspective. Frontiers in microbiology. 2016;7:1881. [DOI:10.3389/fmicb.2016.01881] [PMID] [PMCID]

14. Chang Q, Wang W, Regev-Yochay G, Lipsitch M, Hanage WP. Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be? Evolutionary applications. 2015;8:240-7. [DOI:10.1111/eva.12185] [PMID] [PMCID]

15. Kluytmans JA, Overdevest IT, Willemsen I, Kluytmans-Van Den Bergh MF, Van Der Zwaluw K, Heck M, et al. Extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli from retail chicken meat and humans: comparison of strains, plasmids, resistance genes, and virulence factors. Clinical Infectious Diseases. 2012;56:478-87. [DOI:10.1093/cid/cis929] [PMID]

16. Gharsa H, Slama KB, Lozano C, Gómez-Sanz E, Klibi N, Sallem RB, et al. Prevalence, antibiotic resistance, virulence traits and genetic lineages of Staphylococcus aureus in healthy sheep in Tunisia. Veterinary microbiology. 2012;156:367-73. [DOI:10.1016/j.vetmic.2011.11.009] [PMID]

17. Asokan GV, Vanitha A. WHO global priority pathogens list on antibiotic resistance: an urgent need for action to integrate one health data. Perspectives in public health. 2018;138:87-8. [DOI:10.1177/1757913917743881] [PMID]

18. Ge B, Mukherjee S, Hsu C-H, Davis JA, Tran TTT, Yang Q, et al. MRSA and multidrug-resistant Staphylococcus aureus in US retail meats, 2010-2011. Food microbiology. 2017;62:289-97. [DOI:10.1016/j.fm.2016.10.029] [PMID]

19. Tang Y, Larsen J, Kjeldgaard J, Andersen PS, Skov R, Ingmer H. Methicillin-resistant and-susceptible Staphylococcus aureus from retail meat in Denmark. International journal of food microbiology. 2017;249:72-6. [DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.001] [PMID]

20. Xing X, Li G, Zhang W, Wang X, Xia X, Yang B, et al. Prevalence, antimicrobial susceptibility, and enterotoxin gene detection of Staphylococcus aureus isolates in ready-to-eat foods in Shaanxi, People's Republic of China. Journal of food protection. 2014;77:331-4. [DOI:10.4315/0362-028X.JFP-13-301] [PMID]

21. Kim YJ, Oh DH, Song BR, Heo EJ, Lim JS, Moon JS, et al. Molecular characterization, antibiotic resistance, and virulence factors of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from imported and domestic meat in Korea. Foodborne pathogens and disease. 2015;12:390-8. [DOI:10.1089/fpd.2014.1885] [PMID]

22. Narvaez-Bravo C, Toufeer M, Weese S, Diarra M, Deckert A, Reid-Smith R, et al. Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Canadian commercial pork processing plants. Journal of applied microbiology. 2016;120:770-80. [DOI:10.1111/jam.13024] [PMID]

23. Alni RH, Mohammadzadeh A, Mahmoodi P. Molecular typing of Staphylococcus aureus of different origins based on the polymorphism of the spa gene: characterization of a novel spa type. 3 Biotech. 2018;8:58. [DOI:10.1007/s13205-017-1061-6] [PMID] [PMCID]

24. Abbasian S, Farahani NN, Mir Z, Alinejad F, Haeili M, Dahmardehei M, et al. Genotypic characterization of Staphylococcus aureus isolated from a burn centre by using agr, spa and SCCmec typing methods. New microbes and new infections. 2018;26:15-9. [DOI:10.1016/j.nmni.2018.08.001] [PMID] [PMCID]

25. Rijnders M, Deurenberg R, Boumans M, Hoogkamp-Korstanje J, Beisser P, Stobberingh E. Population structure of Staphylococcus aureus strains isolated from intensive care unit patients in the Netherlands over an 11-year period (1996 to 2006). Journal of clinical microbiology. 2009;47:4090-5. [DOI:10.1128/JCM.00820-09] [PMID] [PMCID]

26. Hashemizadeh Z, Hadi N, Mohebi S, Kalantar-Neyestanaki D, Bazargani A. Characterization of SCCmec, spa types and Multi Drug Resistant of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates among inpatients and outpatients in a referral hospital in Shiraz, Iran. BMC research notes. 2019;12:614. [DOI:10.1186/s13104-019-4627-z] [PMID] [PMCID]