

## تعیین تیپ‌های کاست کروموزومی زن *mec* در ایزوله‌های استافیلکوکوس/ورئوس جدا شده از شیر و فرآورده‌های شیری

عنوان کوتاه: تیپ بندی کاست کروموزومی زن *mec* در ایزوله‌های استافیلکوکوس/ورئوس  
نرگس امینی فرد<sup>۱</sup>، حسن ممتاز<sup>۲\*</sup>، زهرا بهم زاده<sup>۲</sup>

- دانش آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
- میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

\*نویسنده مسئول: hamomtaz@iaushk.ac.ir, hamomtaz@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۰۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۰

### چکیده

استافیلکوکوس/ورئوس یک پاتوژن فرصلت طلب مهم در ایجاد بیماری‌های متنوع نظیر عفونت‌های دستگاه ادراری و پنومونی می‌باشد. مصرف بی‌رویه و بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها باعث پیدایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در این باکتری خصوصاً در برابر آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان شده است. بررسی حاضر به منظور تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های استافیلکوکوس/ورئوس جدا شده از شیر و فرآورده‌های سنتی شیر به ویژه مقاومت به متی‌سیلین انجمام گرفت. در مجموع ۴۰۳ نمونه شیر و فرآورده‌های شیری از مراکز توزیع مواد لبنی و سنتی اخذ و کشت داده شد. ایزوله‌های جدا شده به منظور تعیین فراوانی حضور زن *SCCmec*، تیپ‌های *mecA* و زن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش PCR آزمایش گردیدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به روش انتشار دیسک ارزیابی شد. از ۴۰۳ نمونه مورد مطالعه، ۱۵۱ نمونه (۴۴/۶۷ درصد) به استافیلکوکوس/ورئوس آلوود بودند، که بیشترین میزان آلوودگی در نمونه‌های مربوط به شیر خام گاو (۵۸/۵۵ درصد) یافت شد. از بین تیپ‌های *SCCmec* در ایزوله‌های *mecA* مثبت تها تیپ IVd ریابی شد که در این میان تعداد ۶۶ ایزوله متعلق به تیپ IVd ایزوله مربوط به تیپ IVc و ۱۳ ایزوله متعلق به تیپ IVa بودند و اختلاف آماری معنی دار ( $P=0.026$ ) بین حضور تیپ *SCCmec*-IVd با تیپ IVc و IVa مشاهده شد. شیوع بالای آلوودگی با استافیلکوکوس/ورئوس در شیر خام و فرآورده‌های سنتی شیر و مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالای این ایزوله‌ها به انواع آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان عفونت‌های انسانی یک زنگ خطر جدی برای جامعه بوده و لزوم به کارگیری اقدامات بهداشتی و کنترل کیفی فرآورده‌های شیری را بیش از پیش مشخص می‌کند.

**وازگان کلیدی:** استافیلکوکوس/ورئوس، تیپ‌های *SCCmec*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، فرآورده‌های شیری.

### مقدمه

ارگانیسم به خوبی در محیط‌های حاوی ۵-۷ درصد نمک طعام رشد می‌کند و برخی از سویه‌های آن حتی قادر به رشد تا غلظت ۲۰ درصد نمک طعام می‌باشند. این ارگانیسم تا فعالیت آبی حدود ۰/۸۳ رشد می‌نماید (رضویلر، ۱۳۷۸)، مرتضوی و معتمدزادگان، ۱۳۸۲). در بین مواد غذایی، شیر و فرآورده‌های آن محیطی مناسب برای رشد استافیلکوکوس/ورئوس می‌باشند و به عنوان منابع مهم تولید توکسین‌های این ارگانیسم به شمار می‌روند (Arslan et al., 2009) استافیلکوکوس/ورئوس ممکن است به‌طور اولیه و یا در

استافیلکوکوس/ورئوس<sup>۱</sup> یک باکتری گرم مثبت کروی با کروموزوم حلقوی است که زن‌های بیماری‌زا و مقاومت آنتی‌بیوتیکی روی آن قرار دارند (Sabath, 1982). این باکتری یکی از عوامل فرصت طلب بیماری‌زا می‌باشد که در شرایط مساعد قادر است در انسان و حیوانات ایجاد عفونت نماید. استافیلکوکوس/ورئوس به عنوان سومین عامل مهم بیماری‌های منتقله از مواد غذایی در جهان محسوب می‌شود و در مقایسه با سایر باکتری‌های فاقد هاگ مقاومت‌تر می‌باشد و در محیط آبگوشت یا آگار برای ماهها زنده می‌ماند. این

1. *Staphylococcus aureus*

دارو<sup>۱۲</sup> در حال گسترش است (Kloos, 1998). افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری ها، به ویژه بیماری زا باعث تهدید روز افزون سلامت انسان است و انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی می تواند به واسطه حضور باقیمانده های آنتی بیوتیکی در غذا، از طریق انتقال مقاومت در برابر عوامل بیماری زا یا از طریق مصرف گونه های مقاوم به فلور میکروبی غذا رخ دهد (Turutoglu et al., 2006). استافیلکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین یکی از علل مهم عفونت های بیمارستانی در سراسر جهان می باشد . مقاومت به متی سیلین در سطح بالا به دلیل ژن *mecA* می باشد (Ross et al., 1995). ژن *mecA* که کد کننده پروتئین تغییر یافته PBP-2a است، در طی درمان با متی سیلین غیرفعال نمی گردد (de Lencastre et al., 1994). جایگاه ژن *mecA* در ناحیه ای از ژنوم باکتری به نام کاست کروموزومی استافیلکوکوکی SCCmec می باشد (Ito et al., 2001). ژن *mecA* قطعه ای از ژنوم باکتری به اندازه ۲/۱ کیلو باز است که در ناحیه متتحرک ژنومیک به نام SCCmecA (تیپ I تا VII) شناسایی شده است (Ito et al., 2001) که دارای اندازه های متفاوتی بین ۲۰/۹ تا ۶۶/۹ کیلو باز می باشند. SCCmec تیپ I (۳۴/۳ کیلو باز)، IV، (۲۰/۹ تا ۲۴/۳ کیلو باز)، V (۲۸ کیلو باز)، VI (۲۰/۹ کیلو باز) و VII (۳۵/۹ کیلو باز) فقط به بتالاکتام ها مقاوم اند، در صورتی که SCCmec تیپ II (۵۳ کیلو باز) و تیپ III (۶۶/۹ کیلو باز) مقاومت به چندین کلاس آنتی بیوتیکی را نشان می دهند (Ito et al., 2003; Takano et al., 2008). تشخیص ژن *mecA* به وسیله واکنش زنجیره ای پلی مراز به عنوان یک استاندارد طلایی برای شناسایی مقاومت به متی سیلین در نظر گرفته می شود. این ژن ها به شدت در میان سویه های استافیلکوکوکی حفظ شده اند (Sajith Khan et al., 2012). از آنجایی که شیوع

طول دوره نگهداری صورت پذیرد (Akineden et al., 2008). استافیلکوکوس اورئوس دارای مقاومت بالای نسبت به حرارت نبوده و عموماً در طول فرآیند پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون فعالیت بیولوژیکی خود را از دست می دهد (Addis et al., 2011). مسمومیت استافیلکوکوکی نتیجه مصرف غذاهای آلوده به انترو توکسین های تولید شده توسط سویه های استافیلکوکوکی می باشد که مقاومت حرارتی بالای دارند (رضویلر، ۱۳۷۸). تجویز و مصرف بی رویه ای انواع گوناگون آنتی بیوتیک در شکل گیری و گسترش مقاومت در استافیلکوکوس اورئوس دارای نقش اساسی است (Dinges et al., 2000). به عنوان مثال پیدایش مقاومت در بعضی از سوش های استافیلکوکوک به پنی سیلین<sup>۱</sup> به سال ۱۹۴۰ باز می گردد. در یک دهه بعد، سوش های دارای مقاومت چندگانه به تتراسایکلین<sup>۲</sup>، کلرامفینیکل<sup>۳</sup> و اریتروماکسین<sup>۴</sup> گزارش شدند. برای اولین بار در سال ۱۹۶۰، استافیلکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین یا MRSA<sup>۵</sup> به عنوان یک عامل بیماری زای بیمارستانی معرفی شد (Necidová et al., 2009; Rezende et al., 2002). استافیلکوکوس اورئوس علاوه بر آنتی بیوتیک متی سیلین، نسبت به گروه های آنتی بیوتیکی دیگر، مانند بتالاکتام ها، ماکرولیدها<sup>۶</sup>، لینکوز آمیدها<sup>۷</sup>، فلورو کینولین ها<sup>۸</sup>، استریتو گرامین ها<sup>۹</sup> و آمینو گلیکوزیدها<sup>۱۰</sup> نیز می تواند مقاوم باشد (Necidová et al., 2009). مقاومت به آنتی بیوتیک ها با یکی از مکانیسم های غیرفعال سازی آنزیماتیک دارو، تغییر سایت هدف ریبوزوم و کاهش نفوذ پذیری یا پس زدگی

1. Penicillin
2. Tetracycline
3. Chloramphenicol
4. Erythromycin
5. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
6. β-Lactams
7. Macrolides
8. Lincosamides
9. Fluroquinolones
10. Streptogramins
11. Aminoglycosides

## 12. Efflux

*vatC* و *vatB*) از زوج پرایمرهای ارائه شده در جدول ۱ طبق دستور ارایه شده توسط Momtaz and Hafezi . (Momtaz and Hafezi, 2014) استفاده شد (Momtaz and Hafezi, 2014) ردیابی انواع تیپ‌های *Sccmec* در استافیلیوکوکوس/ورئوس جهت تعیین تیپ‌های مختلف کاست کروموزومی *SCCmec* در ایزوله‌های *mec* مثبت استافیلیوکوکوس-ورئوس از زوج پرایمرهای ارائه شده در جدول ۲ استفاده شد (Momtaz and Hafezi, 2014).

عفونت‌های ناشی از ایزوله‌های MRSA در بیمارستان‌ها بالاست و فرآورده‌های دامی بهویژه محصولات لبنی از عوامل مهم انتقال استافیلیوکوکوس/ورئوس به انسان می‌باشد، لذا مطالعه حاضر با هدف ردیابی سویه‌های MRSA در ایزوله‌های استافیلیوکوکوس/ورئوس جدا شده از انواع فرآورده‌های لبنی و تعیین تیپ‌های مختلف کاست کروموزومی ژن *mecA* انجام شد و امید است انجام این پژوهش نتایج و اطلاعات سودمندی را در اختیار مراکز درمانی و سازمان دامپزشکی کشور قرار دهد.

## مواد و روش کار

این مطالعه بر روی ۴۰۳ نمونه شیر خام و فرآورده‌های شیری شامل شیر خام گاو، شیر خام گوسفند، شیر خام بز، پنیر سنتی، کره‌ی سنتی، ماست سنتی، بستنی سنتی، کشک سنتی و شیر پاستوریزه گاو جمع‌آوری شده از مراکز توزیع محصولات لبنی سنتی و صنعتی در شهرستان شهرکرد در سال ۱۳۹۵ انجام شد. شناسایی سویه‌های استافیلیوکوکوس/ورئوس با استفاده از روش‌های استاندارد میکروب‌شناسی مانند رنگ‌آمیزی گرم، کشت در محیط‌های کشت غنی‌کننده و محیط کشت اختصاصی و تست‌های بیوشیمیایی کاتالاز، تخمیر قند مانیتول، هیدرولیز اوره، ذوب ژلاتین، کواگولاز لوله‌ای، احیاء تلوریت پتابسیم و آزمایشات مولکولی انجام گرفت (Momtaz and Hafezi, 2014).

ردیابی ژن‌های کد کننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در استافیلیوکوکوس/ورئوس

جهت ردیابی ژن‌های کد کننده مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها شامل ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین (*tetK* و *tetM*)، ژن مقاومت به متیسیلین (*mecA*)، ژن مقاومت به آمینوگلیکوزید (*aacA-D*), ژن‌های مقاومت به ماکرولید (*linA* و *msrB*)، ژن مقاومت به لینکوزامیدها (*ermC* و *ermA*) و ژن مقاومت به استرپتوگرامین *B* (*ermC* و *ermA*) و ژن مقاومت به استرپتوگرامین *A*.

جدول ۱\_ توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در استافیلوکوکوس اورئوس.

Gene	Oligonucleotide Sequences	Product size (bp)
<i>mecA</i>	F- AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC R- AGTTCTGCAGTACCGGATTG	532
<i>msrA</i>	F-GGCACAATAAGAGTGTAAAGG R-AAGTTATATCATGAATAGATTGTCCTGTT	940
<i>msrB</i>	F-TATGATATCCATAATAATTATCCAATC R-AAGTTATATCATGAATAGATTGTCCTGTT	595
<i>aacA-D</i>	F-TAATCCAAGAGCAATAAGGGC R-GCCACACTATCATAACCACTA	227
<i>tetK</i>	F-GTAGCGACAATAGGTAAATAGT R-GTAGTGACAATAAACCTCCTA	360
<i>tetM</i>	F-AGTGGAGCGATTACAGAA R-CATATGTCCTGGCGTGTCTA	158
<i>vat A</i>	F-TGGTCCCGGAACAACATTAT R-TCCACCGACAATAGAATAGGG	268
<i>vat B</i>	F-GCTGCGAATTCAAGTTGTTACA R-CTGACCAATCCCACCATTTA	136
<i>vat C</i>	F-AAGGCCCAATCCAGAAGAA R-TCAACGTTCTTGTACAACC	467
<i>erm A</i>	F- AAGCGGTAAACCCCTCTGA R- TTGCAAAATCCCTCTCAAC	190
<i>erm C</i>	F-AATCGTCAATTCCCTGCATGT R-AATCGTCAATTCCCTGCATGT	299
<i>lin A</i>	F-GGTGGCTGGGGGTAGATGTATTAACTGG R-GCTTCTTTGAAATACATGGTATTTCGA	323

جدول ۲\_ توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی انواع تیپ‌های SCCmec

Types	Primer Sequence (5'-3')	Size of product (bp)
<i>SCCmec I</i>	F: GCTTAAAGAGTGTCTTACAGG R: GTTCTCTCATAGTATGACGTCC	613
<i>SCCmec II</i>	F: CGTTGAAGATGATGAAGCG R: CGAAATCAATGGTTAATGGACC	398
<i>SCCmec III</i>	F: CCATATTGTGTACGATGCG R: CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG	280
<i>SCCmec IVa</i>	F: GCCTTATTCGAAGAAACCG R: CTACTCTCTGAAAAGCGTCG	776
<i>SCCmec IVb</i>	F: TCTGGAATTACTTCAGCTGC R: AAACAATATTGCTCTCCCTC	493
<i>SCCmec IVc</i>	F: ACAATATTGTATTATCGGAGAGC R: TTGGTATGAGGTATTGCTGG	200
<i>SCCmec IVd</i>	F: CTCAAAATACGGACCCCAATACA R: TGCTCCAGTAATTGCTAAAG	881
<i>SCCmec V</i>	F: GAACATTGTTACTTAAATGAGCG R: TGAAAGTTGTACCCCTGACACC	325

دیسک)، تتراسایکین (۳۰ میکروگرم در هر دیسک)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم در هر دیسک)، سفالوتین (۳۰ میکروگرم در هر دیسک)، انروفلوكساسین (۵ میکروگرم در هر دیسک)، لینکومایسین (۲ میکروگرم در هر دیسک) و تریمتوپریم (۵ میکروگرم در هر دیسک) بوسیله پنس استریل در محیط جامد مولر هینتون کشت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. سپس به وسیله caliper دیجیتالی قطر هاله‌های عدم رشد در اطراف هر دیسک اندازه‌گیری و مقاومت یا حساسیت ایزوله‌های استافیلکوکوس/ورئوس نسبت به هر آنتی‌بیوتیک تعیین شد. در این آزمایش از سویه استاندارد/استافیلکوکوس/ورئوس (ATCC 25923) به عنوان کنترل آزمایش استفاده شد (NCCLS, 2015).

#### آزمون آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آزمون فیشر<sup>۲</sup>، مربع کای<sup>۳</sup> یا مربع کای با تصحیح یات<sup>۴</sup> انجام شد و اختلاف در سطح کمتر از  $0.05$  ( $P < 0.05$ ) معنادار در نظر گرفته شد.

#### نتایج

به منظور کشت و جداسازی استافیلکوکوس/ورئوس با روش‌های مرسوم، تعداد ۴۰۳ نمونه شامل شیر خام گاو، شیر خام گوسفند، شیر خام بز، پنیر سنتی، کره‌ی سنتی، ماست سنتی، بستنی سنتی، کشک سنتی و شیر پاستوریزه‌ی گاو مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات مربوط به تعداد و درصد توزیع استافیلکوکوس/ورئوس جدا شده از نمونه‌های یاد شده در جدول ۳، ارائه شده‌است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود بیشترین درصد آلوودگی به شیر خام گاو و کمترین درصد به کشک مربوط می‌باشد. پس از شناسایی فنوتیپی جایه‌های استافیلکوکوس/ورئوس که بر اساس

واکنش PCR جهت ردیابی تیپ‌های SCCmec در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase ۲،۵ میکرولیتریافر X، ۰/۵ میکرومول از هر کدام از پرایمرها، ۲۰۰ میکرومول dNTP ۱/۵ میلی مول MgCl<sub>2</sub> و ۱ نانوگرم الگو و با برنامه حرارتی ۱ سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۳ سیکل تکراری ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانية، ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانية، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانية و یک سیکل نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد واجد محلول رنگی DNA safe stain (سینا ژن-ایران) در حضور مارکر ۱۰۰ جفت بازی با ولتاژ ثابت ۹۰ ولت به مدت حدوداً ۱ ساعت انجام گرفت. ژل مورد نظر با دستگاه ترانس لومیناتور UV مورد بررسی قرار گرفت.

سنجهش فنوتیپی حساسیت آنتی‌بیوتیکی به منظور تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های استافیلکوکوس/ورئوس از روش انتشار دیسکی ساده (روش Kirby-Bauer) استفاده شد. در این روش ایزوله‌های استافیلکوکوس/ورئوس جدا شده به مدت ۲۴ ساعت در محیط TSB در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند سپس براساس اصول CLSI<sup>۱</sup> رقتی معادل ۰/۵ مک فارلن از هر ایزوله در محیط TSB تهیه شد. سپس از هر محیط TSB به وسیله‌ی سوآب استریل روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی شامل پنی-سیلین (۱۰ واحد در هر دیسک)، کلرامفینیکل (۳۰ میکروگرم در هر دیسک)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم در هر دیسک)، سیپروفلوكساسین (۵ میکروگرم در هر دیسک)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم در هر دیسک)، تری-متوپریم-سولفامتوکسازول (۱/۲۵ و ۲۳/۷۵ میکروگرم در هر

2. Fisher's exact test

3. Chi-square

4. Chi-square with Yate's correction

1. Clinical and Laboratory Standards Institute

کد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی، توزیع جدایههای مقاوم استافیلکوکوس/ورئوس در برابر آنتی بیوتیکهای مورد آزمایش در شیرهای خام با محصولات لبنی، به ترتیب در جداول ۴ تا ۶ ارائه شده است.

روشهای متداول میکروبیولوژی صورت پذیرفت، تأیید ژنوتیپی جدایههای مورد آزمایش با بهره‌گیری از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با ردیابی ژن *rDNA 16S* اختصاصی جنس استافیلکوکوس (*Staphylococcus genus* (specific)، صورت پذیرفت. نتایج مربوط به توزیع ژن‌های

جدول ۳\_ تعداد و درصد توزیع استافیلکوکوس/ورئوس جدا شده از شیر و محصولات لبنی

نوع نمونه	تعداد نمونه	تعداد (درصد نمونه‌های مثبت)
شیر خام گاو	۱۵۲	(۵۵/۵۸) ۸۹
شیر خام گوسفند	۳۲	(۲۵/۵۶) ۱۸
شیر خام بز	۵۲	(۷۶/۳۰) ۱۶
پنیر سنتی	۲۷	(۷۴/۴۰) ۱۱
کره سنتی	۳۰	(۳۳/۲۳) ۷
ماست سنتی	۱۵	(۳۳/۱۳) ۲
بسنتی سنتی	۱۸	(۳۳/۲۳) ۶
کشک سنتی	۱۲	(۶۶/۱۶) ۲
شیر پاستوریزه	۶۵	-
تعداد کل	۴۰۳	۶۷/۴۴ (۱۵۱ درصد)

جدول ۴\_ توزیع ژن‌های کد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی جدایههای استافیلکوکوس/ورئوس در شیر و محصولات لبنی.

ژن‌های کد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی												نوع نمونه	تعداد جدایه	نوع نمونه	
<i>lin</i> A	<i>erm</i> C	<i>erm</i> A	<i>vat</i> C	<i>vat</i> B	<i>vat</i> A	<i>msr</i> B	<i>msr</i> A	<i>tet</i> M	<i>tet</i> K	<i>aacA</i> -D	<i>mec</i> A	۱			
۳۲	۱۴	۳۶	۱۴	۱۲	۱۱	۲۲	۶۱	۳۰	۵۴	۵۲	۶۸	۸۹	شیر خام گاو		
۱۰	۹	۴	۴	۸	۸	۴	۱۰	۶	۱۱	۸	۱۰	۱۸	گوسفند		
۱۲	۸	-	۲	۶	۶	۳	۱۱	۵	۸	۷	۱۱	۱۶	بز		
۵۴	۳۱	۴۰	۲۰	۲۶	۲۵	۲۹	۸۲	۴۱	۷۳	۶۷	۸۹	۱۲۳	مجموع فرآوردههای شیری		
۵	۶	-	-	۴	۲	۲	۳	۲	۷	۴	۶	۱۱	پنیر سنتی		
۲	۲	۳	۱	۲	-	-	۵	-	۶	-	۳	۷	کره سنتی		
-	-	۱	-	۱	۱	-	۱	-	۲	۲	۱	۲	ماست		
۲	۳	۱	۱	۲	-	۲	۳	۱	۴	۱	-	۶	سنتری		
-	-	۱	-	۱	۱	-	۱	-	-	-	۱	۲	بسنتی		
۹	۱۱	۶	۲	۱۰	۴	۵	۱۲	۴	۱۹	۷	۱۱	۲۸	سنتری		
کشک سنتی												مجموع			

جدول ۵\_ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌های استافیلکوکوس/ورئوس بر اساس تعداد و درصد سویه‌های مقاوم با استفاده از روش انتشار از طریق دیسک

نوع و تعداد	GM	NF	Chlo	Ceph	Tr-SM	Trim	CF	Enr	EM	Lin	Tet	Pen	نمونه شیر خام
گاو (۸۹)	۴۷	۲	۴	۳۸	۵۲	۴۹	۱۸	۵۰	۴۸	۲۹	۷۹	۷۸	
(٪)	۵۲/۸)	۲/۲۵)	۴/۴۹)	۴۲/۷)	۵۸/۴۳)	۵۵/۰۶)	۲۰/۲۲)	۵۶/۱۸)	۵۳/۹۳)	۳۲/۵۸)	۸۸/۷۶)	۸۷/۸)	
(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	
گوسفند (۱۸)	۳	۲	۷	۱۰	۱۱	۲	۸	۱۱	۹	۱۵	۱۲		
(٪)	۱۶/۶۷)	-	۱۱/۱۱)	۳۸/۸۹)	۵۵/۵۶)	۶۱/۱۱)	۱۱/۱۱)	۴۴/۴۴)	۶۱/۱۱)	(۵۰)	۸۳/۳۳)	۶۶/۶۶)	(۱۸)
(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	
بز (۱۶)	۲		۶	۴	۱۲		۸	۶	۸	۱۳	۶		
(٪)	۱۲/۵)	-	۳۷/۵)	(٪ ۲۵)	(٪ ۷۵)	-	(٪ ۵۰)	۳۷/۵)	(۵۰)	۸۱/۲۵)	۳۷/۵)	(۱۶)	
(٪)			(٪)					(٪)		(٪)	(٪)		
پنیر (۱۱)	۲	۱		۹	۲	۸	۱	۶	۴	۵	۹	۲	
(٪)	۱۸/۱۸)	۹/۰۹)	-	۸۱/۸۲)	۱۸/۱۸)	۷۲/۷۳)	۹/۰۹)	۵۴/۵۵)	۳۶/۳۷)	۴۵/۴۶)	۸۱/۸۲)	۱۸/۱۸)	(۱۱)
(٪)	(٪)			(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	
کره (۷)	-	-	-	۲۸/۵۷)	۴۲/۸۶)	۴۲/۸۶)	-	۵۷/۱۴)	۵۷/۱۴)	۲۸/۵۷)	۵۷/۱۴)	۱۴/۲۸)	(۷)
(٪)				(٪)	(٪)	(٪)		(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	
ماست (۳)	۱			۱				۱	۱		۱		
(٪)	(٪ ۵۰)	-	-	(٪ ۵۰)	-	-	-	(٪ ۵۰)	(٪ ۵۰)	-	(٪ ۵۰)	-	(۳)
بستنی (۶)	۱			۳	۲	۲	۱	۲	۳	۱	۴	۲	
(٪)	۱۶/۶۷)	-	-	(٪ ۵۰)	۳۳/۳۳)	۳۳/۳۳)	۱۶/۶۶)	۳۳/۳۳)	(٪ ۵۰)	۱۶/۶۷)	۶۶/۶۶)	۳۳/۳۳)	(۶)
(٪)				(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)		(٪)	(٪)	(٪)	
کشک (۲)	-	-	-	-	-	-	(٪ ۵۰)	-	-	(٪ ۵۰)	-	(٪ ۵۰)	(۲)
جمع (۱۰۱)	۵۶	۳	۶	۶۶	۷۳	۸۵	۲۲	۸۰	۷۷	۵۴	۱۲۶	۱۰۱	
(٪)	۳۷/۰۹)	۱/۹۹)	۳/۹۷)	۴۳/۷)	۴۸/۳۴)	۵۶/۲۹)	۱۴/۵۷)	۵۲/۹۸)	۵۰/۹۹)	۳۵/۷۶)	۸۳/۴۴)	۶۶/۸۸)	کل
(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	

Pen: Penicillin, Tet: Tetracycline, Lin: Lincomycin, EM: Erythromycin, Enr: Enrofloxacin, CF: Ciprofloxacin, Trim: Trimethoprim, Tr-SM: Trimethoprim-Sulfamethoxazole, Ceph: Cephalothin, Chlo: Chloramphenicol, NF: Nitrofurantion, GM: Gentamycin

جدول ۶\_ مقایسه جدایههای مقاوم و جدایههای حساس به آنتیبیوتیک در شیرهای خام با فرآوردهای لبنی

آنتیبیوتیک	شیر خام				
	فرآوردهای لبنی	جدا از معاومن	جدا از جدایههای حساس	جدا از جدایههای حسنهای	جدا از جدایههای مقاوم
اختلاف معنی‌داری					
* $P < 0.001$	۲۳	۵	۲۷	۹۶	پنی‌سیلین
* $P = 0.025$	۹	۱۹	۱۶	۱۱۷	تراسپریکلین
$P = 0.052$	۲۰	۸	۷۷	۴۶	لینکومایسین
$P = 0.0405$	۱۶	۱۲	۵۸	۶۵	اریترومایسین
$P = 0.035$	۱۴	۱۴	۵۷	۶۶	انروفلوكسازین
$P = 0.0372$	۲۶	۲	۱۰۳	۲۰	سیپروفلوكسازین
$P = 0.0291$	۱۵	۱۳	۵۱	۷۲	تری‌متوبریم
* $P = 0.0171$	۱۹	۷	۵۷	۶۶	تری‌متوبریم-سولفامتوکسازول
$P = 0.0293$	۱۳	۱۵	۷۲	۵۱	سفالوتین
$P = 0.0594$	۲۸	-	۱۱۷	۶	کلامفنیکل
$P = 0.0462$	۲۷	۱	۱۲۱	۲	نیتروفورانتئین
* $P = 0.005$	۲۴	۴	۷۱	۵۲	جنتامایسین

مربوط به تیپ IVc و ۱۳ ایزوله متعلق به تیپ IVa بودند. توزیع تیپ‌های SCCmec ردیابی شده در ایزوله‌های مورد مطالعه در جدول ۷ نشان داده شده است.

در آزمایش تعیین تیپ‌های کاست کروموزومی ژن *mecA* (SCCmec) از تعداد ۱۰۰ ایزوله مقاوم به متی‌سیلین (ایزوله‌های واجد ژن *mecA*) تنها تیپ IV ردیابی شد که در این میان تعداد ۶۶ ایزوله متعلق به تیپ IVd ایزوله

جدول ۷\_ تیپ‌های SCCmec ردیابی شده در ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین/ستافیلکوکوس/ورئوس جدا شده از شیر و فرآوردهای لبنی

نوع نمونه	تعداد ایزوله مقاوم به			
	متی‌سیلین	شیر خام	گاو	گوسفند
SCCmec				
IVd				
۸	۶	۵۴	۶۸	
۲	۸	-	۱۰	
۲	۳	۶	۱۱	
۱۲	۱۷	*۶۰	۸۹	مجموع
				فرآورده‌های شیری
۱	۳	۲	۶	پنیر سنتی
-	۱	۲	۳	کره سنتی
-	-	۱	۱	ماست سنتی
-	-	۱	۱	کشک سنتی
۱	۴	*۶	۱۱	مجموع

\* اختلاف آماری معنی‌دار ( $P = 0.026$ ) بین حضور تیپ SCCmec- IVd با دو تیپ IVc و IVa مشاهده شد.

## بحث

(۲۰۱۰)، به مطالعه‌ی فنوتیپی و ژنتیکی مقاومت ۱۰/۱ ایزوله‌ی باکتری از شیر ورم پستانی گاوهای آمیخته پرداختند. بر اساس مطالعه‌ی ایشان به ترتیب ۳۶/۷، ۳۰/۵ و ۲۲/۷ درصد ایزوله‌ها نسبت به تتراسیکلین، جنتامیسین و پنی‌سیلین مقاوم بودند. همچنین، درصد توزیع ژن‌ها در نمونه‌های یاد شده شامل ۳۴/۴، ۴۶/۱ و ۲۶/۶ درصد *aacA-tetK+M msrB linA* به ترتیب به ژن‌های (Kumar et al., 2010) مربوط بود (D). هدف اصلی از تحقیق حاضر تعیین تیپ‌های مختلف کاست کروموزومی ژن *mecA* بود که همان گونه که در جدول (۷) نشان داده شده است تنها ۳ تیپ IVc، IVd و IVa در ایزوله‌های *SCCmec* مثبت /ستافیلیوکوکوس/ورئوس رديابی گردید. عمدۀ مطالعات انجام شده روی کاست‌های *SCCmec* مربوط به ایزوله‌های مثبت /ستافیلیوکوکوس/ورئوس رديابی از اولین مطالعات انجام شده روی شیر و فرآورده‌های شیری باشد. در مطالعه‌ی سوزا<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۰) در Mumbai هند از میان ۳۹۵ ایزوله *mec* مثبت /ستافیلیوکوکوس/ورئوس، *SCCmec* تیپ II در ۹۷ ایزوله، *MRSA* تیپ IV در ۱۳۶ ایزوله و تیپ V در ۱۶۲ ایزوله *SCCmec* رديابی شد و مشخص گردید که تمام سویه‌های III، ۷۳ درصد از سویه‌های مربوط به تیپ IV و درصد از ایزوله‌های متعلق به تیپ V کاست کروموزومی ژن *mec* دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی چند گانه (MDR) (D'Souza et al., 2010) موسی<sup>۴</sup> و همکاران هستند (D'Souza et al., 2010). غالباً ترین تیپ *SCCmec* را در ایزوله‌های /ستافیلیوکوکوس/ورئوس جدا شده از بیمارستان‌های عربستان سعودی، تیپ V (۴۲/۵ درصد) و متعاقب آن تیپ III (Moussa et al., 2012) گزارش کردند.

مطالعه حاضر با هدف تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های /ستافیلیوکوکوس/ورئوس جدا شده از شیر و فرآورده‌های سنتی شیر به ویژه مقاومت به متی‌سیلین انجام گرفت. در مطالعه حاضر الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های /ستافیلیوکوکوس/ورئوس در نمونه‌های شیر خام و فرآورده‌های شیری با دو روش مولکولی و انتشار دیسک مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها، بیشترین و کمترین توزیع /ستافیلیوکوکوس/ورئوس در شیر و محصولات لبنی را به ترتیب در شیر گاو (۵۸/۵۵٪) و ماست (۱۳/۳۳٪) نشان داد. در مطالعه‌ی اسپانو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۴)، روی پنیر تهیه شده از شیر خام گوسفند در ایتالیا، ۲۳/۴ درصد سوش‌ها به پنی‌سیلین و ۱۰/۶ درصد به تتراسیکلین مقاوم بودند. اعداد متناظر در مطالعه‌ی اخیر روی پنیر تازه‌ی تهیه شده از بازار شهرکرد در خصوص پنی‌سیلین و تتراسیکلین به ترتیب ۱۸/۱۸ و ۸۱/۸۲ درصد بودند. همچنین از ۴۷ جدایه باکتری که کننده‌ی مقاومت تتراسیکلینی بودند دارای ژن‌های که کننده‌ی مقاومت تتراسیکلینی بودند (Spanu et al., 2014). این در حالی است که در مطالعه‌ی اخیر از ۱۱ جدایه پنیر تازه‌ی تهیه شده از بازار شهرکرد، ۹ جدایه واجد ژن‌های که کننده‌ی مقاومت تتراسیکلینی بودند. اسپانو و همکاران در پژوهش دیگری در سال ۲۰۱۲ روی پنیر سنتی منطقه‌ی ساردینی ایتالیا به بررسی فاکتورهای حدت و برخی ژن‌های مقاومت پرداختند. براساس مطالعه‌ی ایشان از میان ۱۰۰ سوش جدا شده‌ی باکتری، ۶ سوش دارای ژن *tetM* بودند ولی هیچ کدام واجد ژن‌های *ermA* و *mecA* نبودند (Spanu et al., 2012). در مطالعه‌ی حاضر از ۱۱ سوش جدا شده از پنیر، هیچ یک دارای ژن *ermA* نبودند، اما ۲ جدایه و ۶ جدایه به ترتیب دارای ژن‌های *tetM* و *mecA* بودند. کومار<sup>۲</sup> و همکاران

3. D'Souza  
4. Moussa

1. Spanu  
2. Kumar

## منابع

۱. رضویلر، ودود. (۱۳۷۸). میکروب‌های بیماری زا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت‌های غذایی. چاپ سوم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۱۳۳-۱۲۷.
۲. مرتضوی، سید علی، و معتمدزادگان، علی. (۱۳۸۲). میکروبیولوژی غذایی مدرن. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحه ۴۳۵-۳۸۵.
3. Addis, M., Pal, M., and Kyule, M.N. 2011. Isolation and Identification of *Staphylococcus* Species from raw bovine milk in Debre Zeit, Ethiopia. *Vet Res.* 4: 45-49.
4. Akineden, O., Hassan, A.A., Schneider, E., and Usleber, E. 2008. Enterotoxigenic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from goats' milkcheese. *Int J Food Microbiol.* 124: 211-216.
5. Arslan, E., Çelebi, A., Açık, L., and Uçan, U.S. 2009. Characterisation of coagulase positive *Staphylococcus* species isolated from bovine mastitis using protein and plasmid patterns. *Turk J Vet Anim Sci.* 33: 493-500.
6. de Lencastre, H., de Jonge, B.L., Matthews, P.R., and Tomasz, A. 1994. Molecular aspects of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 33: 7-24.
7. Dinges, M.M., Orwin, P.M., and Schlievert, P.M. 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev.* 13: 16-34.
8. D'Souza, N., Rodrigues, C., and Mehta, A. 2010. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with emergence of epidemic clones of sequence type (ST) 22 and ST 772 in Mumbai, India. *J Clin Microbiol.* 48: 1806-1811.
9. Ito, T., Katayama, Y., Asada, K., Mori, N., Tsutsumimoto, K., Tiensasitorn, C., and Hiramatsu, K. 2001. Structural comparison of three types of staphylo-

در مطالعه ممتاز<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۳) که روی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های استافیلکوکوس/ورئوس جدا شده از گوشت مرغ در استان اصفهان انجام گرفت ۸۲/۹۲ درصد از ایزوله‌ها به متی‌سیلین مقاوم بودند و ارتباط آماری معنی داری بین ژن کدکننده مقاومت به متی‌سیلین با سایر ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشاهده شد (Momtaz et al., 2013). ممتاز و حافظی (۲۰۱۴) در مطالعه دیگری از ۶۶ ایزوله استافیلکوکوس/ورئوس جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی، ۸۰/۳۰ درصد واحد ژن *mecA* بودند. در این ایزوله‌ها، تیپ SCCmecV با فراوانی ۵۲/۸۳ درصد غالب-ترین تیپ شناسایی شده بود (Momtaz and Hafezi, 2014).

## نتیجه‌گیری

شیر و فرآورده‌های شیری از غذاهای موردپسند عامه بوده و به راحتی می‌توانند میکرووارگانیسم‌های بیماری‌زا و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها را به افراد انسانی منتقل کنند. شیوع بالای آلودگی با استافیلکوکوس/ورئوس در شیرخام و فرآورده‌های سنتی شیر و مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالای این ایزوله‌ها به انواع آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان عفونت‌های انسانی یک زنگ خطر جدی برای جامعه بوده و لزوم به کارگیری اقدامات بهداشتی و کنترل کیفی فرآورده‌های شیری را بیش از پیش مشخص می‌کند لذا توصیه می‌گردد:

- از مصرف شیر و فرآورده‌های شیری به شکل خام و غیر پاستوریزه خودداری شود.

- از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در حوزه‌های انسانی و دامی خودداری گردد.
- درمان عفونت‌های استافیلکوکسی بر اساس نتیجه آنتی‌بیوگرام در دام و انسان انجام گیرد.

1. Momtaz

17. Necidová, L., Šthacek~ástková, Z., Pospíšilová, M., Janštová, B., Strejček, J., Dušková, M., and Karpíšková, R. 2009. Influence of soft cheese technology on the growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus*. Czech J Food Sci. 27: 127–133.
18. Rezende, N.A., Blumberg, H.M., Metzger, B.S., Larsen, N.M., Ray, S.M., and McGowan, J.E. Jr. 2002. Risk factors for methicillin-resistance among patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia at the time of hospital admission. Am J Med Sci. 323: 117-123.
19. Ross, J.I., Eady, E.A., Cove, J.H., and Baumberg, S. 1995. Identification of a chromosomally encoded ABC-transport system with which the staphylococcal erythromycin exporter MsrA may interact. Gene. 153: 93-98.
20. Sabath, L.D. 1982. Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics in strains of *Staphylococcus aureus*. Ann Intern Med. 97: 339-344.
21. Sajith Khan, A.K., Preetha, J. Shetty, Lakshmi Sarayu, Y., Anandi Chidambaram, Ramesh Ranganathan. 2012. Detection of *mecA* genes of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction. Int J Health Rehabil Sci. 1: 64-68.
22. Spanu, V., Scarano, C., Cossu, F., Pala, C., Spanu, C., and De Santis, E.P. 2014. Antibiotic resistance traits and molecular subtyping of *Staphylococcus aureus* isolated from raw sheep milk cheese. J Food Sci. 79: M2066-2071.
23. Spanu, V., Spanu, C., Virdis, S., Cossu, F., Scarano, C., and De Santis, E.P. 2012. Virulence factors and genetic variability of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw sheep's milk cheese. Int J Food Microbiol. 153: 53-57.
- coccal cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 45: 1323-1336.
10. Ito, T., Okuma, K., Ma, X.X., Yuzawa, H., and Hiramatsu, K. 2003. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. Drug Resist Updat. 6: 41-52.
11. Kloos, W.E. 1998. *Staphylococcus*. p 578-629. In: Collier, L., Balows, A., and Sussman, M. (ed.), *Toply and Wilson's Microbiology and Microbial infection*. 9<sup>th</sup> ed., Arnold Publisher, New York, pp: 577-632.
12. Kumar, R., Yadav, B.R., and Singh, R.S. 2010. Genetic determinants of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from milk of mastitic crossbred cattle. Curr Microbiol. 60: 379-386.
13. Momtaz, H., and Hafezi, L. 2014. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Iranian hospitals: virulence factors and antibiotic resistance properties. Bosn J Basic Med Sci. 14: 219-226.
14. Momtaz, H., Safarpoor Dehkordi, F., Rahimi, E., Asgarifar, A., and Momeni, M. 2013. Virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat in Isfahan province, Iran. J Appl Poult Res. 22: 913-921.
15. Moussa, I., Kabli, S.A., Hemeg, H.A., Al-Garni, S.M., and Shibli, A.M. 2012. A novel multiplex PCR for molecular characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* recovered from Jeddah, Kingdom of Saudi Arabia. Indian J Med Microbiol. 30: 296-301.
16. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2015. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard M02-A12. 12<sup>th</sup> ed., NCCLS, Villanova.

- type 59 in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother.* 52: 837-845.

25. Turutoglu, H., Ercelik, S., and Ozturk, D. 2006. Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci* isolated from bovine mastitis. *Bull Vet Inst Pulawy.* 50: 41-45.

24. Takano, T., Higuchi, W., Zaraket, H., Otsuka, T., Baranovich, T., Enany, S., Saito, K., Isobe, H., Dohmae, S., Ozaki, K., Takano, M., Iwao, Y., Shibuya, M., Okubo, T., Yabe, S., Shi, D., Reva, I., Teng, L.J., and Yamamoto, T. 2008. Novel characteristics of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains belonging to multilocus sequence

## SCCmec typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk and dairy products

Aminifard N<sup>1</sup>, Momtaz H<sup>2\*</sup>, Bamzadeh Z<sup>2</sup>

1. Graduated of Microbiology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2. Department of Microbiology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

\*Corresponding author: hamomtaz@yahoo.com, hamomtaz@iaushk.ac.ir

Accepted: 30 October 2017

Received: 09 April 2017

### Abstract

*Staphylococcus aureus* is a major opportunistic pathogen causing various diseases such as pneumonia and urinary tract infections. Indiscriminate and excessive use of antibiotics leads to antibiotic resistance in this bacterium, especially against commonly used antibiotics in the treatment. The present study aimed to evaluate the antibiotic resistance pattern of *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk and traditional milk products, especially resistance to methicillin. A total of 403 samples of milk and milk products was examined and collected from distribution centers of traditional and dairy products. Strains isolated were tested by PCR to determine the frequency of *mec* gene, SCCmec types and genes coding for antibiotic resistance. Antibiotic resistance pattern of isolates was assessed by disk diffusion method. Out of 403 samples, 151 samples (%44.67) were infected with *Staphylococcus aureus*, and the highest prevalence of infection was found in samples of cow raw milk (%58.55). Only IV type was detected in *meca*-positive isolates among SCCmec types; a number of 66 isolates belonged to IVd type, 21 isolates related to IVc type and 13 isolates belonged to IVa type and the significant differences between SCCmec type IVd with two types IVc and IVa was observed. The high prevalence of infection with *Staphylococcus aureus* in raw milk and traditional milk products and high antibiotic resistance of the isolates to common types of antibiotics in treating human infections are serious warning to the community and it requires hygienic measures and quality control of dairy products more than ever.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, SCCmecTypes, Antibiotic Resistance, Milk Products.