شیوع، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های کد کننده انتروتوکسین در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از برخی غذاهای آماده مصرف

منوچهر مومنی شهرکی*[1] ، سید سیاوش ساعی دهکردی[1] ، زهرا همتی[2]
۱- گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران.
۲- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
momeniman@yahoo.com

چکیده
استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین یکی از اصلی‌ترین عوامل نوظهور ایجاد کننده مسمومیت‌های غذایی مقاوم به آنتی-بیوتیک در انسان است که توان تولید انتروتوکسین مقاوم به حرارت را دارد. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی میزان شیوع، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های کد کننده انتروتوکسین در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از غذا های آماده مصرف در شهرستان شهرکرد انجام پذیرفت. در این مطالعه تعداد ۱۲۵ نمونه غذای آماده مصرف جمع آوری و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند. به‌منظور جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس* از کشت میکروبی استفاده و ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین با استفاده از دیسک های سفوکسیتین و اگزاسیلین تایید شدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های کد کننده انتروتوکسین به ترتیب با استفاده از روش‌های انتشار دیسک و PCR ارزیابی شدند. میزان شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین در نمونه‌های کباب‌کوبیده، جوجه‌کباب، همبرگردستی و سوسیس به ترتیب ۶۸/۴۲، ۶۶/۶۶، ۶۲/۵ و ۲۸/۵۷ درصد بود. ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی را نسبت به آنتی‌بیوتیک-های پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، داکسی سیکلین (۸۰/۶۴ درصد)، تتراسیکلین (۷۷/۴۱ درصد) و اریترومایسین (۷۰/۹۶ درصد) داشتند. کمترین مقاومت نسبت به ونکومایسین و ریفامپین (۲۲/۵۸درصد) گزارش گردید. فراوانی ژن‌های انتروتوکسین*SEG,SEA* به ترتیب ۵۸/۰۶ و ۲۹/۶۱ درصد گزارش شد. حضور هم‌زمان چند ژن کد کننده انتروتوکسین و مقاومت چندگانه نسبت به چندین آنتی‌بیوتیک در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از نمونه‌های غذاهای آماده مصرف نشان دهنده بروز یک مشکل بهداشتی عمده در این دسته از مواد غذایی است. با جلوگیری از تجویز بی رویه آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توان خطر *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین انتروتوکسین زا را در غذاهای آماده مصرف کاهش داد.

کلید واژه‌ها: *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، انتروتوکسین، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، غذاهای آماده مصرف

مقدمه

با کاهش زمان در دسترس برای آماده سازی یا مصرف مواد غذایی در سال های اخیر، تغییراتی در عادات غذا خوردن افراد وجود داشته است (Contreras et al., 2015). انواع مختلفی از غذاهای آماده مصرف[1] در کشورها با توجه به زمینه های فرهنگی و اجتماعی متفاوت، وجود دارد، که به دلیل تنوع زیاد، در دسترس بودن، عدم نیاز به زمان پخت و قیمت-های نسبتاً ارزان، باعث افزایش تقاضا در بین مردم شده اند. این نوع غذاها، اگر چه دارای مزایایی هستند اما گاهی یک تهدید برای سلامت عمومی به شمار می آیند (Sireliufuk and Gucukoglu., 2008). تقاضا برای مواد غذایی سالم و بی‌خطر و عدم نیاز به آماده سازی و کارکردن با دست، منجر به افزایش تولید و مصرف غذاهای آماده مصرف شده است و در سال‌های اخیر به طور قابل توجهی گسترش یافته است (Hwang and Huang., 2010). غذاهای آماده مصرف برای مصرف کنندگان پر مشغله‌ی امروزه راحت‌تر است، لذا خطرات میکروبیولوژیکی مصرف کنندگان از این محصولات افزایش یافته است. در تهیه ساندویچ‌های آماده مصرف، سالادها و گوشت‌ها، عملیات تماس دست (مانند برش دادن یا خرد کردن) با این محصولات وجود دارد که می تواند به راحتی به آلودگی این غذاها کمک کند (Hwang and Huang., 2010). روش فرآوری سنتی، دمای نگهداری نا مناسب و بهداشت ضعیف شخصی که در تهیه غذا دخالت دارد، برخی از علل اصلی آلودگی غذاهای آماده مصرف هستند (Feglo and Sakgi., 2012). باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، یکی از شایع‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی و همچنین دلیل بروز اکثر مسمومیت‌های غذایی در جوامع محسوب می شود (Kluytmans, 2010). *استافیلوکوکوس اورئوس* یک باکتری کوکسی شکل، گرم مثبت، هوازی بی هوازی اختیاری، کاتالاز مثبت و مهم ترین گونه از جنس استافیلوکوکوس است. علاوه بر عفونت‌های پوستی، عفونت زخم و سوختگی، مننژیت، اندوکاردیت، پنومونی و سندرم شوک سمی (Barber et al., 1948). *استافیلوکوکوس اورئوس* عامل بروز مسمومیت غذایی با دوره کمون کوتاه ۲ تا ۴ ساعته و علائم تهوع، استفراغ، دل پیچه و ضعف، می باشد هر چند که اسهال نیز در بعضی از موارد گزارش شده است (Kadariya, 2014).

دلیل اصلی دوره کمون کوتاه بیماری، خوردن سم از قبل تولید شده در ماده غذایی است (Krakauer, 2016; Fisher et al., 2018) به عبارت دیگر انتروتوکسین های باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (شامل انتروتوکسین های A-E، G-R وU) با تاثیر روی گیرنده‌های موجود در روده موجب ایجاد پاسخ استفراغ در فرد می‌گردد (Krakauer, 2016; Fisher et al., 2018) در اصل گیرنده‌های تحریک شده توسط انتروتوکسین از طریق اعصاب سمپاتیک و پاراسمپاتیک موجب تحریک مرکز استفراغ در مغز می‌شوند (Krakauer, 2016; Fisher et al., 2018). هنوز مکانیسم اصلی ایجاد اسهال توسط انتروتوکسین‌ها به خوبی شناسایی نشده است اما تحقیقات نشان داده‌اند که انتروتوکسین‌ها فعالیت آدنیلات سیکلاز را تحریک نمی‌کنند (Krakauer, 2016; Fisher et al., 2018). بررسی‌های متفاوت نشان می‌دهند که در موارد شیوع مسمومیت غذایی استافیلوکوکی، کمتر از یک میلی گرم سم خالص جهت ایجاد علائم بیماری کافی است (Krakauer, 2016; Fisher et al., 2018).

انتروتوکسین‌ها از پلی‌پپتیدهای کوچک تک رشته‌ای تشکیل شده‌اند و هر یک از آن‌ها دارای یک حلقه دی‌سولفیدی نزدیک به مرکز مولکول است (Krakauer, 2016; Fisher et al., 2018). انسان‌ها حاملین بدون علامت انتروتوکسیژنیک *استافیلوکوکوس اورئوس* در بینی، گلو و پوست هستند و تهیه

[1]- Ready-To-Eat (RTE)

کنندگان غذا می‌توانند منبع مهمی برای آلودگی مواد غذایی باشند (Thomas Lafon et al., 2019).

به دلیل ساختمان فشرده، این انتروتوکسین‌ها نسبت به حرارت و پروتئازهای روده مقاوم هستند و تنها در اثر جوشیدن طولانی مدت غیر فعال می‌شوند (Krakauer, 2016; Fisher et al., 2018). در نتیجه این امکان وجود دارد که فردی در اثر مصرف مواد غذایی عاری از سلول‌های زنده *استافیلوکوکوس اورئوس*، دچار بیماری شود (Krakauer, 2016; Fisher et al., 2018).

یکی از راهکارهای درمانی برای موارد مسمومیت های غذایی استافیلوکوکی، تجویز آنتی‌بیوتیک می‌باشد اما متاسفانه تجویز نامناسب و بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در دامپزشکی و پزشکی سبب ایجاد ایزوله‌های مقاوم *استافیلوکوکوس اورئوس* شده است (Chang et al., 2015; Lee et al., 2018; Khamash et al., 2019) در سال ۱۹۴۰ بعضی از سوش-های استافیلوکوک به پنی‌سیلین مقاوم شدند. یک دهه بعد ایزوله‌های مقاوم چندگانه به تتراسایکلین، کلرامفنیکل و اریترومایسین گزارش شد (Chang et al., 2015; Lee et al., 2018; Khamash et al., 2019)، برای اولین بار در سال ۱۹۶۰ *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) به عنوان یک پاتوژن بیمارستانی معرفی شد، گزارشات نشان داده است که ایزوله‌های MRSA از حدت بالاتری برخوردار هستند و معمولا مقاومت بیشتری نسبت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها شامل پنی‌سیلین‌ها، تتراسایکلین‌ها، آمینوگلایکوزیدها، سفالوسپورین‌ها، کوئینولون‌ها و غیره دارند (Chang et al., 2015; Lee et al., 2018; Khamash et al., 2019).

با توجه به مصرف بالای غذاهای آماده به مصرف و غذازاد بودن *استافیلوکوکوس اورئوس*، شیوع بالای آن در موارد مسمومیت-های غذایی و در نهایت با توجه به فقدان مطالعات میکروبیولوژیک، اپیدمیولوژیک و بهداشتی در زمینه MRSA در غذاهای آماده به مصرف، بررسی حاضر را به منظور مطالعه میزان شیوع، الگوی فنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن های کد کننده انتروتوکسین در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از برخی غذاهای آماده به مصرف انجام پذیرفت.

روش کار

جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه‌ها

به منظور جداسازی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، ابتدا تعداد ۱۲۵ نمونه از غذاهای آماده مصرف (کباب‌کوبیده، جوجه‌کباب، همبرگردستی و سوسیس) در رستوران و غذاخوری‌های شهرستان شهرکرد در پاییز و زمستان جمع-آوری و ۲۵ گرم از هر نمونه در ۲۲۵ میلی لیتر محیط کشت Tryptic Soy Broth (مرک، آلمان) غنی شده با ۷ درصد نمک کشت و به مدت ۱۸ ساعت در گرم خانه ۳۷ درجه سانتیگراد گرم خانه گذاری شد. سپس کلنی های رشد یافته در محیط Tryptic Soy Broth به محیط Baird Parker Agar (مرک، آلمان) غنی شده با امولسیون تلوریت-زرده تخم مرغ انتقال داده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت گرم خانه گذاری شد. کلنی‌های سیاه رنگ با هاله رسوبی در اطراف به عنوان کلنی‌های تیپیک برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در نظر گرفته شد و با تست‌های بیوشیمیایی کاتالاز، فسفاتاز، کواگولاز، DNAse و تخمیر مانیتول مورد بررسی قرار گرفت (Rahi et al., 2020).

تشخیص ایزوله‌های مقاوم به متی سیلین

ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از روش انتشار دیسکی آنتی‌بیوتیک ارزیابی و در نهایت ایزوله‌هایی که به صورت همزمان نسبت به دیسک های سفوکسیتین و اگزاسیلین، مقاوم بودند به عنوان MRSA در نظر گرفته شد (Rahi et al., 2020).

بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سوش‌های MRSA

به منظور بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های MRSA مواد غذایی آماده مصرف نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسیکلین (۳۰µg/disk)، اریترومایسین (۱۵µg/disk)، نروفلوکساسین، سیپروفلوکساسین (۵µg/disk)، استرپتومایسین، کلرامفنیکل، جنتامایسین، کلیندامایسین، ونکومایسین(۳۰µg/disk)، ریفامپین (۵µg/disk)، داکسی سیکلین (۳۰µg/disk)، ونکومایسین، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۲۵µg/disk)، اگزاسیلین (۱۰µg/disk) (Oxoid, UK)، از روش دیسک‌گذاری در محیط مولر هینتون آگار (Merck, Germany) و با توجه به دستورالعمل انستیتو استاندارد آزمایشگاهی و بالینی، استفاده گردید، پس از گرم خانه گذاری هوازی کلنی های جداسازی شده در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت، الگوی مقاومت آنتی-بیوتیکی باکتری‌ها به وسیله روش ارائه شده توسط انستیتو استاندارد آزمایشگاهی و بالینی، مورد بررسی قرار گرفت (Clinical and LaboratoryStandards Institute (2022. از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 10392 به منظور کنترل در بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استفاده شد.

استخراج DNA ژنومی و ردیابی مولکولی ژن های کد کننده انتروتوکسین ها

به منظور استخراج DNA از کشت یک شبه باکتری در محیط Brain Heart Infusion (مرک، آلمان) استفاده شد. برای این منظور ایزوله‌های MRSA مواد غذایی آماده مصرف به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در محیط کشت BHI گرم خانه گذاری شدند. DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت سیناژن و با توجه به دستورالعمل شرکت مورد نظر، استخراج شد. سپس نمونه های DNA در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمون واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)، قرار داده شد.

به منظور ردیابی ژن‌های کد کننده انتروتوکسین‌ها از تکنیک PCR استفاده شد. لیست پرایمرهای مورد استفاده در جداول شماره ۱ آمده است.

جدول ۱. لیست پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی انتروتوکسین‌ها در ایزوله‌های MRSA برخی مواد غذایی آماده مصرف.

منابع	اندازه محصول (جفت باز)	توالی پرایمر (3'-5')	انتروتوکسین
۲۳	۱۲۰	F:TTGGAAACGGTTAAAACGAA R:GAACCTTCCCATCAAAAACA	***SEA***
۲۳	۴۷۸	F:TCGCATCAAACTGACAAACG R:GCAGGTACTCTATAAGTGCC	***SEB***
۲۳	۲۵۷	F:GACATAAAAGCTAGGAATTT R:AAATCGGATTAACATTATCC	***SEC***
۲۳	۳۱۷	F:CTAGTTTGGTAATATCTCCT R:TAATGCTATATCTTATAGGG	***SED***
۳۵	۲۰۹	F:AGGTTTTTTCACAGGTCATCC R:CTTTTTTTTCTTCGGTCAATC	***SEE***
۳۸	۲۸۷	F:AAGTAGACATTTTTGGCGTTCC R:AGAACCATCAAACTCGTATAGC	***SEG***
۳۸	۲۱۳	F:GTCTATATGGAGGTACAACACT R:GACCTTTACTTATTTCGCTGTC	***SHE***

SEI	F:GGTGATATTGGTGTAGGTAAC R:ATCCATATTCTTTGCCTTTACCAG	۴۵۴	۳۸
SEJ	F:CATCAGAACTGTTGTTCCGCTAG R:CTGAATTTTACCATCAAAGGTAC	۱۴۲	۳۷

در تمامی واکنش‌های PCR از دستگاه ترموسایکلر گرادیانت (اپندورف، آلمان) استفاده شد. فرایند تکثیر ژن در ۲۵ میکرولیتر مخلوط شامل ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase (فرمنتاز، لیتوانی)، ۲۰۰ میکرومول dNTP (فرمنتاز، لیتوانی)، ۲/۵ میکرولیتر محلول بافر 10x (فرمنتاز، لیتوانی)، ۱ میکرومول کلرید منیزیم (فرمنتاز، لیتوانی)، ۱۰ پیکومول از هر کدام از پرایمرها، ۳ میکرولیتر DNA الگو و ۲۰ میکرولیتر آب مقطر استریل انجام می شود.

روند تکثیر ژن‌های کد کننده انتروتوکسین‌ها طی ۳ برنامه دمایی مختلف به صورت زیر انجام می پذیرد:

۱. تکثیر ژن‌های کد کننده انتروتوکسین‌های *SEA-SED* و *SEG- SEI*: دناتوراسیون به مدت ۲ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، اتصال پرایمرها به مدت ۲ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و سپس تکثیر پرایمر به مدت ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد (۳۰ مرحله تکرار).

۲. تکثیر ژن کد کننده انتروتوکسین *SEE*: دناتوراسیون به مدت ۲ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، اتصال پرایمرها به مدت ۲ دقیقه در دمای ۵۷ درجه سانتیگراد و سپس تکثیر پرایمر به مدت ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد (۳۵ مرحله تکرار)

۳. تکثیر ژن کد کننده انتروتوکسین *SEJ*: دناتوراسیون به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، اتصال پرایمر به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۶۲ درجه سانتیگراد و سپس تکثیر پرایمر به مدت ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد (۳۰ مرحله تکرار).

در تمام واکنش‌هایPCR ، از آب مقطر فاقد DNA به عنوان کنترل منفی و از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 10357تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و همچنین نمونه‌های DNA مثبت از نظر ژن‌های کد کننده انتروتوکسین‌ها عنوان کنترل مثبت، استفاده شد. در پایان محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز منتقل و سپس ژل‌ها توسط سایبرگرین(فرمنتاز، آلمان)رنگ آمیزی شد و نوارهای DNA با استفاده از پرتو UV مشاهده و ارزیابی شدند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از آزمایشات انجام شده در نرم افزار Microsoft Office Excel گردآوری و توسط نرم افزار SPSS آنالیز شد. روش آماری تجزیه و تحلیل داده‌ها، آزمون مربع کای و تست دقیق فیشر بود.

نتایج

در کل ۱۲۵ نمونه غذاهای آماده مصرف از نظر آلودگی به MRSAمورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های کدکننده انتروتوکسین در ایزوله‌های MRSA جداسازی شده از نمونه‌های غذاهای آماده مصرف، مورد ارزیابی قرار گرفت .جدول شماره ۲ فراوانی *استافیلوکوکوس اورئوس* و ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین را در نمونه‌های غذاهای آماده مصرف جمع‌آوری شده از شهرستان شهرکرد را نشان می‌دهد. بر طبق نتایج به‌دست آمده از این جدول، میزان شیوع *استافیلوکوکوس‌اورئوس* در نمونه‌های غذاهای آماده مصرف جمع‌آوری شده از شهرستان شهرکرد ۴۰/۸ درصد بود. در کل ۷ نمونه از ۳۰ نمونه سوسیس (۲۳/۳۳ درصد)، ۱۶ نمونه از ۳۰ نمونه همبرگر دستی (۵۳/۳۳ درصد)، ۱۹نمونه از ۳۰ نمونه کباب کوبیده (۶۳/۳۳ درصد) و ۹ نمونه از ۳۵ نمونه جوجه‌کباب (۲۵/۷۱ درصد) آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. اختلاف معنادار آماری بین شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* و نمونه-های غذاهای آماده مصرف دیده شد ($P< 0.01$) از *تعداد* ۵۱ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۳۱ ایزوله (۷۸/۶۰ درصد)به طور همزمان نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های

سفوکسیتین و اگزاسیلین مقاوم بودن و به عنوان ایزوله‌های MRSAدر نظر گرفته شدند.

جدول ۲ .فراوانی *استافیلوکوکوس اورئوس* و ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین در نمونه‌های غذاهای آماده‌مصرف جمع‌آوری شده از شهرستان شهرکرد

نوع نمونه ها	تعداد نمونه جمع آوری شده	تعداد و درصد فراوانی *استافیلوکوکوس اورئوس*	تعداد و درصد فراوانی MRSA
سوسیس	۳۰	۷ (۲۳/۳۳٪)	**۲ (۲۷/۵۷٪)**
همبرگردستی	۳۰	۱۶ (۵۳/۳۳٪)	**۱۰ (۶۲/۵٪)**
کباب کوبیده	۳۰	۱۹ (۶۳/۳۳٪)	**۱۳ (۶۸/۴۲٪)**
جوجه کباب	۳۰	۹ (۲۵/۷۱٪)	**۶ (۶۶/۶۶٪)**
مجموع	۱۲۵	۵۱ (۴۰/۸۰٪)	**۳۱ (۶۰/۷۸٪)**

جدول شماره ۳ الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های MRSA شده از نمونه‌های غذاهای آماده مصرف جمع‌آوری شده ازشهرستان شهرکرد را نشان می دهد. طبق نتایج به‌دست آمده از این جدول، ایزوله‌های MRSA جدا شده از نمونه‌های غذاهای آماده مصرف بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی را نسبت به آنتی‌بیوتیک های پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، داکسی سیکلین (۸۰/۶۴ درصد)، تتراسیکلین (۷۷/۴۱ درصد) و اریترومایسین (۷۰/۹۶ درصد) داشتند . شیوع مقاومت بر علیه ریفامپین (۲۲/۵۸ درصد) و ونکومایسین (۲۲/۵۸ درصد) کمتر از سایر آنتی‌بیوتیک‌ها بود.

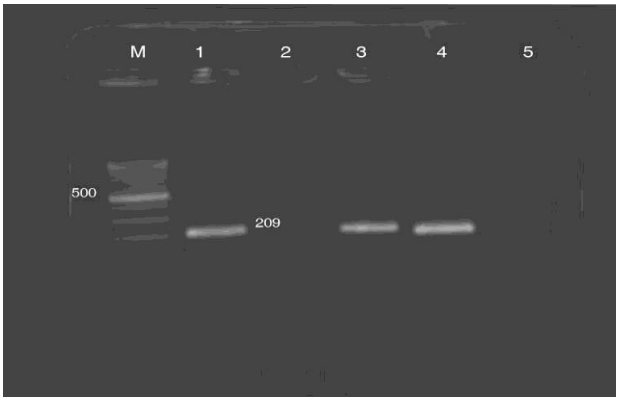
جدول ۳ . الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های MRSA جدا شده از نمونه‌های غذاهای آماده مصرف جمع‌آوری شده از شهرستان شهرکرد

تعداد ایزوله MRSA	پنی سیلین	داکسی سیلین	اگزاسیلین	نروفلوکساسین	سیپروفلوکساسین	تتراسایکلین	استرپتومایسین	تری متوپریم سولف	جنتامایسین	کلیندامایسین	اریترومایسین	کلرامفنیکل	ریفامپین	ونکومایسین
کباب کوبیده (۱۳)	۱۳ (۱۰۰٪)	۱۲ (۹۲,۳۰٪)	۱۳ (۱۰۰٪)	۴ (۳۰,۷۶٪)	۴ (۳۰,۷۶٪)	۱۱ (۸۴,۶۱٪)	۵ (۳۸,۴۶٪)	۹ (۶۹,۲۳٪)	۸ (۶۱,۵۳٪)	۶ (۴۶,۱۵٪)	۱۰ (۷۶,۹۲٪)	۵ (۳۸,۴۶٪)	۳ (۲۳,۰۷٪)	۳ (۲۳,۰۷٪)
جوجه‌کباب (۶)	۶ (۱۰۰٪)	۳ (۵۰٪)	۶ (۱۰۰٪)	۲ (۳۳,۳۳٪)	۳ (۵۰٪)	۴ (۶۶,۶۶٪)	۲ (۳۳,۳۳٪)	۳ (۵۰٪)	۳ (۵۰٪)	۴ (۶۶,۶۶٪)	۴ (۶۶,۶۶٪)	۳ (۵۰٪)	۱ (۱۶,۶۶٪)	۱ (۱۶,۶۶٪)
سوسیس (۲)	۲ (۱۰۰٪)	۲ (۱۰۰٪)	۲ (۱۰۰٪)	۰ ۰	۱ (۵۰٪)	۱ (۵۰٪)	۱ (۵۰٪)	۲ (۱۰۰٪)	۲ (۱۰۰٪)	۲ (۱۰۰٪)	۰ ۰	۱ (۵۰٪)	۱ (۵۰٪)	۱ (۵۰٪)
همبرگر دستی (۱۰)	۱۰ (۱۰۰٪)	۸ ۸۰	۱۰ (۱۰۰٪)	۲ (۲۰٪)	۴ (۴۰٪)	۸ (۸۰٪)	۶ (۶۰٪)	۷ (۷۰٪)	۶ (۶۰٪)	۸ (۸۰٪)	۸ (۸۰٪)	۶ (۶۰٪)	۲ (۲۰٪)	۲ (۲۰٪)
جمع نمونه ها (۳۱)	۳۱ (۱۰۰٪)	۲۵ (۸۰,۶۴٪)	۳۱ (۱۰۰٪)	۸ (۲۵,۸۰٪)	۱۲ (۳۸,۷۰٪)	۲۴ (۷۷,۴۱٪)	۱۴ (۴۵,۱۶٪)	۲۱ (۶۷,۷۴٪)	۱۹ (۶۱,۲۹٪)	۲۰ (۶۴,۵۱٪)	۲۲ (۷۰,۹۶٪)	۱۵ (۴۸,۳۸٪)	۷ (۲۲,۵۸٪).	۷ (۲۲,۵۸٪)

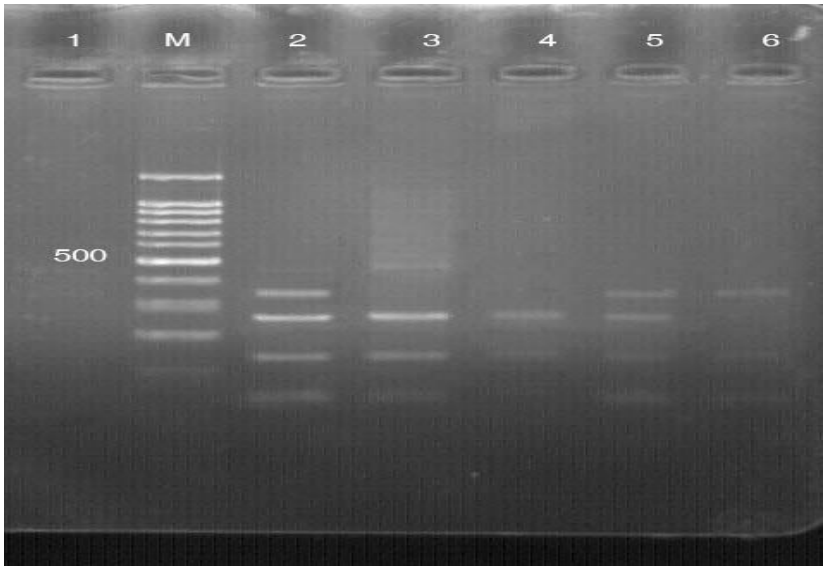
جدول ۴ فراوانی ژن‌های کدکننده انتروتوکسین در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از نمونه‌های غذاهای آماده مصرف جمع‌آوری شده از شهرستان شهرکرد را نشان می دهد.، بر طبق نتایج به‌دست آمده از این جدول، ژن‌های کدکننده انتروتوکسین‌های *SEA* (۵۸/۰۶ درصد) و *SEG* (۶۱/۲۹ درصد) بیشترین فراوانی را در سوش های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از غذاهای آماده مصرف عرضه شده در شهرستان شهرکرد داشتند. کمترین فراوانی ژن‌های کدکننده انتروتوکسین در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از غذاهای آماده مصرف عرضه شده در شهرستان شهرکرد مربوط به *SEI* و *SED* (۱۲/۹۰درصد) بود .

جدول ۴ . فراوانی ژن‌های کدکننده انتروتوکسین در ایزوله‌هایMRSA جدا شده از نمونه‌های غذاهای آماده مصرف جمع‌آوری شده از شهرستان شهرکرد

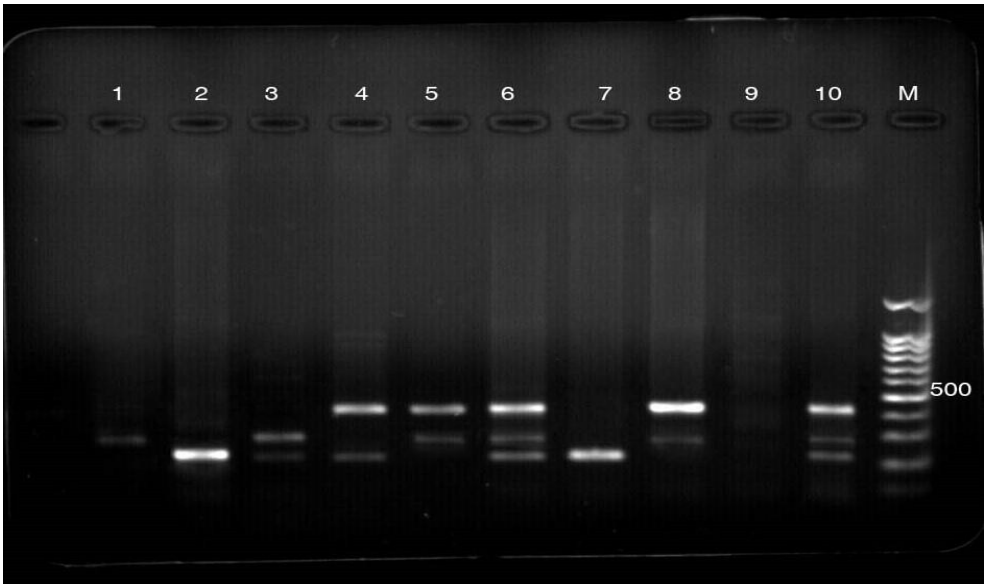
تعداد ایزوله MRSA	*SEJ*	*SEI*	*SEH*	*SEG*	*SEE*	*SED*	*SEC*	*SEB*	*SEA*
کباب کوبیده (۱۳)	۰ ۰	۱ (۷,۶۹٪)	۶ (۴۶,۱۵٪)	۸ (۶۱,۵۳٪)	۳ (۲۳,۰۷٪)	۱ (۷,۹۶٪)	۴ (۳۰,۷۶٪)	۳ (۲۳,۰۷٪)	۷ (۵۳,۸۴٪)
(۲) سوسیس	۰ ۰	۱ (۵۰٪)	۲ (۱۰۰٪)	۲ (۱۰۰٪)	۰ ۰	۱ (۵۰٪)	۱ (۵۰٪)	۲ (۱۰۰٪)	۲ (۱۰۰٪)
همبرگر دستی (۱۰)	۰ ۰	۱ (۱۰٪)	۴ (۴۰٪)	۶ (۶۰٪)	۲ (۲۰٪)	۱ (۱۰٪)	۲ (۲۰٪)	۲ (۲۰٪)	۵ (۵۰٪)
جوجه‌کباب (۶)	۰ ۰	۱ (۱۶,۶۶٪)	۲ (۳۳,۳۳٪)	۳ (۵۰٪)	۱ (۱۶,۶۶٪)	۲ (۳۳,۳۳٪)	۱ (۱۶,۶۶٪)	۲ (۳۳,۳۳٪)	۴ (۶۶,۶۶٪)
جمع نمونه ها (۳۱)	۰ ۰	۴ (۱۲,۹۰٪))	۱۴ (۴۵,۱۶٪)	۱۹ (۶۱,۲۹٪)	۶ (۱۹,۳۵٪)	۴ (۱۲,۹۰٪)	۸ (۲۵,۸۰٪)	۸ (۲۵,۸۰٪)	۱۸ (۵۸,۰۶٪)



شکل ۱- ژل حاصل از الکتروفورز محصول PCR مربوط به ردیابی ژن کد کننده انتروتوکسین *SEE* . در ایزوله های مقاوم به متی سیلین استاف ارئوس جدا شده از غذاهای آماده مصرف M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ۱: نمونه کنترل مثبت، ۲: نمونه کنترل منفی ۳، ۴ و ۵: نمونه‌های مثبت از نظر ژن کد کننده انتروتوکسین *SEE*



شکل ۲- تصویر الکتروفورز محصولات PCR برای ردیابی ژن کد کننده انتروتوکسین*SEA-SED* . M : مارکر ۱۰۰ جفت بازی، :۱: نمونه کنترل منفی، ۲: نمونه کنترل مثبت ۳، ۴، ۵ و ۶: نمونه‌های مثبت از نظر ژن کد کننده انتروتوکسین (۱۲۰ bp) *SEA* (۴۷۸ bp) *SEB* (۲۵۷ bp) *SEC* (۳۱۷ bp) *SED*



شکل ۳- تصویر الکتروفورز محصولات PCR برای ردیابی ژن کد کننده انتروتوکسین :*SEG-SEI* . ۱ ،۲، ۳، ۴، ۵، ۶،۷و ۸ : نمونه‌های مثبت از نظر ژن کد کننده انتروتوکسین (۲۸۷ bp) *SEG* (۲۱۳ bp) *SEH* (۴۵۴ bp) *SEI*، ۹ : نمونه کنترل منفی۱۰: نمونه کنترل مثبت M : مارکر ۱۰۰ جفت بازی

بحث

اخیرا MRSA به عنوان یکی از اصلی‌ترین عوامل ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی مقاوم به آنتی بیوتیک در نظر گرفته می شود (Lee et al., 2018). همچنین حضور MRSA در طیف گسترده‌ای از موادغذایی خصوصا گوشت، شیر و سبزیجات نیز گزارش شده است (Lee et al., 2018). مطالعه حاضر به منظور ارزیابی میزان شیوع، الگوی فنوتیپی مقاومت آنتی بیوتیکی و فراوانی ژن‌های کدکننده انتروتوکسین در ایزوله‌های MRSA انجام شد.

در این مطالعه تعداد ۱۲۵ نمونه غذای آماده مصرف جمع‌آوری و سریعا درکنار یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. به منظور جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس* از کشت میکروبی استفاده و ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین با استفاده از دیسک‌های سفوکسیتین و اگزاسیلین تایید شدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های کدکننده انتروتوکسین به ترتیب با استفاده از روش‌های انتشار دیسک و PCR ارزیابی گردید. میزان شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین در نمونه‌های کباب‌کوبیده، جوجه‌کباب، همبرگردستی، سوسیس به ترتیب ۶۸/۴۲ ،۶۶/۶۶، ۶۲/۵ و۲۸/۵۷ درصد گزارش گردید.

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۵ در عربستان سعودی، محققین اقدام به بررسی میزان آلودگی غذاها به *استافیلوکوکوس اورئوس* تولید کننده انتروتوکسین کردند. نتایج بررسی نشان داد که از کل ۴۰۰ نمونه مورد بررسی، ۸۸ نمونه (۴۴ درصد) آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. آن‌ها نشان دادند که ۴۷/۷ درصد از کل ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از مواد غذایی و آشپزخانه ها، تولید کننده انتروتوکسین بودند. از بین انتروتوکسین‌های ردیابی شده در این مطالعه، میزان شیوع انتروتوکسین‌های *SEA*، *SEB* و *SEC* به ترتیب ۶۶/۶، ۴/۷ و ۰ درصد بود (Ahmed OB et al., 2015).

مطالعه Costa و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان داد که از کل ۱۱۴ نمونه گوشت خام (شامل گوشت مرغ، خوک، گاو و ماهی) و ۶۳ نمونه غذای فراوری شده در برزیل، ۲۸/۱ درصد آلوده به ایزوله‌های MRSA بودند (میزان شیوع مقاومت در نمونه های گوشت مرغ، گاو، خوک و ماهی به ترتیب ۲۳/۳، ۲۳/۳، ۳۷/۵ و ۳۰ درصد بود). همچنین میزان شیوع ایزوله‌های MRSA را ۹/۵ درصد گزارش کردند (Costa WL et al., 2015).

در مطالعه‌ای که به منظور ارزیابی خطر ایجاد آلودگی باکتریایی مواد غذایی توسط وسایل پخت انجام پذیرفت، مجلسی نصر و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که از میان نمونه‌های مورد بررسی وسایل پخت، نمونه‌های اخذ شده از تخته کار (۳۸ درصد آلودگی) و مخلوط کن (۳۵ درصد آلودگی) بالاترین میزان آلودگی را داشتند. همچنین مهم‌ترین باکتری‌های جدا شده از این نمونه‌ها را به ترتیب گونه‌های انتروباکتریاسه، *استافیلوکوکوس اورئوس*، گونه های باسیلوس و *کلبسیلا پنومونیه*، گزارش کردند. نتایج بررسی ایشان نشان داد که سطح آلودگی میکروبی غذاهای آماده مصرف زیاد است و عدم رعایت نکات بهداشتی و پخت صحیح غذا سبب بروز همه‌گیری مسمومیت‌های غذایی خواهد شد (Majlesi Nasr et al., 2014).

در مطالعه دیگری که توسط مصطفائی (۱۳۹۳) انجام پذیرفت، *استافیلوکوکوس اورئوس* با شیوع ۱۶ درصد بیشترین میزان آلودگی را در وسایل پخت در آشپزخانه‌ها داشت که بسیار قابل توجه است. در این تحقیق نشان دادند که ۱۸/۷درصد از ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از وسایل پخت مقاوم به چندین آنتی بیوتیک بودند (Gholam mostafaei FS, 2014).

در مطالعه انجام پذیرفته در زمینه آلودگی مواد غذایی آماده مصرف به *استافیلوکوکوس اورئوس* در ایران، Mostafaei نشان دادند که از کل ۱۳۹ نمونه شامل مواد غذایی پخته و خام، پرسنل واحد غذا و مواد غذایی فرآوری شده، ۵۰ نمونه آلوده به ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند (۳۵/۹۷ درصد) و اکثر ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفوکسیتین، اگزاسیلین، آموکسی سیلین-کلاوولانیک اسید و ۳۲ درصد از آنها نسبت به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین مقاوم بودند که بسیار قابل توجه است (Mostafaei Gholami FS, 2012).

نتایج مطالعه حاضر همچنین نشان داد که ایزوله‌های MRSA مقاومت بالایی نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های ارزیابی شده و ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی-سیلین (۱۰۰ درصد)، داکسی سیکلین (۸۰/۶۴ درصد)، تتراسیکلین (۷۷/۴۱ درصد) و اریترومایسین (۷۰/۹۶ درصد) داشتند. شیوع مقاومت علیه ریفامپین (۲۲/۵۸درصد) و ونکومایسین (۲۲/۵۸ درصد) کمتر از سایر آنتی‌بیوتیک‌ها بود. فراوان‌ترین انتروتوکسین‌های ردیابی شده در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، *SEA* (۵۸/۰۶ درصد)و *SEG* (۲۹/۶۱ درصد) بودند. دلیل بالاتر بودن شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله‌های MRSA جدا شده از برخی غذاهای آماده مصرف احتمالا انتقال ایزوله‌های مقاوم به آنتی بیوتیک های انسانی از کارکنان آلوده آشپزخانه رستوران ها به نمونه های غذاهای آماده مصرف است.
مطالعه دیگر در برزیل در سال (۲۰۱۴) روی نقش آشپزها در پراکنش *استافیلوکوکوس اورئوس*، نشان داد که از کل ۱۴۰ نمونه اخذ شده از آشپزان، ۷۰ نمونه (۵۰ درصد) آلوده به استافیلوکوک‌های کوواگولاز مثبت و ۴۰ نمونه (۲۸/۶ درصد) آلوده به MRSA بودند که بسیار قابل توجه است. در بین نمونه های بررسی شده، سواب های اخذ شده از دست و حفره بینی آشپزان، بیشترین میزان آلودگی را داشتند (Ferreira JS et al., 2014).

در مطالعه‌ای در جنوب تایلند روی شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* در مواد غذایی، ۱۰ تا ۲۸ درصد از غذاهای تولید شده آلوده به ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. نتایج این پژوهش در سال (۲۰۱۵) نشان داد که اکثر ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شد از مواد غذایی، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلیندامایسین و فوزیدیک اسید مقاوم بودند (Bunnueang N et al., 2015).

Aycicek و همکاران در سال (۲۰۰۴) در مطالعه خود میزان شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* در دست کارکنان آشپزخانه را ۷۰ درصد گزارش نمودند، که به نظر آن‌ها عدم رعایت بهداشت فردی و بار آلودگی بالای محیط دلیل اصلی میزان شیوع بالای باکتری بود (Ayçiçek H et al., 2004). مطالعه Soares و همکاران در سال ۱۹۹۷ در برزیل، آلودگی بینی و دست کارکنان اشپزخانه ها را به *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۴۹/۵ درصد گزارش نمود (Soares MJ et al., 1997).

در مطالعه Momtaz و همکاران (۲۰۱۳) روی ۳۶۰ نمونه گوشت مرغ در استان اصفهان، ۸۲ نمونه (۲۲/۷۷ درصد) آلوده به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. در بررسی آن‌ها ۸۲/۹۲ درصد از جدایه ها مقاوم به متی‌سیلین بود، در حالی که میزان مقاومت آنتی بیوتیکی به ماکرولید ها تنها ۳۴/۱۴ درصد بود. میزان شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسیکلین، سولفامتوکسازول، تری متوپریم، استرپتومایسین، جنتامایسین، انروفلوکسازین، آمپی سیلین، کلرامفنیکل و سفالوتین به ترتیب ۷۵/۶، ۳۱/۷، ۳۱/۷، ۳۱/۷، ۲۹/۲۶، ۲۸/۰۴، ۲۶/۸۲، ۲۰/۷۳ و ۱۷/۰۷ درصد بود (Momtaz H et al., 2013).

در بررسی انجام شده روی محصولات گوشتی توسط Madahi و همکاران (۲۰۱۴)، ۴۲۰ نمونه ناگت مرغ با روش کشت و PCR، بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که ۶/۴۲ درصد از نمونه ها آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. در این بررسی فراوانی انتروتوکسین‌های A و C را به ترتیب ۲۵ درصد و ۱۲/۵ درصد گزارش کردند (Madahi H et al., 2014).

Bhargava و همکاران در سال ۲۰۱۱، ۲۸۹ نمونه گوشت را که از مراکز خرید واقع در ایالت میشیگان آمریکا جمع آوری شده بودند، مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که ۲۲/۵ درصد از نمونه ها آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. نیمی از ایزوله‌های جداسازی شده مقاوم به متی‌سیلین بودند. (Bhargava K et al., 2011).

نتیجه گیری کلی

مطالعه حاضر نشان دهنده شیوع بالای ایزوله‌های MRSA در برخی نمونه‌های غذاهای آماده مصرف شهرستان شهرکرد بود. نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که ایزوله‌های MRSA از مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالایی به‌نسبت آنتی‌بیوتیک‌های رایج استفاده شده در پزشکی و دامپزشکی و خصوصا پنی‌سیلین‌ها و تتراسیکلین‌ها برخوردار بودند. هم‌چنین ژن‌های کدکننده انتروتوکسین‌ها *SEA* و*SEG* از شیوع قابل توجهی در ایزوله‌های MRSA برخوردار بودند. با توجه به بالاتر بودن شیوع باکتری در نمونه‌های کباب کوبیده و همبرگر دستی و همچنین وجود مقاومت بر علیه آنتی‌بیوتیک‌های انسانی احتمالا انتقال آلودگی از کارکنان آلوده مراکز تولید نمونه‌های کباب‌کوبیده و همبرگردستی دلیل اصلی شیوع بالای باکتری در این نمونه‌ها بوده است. با توجه به شیوع بالای ایزوله‌های MRSA و حاوی ژن‌های کدکننده انتروتوکسین، پیشنهاد می‌شود که نظارت بیشتری بر تهیه غذا در رستوران‌ها و اغذیه‌سراها اتخاذ گردد، با توجه به نتایج به‌دست آمده از شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تجویز آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و تتراسایکلین‌ها برای درمان موارد مسومیت‌های غذایی ایجاد شده با MRSA پیشنهاد نمی‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از یک پایان نامه دکتری بهداشت مواد غذایی (شماره ۱۲۲/۶۰۴۵)، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد است.

منابع

1. Ayçiçek H, Aydoğan H, Küçükkaraaslan A, Baysallar M, Başustaoğlu AC. Assessment of the bacterial contamination on hands of hospital food handlers. Food control. 2004;15(4):253-9.
2. Ahmed OB, Dablool1&2 AS. Detection of enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* isolated from community and hospital food handlers in makkah, Saudi Arabia. SEA. 2015;28(66.6):14.
3. Barber, M., and Rozwadowska-Dowzenko, M. 1948. Infection by penicillin-resistant staphylococci. Lancet. 252: 641–644.
4. Barber M, Rozwadowska-Dowzenko M. Infection by Penicillin-Resistant Staphyloeoeci. Lancet. 1948:641-4.
5. Barber M, Rozwadowska-Dowzenko M. Infection by Penicillin-Resistant Staphyloeoeci. Lancet. 1948:641-4.
6. Bunnueang N, Kongpheng S, Singkhamanan K, Saengsuwan P, Rattanachuay P, Dangsriwan S, Sukhumungoon P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from ready-to-eat foods in a hospital canteen, southern Thailand: virulence characterization and genetic relationship. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. 2015;46(1):86.
7. Bhargava K, Wang X, Donabedian S, Zervos M, da Rocha L, Zhang Y. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail meat, Detroit, Michigan, USA. Emerging infectious diseases. 2011;17(6):1135.
8. Claudia Patrícia Álvarez Contreras, Lis Nery Nunes da Silva, Dilza Caroline Gomes Ferreira, Jeane dos Santos Ferreira, Rogeria Comastri de Castro Almeida, Prevalence of Methicillin-Resistant taphylococcus aureus in Raw Hamburgers and Ready-to-Eat Sandwiches Commercialized in Supermarkets and Fast Food Outlets in Brazil, Food and Nutrition Sciences Vol.06 No.14(2015),p.1324
9. Chang, V.S., Dhaliwal, D.K., Raju, L., and Kowalski, R.P. 2015. Antibiotic resistance in the treatment of *Staphylococcus aureus* keratitis: a 20-Year Review. Cornea. 34: 698-703.
10. Chang, Y., Gao, H., Zhu, Z., Ye, S., Yang, Y., Shen, X., Zhang, D., and Song, Q. 2016. High prevalence and properties of enterotoxin-producing Staphylococcus aureus ST5 strains of food sources in China. Foodborne. Pathog. Dis. 13: 386-390.
11. Chambers HF, DeLeo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the

antibiotic era. Nature Reviews Microbiology. 2009;7(9):629-41.

12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-second informational supplement M100-S21. Wayne Pa (2012).
13. Costa WL, Ferreira JD, Carvalho JS, Cerqueira ES, Oliveira LC, Almeida RC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw meats and prepared foods in public hospitals in Salvador, Bahia, Brazil. Journal of food science. 2015;80(1):M147-50.
14. Denison GA. Epidemiology and symptomatology of Staphylococcus food poisoning: a report of recent outbreaks. American Journal of Public Health and the Nations Health. 1936;26(12):1168-75.
15. Feglo, P., and Sakyi, K. 2012. Bacterial contamination of street vending food in Kumasi, Ghana. J Biomed Sci. 1: 1-8.
16. Fisher, E.L., Otto, M., and Cheung, G.Y.C. 2018. Basis of virulence in enterotoxin-mediated staphylococcal food poisoning. Front Microbiol. 9: 436.
17. Ferreira JS, Costa WL, Cerqueira ES, Carvalho JS, Oliveira LC, Almeida RC. Food handler-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in public hospitals in Salvador, Brazil. Food Control. 2014;37:395-400.
18. Gholami Mostafaei FS. Prevalence of clinically important antimicrobial resistance phenotype among *Staphylococcus aureus* isolates from a hospital kitchen in Iran. 6th conference of Iranian Clinical Microbiology. 2012.
19. Gholam Mostafaei FS. Prevalence of Antibiotic Resistant Bacteria Isolated from Foodstuff in Kitchen of a Hospital in Tehran. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2014; 2(2): 1-9.
20. Hwang, A., and Huang, L. 2010. Ready to eat foods, Microbial Concerns and Control Measures, CRC Press, 271 pages.
21. Hennekinne JA, De Buyser ML, Dragacci S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS microbiology reviews. 2012;36(4):815-36.
22. Johler S, Tichaczek-Dischinger PS, Rau J, Sihto HM, Lehner A, Adam M, Stephan R. Outbreak of Staphylococcal food poisoning due to SEA-producing Staphylococcus aureus. Foodborne pathogens and disease. 2013;10(9):777-81.
23. Johnson, W.M., et al., Detection of genes for enterotoxins, exfo-liative toxins, and

toxic shock syndrome toxin 1 in Staphylococcus aureus by the polymerase chain reaction. Journal of Clinical Microbiology, 1991. 29(3): p. 426–430.

24. Kluytmans, J.A. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food products: cause for concern or case for complacency. Clin. Microbiol. Infect. 16: 11-15.
25. Kadariya, J., Smith, T.C., and Thapaliya, D. 2014. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal food-borne disease: Aongoing challenge in public health. Biomed. Res. Int. 2014: 1-9.
26. Krakauer, T. 2016. Enterotoxins: microbial proteins and host cell dysregulation. Toxins (Basel). 8: 17.
27. Khamash, D.F., Milstone, A.M., Carroll, K.C., Gadala, A., Klein, E., Maragakis, L.L., Cosgrove, S.E., and Fabre, V. 2019. Changing antibiotic resistance patterns for *Staphylococcus aureus* surgical site infections. Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 40: 486-487.
28. Kirby WM. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant staphylococci. Science. 1944;99(2579):452-3.
29. Lee, A.S., de Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., and Harbarth, S. 2018. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Nat. Rev. Dis. Primers. 4: 18033.
30. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. New England journal of medicine. 1998;339(8):520-32.
31. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. The Journal of clinical investigation. 2003;111(9):1265-73.
32. Majlesi Nasr M, Alebouyeh M, Torabi P, Balvayeh M, Zali MR. Risk assessment of cooking utensils role of the bacterial contamination in the hospital kitchen. ISMJ. 2014;17(3):336-44.
33. Momtaz H, Dehkordi FS, Rahimi E, Asgarifar A, Momeni M. Virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat in Isfahan province, Iran. Journal of Applied Poultry Research. 2013;22(4):913-21.
34. Madahi H, Rostami F, Rahimi E, Dehkordi FS. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from chicken nugget in Iran. Jundishapur journal of microbiology. 2014;7(8):1-9.
35. Mehrotra, M., G. Wang. and W.M. Johnson., Multiplex PCR for detection of genes for Staphylococcus aureus enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. Journal of Clinical

Microbiology, 2000. 38(3): p. 1032–1035.

36. Murray R. Recognition and management of *Staphylococcus aureus* toxin-mediated disease. Internal medicine journal. 2005;35.
37. Nashev, D., et al., Distribution of virulence genes of Staphylococcus aureus isolated from stable nasal carriers. FEMS Microbiological Letters, 2004. 233(1): p. 45–52.44- Zhang, K., et al., New quadriplex PCR assay for detection of methicillin and mupirocin resistance and simultaneous discrimination of Staphylococcus aureus from coagulase-negative staphylococci. Journal of Clinical Microbiology, 2004. 42(11): p. 4947-4955.
38. Omoe, K., et al., Detection of seg, seh, and sei genes in Staphylococcus aureus isolates and determination of the enterotoxin productivities of S. aureus isolates harboring seg, seh, or sei genes. Journal of Clinical Microbiology, 2002. 40(3): p. 857-862
39. Ramdani-Bouguessa N, Bes M, Meugnier H, Forey F, Reverdy ME, Lina G, Vandenesch F, Tazir M, Etienne J. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the Panton-Valentine leukocidin genes in an Algiers hospital. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2006;50(3):1083-5.
40. Rozwadowska-Dowzenko M, Lamers H. Infection by penicillin resistant staphylococci. Polski tygodnik lekarski. 1951;6(18-19):613.
41. Rahi A, Kazemeini H, Jafariaskari S, Seif A, Hosseini S, Safarpoor Dehkordi F. Genotypic and Phenotypic-Based Assessment of Antibiotic Resistance and Profile of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* in the Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Recovered from Raw Milk. *Infect Drug Resist*. 2020;13:273-283.
42. Soares MJ, Tokumaru-Miyazaki NH, Noleto AL, Figueired AM. Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* clones and detection of Brazilian epidemic MRSAclone (III:: B: A) among isolates from food handlers. Journal of medical microbiology. 1997;46(3):214-21.
43. Sireliufuk, T., and Gucuglu, A. 2008. Prevalence and Antibiotic Resistance of*Listeria*. Isolated from Ready-to-Eat Foods in Ankara. Turk J Vet Anim Sci. 32:131-135.
44. Safarpoor Dehkordi F, Gandomi H, Basti AA, Misaghi A, Rahimi E. Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated

from hospital food. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2017;6:104.

45. Thomas Lafon,et al. Community-acquired Staphylococcus aureus bacteriuria: a warning-microbiological marker for infective endocarditis? BMC Infectious Diseases .2019,volume 19,Article number: 504.

46. Tajbakhsh, F., Tajbakhsh, E., and Momeni, M. 2014. Detection of Staphylococcus aureus and *Salmonella typimurium* in traditional and industrial Olivie salads in Shahrekord city. J. Food. Microbiol. 2: 39-48. (In Farsi).

Prevalence, Antibiotic Resistance Pattern, and Frequency of Enterotoxin Coding Genes in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Isolated from Some Ready-to-Eat Foods

Momeni Shahraki M[1*] , Saei-Dehkordi S[1], Hemati Z[2]

1- Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

2- Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

momeniman@yahoo.com

Abstract:

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has emerged as a significant pathogen to induce food poisoning in humans. This bacterium possesses the ability to produce heat-resistant enterotoxins. This investigation examined the prevalence, antibiotic resistance patterns, and frequency of enterotoxin coding genes in MRSAisolates obtained from ready-to-eat foods. One hundred and twenty-five samples of ready-to-eat food were collected and transported to the laboratory on ice. *Staphylococcus aureus* was isolated using microbial culture, and MRSAisolates were confirmed using cefoxitin and oxacillin discs. The antibiotic resistance patterns and frequency of enterotoxin coding genes were determined through disc diffusion and PCR methods, respectively. The prevalence of MRSAwas 68.42%, 66.66%, 62.5%, and 28.57% in pounded kebab, grilled chicken, hamburger, and sausage samples, respectively. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains exhibited the highest resistance to penicillin (100%), doxycycline (80.64%), tetracycline (77.41%), and erythromycin (70.96%). The isolates exhibited the lowest resistance against vancomycin and rifampin (22.58%). The prevalence of enterotoxin genes, SEA and SEG, was reported as 58.06% and 61.29%, respectively. The simultaneous presence of multiple enterotoxin coding genes and resistance to various antibiotics in MRSAstrains isolated from ready-to-eat food samples highlights a significant health concern within this food category. Preventing the indiscriminate use of antibiotics can mitigate the risk of methicillin-resistant enterotoxin-producing Staphylococcus aureus in ready-to-eat foods.

Keywords: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, enterotoxin, antibiotic resistance, ready-to-eat foods.