مطالعه میزان آلودگی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تولید بیوفیلم و وجود ژن TSST-1 در جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*

کامران ابراهیم زاده[۱]، شهرام حنیفیان[۲، ۳*]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۲. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۳. مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: hanifian@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۵/٤/۲۱ پذیرش نهایی: ۹۵/۱۲/۱۸)

چکیده

هدف این مطالعه بررسی میزان آلودگی شیر خام و فرآورده‌های لبنی سنتی استان آذربایجان‌غربی با *استافیلوکوکوس اورئوس* و ارزیابی وجود ژن مولد زهرابه TSST-1، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و قابلیت تولید بیوفیلم در جدایه‌های این باکتری بود. برای این منظور ۸۰ نمونه شیر خام و فرآورده‌های آن (شامل پنیر، خامه و کشک سنتی) به‌همراه ۲۰ نمونه سواب بینی تولیدکنندگان این محصولات با روش تصادفی طبقه‌ای جمع‌آوری شد. نمونه‌ها با استفاده از روش‌های متداول کشت، جداسازی و شناسایی گردیدند و سپس وجود ژن TSST-1 با استفاده از PCR ارزیابی شد. بر اساس نتایج مطالعه، ۳۵ نمونه آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند که از این بین ژن TSST-1 در ۱ نمونه پنیر و ۲ نمونه سواب بینی ردیابی گردید. یافته‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد اکثر جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، ونکومایسین و متی‌سیلین مقاوم و نسبت به کوتریموکسازول، جنتامایسین، ریفامپین، اگزاسیلین و سفولوتین حساس بودند. هم‌چنین تولید بیوفیلم در ۲/۸۵، ۱۷/۱۵ و ۸۰ درصد جدایه‌ها به‌ترتیب زیاد، متوسط و کم برآورد گردید. فراوانی بالای آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* و وجود سویه‌های دارای ژن حدت TSST-1 در بین آن‌ها، هم‌چنین مقاومت بالا به آنتی‌بیوتیک مختلف و قابلیت تولید بیوفیلم، بیانگر مخاطره بهداشتی در ارتباط با مصرف فرآورده‌های لبنی سنتی است.

واژه‌های کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، ژن TSST-1، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بیوفیلم، محصولات لبنی سنتی

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

جنس *استافیلوکوکوس* متعلق به خانواده میکروکوکاسه و یک باکتری گرم مثبت، غیراسپورزا، فاقد کپسول، غیرمتحرک و بی‌هوازی اختیاری است. *استافیلوکوک‌ها* از باکتری‌های مهم در پزشکی و دامپزشکی هستند، به این معنی که برخی از اعضای این جنس از شایع‌ترین عوامل ایجاد عفونت‌های پستانی در گاو و گوسفند می‌باشند و از این نظر ضررهای اقتصادی زیادی را متوجه اقتصاد دامداری می‌کنند (Quinn *et al*., 1994). برخی گونه‌های این جنس عامل ایجاد عوارضی نظیر زخم‌های پوستی، دمل، عفونت‌های بیمارستانی بسیار خطرناک و گاهی مقاوم به درمان در انسان می‌باشند. اعضای این جنس در زیستگاه‌های مختلف پراکنده‌اند. برخی از آن‌ها در پوست، غدد پوستی و غشاهای مخاطی جانوران وجود دارند و از این طریق به فرآورده‌های حیوانی و منابع محیطی منتقل می‌شوند. *استافیلوکوکوس اورئوس* ازجمله گونه‌های شاخصی است که علاوه بر بیماری‌زایی برای انسان، در فساد مواد غذایی نیز نقش دارد (Bennett and Monday, 2003).

استافیلوکوکوس اورئوس در مجاری بینی، گلو، پوست و موی بیش از ۵۰ درصد افراد سالم حضور دارد. عرضه‌کنندگان مواد غذایی معمولاً منبع اصلی آلودگی غذا در شیوع مسمومیت غذایی هستند. هم‌چنین این باکتری می‌تواند از طریق پستان مبتلا به ورم پستان استافیلوکوکی بالینی یا تحت بالینی شیر را آلوده کند و در طول مراحل تولید و نگه‌داری در داخل شیر و فرآورده‌های آن رشد و تکثیر نموده و منجر به تولید انتروتوکسین‌های بیماری‌زا گردد (Moroni *et al*., 2010). به‌علاوه، مقاومت زیاد *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به شرایط نامساعد محیطی نظیر فعالیت آبی ۰/۸۵، pH اسیدی و ۱٤ درصد نمک، موجب رشد و بقای آن در بسیاری از فرآورده‌های شیر می‌گردد (Bennett and Monday, 2003; Lindqvist *et al*., 2002).

استافیلوکوکوس اورئوس فاکتورهای ویرولانس متعددی دارد که بیماری‌زایی و کلونیزه شدن باکتری را به آن‌ها نسبت می‌دهند. انتروتوکسین‌های باکتری و زهرابه سندرم شوک توکسیک (TSST-1) از جمله فاکتورهای ویرولانس مهم این باکتری و از دسته سوپرآنتی‌ژن‌های زهرابه پیروژنیک (PTSAgs) می‌باشند که تأثیرات بسیار مهمی بر میزبان خود دارند (Fueyo *et al*., 2005). یکی دیگر از فاکتورهای ویرولانس *استافیلوکوکوس اورئوس* توانایی تشکیل بیوفیلم است (Archer *et al*., 2011). بیوفیلم غشای نازکی است که باکتری‌ها پس از ایجاد کلونی بر روی سطوح و ترشح مواد خارج سلولی لزج (Slime)، به‌صورت توده‌ای و با شکل نامنظم ایجاد می‌کنند (Fueyo *et al*., 2005). تولید بیوفیلم به‌طور چشمگیری بقای باکتری‌ها در محیط را افزایش می‌دهد (Srey *et al*., 2013). گسترش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی یکی دیگر از مشکلاتی است که پزشکان با آن سر و کار دارند و به‌علت پیدایش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در *استافیلوکوکوس اورئوس* روز به‌روز تعداد آنتی‌بیوتیک‌های در دسترس برای درمان این عفونت‌ها کاهش می‌یابد (Molla Abbaszadeh *et al*., 2011). لذا با توجه به اهمیت موضوع و هم‌چنین تولید و مصرف بالای فرآورده‌های لبنی سنتی در منطقه آذربایجان‌غربی، در مطالعه حاضر آلودگی شیر خام و برخی از

www.SID.ir

فرآورده‌های لبنی محلی و هم‌چنین افراد تولید این فرآورده‌ها به *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی گردید و جدایه‌ها از نظر وجود ژن TSST-1، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و قابلیت تولید بیوفیلم مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

- روش نمونه‌گیری

استان آذربایجان‌غربی به ٤ منطقه (طبقه) تقسیم‌بندی و با استفاده از روش تصادفی‌طبقه‌ای (Stratified Random Sampling) نمونه‌گیری انجام گرفت. در مجموع ۱۰۰ نمونه شامل ۲۰ نمونه از هر یک از نمونه‌های شیر خام، پنیر، خامه و کشک سنتی به‌همراه ۲۰ نمونه سواب بینی از افراد تولیدکننده فرآورده‌های سنتی طی سال‌های ۱۳۹۳-۱۳۹۲ جمع‌آوری و در شرایط سرد به آزمایشگاه میکروبیولوژی انتقال یافت و در اسرع وقت مورد آزمون‌های میکروبی قرار گرفت.

شکل (۱)- مناطق چهارگانه نمونه‌گیری در استان آذربایجان‌غربی

- غنی‌سازی، جداسازی و شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس*

مقدار ۱۰ گرم از هر نمونه پنیر، خامه و کشک با ۹۰ میلی‌لیتر سرم رینگر استریل در داخل ارلن حاوی پرل شیشه‌ای، مخلوط و به‌مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری ٤۰~ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس به‌مدت ۵ دقیقه در شیکر با شدت ۲۳۰ rpm همگن گردید. مقدار ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده به ۱۹ میلی‌لیتر محیط کشت Giolitti-Cantoni broth (Scharlou, Spain) حاوی ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد تلوریت‌پتاسیم (Merck, Germany) کشت و به‌مدت ٢٤ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید (Lancette and Bennet, 2001). در مورد نمونه‌های شیر خام و سواب بینی، مقدار ۱ میلی‌لیتر از نمونه به‌صورت مستقیم در محیط کشت داده شد.

برای جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محیط Giolitti-Cantoni broth در محیط Baird-Parker agar (Merck, Germany) کشت

www.SID.ir

سطحی و به‌مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. سپس تعداد ۳ کلونی با رنگ سیاه و هاله لیسیتیناز انتخاب و در محیط Mannitol salt agar (Merck, Germany) کشت خطی داده شد (۴۸-۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس). کلونی‌های زرد رنگ رشد کرده در محیط مانیتول سالت آگار برای بررسی آزمون‌های افتراقی در محیط عمومی BHI agar (Merck, Germany) کشت گردید (Barrow and Feltham, 2003). برای شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* از آزمون‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی استاندارد شامل رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، کواگولاز، ترمونوکلئاز، Voges-Proskauer، تولید اسید از مانیتول و مالتوز و آزمون همولیز (در محیط آگار خون‌دار حاوی ۷ درصد خون دفیبرینه گوسفند) استفاده شد (Lancette and Bennet, 2001).

- جستجوی ژن TSST-1

برای استخراج DNA، جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در محیط Luria-Bertani broth (Merck, Germany) کشت و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری، میکروتیوب‌ها با شدت ۱۲۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی دور ریخته شد و ۱ میلی‌لیتر لیزبافر (Sinaclon, Iran) به رسوب حاصله اضافه و به‌مدت ۴۵ دقیقه در بن‌ماری ۶۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. میکروتیوب‌ها با شدت ۱۲۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ و مایع رویی به میکروتیوب جدید انتقال داده شد. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر فنول-کلروفرم-ایزوآمیل‌الکل (با نسبت ۱:۲۴:۲۵) (Merck, Germany) به آن اضافه و پس از چند بار وارونه کردن میکروتیوب، با شدت ۱۲۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ و فاز رویی به میکروتیوب جدید انتقال یافت. در این مرحله ۵۰۰ میکرولیتر مخلوط کلروفرم و ایزوآمیل‌الکل (با نسبت ۱:۲۴) به میکروتیوب‌ها اضافه و سانتریفیوژ گردید. پس از انتقال فاز رویی به میکروتیوب جدید، مقدار هم‌حجم آن ایزوپروپانول (Merck, Germany) با دمای ۲۰- درجه سلسیوس به آن اضافه گردید و با شدت ۱۲۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. فاز رویی دور ریخته شد و پس از خشک شدن، مقدار ۳۰ میکرولیتر آب یون‌زدایی شده عاری از نوکلئاز (Nuclease-free deionized water) به آن اضافه و کاملاً مخلوط شد (خاکپور و همکاران، ۱۳۹۱). به‌منظور تعیین غلظت و خلوص DNA استخراج شده از نانودراپ (Thermo Scietific, USA) استفاده گردید. درنهایت DNA استخراج شده تا زمان انجام PCR در فریزر ۴۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

جهت ردیابی ژن TSST-1 از جفت پرایمر با توالی‌های ACCCCTGTTCCCTTATCATC (GTSSTR-1) و TTTTCAGTATTTGTAACGCC (GTSSTR-2) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل: ۲/۵ میکرولیتر از بافر ×۱۰، ۱ میکرولیتر dNTPs، ۰/۵ میکرولیتر $MgCl_2$، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای F و R (Eurofins, Germany)، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم Taq DNA پلی‌مراز، ۱ میکرولیتر از DNA الگو بود. حجم نهایی با افزودن آب دیونایز عاری از DNA و RNA به ۲۵ میکرولیتر رسید. شرایط دمایی PCR طبق جدول (۱) اعمال گردید:

www.SID.ir
Archive of SID

جدول (۱)- مراحل دمایی و زمانی سیکل‌های PCR (Mehrotra *et al.*, 2000)

مرحله	دما (°C)	زمان (دقیقه)	تعداد سیکل
دناتوراسیون اولیه	۹٤	۵	۱
دناتوراسیون	۹٤	۲	۳۵
اتصال	۵۷	۲	
توسعه	۷۲	۱	
توسعه نهایی	۷۲	۷	۱

محصول PCR در ژل آگارز ۱ درصد (Invitrogen, USA) حاوی ۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر رنگ سایبرگرین (SYBR Green) (Sigma-Aldrich, USA) الکتروفورز گردید و با دستگاه ژل‌داکیومنت (Syngene, UK) عکس‌برداری انجام گرفت (Parsonnet *et al.*, 2008). از *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 29213) به‌عنوان کنترل مثبت برای مراحل مختلف PCR استفاده شد.

- تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی

جهت بررسی مقاومت جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، روش انتشار دیسکی (Kirby-Bauer disc diffusion) مورد استفاده قرار گرفت. از کشت تازه (۲٤ ساعته) جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جهت تهیه سوسپانسیون معادل ۰/۵ مک‌فارلند استفاده شد. سپس ۱۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون بر روی محیط Muller-Hinton agar (Scharlou, Spain) به‌صورت سطحی کشت داده شد و از ۱۳ دیسک آنتی‌بیوتیکی شامل و نکومایسین (۳۰ µg)، تتراسایکلین (۳۰ µg)، گلوکزاسیلین (۱ µg)، اریترومایسین (۱۵ µg)، اگزاسیلین (۱ µg)، متی‌سیلین (۵ µg)، ریفامپین (۵ µg)، پنی‌سیلین (۱۰ U)، سفتازیدیم (۳۰ µg)، سفولوتین (۳۰ µg)، کوتریموکسازول (۲۳/۷۵-۱/۲۵ µg)، سیپروفلوکساسین (۵ µg) و جنتامایسین (۱۰ µg) برای آنتی‌بیوگرام استفاده شد. کشت‌ها به مدت ۲٤ تا ٤۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری و نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد بر اساس جداول استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* قرائت گردید (Wikler *et al.*, 2007).

- تعیین قابلیت تولید بیوفیلم

برای بررسی تولید بیوفیلم جدایه‌ها از روش کمی Microtiter Plate Assay استفاده شد. برای این منظور جدایه‌ها در محیط Tryptic Soy broth (Merck, Germany) حاوی ۰/۵ درصد (وزنی- حجمی) عصاره مخمر (Merck, Germany) به‌مدت ۲٤ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس کشت و سپس تا رسیدن به OD_{620}= 0.01 رقیق‌سازی گردید. مقدار ۱۹۰ میکرولیتر از محیط تریپتیک‌سوی براث حاوی ۲ درصد (وزنی- حجمی) از هر یک از قندهای گلوکز و ساکارز، به هر گوده میکروپلیت انتقال داده و مقدار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده در آن تلقیح گردید. تمامی جدایه‌ها و هم‌چنین شاهد منفی (محیط کشت

Archive of SID
www.SID.ir

استریل)، در سه تکرار آزمایش گردیدند. نمونه‌ها به‌مدت ٤٨ ساعت در ٣٧ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. پس از تخلیه گوده‌ها، ٣ مرتبه با ٢٥٠ میکرولیتر فسفات بافر سالین شستشو و تخلیه گردید. برای تثبیت بیوفیلم‌ها، ٢٠٠ میکرولیتر متانول ٩٩ درصد به هر گوده اضافه و پس از ١٥ دقیقه تخلیه و با هوا خشک شد. سپس ٢٠٠ میکرولیتر کریستال‌ویوله ٢ درصد به هر گوده اضافه و بعد از ٥ دقیقه آب‌کشی و در شرایط محیطی خشک گردید. سپس برای حل‌کردن کریستال‌ویوله باقیمانده، به هر گوده ١٦٠ میکرولیتر اسیداستیک ٣٣ درصد اضافه شد و شدت رنگ با ELISA Reader در طول موج ٤٩٢ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Djordjevic *et al.*, 2002). نتیجه میزان تولید بیوفیلم با استفاده از الگوی ارایه شده در جدول (٢) تفسیرگردید:

جدول (٢)- میزان جذب نوری و محاسبه تولید بیوفیلم در جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*

جذب نوری*	تولید بیوفیلم
$OD_{S.a} \leq OD_C$	عدم تولید
$OD_C < OD_{S.a} \leq 2OD_C$	کم
$2OD_C < OD_{S.a} \leq 4OD_C$	متوسط
$OD_{S.a} > 4OD_C$	زیاد

*OD_C و $OD_{S.a}$ به‌ترتیب نشان‌دهنده میزان جذب نوری نمونه‌های شاهد و مجهول می‌باشد.

یافته‌ها

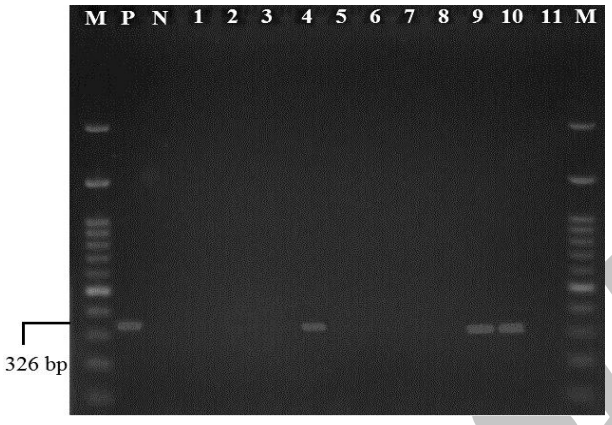
در جدول (٣) میزان و درصد شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* در شیر و فرآورده‌های محلی و هم‌چنین تولیدکنندگان این محصولات در استان آذربایجان‌غربی نشان داده‌شده است. مطابق این جدول میزان آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در شیر خام نسبتاً بالاتر از سایر نمونه‌ها برآورد گردید.

جدول (٣)- میزان و درصد شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های مختلف

نوع نمونه	تعداد نمونه	تعداد (٪) موارد مثبت
شیر	٢٠	٩ (٤٥)
پنیر	٢٠	٧ (٣٥)
خامه	٢٠	٦ (٣٠)
کشک	٢٠	٦ (٣٠)
سواب بینی	٢٠	٧ (٣٥)
کل	١٠٠	٣٥ (٣٥)

www.SID.ir

براساس شکل (۲) در ۳ نمونه از ۳۵ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس*، ژن (*tst*) TSST-1 ردیابی شد که ۲ مورد آن مربوط به سواب بینی و ۱ مورد در جدایه مربوط به پنیر شناسایی گردید.



شکل (۲)- تصویر ژل‌الکتروفورز و مشاهده قطعه اختصاصی ۳۲۶ جفت بازی ژن (*tst*) TSST-1 در نمونه‌های شماره ٤، ۹ و ۱۰؛ M، P و N به‌ترتیب بیانگر نشانگر و نمونه‌های مثبت و منفی می‌باشند.

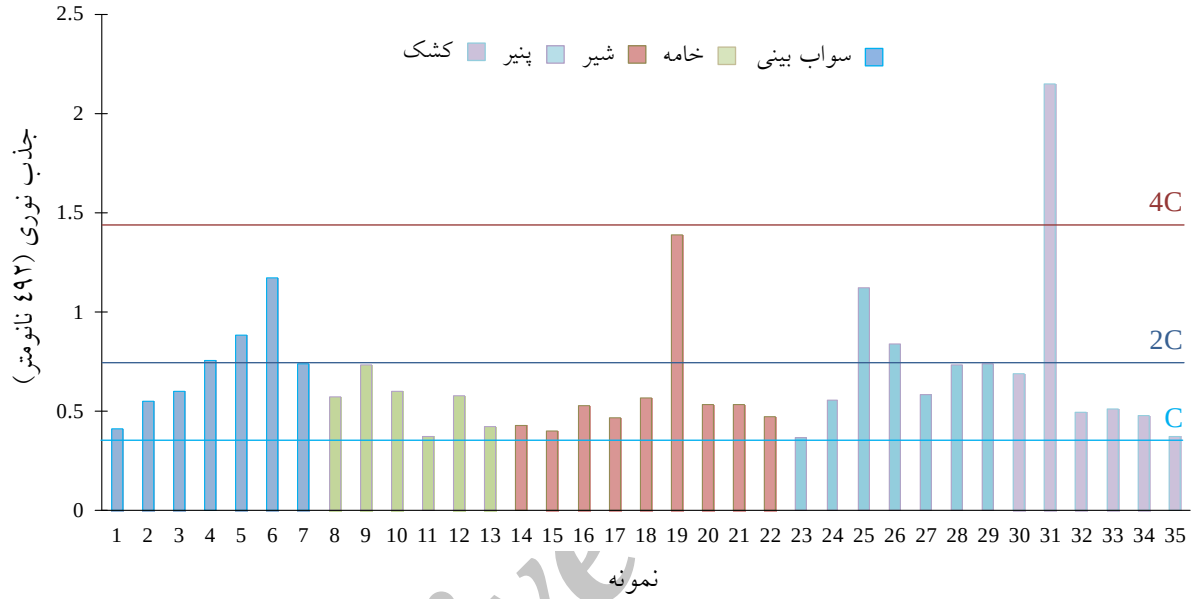
میزان مقاومت و حساسیت سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به ۱۳ آنتی‌بیوتیک مختلف در جدول (٤) نشان داده‌شده است. مطابق این جدول بیشترین و کمترین میزان مقاومت به‌ترتیب نسبت به ونکومایسین بود. در این بین، مقاومت ۷۷/۱٤ درصدی جدایه‌ها نسبت به متی‌سیلین قابل‌توجه می‌باشد.

جدول (٤)- مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*

آنتی‌بیوتیک	حساس	بینابینی	مقاوم
ونکومایسین	۸/۵۷	۰	۹۱/٤۲
پنی‌سیلین	۱۱/٤۲	۰	۸۸/۵۷
متی‌سیلین	۲۲/۸۵	۰	۷۷/۱٤
سفتازیدیوم	۲۰	۲۸/۵۷	۵۱/٤۲
تتراسایکلین	۳۱/٤۲	۳٤/۲۸	۳٤/۲۸
سیپروفلوکساسین	۲۲/۸۵	٤۸/۵۷	۲۸/۵۷
اریترومایسین	۰	۷٤/۲۸	۲۵/۷۱
گلوکزاسیلین	۵۷/۱٤	۲۵/۷۱	۱۷/۱٤
سفولوتین	۸۲/۸۵	۵/۷۱	۱۱/٤۲
ریفامپین	۸۸/۵۷	۲/۸۵	۸/۵۷
اگزاسیلین	۸۸/۵۷	۲/۸۵	۸/۵۷
جنتامایسین	۸۸/۵۷	۵/۷۱	۵/۷۱
کوتریموکسازول	۹۱/٤۲	۵/۷۱	۲/۸۵

Archive of SID
www.SID.ir

بررسی کمی میزان تولید بیوفیلم توسط جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه‌های مختلف در نمودار (۱) نشان داده‌شده است. براساس این یافته‌ها، همه سویه‌های جداسازی شده قادر به تشکیل بیوفیلم بودند و در این میان، ٦ جدایه مقدار متوسط و ۱ سویه مقدار زیاد بیوفیلم تولید نمود.



نمودار (۱)- میانگین میزان تولید بیوفیلم جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های مختلف؛ C، 2C و 4C به‌ترتیب نشانگر مقدار جذب نوری در نمونه شاهد (Control)، دو برابر و چهار برابر نمونه شاهد می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

مصرف بالای شیر خام و فرآورده‌های سنتی از یک سو و مخاطرات ناشی از عفونت‌ها و مسمومیت غذایی استافیلوکوکی، سبب ترغیب محققان به مطالعه میزان شیوع این باکتری در فرآورده‌های شیری شده است (Ertas *et al.*, 2010; Khakpoor *et al.*, 2013; Rahimi and Alian, 2013). در مطالعات انجام‌یافته، شیر خام و فرآورده‌های سنتی آن از منابع مهم مسمومیت انسان با *استافیلوکوکوس اورئوس* و زهرابه آن عنوان شده است (Imani-Fooladi *et al.*, 2010). در مطالعه حاضر به‌طور میانگین ۳۵ درصد نمونه‌ها آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند که بیشترین میزان آلودگی در شیر خام (٤٥ درصد) مشاهده شد درحالی‌که سایر نمونه‌ها درصد آلودگی مشابه و به نسبت کمتری (۳۵-۳۰ درصد) داشتند. در مطالعه دستمالچی‌ساعی و همکاران بر روی شیرهای خام مربوط به گاوهای با ورم پستان بالینی و تحت بالینی در استان آذربایجان‌شرقی و غربی، حدود ۱۵ درصد شیرها به‌صورت اولیه آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند (Dasmalchi Saei *et al.*, 2009). در مطالعه مشابهی در استان فارس، میانگین آلودگی در شیر گاو، گوسفند، بز، شتر و گاومیش ۱۱ درصد بود (Rahimi and Alian, 2013). در هندوستان

www.SID.ir
Archive

میـزان آلـودگی *اسـتافیلوکوکوس اورئـوس* در شـیر و فرآورده‌های حاصـل از آن ٦٠/٥٦ درصـد بـود (Singh and Prakas, 2010)، ایـن میـزان در پنیـر گوسـفندی و دسـرهای لبنـی در ترکیـه ۵۷/۳ درصـد (Ertas *et al.*, 2010) و در پنیرهای سـنتی مصـرفی شهرسـتان خـوی ۵۳/۷۵ درصـد (Molla Abaszadeh and Haji Sheikhzadeh, 2014) گزارش گردیـد. میـزان آلـودگی شیر و فـرآورده‌هـای لبنـی سـنتی بـه *اسـتافیلوکوکوس اورئوس* در مطالعه حاضر متفاوت از مطالعات ذکرشـده می‌باشد ولی با نتایج حاصل از بررسی‌هایی کـه در پنیـر کوزه (٤١ درصد) در شهرستان سقز (Khalifezadeh *et al.*, 2015) و محصـولات لبنـی سـنتی (۳۲ درصـد) در تهـران (Imani-Fooladi *et al.*, 2010) انجـام گرفـت، نسبتاً همخوانی داشت. از آن‌جایی که از راه‌هـای عمـده ورود *اسـتافیلوکوکوس اورئـوس* بـه محصـولات لبنـی سنتی، عدم رعایت اصول بهداشتی طی فرایند تهیـه ایـن محصولات است، لذا مهـم‌تـرین دلیـل اخـتلاف میـزان آلودگی، تفاوت در روش‌های فرآوری ایـن محصـولات است. در مطالعه‌ای کـه بـر روی پنیـر و کـره محلـی در تبریـز، میـزان آلـودگی بـه *اسـتافیلوکوکوس اورئـوس* به‌ترتیب ٢٦ و ١٦ درصد بـود (Mirzaei *et al.*, 2012). در بررسی انجـام‌شـده در تهـران بـر روی مـواد غـذایی مختلـف، ۱۷/۱ درصـد از مـواد لبنـی آلـوده بـه *اسـتافیلوکوکوس اورئـوس* بودنـد (Eshraghi *et al.*, 2009). تفـاوت در شـرایط داخلـی (pH، aw، درصـد نمک و ...) و خارجی (دما، طول مدت نگهـداری و ...) فرآورده‌های شیر توجیه‌کننده اختلاف در میزان آلـودگی فرآورده‌های مختلف با *استافیلوکوکوس اورئوس* اسـت. از دیگر دلایل تفاوت میـزان آلـودگی در فـرآورده‌هـای لبنی سنتی در نقاط مختلف جهان را مـی‌تـوان در تنـوع فلور میکروبی، روش‌های شیردوشی و فرآوری متفـاوت و تعدد ناقلین این باکتری که با محصولات لبنی ارتبـاط دارند، جستجو نمـود. مطالعـاتی در ارتبـاط بـا حضـور *استافیلوکوکوس اورئوس* در بینـی افـراد سـالم صـورت گرفتـه اسـت. در تحقیقـی در تهـران، ٢٦/٧ درصـد از نمونـه‌هـای سـواب بینـی افـراد سـالم آلـوده بـه *اسـتافیلوکوکوس اورئـوس* بودنـد کـه کمتـر از میـزان آلودگی نمونه‌های سـواب بینـی در مطالعـه حاضـر (۳۵ درصـد) بـود (Imani-Fooladi *et al.*, 2010). بنـابراین می‌تـوان نتیجـه گرفـت کـه احتمـال انتقـال آلـودگی از تولیدکننـدگان محصـولات لبنـی سـنتی خصوصـاً محصولاتی که طـی فـرآوری، بیشـتر دچـار دسـتکاری می‌شوند، وجود دارد.

در مطالعاتی که بر روی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام‌گرفته است، وجود ژن عامل شوک توکسیک به اثبات رسیده است. اما اکثر این بررسی‌ها بر روی سویه‌های جداسازی شده از نمونه‌های بالینی (خون، زخم، عفونت‌های بیمارستانی، سواپ بینی و ...) بوده است (Nagao *et al.*, 2009; Parsonnet *et al.*, 2008). چنانچه در مطالعات انجام‌شده، ژن TSST-1 در ٢٤/٣ درصد نمونه‌های بالینی در کانادا (Mehrotra *et al.*, 2000) و نیز در ۲۰ درصد (Teyhoo *et al.*, 2011) و ۹/۳ درصد (Pourshafie *et al.*, 2015) از سویه‌های جداسازی شده از فرآورده‌های لبنی تبریز، شناسایی گردید. در مطالعه حاضر ۲۸/۵۷ درصد (۲ مورد از ۷ جدایه) جدایه‌های سواب بینی واجد ژن TSST-1 بودند که با نتایج مطالعات فوق نسبتاً مشابه بود و با بررسی‌های انجام‌یافته در ژاپن (۹ درصد) و در لیبی

Archive of SID
www.SID.ir

(۷/۵ درصد) اختلاف بیشتری داشت (Parsonnet *et al*., 2008; El-Ghodban, 2006). مطالعات انجام‌گرفته بر روی جدایه‌های حاصل از محصولات لبنی به‌ویژه در مورد جدایه‌های بومی ایران محدود بوده است به‌طوری‌که در مطالعات مشابه ٦٦/٢٥ درصد (Norouzi *et al*., 2012)، ١٥/٥ (Farahmand-Azar *et al*., 2013) و ١٢ درصد (Eshraghi *et al*., 2009) از جدایه‌های حاصل از فرآورده‌های لبنی سنتی را حاوی ژن TSST-1 گزارش نمودند که در مقایسه با محصولات لبنی سنتی در مطالعه حاضر (٣/٥٧ درصد) از میزان بالاتری برخوردار بودند. گسترده بودن تفاوت‌ها در فراوانی ژن TSST-1 در مطالعات مختلف ممکن است به‌علت متفاوت بودن منابع جداسازی در مناطق مختلف، روش‌های بررسی و حساسیت آن‌ها، تعداد نمونه‌ها و نوع نمونه‌ها باشد.

تحقیقات انجام یافته بر روی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی شده از شیر خام و سایر محصولات لبنی سنتی در کشورهای مختلف بیانگر آن است که *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها رفتار متفاوتی داشته است (Appelbaum, 2007; Duran *et al*., 2012; Hoerlle and Brandelli, 2009; Udobi *et al*., 2013). در این بین جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* عمدتاً به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین و متی‌سیلین حساسیت نشان دادند (Rahimi *et al*., 2013; Schweizer *et al*., 2013; Molla Abbaszadeh and Haji Sheikhzadeh, 2015) که با نتایج مطالعه حاضر (مقاومت ٩١/٤٢ و ٧٧/١٤ درصدی به‌ترتیب به ونکومایسین و متی‌سیلین) در تناقض است. میزان مقاومت به پنی‌سیلین، کوتریموکسازول و جنتامایسین در مطالعه حاضر با نتایج مطالعات انجام‌شده در تهران (Rahimi *et al*., 2013)، تبریز (Mirzaei *et al*., 2001) و سقز (Khalifezadeh *et al*., 2015) هم‌خوانی نزدیکی داشت. تفاوت در نوع و شیوه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان‌های دامی و انسانی می‌تواند از دلایل اختلاف نتایج باشد.

توانایی *استافیلوکوکوس اورئوس* در تشکیل بیوفیلم به زنده ماندن باکتری در محیط میزبان کمک می‌کند. امروزه بیوفیلم به‌عنوان یکی از دلایل مزمن‌شدن عفونت‌های استافیلوکوکی در پزشکی و دامپزشکی مطرح‌شده است. در تحقیقات مختلف در بدن و در محیط آزمایشگاه نشان داده شده است که *استافیلوکوکوس اورئوس* توانایی چسبیدن و نفوذ به سلول‌های اپیتلیال داخل غدد پستان گاو را دارد (Khoramian *et al*., 2009). بررسی قابلیت تولید بیوفیلم سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی شده در این مطالعه نشان داد که از مجموع ٣٥ جدایه، تشکیل بیوفیلم در ٢٨ جدایه (٨٠ درصد) ضعیف، در ٦ جدایه (١٧/١٥ درصد) متوسط و در ١ جدایه (٢/٨٥ درصد) قوی بود. بررسی‌های متعددی باهدف ارزیابی قابلیت تولید بیوفیلم در جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* صورت پذیرفته است (Stepanovic *et al*., 2000). نتایج این مطالعات حاکی از وجود درجات متفاوتی از تولید بیوفیلم در جدایه‌هاست (Periasamy *et al*., 2011; Secor *et al*., 2011). در مطالعه جدایه‌*های استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی شده از شیر خام تهیه‌شده از گاوداری‌های اطراف تهران، به‌ترتیب ٤/٤، ٤٠ و ٤٣/٣ درصد جدایه‌ها به‌ترتیب قادر به تولید مقادیر زیاد، متوسط و کم بیوفیلم و تنها ١٢/٢

www.SID.ir

درصد از جدایه‌ها در محیط آزمایشگاه بیوفیلم تولید ننمودند (Khoramian *et al*., 2009) و در بررسی انجام گرفته بر روی ۷۹ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی شده از افراد سالم در اصفهان، ۳۷ سویه (٤٧ درصد) به‌عنوان سویه‌های چسبنده، ١٦ سویه (٢٠ درصد) به‌عنوان سویه‌های چسبنده ضعیف و ٢٦ سویه (٣٣ درصد) به‌عنوان سویه‌های غیرچسبنده گزارش گردید (Rahimi, 2015) که با نتایج مطالعه ما مشابهت نداشتند. این اختلافات باتوجه به شرایط جغرافیایی و محل‌های نمونه‌گیری و همچنین خصوصیات و ویژگی‌های سویه‌های در حال گردش در جوامع مختلف قابل توجیه می‌باشد.

با توجه به آلودگی بالای فرآورده‌های لبنی سنتی با *استافیلوکوکوس اورئوس*، به‌نظر می‌رسد آلودگی شیر خام و از سوی دیگر تهیه و فرآوری این محصولات تحت شرایط غیربهداشتی موجب افزایش آلودگی محصولات لبنی سنتی می‌گردد. با توجه به وجود عامل ژن حدت TSST-1 در جدایه‌ها و هم‌چنین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و وجود فاکتورهای بیماری‌زایی نظیر تولید بیوفیلم، حضور این باکتری در فرآورده‌های لبنی به‌خصوص محصولات سنتی می‌تواند از دیدگاه بهداشتی مخاطره‌آمیز باشد.

سپاسگزاری

این مطالعه در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد و با استفاده از امکانات آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی دانشکده کشاورزی و مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز انجام گرفت.

منابع

- Appelbaum, P.C. (2007). Microbiology of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Clinical Infectious Diseases, 45: 165–170.
- Archer, N.K., Mazaitis, M.J., Costerton, J.W., Leid, J.G., Powers, M.E. and Shirtliff, M.E. (2011). *Staphylococcus aureus* biofilms, properties, regulation and roles in human disease. Virulence, 2(5), 445–459.
- Barrow, G.I. and Feltham, R.K.A. (2003). Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. 3rd Edition. Cambridge University Press. pp. 54–57.
- Bennett, R.W. and Monday, S.R. (2003). *Staphylococcus aureus*. In: Miliotis, M.D. and Bier, J.W. (Editors), International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker, Inc. pp. 41–59.
- Dastmalchi, H., Ahmadi, M., Mardani, K. and Batavani, R.A. (2009). Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolated form bovine mastitis based on polymorphism of the coagulase gene in the north west of Iran. Veterinary Microbiology, 137: 202–206.
- Djordjevic, D., Wiedmann, M. and McLandsborough, L.A. (2002). Microtiter plate assay for assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation. Applied and Environmental Microbiology, 68(6): 2950–2958.
- Duran, N., Ozer, B., Gulbol Duran, G., Onlen, Y. and Demir, C. (2012). Antibiotic resistance genes & susceptibility patterns in staphylococci. Indian Journal of Medical Research, 135: 389–396.

Archive of SID
www.SID.ir

- El-Ghodban. A., Ghenghesh, K.S., Marialigeti, K., Esahli, H. and Tawil, A. (2006). PCR detection of toxic shock syndrome toxin of *Staphylococcus aureus* from Tripoli, Libya. Journal of Medical Microbiology, 55(2): 179–182.
- Ertas, N., Gonulalan, Z., Yildirim, Y. and Kum, E. (2010). Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins in Sheep Cheese and Dairy Desserts by Multiplex PCR Technique. International Journal Food Microbiology, 142(1-2): 74–77.
- Eshraghi, S., Salehipour, Z., Pourmand, M.R., Rahimi Forushani, A., Zahraei Salehi, M.T., Agha Amiri, S., *et al*. (2009). Prevalence of tst, entC, entA and entA/C genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from different foods. Tehran University Medical Journal, 67(7): 470–476 [In Persian].
- Farahmand-Azar, S., Ahmadi, M., Dastmalchi Saei, H. and Anassori, E. (2013). Identification of Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1) gene in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis milk. Archives of Razi Institute, 68(1): 17–22.
- Fueyo, J.M., Mendoza, M.C., Rodicio, M.R., Muniz, J., Alvarez, M.A. and Martin, M.C. (2005). Cytotoxin and pyrogenic toxin superantigen gene profiles of *Staphylococcus aureus* associated with subclinical mastitis in dairy cow and relationships with macrorestriction genomic profiles. Journal of Clinical Microbiology, 43(3): 1278–1284.
- Hoerlle, J.L. and Brandelli, A. (2009). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from the intensive care unit of a general hospital in southern Brazil. The Journal of Infection in Developing Countries, 3(7): 504–510.
- Imani-Fooladi, A.A., Riazipour, M. and Sattari, M. (2010). Molecular and serological detection of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* from traditionally dairy products. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences, 11(4): 19–26 [In Persian].
- Khakpoor, M., Ezzati, M., Mahmoodi, K., Khalaji Pirbaluti, M., Khaksar, R. (2013). Prevalence of coagulase-positive *Staphylococcus aureus* in local cheese in West Azerbaijan with culture and PCR method. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 7(5): 237–242.
- Khalifezadeh, S., Sadeghi Zali, M.H. and Nahaee, M.R. (2015). Prevalence and antibiotics susceptibility of *Staphylococcus aureus* in traditional Kouzeh cheese at Saqqez retails. Journal of Food Hygiene, 4(16), 1–10 [In Persian].
- Khoramian, B., Emaneini, M.E., Bolourchi, M., Eslampour, M.A., Niasari-Naslaji, A., Aligholi, M. *et al*., (2009). Evaluation of the biofilm-forming ability of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in Iran. Journal of Comparative Pathobiology, 6(4), 109-114.
- Lancette, G.A. and Bennet, R.W. (2001). *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Enterotoxins, In: Pouch Downes, F., Ito, K. (Editors), Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3rd edition, American Public Health Association, Washington DC. pp. 387–400.
- Lindqvist, R., Sylvén, S. and Vågsholm, I. (2002). Quantitative microbial risk assessment exemplified by *Staphylococcus aureus* in unripened cheese made from raw milk. International Journal of Food Microbiology, 78: 155–170.
- Mehrotra, M., Wang, G. and Johnson, W.M. (2000). Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, Toxic Shock Syndrome Toxin 1, and methicillin resistance. Journal of Clinical Microbiology, 38(3): 1032–1035.
- Mirzaei, H., Javadi, A., Farajli, M., Shah-Mohammadi, A.R., Monadi, A.R. and Barzegar, A. (2012). Prevalence of *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin in traditional cheese and cream: a study in city of Tabriz, Iran. Journal of Veterinary Research, 67(1): 65–70 [In Persian].
- Molla Abbaszadeh, H., Mobaiyen, H. and Mirzaei, H. (2011). Determination of prevalence rate and antibiotic resistance pattern in *Staphylococcus aureus* strains isolated from in-patients of Imam Reza and Shohada hospitals, Tabriz. Journal of Microbial Biotechnology, 3(9): 45–50 [In Persian].

Archive of SID

www.SID.ir

- Molla Abaszadeh, H. and Haji Sheikhzadeh, B. (2014). Surveying the contamination rate, sensibility and antimicrobial resistance patterns in *Staphylococcus aureus* isolated from traditional cheese consumed in Qotur of Khoy province. Journal of Fasa University of Medical Science, 4(2): 209–217 [In Persian].
- Moroni, P., Pisoni G., Cremonesi, P. and Castiglioni, B. (2010). Staphylococcus. In: Liu, D. (Editor), Molecular Detection of Foodborne Pathogens. CRC Press, New York, pp. 245–246.
- Nagao, M., Okamoto, A., Yamada, K., Hasegawa, T., Hasegawa, Y. and Ohta, M. (2009). Variations in amount of TSST-1 produced by clinical methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates and allelic variation in accessory gene regulator (*agr*) locus. BMC Microbiology, 9: 52.
- Norouzi, J, Goudarzi, G., Pakzad, P. and Razavipour, R. (2012). The Isolation and detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxins A-E and TSST-1 genes from different sources by PCR Method. Qom University of Medical Sciences Journal, 6(3): 78–85.
- Parsonnet, J., Goering, R.V., Hansmann, M.A., Jones, M.B., Ohtagaki, K., Davis, C.C. and Totsuka, K. (2008). Prevalence of toxic shock syndrome toxin 1 (tsst-1)-producing strains of S*taphylococcus aureus* and antibody to tsst-1 among healthy Japanese women. Journal of Clinical Microbiology, 46(8): 2731–2738.
- Periasamy, S., Joo, H.S., Duong, A.C., Bach, T.H.L., Tan, V.Y., Chatterjee, S.S. and et al. (2011). How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure. Proceedings of the National Academy of Sciences, 109: 1281–1286.
- Pourshafie, N., Shayegh, J. and Mobayen, H. (2015). Identification of toxic shock syndrome toxin-1 genes of *Staphylococcus aureus* isolated from local cheese and cow's milk in Tabriz city. Journal of Food Microbiology, 2(6): 81–87.
- Quinn, P.J., Carter, M.E. and Barkey, B. (1994). Veterinary Microbiology, Elsevier, p. 118.
- Rahimi, F., Katouli, M. and Pourshafie, M.R. (2014). Characteristics of hospital-and community-acquired meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Tehran, Iran. Journal of Medical Microbiology, 63(6): 796–804.
- Rahimi, F. (2015). Biofilm production among *Staphylococcus aureus* strains isolated from healthy people. Iranian Journal of Infectious Diseases, 68, 21–29 [In Persian].
- Rahimi, F., Bouzari, M., Katouli, M. and Pourshafie, M.R. (2013). Antibiotic resistance pattern of methicillin resistant and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* isolates in Tehran, Iran. Jundishapur Journal of Microbiology, 6(2): 144–149.
- Rahimi, E. and Alian, F. (2013). Presence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in cow, camel, sheep, goat and buffalo bulk tank milk. Veterinarski Arhiv, 83(1): 23–30.
- Rahimi, F., Bouzari, M., Vandyousefi, J., Maleki, Z., Saberi kashani, S. and Davoudi, S. (2008). Analysis of antibiotic resistance and detection of mecA gene in *Staphylococcus aureus* isolated from hospitals and medical laboratories in Tehran. Iranian Biological Journal, 21: 64–74.
- Schweizer, M.L., Perencevich, E.N., Eber, M.R., Cai, X., Shardell, M.D., Braykov, N. and Laxminarayan, R. (2013). Optimizing antimicrobial prescribing: Are clinicians following national trends in methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) infections rather than local data when treating MRSA wound infections. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 2: 28.
- Scherrer, D., Corti, S., Muehlherr, J.E., Zweifel, C. and Stephan, R. (2004). Phenotypic and genotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from raw bulk-tank milk samples of goats and sheep.Veterinary Micriobiology, 101: 101–107.
- Secor, P.R., James, G.A., Fleckman, P., Olerud, J.E, McInnerney, K. and Stewart, P.S. (2011). *Staphylococcus aureus* biofilm and planktonic cultures differentially impact gene expression, mapk phosphorylation, and cytokine production in human keratinocytes. BMC Microbiology, 11: 143.
- Singh, P. and Prakash A. (2010). Prevalance of coagulase positive pathogenic *Staphylococcus aureus* in milk and milk products collected from unorganized sector of Agra. Journal Guide-Acta Agriculturae Slovenica, 96(1): 37–41.

Archive of SID

www.SID.ir

- Srey, S., Jahid, I.K. and Ha, S.D. (2013). Biofilm formation in food industries: A food safety concern. Food Control, 31: 572–585.
- Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B. and Švabić-Vlahović, M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. Journal of Microbiological Methods, 40: 175–179.
- Teyhoo, M., Mobin, H., Mozafari, N.A., Moadab, S.R., Sedigh Bayan, K.H. and Mones Rast, S.H. (2011). The prevalence of toxic shock syndrome toxin (TSST-1) producing clinical isolates of *Staphylococcus aureus* strains isolated from Shohada hospital in Tabriz, Iran. Medical Laboratory Journal, 5(1): 38–44 [In Persian].
- Udobi, C.E., Obajuluwa, A.F. and Onaolapo J.A. (2013). Prevalence and antibiotic resistance pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from an orthopaedic hospital in Nigeria. BioMed Research International, 860467, 4 pages.
- Wikler, M.A., Cockeril, F.R., Craig, W.A., Dudley, M.N., Eliopoulos, G.M., Hecht, D.W. and *et al*. (2007). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Information Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 27(1): 44–51.

Archive of SID

www.SID.ir

Contamination rate, antibiotic susceptibility profile, biofilm formation and presence of TSST-1 gene in *Staphylococcus aureus* isolates

Ebrahimzadeh, K.[1], Hanifian, S.[2, 3*]

1. M.Sc Graduate in Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Assistant Professor of Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
3. Biotechnology Research Center, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*Corresponding author email: hanifian@iaut.ac.ir

(Received: 2016/7/11 Accepted: 2017/3/8)

Abstract

This study aimed to investigate the prevalence of *Staphylococcus aureus* in raw milk and traditional dairy products of West-Azerbaijan Province and also to evaluate the presence of TSST-1 virulence gene, antibiotic resistance and biofilm formation of the isolates. Using stratified random method, a total of 80 raw milk and traditional dairy products (including traditional cheese, cream and curd) together with 20 nasal swab samples of the dairy products' manufacturers were collected. *S. aureus* strains were isolated and identified by conventional culture methods. Afterwards, the isolates were subjected to PCR analysis to detect the presence of TSST-1 gene. According to the findings, 35% of the samples were contaminated by *S. aureus*. Moreover TSST-1 gene was recognized in 1 cheese and 2 swab samples. Antibiotic resistance profile revealed that most of *S. aureus* isolates were resistant towards vancomycin, penicillin, and methicillin and sensitive towards co-trimoxazole, gentamicin, rifampin, oxacillin, and cephalothin. Moreover, 2.85%, 17.15%, and 80% of the isolates were capable to form high, moderate and low amounts of biofilm. High occurrence of *S. aureus* in milk and dairy products which harbor TSST-1 virulence gene, and the strains that demonstrated resistant to several antibiotics and capable of biofilm formation, could be considered a health threat to the consumers of these products.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, TSST-1 gene, antibiotic resistance, biofilm, traditional dairy products

Archive of SID

www.SID.ir