Food Hygiene, Vol. 13, No. 52, Winter 2024

"Research article: 1416"

Prevalence of *Staphylococcus aureus* A and B enterotoxins contamination in traditional dairy products, salad and nuggets Presented in Shahrekord and antibiotic resistance of the isolates

Vahad Dehkordi, N. [1], Rahimi, E. [*2], Zia Jahromi, N. [3]

1. PhD student in food hygiene, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2. Professor, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
3. Assistant Professor, Department of Biology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

*Corresponding Author: ebrahimrahimi55@yahoo.com

(Received: 2023/8/19 Accepted: 2023/12/8)

Abstract

Staphylococcus aureus, a gram-positive bacterium known for its resistance to desiccation and production of enterotoxins, is a prominent foodborne pathogen causing gastroenteritis and vomiting through its enterotoxin genes. This study aimed to assess the prevalence of *S. aureus* strains carrying enterotoxins A and B in traditional dairy products, salads, and nuggets distributed in Shahrekord. Additionally, antibiotic resistance profiles of these isolates were investigated. A total of 300 food samples were randomly collected from the Shahrekord market in spring 2023 and processed under sterile conditions to prevent contamination. Results indicated contamination rates of 63% in salads, 5% in nuggets, and 28.43% in traditional dairy products. Specifically, one seasonal salad isolate (0.33%) tested positive for the A gene, and one sandwich isolate (0.33%) contained the B gene. Antibiotic susceptibility testing revealed a high resistance rates to ampicillin (86.18%) and gentamicin (88.8%), while resistance was the lowest for imipenem (38.6%) and tetracycline (39.2%). The findings underscore the critical need for stringent regulations to enhance hygiene standards and mitigate the prevalence of toxin-producing microorganisms in fast-food settings, given the serious implications of antibiotic resistance and inadequate oversight on food safety.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Enterotoxin, Antibiotic resistance, Foods, Shahrekord

«مقاله پژوهشی: ۱۴۱۶»

بررسی میزان شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* حاوی انتروتوکسین‌های A و B در لبنیات سنتی، سالاد و ناگت‌های عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها

شیوع استافیلوکوکوس در مواد غذایی

نجمه واحددهکردی[۱]، ابراهیم رحیمی[۲*]، نوشا ضیا جهرمی[۳]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۳- استادیار، گروه زیست شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
نویسنده مسئول: ebrahimrahimi55@yahoo.com
(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۵/۲۸ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۹/۱۷)

چکیده

استافیلوکوکوس اروئوس **از باکتری‌های گرم مثبت مقاوم به خشکی و تولیدکننده انتروتوکسین بوده که رایج‌ترین عامل مسمومیت‌زا در مواد غذایی می‌باشد که مقاومت زیادی به آنتی‌بیوتیک‌ها داشته و به دنبال حضور ژن‌های انتروتوکسین‌زای آن، گاستروانتریت و استفراغ رخ می‌دهد. در همین راستا هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* حاوی انتروتوکسین A و B در لبنیات سنتی، سالاد و ناگت‌های عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها می‌باشد. در این مطالعه تعداد ۳۰۰ نمونه غذایی در بهار ۱۴۰۲ از بازار شهرکرد به‌صورت تصادفی ساده نمونه‌گیری و در شرایط سترون جهت جلوگیری از آلودگی ثانویه به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی انتقال داده شد. نتایج نشان داد که ۶۳ درصد از سالادها، ۵ درصد ناگت‌ها و ۲۸/۴۳ درصد از لبنیات سنتی نمونه‌گیری شده به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند که از بین آن‌ها ۱ نمونه ژن *A* در سالاد فصل (۰/۳۳ درصد) و ۱ نمونه ژن *B* در سالاد عرضه‌شده در ساندویچی‌ها (۰/۳۳ درصد) وجود داشت. نتایج تست آنتی‌بیوگرام نشان داد که بیشترین مقاومت آنتی-بیوتیک شامل آمپی‌سیلین (۸۶/۱۸ درصد) و جنتامایسین (۸۸/۸ درصد) و همچنین کمترین میزان مقاومت مربوط به امی‌پنم (۳۸/۶ درصد) و تتراسایکلین (۳۹/۲ درصد) بود. با توجه به عوارض بالای ناشی از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین عدم نظارت دقیق بر روی مواد غذایی عرضه‌شده در فست‌فودها، لذا قوانین دقیق، منسجم و سخت‌گیرانه جهت بهبود وضعیت بهداشتی و همچنین کاهش سطح آلودگی به میکروارگانیسم‌های مسمومیت‌زا، بیش‌ازپیش لازم است.**

واژه‌های کلیدی: ***استافیلوکوکوس اورئوس*****، انتروتوکسین، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، مواد غذایی، شهرکرد**

مقدمه

بیماری و مرگ‌ومیر ناشی از بیماری‌های غذازاد، یک تهدید دائمی برای سلامت عمومی و مانع مهمی برای توسعه اجتماعی و اقتصادی در سراسر جهان است. سازمان بهداشت جهانی بیماری‌های با منشأ مواد غذایی (Food borne disases) را، بیماری با ماهیت عفونی یا سمی ناشی از مصرف غذا یا آب تعریف می‌کند (Cheung *et al.*, 2021). تخمین زده می‌شود که سالانه ۷۶ میلیون بیماری، ۳۲۵۰۰۰ مورد بستری در بیمارستان و ۵۰۰۰ مرگ ناشی از بیماری‌های منتقله از طریق غذا در ایالات متحده اتفاق می‌افتد. در میان این موارد، ۳۱ پاتوژن شناخته‌شده باعث ۹/۴ میلیون بیماری، ۵۶۰۰۰ بستری شدن در بیمارستان و ۱۳۰۰ مرگ می شود (Guo *et al.*, 2020). با این حال بیماری‌های ناشی از غذا متعدد هستند و آن‌ها شامل ویروس‌ها و باکتری‌ها، انگل‌ها، مواد شیمیایی، سموم و آلرژن‌ها هستند که باعث ایجاد طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها می‌گردد. ایمنی مواد غذایی از بخش‌های مهم سلامت هر جامعه‌ای می‌باشد که امروزه حاکمیت‌ها، به خاطر افزایش مشکلات ناشی از آن و به‌منظور ارتقای سطح اطلاعات مصرف‌کنندگان در تلاش برای آگاهی بخشی آن‌ها در این حوزه هستند. (Heidarzadi, 2021). *استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت* یکی از علل مهم بیماری‌های با منشاء مواد غذایی است که سالانه باعث ۲۴۱۰۰۰ بیماری در ایالات متحده می‌شود. با این حال، بروز واقعی بیماری *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌تواند بسیار بیشتر باشد زیرا بیماری پراکنده منتقله از غذا توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* در ایالات متحده قابل گزارش نیست. *استافیلوکوکوس اورئوس* یک پاتوژن خطرناک است که می‌تواند باعث بسیاری از بیماری‌های مختلف شود. اغلب باعث عفونت‌های پوستی و عفونت‌های مجاری تنفسی می‌شود. عفونت-های پوستی معمولاً اکتسابی جامعه هستند (یعنی از فردی به فرد دیگر منتقل می‌شوند)، درحالی‌که عفونت‌های ریه در بین عفونت‌های بیمارستانی *استافیلوکوکوس اورئوس* غالب است. در بین پاتوژن-های بیمارستانی، *استافیلوکوکوس اورئوس* شایع‌ترین بوده و با عوارض و مرگ‌ومیر بالا همراه است. این باکتری می‌تواند در طیف وسیعی از دماها (۷ تا ۴۸/۵ درجه سلسیوس؛ بهینه ۳۰ تا ۳۷ درجه سلسیوس)، pH (۴/۲ تا ۹/۳؛ بهینه ۷ تا ۷/۵) و غلظت کلرید سدیم تا ۱۵ درصد NaCl رشد کند، درنتیجه یک میکروارگانیسم مقاوم به خشکی با توانایی زنده ماندن در محیط‌های بالقوه خشک و استرس‌زا مانند بینی انسان و روی پوست و سطوح بی‌جان مانند لباس و سطوح است. (Idrees *et al.*, 2021)،

استافیلوکوکوس اورئوس سموم متفاوتی را تولید می‌کند. انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی یک خانواده از نه نوع اصلی سرولوژیکی انتروتوکسین‌های پایدار در برابر حرارت (A، B، C، D، E، G، H، I، و J) هستند که به خانواده بزرگ سوپرآنتی ژن‌های سمی تب‌زا تعلق دارند. سموم پیروژنیک باعث فعالیت سوپرآنتی ژنی مانند سرکوب سیستم ایمنی و تکثیر سلول‌های T غیراختصاصی می‌شوند. انتروتوکسین‌های تولیدشده توسط برخی از سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* عوامل ایجادکننده بیماری هستند و انتروتوکسین A شایع‌ترین سم دخیل در چنین بیماری‌هایی است. انتروتوکسین A در برابر آنزیم‌های پروتئولیتیک بسیار

مقاوم است و گزارش‌شده کـه انتروتوکسـین‌های A، D و B بـــه ترتیـــب در ۷۷/۸، ۳۷/۵ و ۱۰ درصـــد از اپیـــدمی‌های مربـــوط بـــه مســـمومیت‌هـــای ناشـــی از *استافیلوکوکوس اورئـوس* را بـه خـود اختصـاص داده است (Kadariya *et al*., 2014).

سالاد سبزیجات سرشار از ویتامین‌ها و مواد معدنی هستند و بدون هیچ‌گونه عملیات حرارتی، گـاهی بـدون شستن و پوست کندن مصرف می‌شوند و به همین دلیل احتمال آلودگی بـه میکروارگانیسـم‌هـای پـاتوژن در آن وجود دارد. مصرف ناگـت‌هـا بـه‌عنوان غـذاهای آمـاده (Ready to eat) که دارای محتوای پروتئینـی مـی‌باشـند افزایش‌یافته و امروزه استفاده از غـذاهای نیمـه آمـاده و آماده به علت عدم وقـت کـافی جهـت پخـت غـذا، در دسترس نبودن منابع غـذایی و درنهایـت گـرایش مـردم نسبت به غذاهای بازاری آماده و نیمه آماده را می‌توان از دلایل استفاده از آن‌ها دانست (Madahi *et al*., 2015). افزایش تعداد مسمومیت‌های ناشـی از *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هـای اگزاسـیلین و متـی-سیلین سـبب برتـری آنتـی‌بیوتیـک‌هـای گلیکولیپیـدی، ماکرولیپـدی و لینکوزامیـدی شـده اسـت. مقاومـت *استافیلوکوکوس اورئوس* بـه اریترومایسـین معمـولاً بـا مقاومت سایر ماکرولیدها همراه است. اریترومایسین یک ماکرولید است که بـه‌طور گسـترده در مسـمومیت‌هـای استافیلوکوکی استفاده می‌شود که مطـابق پـژوهش‌هـای صـورت گرفتـه، مشخص‌شـده اسـت کـه سـوش‌هـای *اسـتافیلوکوکوس اورئـوس* غـذازاد دارای مقاومـت بـالا نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها هستند که قابل‌توجـه اسـت (Azizpour, 2022). بـــا توجـــه بـــه مقاومـــت *استافیلوکوکوس اورئوس* به آنتی‌بیوتیک‌ها و شیوع نسبتاً بالای این باکتری در مواد غذایی، هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان شـیوع *اسـتافیلوکوکوس اروئـوس* حـاوی ژن‌های A و B در لبنیـات سـنتی، سـالاد و ناگـت‌هـای عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

-نمونه‌گیری

در گـام نخسـت، تعـداد ۳۰۰ نمونـه مـواد غـذایی ازجمله ۱۰۰ نمونه سالاد، شامل ۵۰ نمونه سـالاد فصـل (ترکیبی از خیار، کـاهو، کلـم، فلفـل دلمـه‌ای، هـویج و گوجه)، و ۵۰ نمونه سالاد عرضه‌شده در سـاندویچی‌هـا (ترکیبی از خیار، کـاهو و گوجـه)، ۱۰۰ نمونـه لبنیـات سنتی، شامل ۲۰ نمونه خامه، ۳۰ نمونه کـره، ۳۰ نمونـه شـیر خـام و ۲۰ نمونـه ماسـت و ۱۰۰ نمونـه ناگـت (RTE) شامل ۵۰ نمونه ناگـت مـرغ ۵۰ گرمـی (بـا ۷۰ درصـد گوشـت مـرغ) و ۵۰ نمونـه ناگـت گوشـت ۵۰ گرمـی (بـا ۷۰ درصـد گوشـت) کـه به‌صـورت بـاز در یخچـال نگهـداری مـی‌شـدند را از مراکـز عرضـه ایـن محصولات در شهرسـتان شـهرکرد به‌صـورت تصـادفی جداسازی و به آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفـی مـواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد انتقال داده شد.

-جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس

بـرای جداســـازی *اســـتافیلوکوکوس اورئـــوس* ۵ گرم از نمونه‌های مورد آزمایش بـه درون ظرف تـوزین استریل منتقل و سپس میزان ۴۵ میلی‌لیتر محلول رینگـر به‌عنوان حلال به آن افزوده شد تا رقت 10^{-1} بـه دسـت آید. پس از حل کـردن، مخلوط کردن و یکدست شـدن و ایجـاد یک محلول همگن، میـزان ۰/۵میلـی‌لیتـر از آن

به‌وسیله سمپلر روی محیط برد پارکر آگار (Bird-Parker Agar) (Miemedia, Iran) به روش کشت سطحی کشت داده شد. پلیت‌های کشت داده‌شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم-خانه‌گذاری شدند. بعد از پایان انکوباسیون در صورت رشد، باکتری‌های با کلنی‌های گرد و سیاه رنگ، جهت انجام کشت تأییدی، از کلونی‌های مشکوک به‌وسیله لوپ استریل روی محیط مانیتول سالت آگار(-نام شرکت سازنده درج شود؟ Manitol Salt Agar) کشت داده و محیط‌ها مجدداً به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرارگرفته و بعد از گذشت ۲ساعت بر روی کلنی‌های مانیتول مثبت (کلونی‌های زردرنگ دارای هاله زردرنگ) تست DNase جهت تأیید *استافیلوکوکوس اروئوس* انجام گرفت. همچنین باکتری‌های موردنظر با تست کواگولاز ارزیابی و نتیجه این تست در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* مشخص شدند (Pishadast *et al*., 2021).

-آزمایش کوآگولاز مثبت

از محیط برد پارکر، با استفاده از یک حلقه کشت، چند پرگنه انتخاب‌شده را برداشته و به لوله حاوی محیط کشت آبگوشت مغز و قلب انتقال داده شد و در گرمخانه ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفت. بعد از ۲۴ ساعت، ۰/۵ میلی‌لیتر از این کشت مایع استافیلوکوکی در لوله‌آزمایش ریخته شد و ۰/۵ میلی‌لیتر از پلاسمای سیتراته خرگوش که چهار بار رقیق‌شده، به آن اضافه گردید و کاملاً باهم مخلوط و به هم زده شد. در لوله دیگر، به‌عنوان شاهد منفی برای هر سری ۰/۵ میلی‌لیتر پلاسمای سیتراته، به ۰/۵ میلی‌لیتر آبگوشت غذایی فاقد باکتری اضافه گردید. لوله‌ها در گرمخانه ۳۷ درجه سلسیوس قرارگرفته و در فواصل معین تا ۶ ساعت ازنظر تشکیل لخته موردبررسی قرار گرفتند. در هر لوله که پلاسما منعقدشده و واکنش مثبت بود به‌عنوان کواگولاز مثبت گزارش شد (Salehi *et al*., 2014).

-انجام تست PCR

برای استخراج DNA، باکتری‌های رشد کرده در طول یک‌شب در محیط آب پپتونه که در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه گذاری شده بودند، به‌وسیله‌ی کیت استخراج DNA شرکت سیناژن ایران و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده استخراج و تا زمان انجام PCRدر فریزر منفی ۲۰ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. سپس برای انجام واکنش PCR از جفت پرایمرهای طراحی‌شده بر اساس ردیف نوکلئوتیدی ژن 16s rRNAباکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، استفاده شد.

برای انجام آزمایش PCR برای تشخیص ژن 16s rRNA ، از دستگاه Master cycler gradient (Mastersycler, Germany) استفاده شد. حجم کلی واکنشPCR، ۳۰ میکرولیتر و شامل ۹۰ نانوگرم پرایمر، ۰/۲ میلی مول dNTP، ۱۰ میلی مول تریس HCl، ۱/۵ میلی‌مول MgCl 2، ۵۰ میلی‌مول KCl و ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase بود. برنامه‌ی حرارتی مورداستفاده شامل: یک سیکل ۹۵ درجه سلسیوس ۳ دقیقه، ۳۵ سیکل دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۵۳ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه و درنهایت یک سیکل ۷۲ درجه سلسیوس ۸ دقیقه بود. سپس تمام نمونه‌هایی که ازنظر حضور ژن 16s rRNA

مثبت بودند، با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلی مراز چندتایی (PCR Multiplex) برای ردیابی توکسین‌های باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ارزیابی شدند.

واکنش PCR چندتایی جهت ردیابی ژن‌ها در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر بافر X10 buffer PCR، ۱/۵ میلی مول MgCl2، ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۱ میکرومول از زوج پرایمرهای F و R ، ۵ میکرولیتر از هر نمونه DNA و ۱/۲۵ واحد آنزیم Polymerase Taq DNA، انجام شد. برنامه‌ی حرارتی مورداستفاده شامل: یک سیکل ۹۵ درجه سلسیوس ۲ دقیقه، ۳۵ سیکل دمایی به ترتیب ۹۵ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۶۰ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه و ۲۰ ثانیه و نهایتاً یک سیکل ۷۲ درجه سلسیوس ۱۰ دقیقه بود. به‌منظور ردیابی ژن‌های موردمطالعه باکتری حجم نهایی واکنش ۲۵، MgCl2 میکرولیتر بود که شامل: ۲۰ نانوگرم DNA الگو، ۲ میلی مول ۲۵ پیکومول از هر پرایمر، ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و ۲۰۰ میکرومول dNTP بود. برنامه‌ی حرارتی مورداستفاده شامل: یک سیکل ۹۵ درجه سلسیوس ۵ دقیقه، سپس ۳۵ سیکل دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۵۰ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه و یک سیکل نهایی ۷۲ درجه سلسیوس ۵ دقیقه بود. تأیید وجود قطعه‌ی تکثیر یافته از ژل آگارز ۱ درصد استفاده می‌شود. برای این منظور ۱ گرم از پودر آگارز در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر TBE حل و بعد از ذوب شدن مقدار ۲ میکرولیتر اتیدیوم بروماید به آن اضافه و در سینی مخصوص الکتروفورز ریخته شد. سپس ۱۵ میکرولیتر از محصول PCR همراه با ۱ میکرولیتر لودینگ بافر مخلوط و روی ژل ۱ درصد آگارز در حضور مارکر ۱۰۰ جفت بازی DNAFermentas در ولتاژ ثابت ۹۰ ولت الکتروفروز شد (de Andrade *et al*., 2019).

جدول (۱)- توالی پرایمرهای مورداستفاده برای شناسایی ژن‌های هدف در *استافیلوکوکوس اورئوس* در واکنش PCR

ژن هدف	توالی پرایمر	اندازه محصول	منبع
16srRNA	CCTATAAGACTGGGATAACTTCGGG CTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCG	۷۹۱	(Tavakoli-Far *et al*., 2020)
A	TTGGAAACGGTTAAAACGA GAACCTTCCCATCAAAAACA	۵۴۴	(de Andrade *et al*., 2019)
B	TCGCATCAAACTGACAAACG GCAGGTACTCTATAAGTGCC	۴۱۶	

سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی

تست‌آنتی‌بیوگرام به روش diffusion_Disk انجام گرفت. بعد از تهیه سوسپانسیون میکروبی مطابق با محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند، در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و پس‌ازآن دیسک‌های آنتی‌بیوگرام، شامل آمپی‌سیلین (AM)، پنی‌سیلین (PEN)، جنتامایسین (GM)، سولفامتاکساوزل (SXT)، آموکسی‌کلاو(AMC)، تتراسیکلین (TE)، اریترومایسین (ER)، کانامایسین (KM)، سفوتاکسیم (CX)، امی‌پنم (IM)، کاربپنم (CP)، کوتریموکسازول (CMZ) و

ریفامپین (RP) روی محیط کشت قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، با تعیین قطر هاله‌های عدم رشد، میزان مقاومت جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها مشخص گردید (Heidarzadi *et al*., 2021).

آنالیز آماری

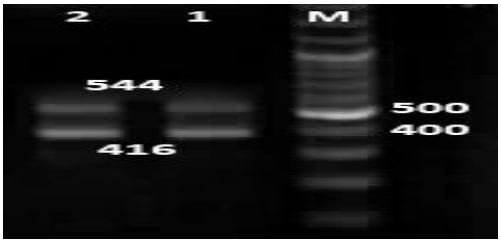
در مطالعه حاضر برای بررسی داده‌ها، از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ استفاده شد. برای مقایسه میزان آلودگی نمونه‌های مورد مطالعه به استافیلوکوکوس اورئوس از آزمون آماری مربع کای (خی دو) در سطح معنی‌داری ($p<0/05$) استفاده شد.

یافته‌ها

مطابق نتایج جدول (۱)- از مجموع ۳۰۰ نمونه مواد غذایی ازجمله ۱۰۰ نمونه سالاد، شامل سالاد فصل و سالاد عرضه‌شده در ساندویچی‌ها، ۲۳ نمونه سالاد فصل (۴۶ درصد) و ۴۰ نمونه سالاد عرضه‌شده در ساندویچی‌ها (۸۰ درصد)، از ۱۰۰ نمونه لبنیات سنتی، ۷ نمونه خامه (۳۵ درصد)، ۹ نمونه کره (۳۰ درصد)، ۱۱ نمونه شیر خام (۳۶/۶ درصد)، ۲ نمونه ماست (۱۰ درصد) و از ۱۰۰ نمونه ناگت (RTE)، ۴ نمونه ناگت مرغ (۸ درصد) و ۱ نمونه ناگت گوشت (۲ درصد) به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند. نتایج نشان داد که آلودگی بین نمونه‌های سالاد، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p<0.01$)؛ اما تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های لبنیات سنتی و ناگت‌ها وجود ندارد. همچنین نتایج نشان داد که از بین ۳۰۰ نمونه غذایی، ۲ نمونه (۰/۶۶ درصد) آلوده به جدایه‌های دارای ژن‌های A (۰/۳۳ درصد) و ژن B (۰/۳۳ درصد) بود.

جدول (۱)- مقایسه آلودگی سالاد فصل و سالاد عرضه شده در ساندویچی‌ها، لبنیات سنتی و ناگت گوشت و مرغ به *استافیلوکوکوس اورئوس*

مواد غذایی	آلوده تعداد (٪)	غیر آلوده تعداد (٪)	ژنA تعداد (٪)	ژنB تعداد (٪)
سالاد فصل	۲۳ (۴۶)	۲۷ (۵۴)	۱ (۰/۳۳)	-
سالاد عرضه شده در ساندویچی‌ها	۴۰ (۸۰)	۱۰ (۲۰)	-	۱ (۰/۳۳)
سطح معنی‌داری	۰/۰۰۱		۰/۰۰۱	
ناگت مرغ	۴ (۸)	۴۶ (۹۲)	-	-
ناگت گوشت	۱ (۲)	۴۹ (۹۸)	-	-
سطح معنی‌داری	۰/۱۶۹			
کره	۹ (۳۰)	۲۱ (۷۰)	-	-
شیر	۱۱ (۳۶/۶)	۱۹ (۶۳/۴)	-	-
خامه	۷ (۳۵)	۱۳ (۶۵)	-	-
ماست	۲ (۱۰)	۱۸ (۹۰)	-	-
سطح معنی‌داری	۰/۰۸۷			



شکل (۱)- ژل حاصل از الکتروفورز محصول PCR مربوط به ردیابی انتروتوکسین‌های A (قطعه ۵۴۴ جفت بازی) و B (قطعه ۴۱۶ جفت بازی) در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (ستون M= مارکر ۱۰۰ جفت بازی DNA، ستون‌های ۱ و ۲= ایزوله‌های مورد مطالعه)

طبق نتایج به‌دست‌آمده از جدول (۲)- مشخص شد که بیشترین میزان مقاومت مربوط به جنتامایسین (۸۸/۸ درصد)، آمپی‌سیلین (۸۶/۱۸ درصد) و کمترین مقاومت مربوط به امی‌پنم (۳۸/۶ درصد) و تتراسایکلین (۳۹/۲ درصد) می‌باشد.

جدول (۲). میزان مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

شماره	نام آنتی‌بیوتیک	درصد سویه‌های مقاوم
۱	آمپی‌سیلین (AM)	۸۶/۱۸ درصد
۲	پنی‌سیلین (PEN)	۷۱/۴ درصد
۳	جنتامایسین (GM)	۸۸/۸ درصد
۴	سولفامتاکساوزل (SXT)	۷۰/۸ درصد
۵	آموکسی‌کلاو(AMC)	۷۴/۱۶ درصد
۶	تتراسیکلین (TE)	۳۹/۲ درصد
۷	اریترومایسین (ER)	۶۰/۶ درصد
۸	کانامایسین (KM)	۸۱/۴۹ درصد
۹	سفوتاکسیم (CX)	۸۳/۳۳ درصد
۱۰	امی‌پنم (IM)	۳۸/۶ درصد
۱۱	کارباپنم (CP)	۷۶/۴ درصد
۱۲	کوتریموکسازول (CMZ)	۵۷/۳ درصد
۱۳	ریفامپین (RP)	۴۱/۷ درصد

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر میزان آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در سالادهای عرضه شده در ساندویچی‌ها ۸۰ درصد و سالادهای رستورانی ۴۶ درصد و درمجموع سالادهای مورد مطالعه ۶۳ درصد بود (جدول ۱). مطالعه‌ای بر روی آلودگی سالادهای عرضه شده در رستوران‌های نظامی ترکیه نشان داد که از بین ۵۱۲ نمونه، ۴۸ نمونه (۹/۴ درصد) دارای *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت بودند (Aycicek *et al.*, 2005)، که پایین‌تر از نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق

حاضر است. در تحقیقی بر روی آلودگی سالادهای عرضه شده در پاکستان گزارش‌شده که از مجموع ۱۰۰ نمونه آزمایش‌شده، ۵۴ نمونه آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. از ۵۴ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۳۲ (۵۹ درصد) *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت بودند. با این حال، ۲۲ (۴۰ درصد) کواگولاز منفی بود (Saifullah *et al*., 2018)، که تا حدودی با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در مطالعه دیگری گزارش‌شده که از ۳۴۵ نمونه سالاد سبزیجات، ۴۰ نمونه (۱۱/۶درصد) آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند (Seo *et al*., 2010)، که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر تفاوت دارد.

در تحقیقی که بر روی آلودگی سالادهای خیابانی عرضه شده در هندوستان انجام گرفت، مشخص شد که از ۱۵۰ نمونه، ۹۰ (۶۰ درصد) نمونه آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند (Ghosh *et al*., 2007)، که بامطالعه حاضر همسو می‌باشد. از مهم‌ترین دلایل آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* عدم شستشوی مناسب مواد تشکیل‌دهنده سالاد، عدم رعایت بهداشت شخصی و در معرض گردوخاک قرار دادن آن‌ها است. مطالعه‌ای بر روی ارزیابی مقاومت به متی‌سیلین در جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در سبزیجات انجام گرفت که مشخص شد ۴۵ مورد از ۳۵۰ (۱۲/۸۵درصد) نمونه سبزی و سالاد برای *استافیلوکوکوس اورئوس* مثبت بود (Tavakoli-Far *et al*., 2020)، که میزان آلودگی از مطالعه حاضر کمتر است.

در مطالعه حاضر میزان آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در کره ۳۰ درصد، در شیر خام ۶/۶ درصد ، در خامه ۲۵ درصد و در ماست ۲ درصد و درمجموع لبنیات سنتی مورد مطالعه ۲۷/۹ درصد آلوده بودند (جدول ۱).

در تحقیقی بر روی ۲۵۵ نمونه از لبنیات سنتی عرضه شده در اتیوپی گزارش‌شده که به *استافیلوکوکوس اورئوس* دریافتند که از مجموع ۲۵۵ نمونه محصولات لبنی ۴۳ (۲۴/۶ درصد) نمونه شیر، ۷ (۱۷/۵ درصد) نمونه ماست و ۲ (۵ درصد) نمونه پنیر به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند. همچنین نتایج این تحقیق نشان داده که ۴۹ نمونه (۹۴/۲ درصد) از جدایه‌ها به آمپی‌سیلین و ۴۲ نمونه (۸۰/۸ درصد) به آموکسی سیلین مقاوم بودند. ۲۰ نمونه (۳۸/۵ درصد) از جدایه‌ها نیز به سفوکسیتین مقاوم بودند (Lemma *et al*., 2021)، که تا حدودی بامطالعه حاضر همسو است، در این تحقیق میزان آلودگی در لبنیات سنتی۲۸/۴۳ درصد، و بیشترین مقاومت مربوط به آمپی‌سیلین و جنتامایسین بود.

نتایج مطالعه‌ای که بر روی آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در لبنیات سنتی عرضه شده انجام گرفت نشان داد که از مجموع ۱۳۰ نمونه، ۵۶ نمونه (۴۳ درصد) به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده هستند. همچنین آن‌ها دریافتند که جدایه ها بیشترین مقاومت به اریترومایسین و پنی‌سیلین داشتند (Výrostková *et al*., 2021)، که با نتایج تحقیق حاضر در خصوص درصد آلودگی مطابقت ندارد؛ چراکه در مطالعه حاضر میزان آلودگی به لبنیات سنتی۲۸/۴۳ درصد بود. در این مطالعه میزان مقاومت به پنی‌سیلین و اریترومایسین به ترتیب ۷۱/۴ و ۶۰/۶ بود که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در تحقیقی که بر روی ۳۳۰ نمونه شیر خام و محصولات لبنی فرآوری شده سنتی

برای جداسازی *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام گرفت گزارش شد که از مجموع نمونه‌ها، ۱۲۵ نمونه (۳۷/۸۸ درصد) و ۱۷۹ نمونه (۲۴/۵۴ درصد) به ترتیب به *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند (Teresa Debela *et al.*, 2019) که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر در خصوص *استافیلوکوکوس اورئوس* مطابقت دارد. مطالعه‌ای در سقز بر روی آلودگی شیر خام نشان داد که از تعداد ۱۰۰ نمونه، ۵۱ نمونه به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند که بالاتر از نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر (۲۸/۴۳) است. از مجموع ۵۱ جدایه، ۱۹ جدایه (۳۷/۲۵ درصد) به ۱ آنتی‌بیوتیک، ۱۹ جدایه (۳۷/۲۵ درصد) به ۲ آنتی‌بیوتیک، ۳ جدایه (۵/۸۸ درصد) به ۳ آنتی‌بیوتیک، ۵ جدایه (۹/۸۰ درصد) به ۴ آنتی‌بیوتیک، ۳ جدایه (۵/۸۸درصد) به ۵ آنتی‌بیوتیک، ۱ جدایه (۱/۹۸ درصد) به ۶ آنتی‌بیوتیک و ۱ جدایه (۱/۹۸ درصد) به ۸ آنتی‌بیوتیک به‌طور هم‌زمان مقاومت نشان دادند (Farajpour *et al.*, 2015)، که در مطالعه حاضر از مجموع ۱۳ آنتی‌بیوتیک، جدایه ها به ۱۰ آنتی‌بیوتیک بیشتر از ۵۰ درصد مقاومت نشان دادند.

در پژوهش حاضر میزان آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در ناگت‌های گوشت ۸ درصد و ناگت‌های مرغ ۲ درصد بود و درمجموع ۵ درصد ناگت‌های نمونه‌گیری شده آلوده بودند (جدول ۱). مطالعه‌ای که در کشور غنا بر روی آلودگی غذاهای آماده به *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شد نشان داد ۱۰۰ درصد ۳۶ نمونه از غذاهای آماده آلوده بودند. همچنین بیشترین میزان مقاومت به اریترومایسین، آمپی‌سیلین، کوتریماکسازول و پنی‌سیلین مشاهده شد (Ayamah *et al.*, 2021) که با نتایج حاصل از این تحقیق در خصوص درصد آلودگی به استافیلوکوکوس همخوانی ندارد. در پژوهش حاضر آلودگی در ۵ درصد نمونه‌ها وجود داشت؛ اما مقاومت بالای جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به آمپی‌سیلین، جنتامایسین، اریترومایسین و پنی‌سیلین در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد. در تحقیقی که بر روی آلودگی غذاهای آماده به *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شد، دریافتند که از تعداد ۲۵۵ نمونه گوشت، ۹/۴ درصد به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند و در بین جدایه‌ها بیشترین میزان مقاومت نسبت به سفوکسیستین بود (Okoli *et al.*, 2018)، که با نتایج تحقیق حاضر تا حدودی مطابقت دارد. در تحقیقی بر روی غذاهای منجمد شهرستان‌های اهواز و سنندج گزارش شد که از تعداد ۲۵۰ نمونه ۱۸ درصد آن‌ها به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند (Kalantar *et al.*, 2012)، که با این تحقیق مطابقتی ندارد. در مطالعه‌ای که بر روی آلودگی مواد غذایی به *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام گرفت، نشان داده شد از مجموع ۳۰ ناگت، ۱۹ نمونه معادل ۶۳/۳ درصد به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند (Shylaja *et al.*, 2018)، که با این مطالعه مطابقتی ندارد. در گزارشی نشان داده شد که از مجموع ۳۰ نمونه ناگت تهیه‌شده به‌صورت تصادفی، ۳۰ درصد آن‌ها آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بودند (Ibrahim *et al.*, 2018) درحالی‌که در این مطالعه ۵ درصد ناگت‌ها به استافیلوکوکوس اورئوس آلوده بودند.

در تحقیقی برای جداسازی ژن‌های آنتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* از ناگت‌ها عرضه شده در اصفهان و چهارمحال و بختیاری مشخص شد از

مجموع ۴۲۰ نمونه اخذشده ۲۷ نمونه (۶/۴۲ درصد) آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. درمجموع ۳۳/۳۳ درصد از جدایه‌ها قادر به تولید آنتروتوکسین A، ۴/۱۶ درصد از جدایه‌ها قادر به تولید آنتروتوکسین B، ۱۲/۵۰ درصد از جدایه‌ها قادر به تولید آنتروتوکسین C، ۸/۳۳ درصد از جدایه‌ها قادر به تولید آنتروتوکسین D، ۱۲/۵۰ درصد از جدایه‌ها قادر به تولید آنتروتوکسین A + C و ۱۲/۵۰درصد از جدایه‌ها قادر به تولید آنتروتوکسین A + D بودند. شایع‌ترین ژن شناسایی‌شده ژن آنتروتوکسین A (۲۵ درصد) بود (Madahi *et al.*, 2015)، که ازلحاظ فراوانی *استافیلوکوکوس اورئوس* تا حدودی بامطالعه حاضر مطابقت دارد. اما در مطالعه حاضر ژن آنتروتوکسین A و B هرکدام در ۰/۳۳ درصد جدایه‌ها مشاهده شدند. در تحقیقی بر روی آلودگی شیر به *استافیلوکوکوس اورئوس* در منطقه ۳ تهران نشان داده شد که از ۳۰ نمونه شیر خام خریداری‌شده به‌طور تصادفی، هیچ‌کدام از نمونه‌ها به *استافیلوکوکوس اورئوس* حاوی ژن A و B آلوده نبودند (Golafrouz *et al.*, 2020).

در تحقیق حاضر نشان داده شد که آلودگی *استافیلوکوکوس اورئوس* شیوع بالایی را داشته و همچنین مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها به‌صورت قابل‌ملاحظه‌ای بالا می‌باشد. ازآنجایی‌که غشای سلولی در *استافیلوکوکوس اورئوس* فسفولیپیدی است که به‌عنوان یک مانع نفوذپذیر انتخابی عمل می‌کند و سلول باکتری را از ورود موادی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها محافظت می‌کند که این خود مقاومت باکتری را در برابر عوامل نامساعد محافظت می‌کند. انتروتوکسین‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به حرارت مقاومت بالایی دارند، بنابراین لبنیات سنتی، ناگت و سالادهای عرضه شده در رستوران‌ها و فست‌فودی‌ها آلوده به این توکسین‌ها می‌تواند تهدیدی برای سلامت مصرف‌کننده باشد. وجود *استافیلوکوکوس اورئوس* با عوامل ژنتیکی تولید انتروتوکسین باید به‌عنوان یک عامل خطر بالقوه برای ایمنی مواد غذایی در نظر گرفته شود. بنابراین باید با رعایت اصول بهداشتی در دامداری‌ها، مراکز عرضه لبنیات سنتی، مواد غذایی آماده و همچنین مراکز عرضه مواد غذایی خیابانی جهت پیشگیری از وقوع رخداد آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* و همچنین درمان محتاطانه این عارضه با آنتی‌بیوتیک‌ها نهایت دقت را به عمل آورد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کلیه همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه را داشتند تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Ayamah, A., Sylverken, A.A., Ofori, L.A. (2021). Microbial load and antibiotic resistance of escherichia coli and staphylococcus aureus isolated from ready-to-eat (RTE) khebab sold on a university campus and Its environs in ghana. Journal of Food Quality, (6)2: 1-9.
- Aycicek, H., Cakiroglu, S., Stevenson, T.H. (2005). Incidence of Staphylococcus aureus in ready-to-eat meals from military cafeterias in Ankara, Turkey. Food Control, (4)16: 531-534.
- Azizpour, A. (2022). A survey of prevalence and antibiotic resistance pattern of Staphylococcus aureus strains isolated from eggs in Ardabil area, Iran. Journal of Comparative Pathobiology, (16)19: 3831-3840.
- Cheung, G.Y., Bae, J.S., Otto, M., (2021). Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus. Virulence, (12)1: 547-569.
- de Andrade, A.P.C., de Figueiredo, E.A.T., de Fatima Borges, M., Arcuri, E.F. (2019). Diversity of staphylococcus coagulase-positive and negative strains of coalho cheese and detection of enterotoxin encoding genes. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (36)1: 1032-1041.
- Farajpour, M.T., Sadeghi zali, M.H., Ghiamirad, M., (2015). Prevalence and antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus in raw milks of Saqez. Journal of Food Hygiene, (5)3: 39-48.
- Ghosh, M., Wahi, S., Kumar, M., Ganguli, A., (2007). Prevalence of enterotoxigenic Staphylococcus aureus and Shigella spp. in some raw street vended Indian foods. International Journal of Environmental Health Research, (17)2: 151-156.
- Golafrouz, H., Ahari, H., Anvar, S.A., Shahbazzadeh, D., (2020). Detection of Staphylococcus aureus Enterotoxin A (SEA) Using dot-elisa in milk samples. Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases (8)4: 132-136.
- Guo, Y., Song, G., Sun, M., Wang, J., Wang, Y., (2020). Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in staphylococcus aureus. Frontiers In Cellular and Infection Microbiology (10)1:101-107.
- Heidarzadi, M. A., (2021). A systematic review on the contamination of traditional Iranian fruit juices with Escherichia coli. New Findings In Veterinary Microbiology (4)1: 83-93. [In persian]
- Heidarzadi, M., Rahnama, M., Alipoureskandani, M., Saadati, D., Afsharimoghadam, A., (2021). Salmonella and Escherichia coli contamination in samosas presented in Sistan and Baluchestan province and antibiotic resistance of isolates. Journal of Food Hygiene (11)2, 81-90. [In persian]
- Ibrahim, H., Hassan, M., Amin, R., Shawky, N., Elkoly, R., (2018). The bacteriological quality of some chicken meat products. Benha Veterinary Medical Journal (35)2: 50-57.
- Idrees, M., Sawant, S., Karodia, N., Rahman, A., (2021). Staphylococcus aureus biofilm: morphology, genetics, pathogenesis and treatment strategies. International Journal of Environmental Research and Public Health (18)3: 76-82.
- Kadariya, J., Smith, T.C., Thapaliya, D., (2014). Staphylococcus aureus and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. BioMed Research International (20)14: 1-9.
- Kalantar, E., Amin, M., Bahmani, N., Tamimi, M., Hashemzadeh, M., Narenji, H., (2012). Antibiotic resistance pattern in bacterial isolates obtained from frozen food samples of animal origin in Sanandaj and Ahvaz. African Journal of Bacteriology Research (4)2: 38-41.
- Lemma, F., Alemayehu, H., Stringer, A., Eguale, T., (2021). Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of Staphylococcus aureus in milk and traditionally processed dairy products in Addis Ababa, Ethiopia. BioMed Research International (20)21: 20-35.
- Madahi, H., Rahimi, E., Jalali, M., (2015). Detection of enterotoxin genes of staphylococcus aureus isolates from chicken nugget in Esfahan province by PCR technique. Biological Journal of Microorganism (4)1: 25-34.
- Okoli, C.E., Njoga, E.O., Enem, S.I., Godwin, E.E., Nwanta, J.A., Chah, K.F., (2018). Prevalence, toxigenic potential and antimicrobial susceptibility profile of Staphylococcus isolated from ready-to-eat meats. Veterinary World (11)5: 12-18.

- Pishadast, S ,.Rahnama, M., Alipour Eskandani, M., Saadati, D., Noori Jangi, A., Heidarzadi, M., (2021). Study of antimicrobial effect of nisin and alcoholic extract of garlic on the activity of staphylococcus aureus ATCC 1113 in Tilapia minced meat during storage at 4° C. Journal of Food Hygiene (11)3: 37-47. [In persian]
- Saifullah, S., Abbas, F., Samad, A., Rizwan, M., Bugti, F.S., Saima, R., *et al.* (2018). 31. Staphylococcus aureus prevalence in the fresh salad and vegetables of the Quetta city. Pure and Applied Biology (PAB) (7)11: 255-262.
- Salehi, A., Dehghanifard, E., Alimohammadi, M., (2014). Evaluation of Coagulase-Positive Staphylococcus aureus Contamination in Lighvan Cheese on Retail Stores. Journal of Environmental Health Enginering (4)1: 130-136.
- Seo, Y.-H., Jang, J-.H., Moon, K.-D., (2010). Occurrence and characterization of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated from minimally processed vegetables and sprouts in Korea. Food Science and Biotechnology (19)5: 313-319.
- Shylaja, M., Goud, S.S.S., Samatha, K., Pradeep, C., (2018). Studies on the incidence of staphylococcus aureus and its enterotoxins in different meat and meat products. The Pharma Journal (7)11: 669-673.
- Tavakoli-Far, B., Mousavi, B., Mashak, Z., Rezaei, M.A., Doregiraee, F., Kachoie, M.A., *et al.* (2020). Molecular Typing and Phenotypic and Genotypic Evaluation of Antibiotic Resistance and Virulence Factors of the Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Bacteria Isolated From Vegetable and Salad Samples. Researcher Square (2)1: 1-19.
- Teresa Debela, T., Hiko, A., Sibhat, B. (2019). Assessment of hygienic practice in dairy farm and isolation of escherichia coli and staphylococcus aureus in milk and dairy product in selected towns of central ethiopia. Food Control (3)2: 78-90.
- Výrostková, J ,.Regecová, I., Zigo, F., Semjon, B., Gregová, G.. (2021). Antimicrobial resistance of staphylococcus spp. isolated from cheeses. Animals (12)4: 25-36.