جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد انتروتوکسین از نمونه های ناگت مرغ در اصفهان. ۱۳۹۸

فاتح رحیمی[۱]*، مریم آورزمانی[۲]

۱- دکترای تخصصی باکتری شناسی، دانشیار بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوریهای زیستی، دانشگاه اصفهان
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی-میکروبهای بیماریزا، بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوریهای زیستی، دانشگاه اصفهان

***نشانی برای مکاتبه:** اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فناوریهای زیستی، بخش میکروبیولوژی
f.rahimi@sci.ui.ac.ir
دریافت مقاله: **آذر نود و نه** پذیرش برای چاپ: **بهمن نود و نه**

چکیده

زمینه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین واجد طیف وسیعی از عوامل حدت از جمله انتروتوکسینهای مختلف است که باعث ایجاد بیماریهای مختلفی در انسان می شوند. این باکتریها به طور گسترده ای در گوشت و فرآورده های گوشتی آماده مصرف یافت می شوند. هدف از این مطالعه بررسی حضور جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد انتروتوکسینهای مختلف در نمونه های ناگت مرغ در شهر اصفهان بود.

مواد و روش‌ها: در طی ماه های اردیبهشت لغایت مهر ۱۳۹۸ در مجموع ۱۲ نمونه ناگت مرغ از دو شرکت مختلف در شهر اصفهان جمع آوری شدند. نمونه ها پس از آماده سازی بر روی محیط کشت Baird-Parker agar واجد اگزاسیلین کشت داده شدند و کلنیهای سیاه رنگ واجد هاله انتخاب شده و با استفاده از آزمونهای PCR با پرایمرهای nucA و mecA به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مورد شناسایی قرار گرفتند. جهت تایپینگ سویه ها از روشهای SCCmec تایپینگ و پروفاژ تایپینگ با آزمونهای multiplex-PCR جدا گانه استفاده گردید. همچنین، جهت تعیین حضور ژنهای رمزکننده انتروتوکسینهای مختلف از دو آزمون multiplex-PCR جداگانه استفاده گردید.

یافته‌ها: از مجموع ۱۲ نمونه ناگت مرغ جمع آوری شده، ۵ نمونه (۴۲ درصد) آلوده به جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین بودند و در مجموع ۹۳ سویه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی nucA و mecA مورد شناسایی قرار گرفتند. نتایج حاصل از SCCmec تایپینگ نشان داد که سویه های مقاوم به متی سیلین واجد ۳ تایپ II، III و V بودند و تایپ III فراوانترین تایپ بود. همچنین، ۶ پروفاژ تایپ مختلف و ۳ الگوی پروفاژی در میان سویه ها شناسایی گردید. علاوه بر این، ۱۳ ژن رمزکننده انتروتوکسینهای مختلف نیز شناسایی گردید که در این میان ژنهای sea، sek و seq در تمامی سویه ها حضور داشتند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده شیوع بالای جدایه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد انتروتوکسین در نمونه های ناگت مرغ در کشور می باشد که نشان دهنده اهمیت سیستمهای بهداشتی جهت تولید اینگونه غذاهای آماده مصرف می باشد.

واژگان کلیدی: MRSA، ناگت مرغ، پروفاژ تایپینگ، SCCmec تایپینگ، انتروتوکسین

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل بسیار مهم ایجاد مسمومیت غذایی در سراسر جهان محسوب می شود. همچنین، این باکتری به عنوان عامل اصلی ایجاد عفونت در مراکز بهداشتی و درمانی شناخته می شود و باعث ایجاد بیماریهای مختلفی از عفونتهای پوست و بافتهای نرم تا بیماریهای خطرناک و کشنده مانند اندوکاردیت، سپتی سمی و پنومونی نکروزه کننده می شود (۱). علاوه بر این، افزایش میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در این باکتری یک تهدید جدی برای سلامت جامعه به شمار می رود. یکی از این آنتی بیوتیکها، اگزاسیلین است که میزان مقاومت نسبت به آن در تمامی کشورها در حال افزایش می باشد (۲). جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از طریق staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) نسبت به متی سیلین مقاومت نشان می دهند. ژن mecA بخشی از این عنصر ژنتیکی متحرک و بزرگ محسوب می شود. تا کنون ۱۳ تایپ مختلف در میان جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین شناسایی شده است که بر این اساس جدایه های مقاوم به متی سیلین به سه دسته اکتسابی از بیمارستان HA-MRSA، اکتسابی از جامعه CA-MRSA و مرتبط با دام LA-MRSA طبقه بندی می شوند (۳). نخستین گزارشات از عفونتهای ناشی از جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در حیوانات در دهه ۱۹۷۰ منتشر شدند که با توجه به منشاء آنها به نظر می رسد این جدایه ها باید LA-MRSA باشند (۴).

غذاهای آماده مصرف (RTE) از قبیل گوشت و مرغ پخته شده، بشقاب سبزیجات سرد، نودلهای سرد و برنج سرخ شده که بدون نیاز به هر گونه آماده سازی مورد استفاده قرار می گیرند، در دنیا از محبوبیت بالایی برخوردار می باشند. گزارشات مختلف نشان داده اند که این قبیل محصولات غذایی در معرض خطر آلودگی میکروبی با باکتریهای بالقوه بیماریزا مانند گونه های سالمونلا و لیستریا مونوسایتوژنز قرار دارند. با این وجود، اطلاعات کمتری در ارتباط با شیوع جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در اینگونه مواد غذایی منتشر شده اند (۳). جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس قادر به تولید طیف وسیعی از انتروتوکسینها هستند (SEA-SEE, SEG-SEX) که این باکتریها را به یکی از مهمترین عوامل ایجاد مسمومیتهای غذایی ناشی از مصرف غذاهای آماده مصرف تبدیل می کند (۵). این مطالعه با هدف جداسازی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد انتروتوکسین از نمونه های ناگت مرغ در شهر اصفهان به انجام رسیده است.

روش کار

در این مطالعه در طی ۶ ماه (اردیبهشت لغایت مهر) در سال ۱۳۹۸ در مجموع ۱۲ مرتبه نمونه گیری از دو برند تولید کننده ناگت مرغ در کشور از یک فروشگاه در سطح شهر اصفهان انجام گرفت. در هر ماه یک بسته ناگت مرغ از تولیدات هر کدام از شرکتهای مورد نظر در همان ماه تهیه شد و نمونه ها با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه باکتری شناسی دانشگاه اصفهان منتقل شدند و در کمتر از ۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند. بررسی نمونه ها با استفاده از دستورالعملی که پیشتر جهت جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از نمونه های گوشت مورد استفاده قرار گرفته بود، انجام گرفت (۱). برای این منظور، ۲۵ گرم از نمونه های ناگت مرغ به ۲۲۵ میلی لیتر محیط کشت مولر هینتون براث (Merck, Darmstadt, Germany) واجد ۶/۵ درصد نمک اضافه شد و سپس ارلن واجد نمونه مورد بررسی و محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. پس از آن، ۱ میلی لیتر از این نمونه به لوله واجد ۹ میلی لیتر محیط فنل رد براث واجد آنتی بیوتیکهای آزترئونام و سفتی زوکسیم (Sigma-Aldrich, Mo, USA) افزوده شد و مجددا به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. سرانجام، ۱ میلی لیتر از این مجموعه بر روی محیط کشت Baird-Parker agar (Merck, Darmstadt, Germany) واجد ۲ میکروگرم/میلی لیتر اگزاسیلین (Sigma-Aldrich, Mo, USA) کشت داده شدند و این پلیتها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. کلنیهای سیاه رنگ واجد هاله ناشی از هیدرولیز لسیتین به عنوان جدایه های مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین انتخاب شدند و پس از خالص سازی بر روی محیط کشت Brain Heart Infusion agar (Scharlau, Spain) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی nucA و mecA به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مورد شناسایی و تأیید قرار گرفتند و در ویالهای واجد محیط مغذی و گلیسرول در فریزر نگهداری شدند (۲).

جهت تعیین مقاومت سویه های استافیلوکوکوس اورئوس که بر روی محیط واجد اگزاسیلین رشد کرده بودند، بر اساس دستورالعملهای CLSI، از روش انتشار از دیسک سفوکسی تین (۳۰ میکروگرم) بر روی محیط مولر هینتون آگار (Scharlau, Spain) استفاده شد. سویه های مقاوم به سفوکسی تین به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین انتخاب شدند (۶).

از روش جوشاندن برای استخراج DNA جدایه های باکتریایی استفاده شد (۷). بر این اساس تعداد کمی کلنی در ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل حل شدند و پس از ۲۰ دقیقه انکوباسیون در بن ماری جوش به مدت ۲۰ دقیقه در g × ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و

سپس از مایع رویی به عنوان الگوی DNA در آزمونهای PCR استفاده گردید.جهت شناسایی کلنیهای سیاه رنگ واجد هاله از آزمون PCR و جفت پرایمر اختصاصی nucA بر اساس دستورالعمل و چرخه حرارتی پیشین استفاده گردید (۲). همچنین به منظور تأیید مقاومت نسبت به اگزاسیلین از آزمون PCR و پرایمرهای اختصاصی mecA که پیشتر مورد تأیید قرار گرفته بود، استفاده شد (۲).

به منظور انجام SCCmec تایپینگ سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از آزمون multiplex-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تایپهای I-V بر اساس مطالعات پیشین استفاده شد (۲).

جهت بررسی حضور پروفاژ تایپهای SGA، SGB، SGF، SGFa، SGFb و SGL در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، آزمون multiplex-PCR با پرایمرهای اختصاصی و بر اساس دستورالعمل پیشین مورد استفاده قرار گرفت (۸).

جهت تعیین حضور ژنهای مربوط انتروتوکسینهای مختلف A-E و G-Q در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از دو آزمون multiplex-PCR جداگانه و بر اساس مطالعات پیشین و با پاره ای تغییرات استفاده گردید (۱).

یافته ها

در مجموع ۵ نمونه (۴۲ درصد) از ۱۲ نمونه ناگت مرغ جمع آوری شده از دو برند مورد بررسی آلوده به جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین بودند (جدول ۱). همچنین، در این ۵ نمونه آلوده ۹۳ کلنی سیاه رنگ واجد هاله بر روی محیط اختصاصی Baird-Parker agar جدا شد که با استفاده از آزمونهای PCR با پرایمرهای اختصاصی nucA و mecA تمامی ۹۳ کلنی جمع آوری شده به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین شناسایی شدند. علاوه بر این، تمامی سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک سفوکسی تین نیز مقاومت نشان دادند و نتایج حاصل از آزمون تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی و بررسی حضور ژن *mec*A کاملا بر هم منطبق بودند. بر اساس نتایج حاصل از جدول شماره ۱ مشخص گردید که ۶۶ سویه (۷۱) از نمونه های ناگت مرغ تولیدی شرکت ۱ جداسازی شدند و ۲۷ سویه (۲۹) نیز متعلق به نمونه های ناگت مرغ تولیدی شرکت ۲ بودند.

جدول ۱. فراوانی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جدا شده از ناگت مرغ تولیدی دو شرکت مختلف. اصفهان. ۱۳۹۸

زمان نمونه گیری	شرکت ۱ (٪)	شرکت ۲ (٪)	*P* value	تعداد کلی (٪)
اردیبهشت ۹۸	**۱۶ (۲۴)**	–	**۰/۰۰۰۱**	**۱۶ (۱۷)**
خرداد ۹۸	–	–	–	–
تیر ۹۸	**۱۹ (۲۹)**	**۱۷ (۶۳)**	**۰/۰۰۰۱**	**۳۶ (۳۹)**
مرداد ۹۸	**۱۱ (۱۷)**	–	**۰/۰۰۰۱**	**۱۱ (۱۲)**
شهریور ۹۸	**۲۰ (۳۰)**	**۱۰ (۳۷)**	**۰/۳**	**۳۰ (۳۲)**
مهر ۹۸	–	–	–	–
تعداد	**۶۶ (۷۱)**	**۲۷ (۲۹)**	**۰/۰۰۰۱**	**۹۳**

در مجموع ۳ SCCmec تایپ II، III و V در میان ۹۳ سویه مورد مطالعه شناسایی شدند (جدول ۲). بر این اساس مشخص گردید که SCCmec تایپ III به عنوان غالبترین تایپ بود و ۶۳ سویه (۶۸ درصد) واجد این تایپ بودند. همچنین، فراوانی SCCmec تایپهای II و V نیز در میان جدایه ها به ترتیب محدود به ۲۵ سویه (۲۷ درصد) و ۵ سویه (۵ درصد) بود.

علاوه بر این، نتایج حاصل از آزمون پروفاژ تایپینگ سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین نشان داد که تمامی پروفاژ تایپهای SGA، SGB، SGF، SGFa، SGFb و SGL در میان سویه ها مورد شناسایی قرار گرفتند (جدول ۲). بر این اساس مشخص شد که پروفاژ تایپ SGF و دو ساب تایپ SGFa و SGFb در میان تمامی ۹۳ سویه (۱۰۰ درصد) استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین حضور داشتند و پروفاژ تایپهای SGA و SGL نیز تنها در ۵ سویه (۵ درصد) شناسایی گردیدند. همچنین، در مجموع ۳ الگوی پروفاژی نیز در میان سویه ها شناسایی گردید که الگوی ۲ فراوانترین الگو بود و در ۶۸ درصد (۶۳ سویه) سویه ها حاضر بود. در مقابل، الگوی شماره ۱ تنها در میان ۵ درصد سویه ها (۵ سویه) مورد شناسایی قرار گرفت و الگوی شماره ۳ نیز محدود به ۲۷ درصد سویه ها (۲۵ سویه) بود.

جدول ۲. نتایج حاصل از پروفاژ تایپینگ و SCCmec تایپینگ سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جدا شده از ناگت مرغ تولیدی دو شرکت مختلف. اصفهان. ۱۳۹۸

الگو	SGA	SGB	SGF	SGFa	SGFb	SGL	SCC*mec*	تعداد (درصد)
۱	+	+	+	+	+	+	V	۵ (۵)
۲	−	+	+	+	+	−	III	۶۳ (۶۸)
۳	−	−	+	+	+	−	II	۲۵ (۲۷)
تعداد کلی (٪)	۵ (۵)	۶۳ (۶۸)	۹۳ (۱۰۰)	۹۳ (۱۰۰)	۹۳ (۱۰۰)	۵ (۵)	۹۳ (۱۰۰)	۹۳

در مجموع ۱۳ ژن انتروتوکسینی در میان سویه ها مورد شناسایی قرا گرفت (جدول ۳). بر این اساس مشخص گردید که ۳ ژن sea، sek و seq در میان تمامی سویه ها حضور داشتند و پس از آن بیشترین فراوانی مربوط به ژنهای sep (۴۴٪)، seg (۳۲٪)، sei (۳۲٪)، sel (۳۱٪)، sej (۲۷٪) و seo (۲۴%) بود. همچنین فراوانی ژنهای sec، see، sem و sen بین ۲ تا ۱۸ درصد متغیر بود. در این مطالعه فراوانی ژنهای رمزکننده انتروتوکسینها در میان نمونه های ناگت مرغ تولیدی شرکت ۱ بیشتر از نمونه های ناگت مرغ تولیدی شرکت ۲ بود اما این اختلاف فقط در مورد ژن انتروتوکسین sel معنی دار بود.

جدول ۳. فراوانی ژنهای رمزکننده انتروتوکسینهای مختلف در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جدا سازی شده از ناگت مرغ تولیدی دو شرکت مختلف. اصفهان. ۱۳۹۸

ناگت مرغ	*sea*	*sec*	*see*	*seg*	*sei*	*sej*	*sek*	*sel*	*sem*	*sen*	*seo*	*sep*	*seq*
شرکت ۱	۶۶ (۱۰۰)	۵ (۸)	۲ (۳)	۲۳ (۳۵)	۲۳ (۳۵)	۱۹ (۲۹)	۶۶ (۱۰۰)	۲۴ (۳۶)	۱۰ (۱۵)	۱۴ (۲۱)	۱۸ (۲۷)	۳۱ (۴۷)	۶۶ (۱۰۰)
شرکت ۲	۲۷ (۱۰۰)	۱ (۴)	−	۷ (۲۶)	۷ (۲۶)	۶ (۲۲)	۲۷ (۱۰۰)	۵ (۱۹)	۲ (۷)	۳ (۱۱)	۴ (۱۵)	۱۰ (۳۷)	۲۷ (۱۰۰)
***P* value**	−	۰/۳	۰/۰۰۰۱	۰/۲	۰/۲	۰/۳	−	۰/۰۱	۰/۱	۰/۰۸	۰/۰۵۵	۰/۱	−
تعداد (درصد)	۹۳ (۱۰۰)	۶ (۶)	۲ (۲)	۳۰ (۳۲)	۳۰ (۳۲)	۲۵ (۲۷)	۹۳ (۱۰۰)	۲۹ (۳۱)	۱۲ (۱۳)	۱۷ (۱۸)	۲۲ (۲۴)	۴۱ (۴۴)	۹۳ (۱۰۰)

بحث

در مطالعه حاضر به بررسی حضور سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در نمونه های ناگت مرغ تولید شده توسط دو شرکت معتبر پرداخته شده است. به طور کلی با توجه به مشکلات جوامع امروزی و فرصت کمتر افراد جهت طبخ غذاهای مناسب و تغییر ذائقه بسیاری از افراد جامعه به ویژه نسل جوان، گرایش به سمت غذاهای آماده یا نیمه آماده بسیار افزایش پیدا کرده است. این غذاها که معمولا توسط شرکتهای مختلفی و با کیفیتها و استانداردهای بهداشتی مختلفی تهیه و توزیع می شوند از جمله محلهای بسیار مناسب جهت رشد و تکثیر باکتریهای مختلفی از جمله استافیلوکوکوس اورئوس محسوب می شوند. وجود سویه های استافیلوکوکوس اورئوس که قادر به تولید ۲۳ انتروتوکسین مختلف هستند همواره به عنوان یکی از عوامل بیماریزا و تهدید کننده زندگی بسیار مورد توجه بوده است و به همین دلیل این باکتری به عنوان یک عامل بسیار مهم ایجاد مسمومیت غذایی در جهان مبدل شناخته می شود (۵). در مطالعه حاضر ۴۲ درصد نمونه های ناگت مرغ آلوده به جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مولد انتروتوکسین بودند که این یافته ها بیشتر از مطالعه دیگری است که در سال ۲۰۱۴ در استانهای اصفهان و چهار محال و بختیاری به انجام رسیده است (۹). در ایران تاکنون اطلاعات مختلفی در ارتباط با آلودگی نمونه های گوشت به استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین منتشر شده است (۱۱-۹). بنابراین، با توجه به شیوع جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در نمونه های گوشت مرغ و همچنین فراوانی بالای این جدایه ها در میان افراد سالم در کشور، انتظار آلودگی نمونه های ناگت مرغ چندان دور از انتظار نبود. در مجموع به نظر می رسد که تفاوت در شیوع جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در نمونه های مختلف می تواند ناشی از میزان سطح بهداشتی جامعه، منطقه جغرافیایی و روشهای جداسازی باکتریها باشد (۱). همچنین، یکی از دلایل جداسازی فراوان باکتریها در این مطالعه را می توان ناشی از استفاده از دو مرحله غنی سازی در این مطالعه دانست که باعث جداسازی بهتر و بیشتر سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین شده است.

در این مطالعه جهت تایپینگ سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از آزمونهای مبتنی بر PCR پروفاژ تایپینگ و SCCmec تایپینگ استفاده شد. بر اساس نتایج حاصل از آزمون پروفاژ تایپینگ در مجموع ۶ پروفاژ تایپ و ۳ الگوی پروفاژی در میان سویه ها شناسایی گردید که الگوی شماره ۲ با حضور پروفاژ تایپهای SGB، SGF، SGFa و SGFb به عنوان فراوانترین الگو در این مطالعه معرفی شد. تا کنون نتایج مختلفی در ارتباط به پروفاژ تایپینگ جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در کشور گزارش شده است (۱, ۲, ۸, ۱۵-۱۰). در تمامی مطالعات انجام گرفته در کشور همواره حضور پروفاژتایپ SGF و ساب تایپهای SGFa و SGFb در ۱۰۰ درصد سویه ها گزارش شده است که در این مطالعه نیز به همین شکل بود. همچنین، در این مطالعه ۳ تایپ SCCmec شامل تایپهای II، III و V مورد شناسایی قرار گرفتند و در این میان SCCmec تایپ III همانند سایر مطالعات انجام گرفته بر روی نمونه های گوشتی، دامی، محیطی و همچنین بالینی از بالاترین فراوانی برخوردار بود و تایپ غالب در این مطالعه بود (۱, ۲, ۱۰, ۱۱, ۱۷-۱۳). همچنین در این مطالعه، ۵ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین واجد SCCmec تایپ V بودند و در الگوی پروفاژی شماره ۱ نیز قرار داشتند (که تمامی پروفاژ تایپها نیز در میان آن الگو شناسایی شد). این سویه ها به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه شناخته شدند (۲). بنابراین می توان اینگونه نتیجه گیری کرد که با توجه به حضور پروفاژ تایپهای مختلف در میان این سویه ها که رمزکننده طیف وسیعی از عوامل حدت مختلف هستند، بنابراین چنین سویه هایی می توانند بسیاری از عوامل حدت را تولید کنند و باعث ایجاد عفونتهای مختلفی در انسان شوند. با توجه به شیوع چنین جدایه هایی در بیمارستانها می توان اذعان داشت که این سویه ها منشاء بیمارستانی دارند و از بیمارستان در جامعه، مزارع پرورش دام و طیور و طبیعتا کارخانجات صنایع غذایی منتشر شده اند.

در ارتباط با حضور جدایه های باکتریایی بیماریزا در نمونه های گوشت و فرآورده های گوشتی تا کنون عوامل خطر مختلفی ذکر شده اند که در بیشتر موارد اتفاق نظر به آلودگی گوشت در حین فرآیند ذبح دام وجود دارد. هرچند که مواردی از قبیل آلودگی دام و طیور در دامداریها و مرغداریها و از طریق تماس با مستقیم با افراد و غذای آلوده و همچنین در حین فرآیند انتقال نمونه ها و در هنگام عرضه در فروشگاه ها نیز به عنوان عوامل بسیار مهم مورد توجه قرا دارند (۱). اما با توجه به اینکه نمونه های ناگت مرغ به صورت بسته بندی شده از کارخانجات صنایع غذایی در سطح فروشگاه ها عرضه می شوند بنابراین، کلونیزه شدند کلون تایپهای مختلفی از جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در کارخانجات صنایع غذایی به دلیل عدم رعایت اصول بهداشتی از موارد بسیار مهمی است که در اینجا باید به آن اشاره شود.

از مجموع ۱۶ ژن انتروتوکسینی مورد بررسی در این مطالعه، ۱۳ ژن انتروتوکسینی مورد شناسایی قرار گرفتند و هیچکدام از سویه ها واجد ژنهای seb، sed و seh نبودند. پیشتر حضور ۱۱ ژن رمزکننده انتروتوکسینهای مختلف در میان نمونه های گوشت دام و طیور در ایران گزارش شده بود (۱). در دیگر مطالعه انجام گرفته بر روی نمونه های ناگت مرغ ژنهای sea، seb، sec، sed، seg، sei و sej مورد شناسایی قرار گرفتند (۹). در این مطالعه ژنهای sea، sek و seq فراوانترین ژنها بودند و در ۱۰۰ درصد سویه ها حاضر

بودند که این فراوانی در سایر مطالعات پیشتر نیز در کشور گزارش شده بود (۱, ۱۰). این ژنها توسط پروفاژها رمزگذاری می شوند که کاملا منطبق بر نتایج حاصل از حضور الگوهای مختلف فاژی در این مطالعه می باشد. علاوه بر این، دو ژن seg و sei هر دو متعلق به یک کلاستر ژنتی انتروتوکسینی می باشند و از فراوانی مشابهی نیز در میان جدایه های مورد بررسی برخوردار هستند (۱۸). به طور کلی تفاوت در فراوانی ژنهای انتروتوکسینی مختلف در مطالعات انجام گرفته می تواند ناشی از تفاوت در شیوع کلون تایپهای متعدد و متفاوتی از استافیلوکوکوس اورئوس در بیمارستانها، دامداریها، مرغداریها و کارخانجات صنایع غذایی در شهرها یا کشورهای مختلف باشد.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که نمونه های ناگت مرغ تولیدی هر دو شرکت از آلودگی بالایی به سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین برخوردار می باشند. این سویه ها که نسبت به اگزاسیلین مقاوم بوده و واجد طیف وسیعی از ژنهای انتروتوکسینی هستند از پتانسیل بالایی جهت ایجاد بیماری در انسان برخوردار می باشند. این سویه ها از شیوع بالایی نیز در جامعه برخوردار می باشند و به نظر می رسد که احتمالا منشاء اصلی آنها محیطهای بیمارستانی است که به طریقی وارد محیطهای پرورش طیور و همچنین کارخانجات صنایع غذایی شده اند. به نظر می رسد عدم نظارت کافی بر سطح بهداشتی مزارع پرورش ماکیان و کارخانجات صنایع غذایی و همچنین ایجاد اشکال در خطوط تولید فرآورده های گوشتی از مهمترین عوامل این شیوع بالا در نمونه های ناگت مرغ محسوب می شود. بنابراین، با اجرای دقیق اصول بهداشتی و همچنین سیستمهای تجزیه و تحلیل خطر و نقطه کنترل بحرانی (HACCP) می توان تا حد بسیار زیادی از آلودگی باکتریایی نمونه های غذایی ممانعت به عمل آورد. این مطالعه بر روی تعداد محدودی از نمونه های ناگت مرغ در کشور انجام گرفته است، بنابراین انجام بررسی های گسترده و دقیق بر روی تمامی محصولات تولید شده در کشور بسیار ضروری به نظر می رسد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه اصفهان به انجام رسیده است.

REFERENCE

1. Rahimi F, Shafiei R. Characteristics of enterotoxin-producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from meat in Tehran, Iran. Journal of Consumer Protection and Food Safety. 2019;14(4):389-98.
2. Rahimi F, Katouli M, Pourshafie MR. Characteristics of hospital-and community-acquired meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Tehran, Iran. Journal of Medical Microbiology. 2014;63(6):796-804.
3. Yang X, Zhang J, Yu S, Wu Q, Guo W, Huang J, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail ready-to-eat foods in China. Frontiers in Microbiology. 2016;7:816.
4. Petinaki E, Spiliopoulou I. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among companion and food-chain animals: impact of human contacts. Clinical Microbiology and Infection. 2012;18(7):626-34.
5. Medveďová A, Havlíková A, Valík Ľ. *Staphylococcus aureus* enterotoxin production in relation to environmental factors. The rise of virulence and antibiotis resistance in *Staphylococcus aureus* InTech, Rijeka, Croatia2017. p. 145-67.
6. Clinical and Laboratory Standard Institute C. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28th informational supplement. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2018.

7. Rahimi F, Amin N. Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from chicken meat samples in Isfahan. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2020;25(88):1-8.
8. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. Prophage and antibiotic resistance profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in Iran. Archives of Virology. 2012;157(9):1807-11.
9. 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):e10237.
10. Rahimi F, Karimi S. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains producing enterotoxins A, K and Q from chicken meat in Isfahan, Iran, 2014. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2016;11(4):e35601.
11. Rahimi F, Karimi S. Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from poultry in Iran. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2015;10(4):e30885.
12. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie M. Prophage typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a tertiary care hospital in Tehran, Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2013;6(1):80-5.
13. Rahimi F, Katouli M, Karimi S. Biofilm production among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from catheterized patients with urinary tract infection. Microbial Pathogenesis. 2016;98:69-76.
14. Rahimi F, Qasemi A. Epidemiological link between methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from 2 different cities in Iran. Infectious Diseases in Clinical Practice. 2019;27(3):163-9.
15. Rahimi F, Shokoohizadeh L. Characterization of virulence factors and prophage profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from a referral hospital in Tehran, Iran. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2018;13(5):e59385.
16. Rahimi F, Bouzari M. Biochemical fingerprinting of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from sewage and hospital in Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2015;8(7):e19760.
17. Rahimi F, Shokoohizadeh L. Characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains among inpatients and outpatients in a referral hospital in Tehran, Iran Microbial Pathogenesis. 2016;97:89-93.
18. Jarraud S, Peyrat MA, Lim A, Tristan A, Bes M, Mougel C, et al. egc, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. Journal of Immunology. 2001;166(1):669-77.