Archive of SID

بررسی مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوکوس‌های جدا شده از سگ و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها

داریوش غریبی[۱*]، بهمن مصلی‌نژاد[۲] و سیده محدثه هاشمی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۳

چکیده

در این پژوهش، حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) در استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت (*استافیلوکوکوس آرئوس* و *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس*) جدا شده از سگ‌های ارجاعی به بیمارستان دانشکده‌ی دامپزشکی اهواز، بررسی شد و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها تعیین گردید. سواب‌های بینی از تعداد ۱۴۳ سگ ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی اهواز اخذ گردید. سواب‌ها در محیط‌های کشت مانیتول سالت آگار (MSA) و ژلوز خوندار، کشت داده شدند و استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت با استفاده از روش‌های استاندارد تعیین هویت باکتری‌ها، تعیین هویت گردیدند. از تعداد ۶۷ جدایه‌ی استافیلوکوکوس کوآگولاز مثبت (۱۳ جدایه‌ی *استافیلوکوکوس آرئوس* و ۵۴ جدایه‌ی *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس*) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مربوط به ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*)، ۲۸ جدایه (۴۱/۷۹ درصد) واجد ژن *mecA* بودند. حضور این ژن در ۷ جدایه‌ی *استافیلوکوکوس آرئوس* (۲۵ درصد) و ۲۱ جدایه‌ی *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس* (۷۵ درصد) مشخص گردید. بیش‌ترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان جدایه‌های واجد ژن *mecA* نسبت به آموکسی‌سیلین (۹۲/۸۵ درصد) بود و پس از آن به ترتیب، نسبت به پنی‌سیلین (۵۷/۱۴ درصد)، کلوگزاسیلین (۴۲/۵۸ درصد)، اگزاسیلین (۳۵/۷۱ درصد)، تتراسیکلین (۳۲/۱۴ درصد)، سفتازیدیم (۲۵ درصد)، اریترومایسین و آزیترومایسین (۲۱/۴۲ درصد)، جنتامایسین و سفتی‌زوکسیم (۱۴/۲۸ درصد)، متی‌سیلین، نورفلوکساسین، مروپنم و کوتریموکسازول (۱۰/۷۱ درصد) بود. همچنین هیچ گونه مقاومتی نسبت به ونکومایسین، کلرامفنیکل، ریفامپین و نیتروفورانتوئین مشاهده نگردید. در میان جدایه‌های فاقد ژن مقاومت به متی‌سیلین بیش‌ترین مقاومت، مربوط به آمپی‌سیلین (۸۴/۶۱ درصد) بود و بعد از آن به ترتیب، پنی‌سیلین (۴۸/۷۱ درصد)، تتراسایکلین (۲۳/۰۷ درصد)، اگزاسیلین (۲۰/۵۱ درصد)، جنتامایسین (۷/۶۹ درصد)، کلرامفنیکل، اریترومایسین، آزیترومایسین، کوتریموکسازول (۵/۱۲ درصد) و سفتازیدیم (۲/۵۴ درصد) قرار داشتند؛ البته هیچ‌گونه مقاومتی در این جدایه‌ها نسبت به کلوگزاسیلین، مروپنم، ونکومایسین، سفتی‌زوکسیم، ریفامپین، متی‌سیلین و نیتروفورانتوئین مشاهده نگردید. شناسایی، پایش و آگاهی از میزان وفور استافیلوکوکوس‌های مقاوم به متی‌سیلین در جمعیت میکروبی و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها برای درمان موفقیت‌آمیز و جلوگیری از گسترش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، ضروری می‌باشد. این مطالعات همچنین منجر به آگاهی و ترویج شیوه‌های مؤثر برای جلوگیری از گسترش سویه‌های مقاوم می‌شوند.

کلمات کلیدی: استافیلوکوکوس، مقاومت به متی‌سیلین، سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی، سگ

مقدمه

استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت که عمدتاً باکتری‌هایی نظیر *S.aureus* ، *S. schleiferi subsp. coagulans* ، *S. intermedius* و *S. pseudintermedius* را شامل می‌شوند، باکتری‌های همزیست مشترک و پاتوژن‌های فرصت طلب در انسان و حیوانات هستند که عفونت‌های مهمی را در انسان و حیوانات به وجود می‌آورند. از طرفی، عفونت با استافیلوکوک‌های کوآگولاز مثبت به ویژه *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس* در سگ‌ها گزارش شده است. این باکتری‌ها ممکن است با بیماری‌هایی نظیر التهاب گوش خارجی، پیودرم، عفونت‌های دستگاه ادراری

[۱*] استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
E-mail: d.gharibi@scu.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)
[۲] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۳] دانش‌آموخته‌ی دکترای حرفه‌ای، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

www.SID.ir

Archive of SID

و موارد دیگر بیماری در سگ‌ها و گربه‌ها همراه باشند (Bryan et al. 2013, Sasaki et al. 2007). از طرف دیگر، سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین این باکتری‌ها در حال افزایش هستند و باعث نگرانی‌های بیشتری در مورد درمان بیماری‌های ناشی از این باکتری‌ها و هم درباره‌ی عواقبی که برای بهداشت عمومی جامعه دارند، شده است. ارائه‌ی گزارش‌هایی در مورد انتقال بین گونه‌ای این باکتری و برخی از گونه‌های دیگر به ویژه انتقال زئونوتیک به انسان‌های مرتبط با حیوانات کوچک، این نگرانی‌ها را بیش‌تر کرده است (Baptiste et al. 2005, Davis et al. 2012, Frank et al. 2009, Loeffler et al. 2005, Morris et al. 2006, Weese et al. 2006). مقاومت به متی‌سیلین در این باکتری‌ها به واسطه‌ی حضور ژن *mecA* می‌باشد. این ژن، پروتئینی به نام پروتئین متصل شونده به پنی‌سیلین (PBP2α) را کد می‌کند که میل ترکیبی آن در اتصال به متی‌سیلین، کم‌تر از سایر پروتئین‌های متصل شونده به پنی‌سیلین در دیواره‌ی باکتری است. سویه‌هایی که دارای این ژن هستند، به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله داروهای بتالاکتام نیز مقاومت نشان می‌دهند (Moodley et al. 2009). مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های معمول مورد استفاده در درمان عفونت‌های باکتریایی هم در مورد *استافیلوکوکوس آرئوس* و *استافیلوکوکوس سودانترمدیوس* مشاهده شده است. اولین گزارش در این مورد، در سال ۱۹۴۰ و در مورد سویه‌های *استافیلوکوکوس آرئوس* جدا شده از جامعه‌ی انسانی و متعاقب معرفی پنی‌سیلین برای درمان عفونت-های باکتریایی، مشاهده گردید و در حال حاضر، بتالاکتاماز (پنی‌سیلیناز) به طور وسیعی در *میان استافیلوکوکوس آرئوس* و *استافیلوکوکوس سودانترمدیوس* منتشر شده است. پس از این، سفالوسپورین‌های نسل اول، آموکسی‌سیلین کلاوولانات، کلیندامایسین، تری متوپریم سولفامتوکسازول و انروفلوکساسین به طور معمول برای درمان عفونت‌های استافیلوکوکی در حیوانات کوچک استفاده شده است و ظهور مقاومت به این داروها، به خصوص در میان استافیلوکوکوس‌های مقاوم به متی‌سیلین، احتمال شکست درمان را افزایش داده و به عنوان خطری برای بهداشت عمومی معرفی شده است (Woodford 2005). بررسی اپیدمیولوژی و کلونیزاسیون استافیلوکوک‌های مقاوم به متی‌سیلین به منظور درک ظهور آشکار این سویه‌ها و توسعه‌ی استراتژی‌های کنترل مناسب این باکتری‌ها و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها برای درمان موفقیت‌آمیز و جلوگیری از گسترش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، ضروری می‌باشد؛ لذا هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی فراوانی ژن مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت جدا شده از سگ‌های ارجاعی به بیمارستان دانشکده‌ی دامپزشکی اهواز و تعیین الگوی حساسیت یا مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها بوده است.

مواد و روش کار

جمع‌آوری، کشت و تعیین هویت نمونه‌ها

سواب‌های بینی به طور استریل از تعداد ۱۴۳ سگ ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی اهواز اخذ گردید. تمامی سگ‌ها از لحاظ کلینیکی، سالم و ضایعه‌ای در بینی نداشتند. سواب‌ها روی محیط کشت Mannitol salt agar (MSA) کشت داده و به مدت ۲۴–۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، گرمخانه‌گذاری شدند. باکتری‌های رشد کرده روی محیط MSA (مانیتول مثبت یا منفی) که مشکوک به استافیلوکوکوس بودند، از محیط به وسیله‌ی آنس استریل برداشته و در محیط کشت ژلوز خوندار کشت داده شدند. متعاقب رشد باکتری‌ها در محیط ژلوز خوندار ضمن بررسی مورفولوژی پرگنه‌ها و شکل باکتری‌های مشکوک در رنگ‌آمیزی گرم، آزمایش‌های کاتالاز، اکسیداز و بیوشیمیایی باکتری‌ها در محیط‌های افتراقی مربوط به تعیین هویت باکتری‌های جنس استافیلوکوکوس نیز انجام شد. به این منظور، از خصوصیاتی نظیر خاصیت تولید پیگمان، آزمایش هیدرولیز اوره، احیای نیترات، تولید استوئین، حساسیت به

www.SID.ir

Archive of SID

پلی‌میکسین و نوبیوسین و تخمیر قندهای مانیتول، تری‌هالوز، مانوز، مالتوز، زایلوز و سوکروز استفاده گردید؛ همزمان، آزمایش کوآگولاز روی لام و داخل لوله نیز برای باکتری‌ها انجام شد و باکتری‌ها با استفاده از آزمایش‌های بیوشیمیایی معمول، شناسایی شدند (Bryan et al. 2013). از سوش استاندارد باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* مقاوم به متی‌سیلین (ATCC33591) در کنار جدایه‌های بالینی در تمام آزمایش‌ها استفاده گردید. تشخیص قطعی باکتری‌ها در حد گونه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مربوط به *استافیلوکوکوس آرئوس* و *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس* متعاقب استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA از باکتری‌های گرم مثبت (شرکت سیناژن) انجام پذیرفت. این پرایمرها بر اساس سکانس ژن ترمونوکلئاز (ژن Nu) در گونه‌های مختلف جنس استافیلوکوکوس طراحی شده‌اند و قادر به تمایز اغلب گونه‌های کوآگولاز مثبت این جنس می‌باشند. توالی آغازگرهای مربوط به گونه‌ی *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس* شامل آغازگر پیشرو 5′- trggcagtaggattcgttaa -3′ و آغازگر معکوس 5′- cttttgtgctycmttttgg -3′ و برای گونه *استافیلوکوکوس آرئوس* آغازگر پیشرو 5′- tcgcttgctatgattgtgg -3′ و آغازگر معکوس 5′- tcgcttgctatgattgtgg -3′ (ساخت شرکت سیناژن) بودند. سیکل‌های حرارتی، شامل دناتوراسیون اولیه ۲ دقیقه در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۰ سیکل شامل ۳۰ ثانیه در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد برای اتصال پرایمرها، ۶۰ ثانیه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای تکثیر قطعه‌ی هدف و تکثیر نهایی به مدت ۲ دقیقه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود (Sasaki et al. 2010).

استخراج DNA از جدایه‌های استافیلوکوکوس

در این آزمایش برای استخراج DNA از جدایه‌های استافیلوکوکوس که با روش‌های بیوشیمیایی مشخص گردیده بودند، از کیت استخراج DNA مخصوص باکتری‌های گرم مثبت (شرکت سیناژن) استفاده گردید. در حدود ۲۰mg–۱۰ از باکتری‌های استافیلوکوکوس (۲تا ۳ پرگنه از کشت شبانه) با محلول prelysis buffer و آنزیم‌های لیزوزیم (20mg/ml) و ریبوتیناز (10mg/ml) در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید و پس از لیز کامل باکتری‌ها، مراحل استخراج DNA مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده‌ی کیت، روی تمامی جدایه، انجام گرفت. کیفیت DNA استخراج شده با الکتروفورز بررسی شد و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد زمان آزمایش PCR نگه‌داری شد. تمامی مراحل استخراج DNA برای سوش استاندارد *استافیلوکوکوس آرئوس* (ATCC – 33591) به عنوان کنترل مثبت نیز انجام شد.

آزمون PCR برای شناسایی ژن مقاومت به متی‌سیلین *mecA*

حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین در جدایه‌های بالینی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مربوط به این ژن، مورد بررسی قرار گرفت. توالی آغازگرهای مربوط به این ژن، شامل آغازگر پیشرو 3′-gtagaaatgactgaacgtccgataa-5′ و آغازگر معکوس 3′-aattccacattgtttcggtctaa-5′ (ساخت شرکت سیناژن) بود (Merlino et al. 2002). این آغازگرها قطعه‌ای به طول ۳۰۷bp را تکثیر می‌نمایند. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد و سیکل‌های حرارتی، شامل دناتوراسیون اولیه ۳ دقیقه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۵ سیکل شامل ۶۰ ثانیه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برای اتصال پرایمرها، ۹۰ ثانیه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای تکثیر قطعه‌ی هدف و تکثیر نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود (Merlino et al. 2002). در نهایت ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR در آگارز ۱/۵ درصد حاوی Safe stain (شرکت سیناژن) بارگذاری و باندهای مورد نظر زیر اشعه‌ی UV مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱). در این تحقیق از سوش استاندارد *استافیلوکوکوس آرئوس* مقاوم به متی‌سیلین

www.SID.ir

Archive of SID

(ATCC33591) در کنار جدایه‌های بالینی در تمام آزمایش‌ها استفاده گردید.

آزمایش تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها

تعیین حساسیت جدایه‌های کوآگولاز مثبت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر به روش دیسک دیفیوژن (Kirby-bauer) مطابق با استانداردهای CLSI و با استفاده از ۱۸ نوع دیسک آنتی‌بیوتیک (شرکت پادتن طب) انجام گردید (CLSI 2008، CLSI 2013، Bryan et al. 2013). برای این منظور، ابتدا کدورت معادل ۰/۵ استاندارد مک فارلند با استفاده از جدایه‌های بالینی و سوش استاندارد [*استافیلوکوکوس آرئوس* مقاوم به متی‌سیلین (ATCC33591)] در سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید و متعاقباً باکتری‌ها روی پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون، تلقیح شدند. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مخصوص آنتی‌بیوگرام در سطح محیط مولر هینتون گذاشته شد. پلیت‌ها ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شدند و بعد از این زمان، قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد و حساسیت یا مقاومت هر یک از جدایه‌ها برای هر آنتی‌بیوتیک از روی جدول‌های استاندارد، تعیین گردید. همچنین از سوش استاندارد *استافیلوکوکوس آرئوس* مقاوم به متی‌سیلین (ATCC33591) در کنار جدایه‌های بالینی در تمام آزمایش‌ها استفاده گردید (CLSI 2008، CLSI 2013، Bryan et al. 2013).

نتایج

نتایج آزمایش‌های بیوشیمیایی و آزمون PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مربوط به تعیین گونه‌ی باکتری استافیلوکوکوس، نشان داد که از تعداد ۶۷ جدایه‌ی استافیلوکوکوس کوآگولاز مثبت، ۱۳جدایه (۱۹/۴ درصد) *استافیلوکوکوس آرئوس* و ۵۴ جدایه (۸۰/۶ درصد) *استافیلوکوکوس سودایترمدیوس* هستند (جدول ۱).

با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مربوط به ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*)، تعداد ۲۸ (۴۱/۷۹ درصد) جدایه، واجد این ژن بودند (شکل ۱). از این تعداد، حضور این ژن در ۷ جدایه‌ی *استافیلوکوکوس آرئوس* (۲۵ درصد) و ۲۱ جدایه‌ی *استافیلوکوکوس سودایترمدیوس* (۷۵ درصد) مشاهده گردید (جدول ۱).

بررسی نتایج آزمایش تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی، نشان داد که ۶۴ جدایه (۹۵/۵۲ درصد) نسبت به متی‌سیلین، حساس و ۳ جدایه (۴/۴۸ درصد) نسبت به آن مقاوم بودند؛ البته هیچ جدایه‌ای حساسیت متوسط نسبت به متی‌سیلین نداشت. هم‌چنین ۲۹ جدایه (۴۳/۲۸ درصد) نسبت به اگزاسیلین، حساس و ۱۸ جدایه (۲۶/۸۷ درصد) نسبت به آن مقاوم و ۲۰ جدایه (۲۹/۸۵ درصد) حساسیت نسبی داشتند. در میان جدایه‌های حساس به متی‌سیلین، ۲۵ جدایه، واجد *mecA* و ۳۹ جدایه، فاقد آن بودند. هم‌چنین هر سه جدایه‌ی مقاوم به متی‌سیلین، واجد ژن *mecA* بودند (جدول ۲). در بین جدایه‌های مقاوم به اگزاسیلین، حضور ژن *mecA* در ۱۰ جدایه، مشخص گردید و ۸ جدایه، فاقد این ژن بودند. هم‌چنین در جدایه‌های حساس به اگزاسیلین، ۱۲ جدایه واجد ژن *mecA* و ۱۷ جدایه فاقد آن بودند. در میان جدایه‌های با مقاومت نسبی نیز ۶ جدایه، واجد ژن *mecA* و ۱۴ جدایه فاقد آن بودند (جدول ۳).

بیش‌ترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان جدایه‌هایی که واجد ژن *mecA* بودند، نسبت به آموکسی‌سیلین (۹۲/۵۸ درصد) بود و پس از آن به ترتیب، بیش‌ترین مقاومت نسبت به پنی‌سیلین (۵۷/۱۴ درصد)، کلوگزاسیلین (۴۲/۵۸ درصد)، اگزاسیلین (۳۵/۷۱ درصد)، تتراسیکلین (۳۲/۱۴ درصد)، سفتازیدیم (۲۵ درصد)، اریترومایسین و آزیترومایسین (۲۱/۴۲ درصد)، جنتامایسین و سفتی زوکسیم (۱۴/۲۸ درصد)، متی‌سیلین، نورفلوکساسین، مروپنم و کوتریموکسازول (۱۰/۷۱ درصد) بود. هیچ‌گونه مقاومتی نسبت به ونکومایسین، کلرامفنیکل، ریفامپین و نیتروفورانتوئین مشاهده نگردید

www.SID.ir

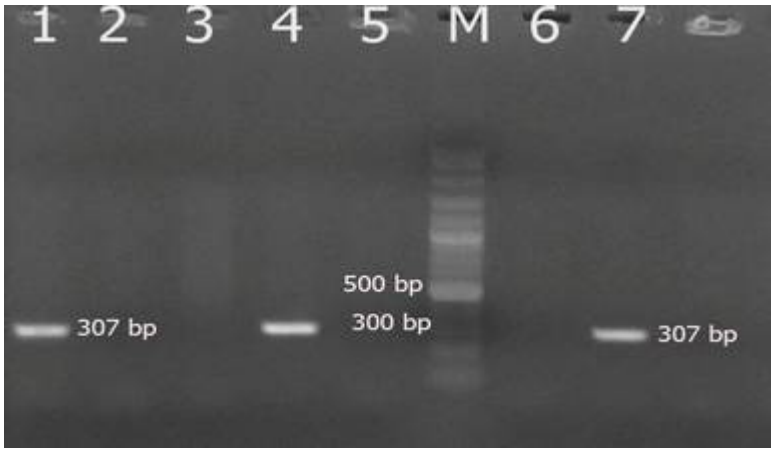
Archive of SID

(جدول ۴) . از ۶۷ جدایه‌ی کوآگولاز مثبت استافیلوکوکوس، تعداد ۲۰ جدایه (۲۹/۸۵ درصد) نسبت به آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین حساسیت نسبی داشتند. بعد از آن به ترتیب، تتراسایکلین ۵ جدایه (۷/۴۶ درصد)، نیتروفورانتوئین ۳ جدایه (۴/۴۷ درصد)، مروپنم و سفتازیدیم ۲ جدایه (۲/۹۸ درصد) و آمپی‌سیلین و نورفلوکساسین ۱جدایه (۱/۴۹ درصد) قرار داشتند.

در میان جدایه‌هایی که فاقد ژن مقاومت به متی‌سیلین *mecA* بودند، بیش‌ترین میزان مقاومت مربوط به آمپی سیلین (۸۴/۶۱ درصد) بوده است و بعد از آن به ترتیب، پنی‌سیلین (۴۸/۷۱ درصد)، تتراسایکلین (۲۳/۰۷ درصد)، اگزاسیلین (۲۰/۵۱ درصد)، جنتامایسین (۷/۶۹ درصد)، کلرامفنیکل، اریترومایسین، آزیترومایسین، کوتریموکسازول (۵/۱۲ درصد) و سفتازیدیم (۲/۵۴ درصد) قرار داشتند. هیچ گونه مقاومتی در جدایه‌های فاقد ژن مقاومت به متی‌سیلین *mecA* نسبت به کلوگزاسیلین، مروپنم، ونکومایسین، سفتی‌زوکسیم، ریفامپین، متی‌سیلین و نیتروفورانتوئین مشاهده نگردید (جدول ۴) . در مورد برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها مثل اگزاسیلین حساسیت متوسط در ۱۴ جدایه (۳۵/۸۹ درصد) مشاهده گردید، این مقدار برای تتراسایکلین ۳ جدایه (۷/۶۹ درصد)، کوتریموکسازول ۲ جدایه (۵/۱۲ درصد)، نورفلوکساسین، سفتازیدیم، مروپنم و آمپی‌سیلین ۱ جدایه (۲/۵۴ درصد) بود.

جدول ۱: فراوانی ژن مقاومت به متی‌سیلین در جدایه‌های استافیلوکوکوس کوآگولاز مثبت

حضور ژن *mecA* / گونه باکتری	مثبت		منفی		جمع	
	مطلق	درصد نسبی	مطلق	درصد نسبی	مطلق	درصد نسبی
استافیلوکوکوس آرئوس	۷	۲۵	۶	۷۵	۱۳	۱۹/۴
استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس	۲۱	۷۵	۳۳	۲۵	۵۴	۸۰/۶
جمع	۲۸	۱۰۰	۳۹	۱۰۰	۶۷	۱۰۰



شکل ۱: الکتروفورز محصول PCR جهت بررسی حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین در برخی جدایه‌های استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت. گودهای شماره ۱ و ۴ جدایه‌های مثبت از نظر حضور این ژن، گودهای ۲، ۳ و ۵ جدایه‌های منفی، گودی شماره‌ی ۷ کنترل مثبت، گودی شماره‌ی ۶ کنترل منفی و M مارکر مولکولی ۱۰۰ bp

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: ویژگی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی حساسیت و مقاومت نسبت به متی‌سیلین در جدایه‌های استافیلوکوکوس کوآگولاز مثبت

فنوتیپ حساسیت یا مقاومت به متی‌سیلین	تعداد جدایه‌های واجد ژن *mec A*	تعداد جدایه‌های فاقد ژن *mec A*
حساس به متی‌سیلین	۲۵ (۸۹/۲۸ درصد)	۳۹ (۱۰۰ درصد)
مقاوم به متی سیلین	۳ (۱۰/۷۲ درصد)	۰ (۰ درصد)
حساسیت نسبی به متی سیلین	۰ (۰ درصد)	۰ (۰ درصد)

جدول ۳: ویژگی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی حساسیت و مقاومت نسبت به اگزاسیلین در جدایه‌های استافیلوکوکوس کوآگولاز مثبت

فنوتیپ حساسیت یا مقاومت به اگزاسیلین	تعداد جدایه های واجد ژن *mec A*	تعداد جدایه های فاقد ژن *mec A*
حساس به اگزاسیلین	۱۲ (۳۵/۷۲ درصد)	۱۷ (۴۳/۵۹ درصد)
مقاوم به اگزاسیلین	۱۰ (۴۲/۸۶ درصد)	۸ (۲۰/۵۱ درصد)
حساسیت نسبی به اگزاسیلین	۶ (۲۱/۴۲ درصد)	۱۴ (۳۵/۹۰ درصد)

جدول ۴: میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در جدایه‌های استافیلوکوکوس کوآگولاز مثبت واجد و فاقد ژن *mec A*

آنتی‌بیوتیک / ژن *mecA*	ME	CX	TE	NOR	CAZ	MEN	GM	VA	P	C	E	ZOX	OX	AZM	RA	AM	FD	SXT
واجد ژن *mec A*	(٪ ۱۰/۷۱)	(٪ ۴۲/۵۸)	(٪ ۳۲/۱۴)	(٪ ۱۰/۷۱)	(٪ ۲۵)	(٪ ۱۰/۷۱)	(٪ ۱۴/۲۸)	۰	(٪ ۵۷/۱۴)	۰	(٪ ۲۱/۴۲)	(٪ ۱۴/۲۸)	(٪ ۳۵/۷۱)	(٪ ۲۱/۴۲)	۰	(٪ ۹۲/۸۰)	۰	(٪ ۱۰/۷۱)
فاقد ژن *mec A*	۰	۰	(٪ ۳۲/۰۷)	(٪ ۲/۵۴)	(٪ ۲/۵۴)	۰	(٪ ۷/۶۹)	۰	(٪ ۴۸/۷۱)	(٪ ۵/۱۲)	(٪ ۵/۱۲)	۰	(٪ ۳۵/۷۹)	(٪ ۵/۱۲)	۰	(٪ ۸۴/۶۱)	۰	(٪ ۵/۱۲)

متی‌سیلین (ME) ۵ میکروگرم، کلوگزاسیلین (CX) ۱ میکروگرم، تتراسایکلین (TE) ۳۰ میکروگرم، نورفلوکساسین (NOR) ۱۰ میکروگرم، سفتازیدیم (CAZ) ۳۰ میکروگرم، مروپنم (MEN) ۱۰ میکروگرم، جنتامایسین (GM) ۱۰ میکروگرم، ونکومایسین (VA) ۳۰ میکروگرم، پنی‌سیلین (P) ۱۰ میکروگرم، کلرامفنیکل (C) ۳۰ میکروگرم، اریترومایسین (E) ۱۵ میکروگرم، سفتی زوکسیم (ZOX) ۳۰ میکروگرم، اگزاسیلین (OX) ۱ میکروگرم، آزیترومایسین (AZM) ۱۵ میکروگرم، ریفامپین (RA) ۵ میکروگرم، آمپی‌سیلین (AM) ۱۰ میکروگرم، نیتروفورانتوئین (FD) ۳۰۰ میکروگرم، سولفامتوکسازول (STX)۲۵ میکروگرم.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

مطالعه‌ی حاضر به بررسی حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) در استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت (*استافیلوکوکوس آرئوس* و *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس*) جدا شده از سگ‌های ارجاعی به بیمارستان دانشکده‌ی دامپزشکی اهواز و تعیین الگوی حساسیت یا مقاومت آنتی‌بیوتیکی این جدایه‌ها پرداخته است؛ چرا که ظهور مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و به ویژه، مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت باعث افزایش نگرانی‌ها در مورد سلامت بهداشت عمومی و هم‌چنین حیوانات شده است.

آزمایش‌های استاندارد طلایی به منظور شناسایی و تایید مقاومت به متی‌سیلین در باکتری استافیلوکوک، شامل شناسایی حضور ژن *mecA* به وسیله‌ی PCR یا پروب‌های ژنی و یا تشخیص فرآورده‌ی این ژن (PBP2α) با استفاده از روش‌های ایمونولوژیک (نظیر آگلوتیناسیون لاتکس با استفاده از ذرات لاتکس پوشیده شده به وسیله‌ی آنتی‌بادی مونوکلونال اختصاصی فرآورده‌ی ژن *mecA*) می‌باشند (CLSI ۲۰۰۸). حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) در آزمایش PCR در بین جدایه‌های این تحقیق ۴۱/۷۹ درصد بود. Griffeth و همکاران در سال ۲۰۰۸ میزان مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت جدا شده از سگ‌های سالم و سگ‌های با پوست ملتهب را مورد بررسی قرار دادند. این محققین مقاومت به متی‌سیلین در سگ‌های سالم را در *استافیلوکوکوس آرئوس* و *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* به ترتیب صفر و ۳ درصد و در سگ‌های با پوست ملتهب ۱۷ و ۸ درصد گزارش نمودند (Griffeth et al. 2008). مطالعه‌ی Hanselman و همکاران در سال ۲۰۰۹ میزان مقاومت به متی‌سیلین در *استافیلوکوکوس آرئوس*‌های جدا شده از انسان، سگ و گربه‌های خانگی را در جنوب اونتاریو ۳/۳، ۱/۵ و صفر درصد و میزان مقاومت به متی‌سیلین در *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس*‌های جدا شده از انسان، سگ و گربه را ۰/۴، ۴/۵ و ۱/۲ درصد نشان داد. همین محققین در سال ۲۰۰۸ شیوع *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس*‌های مقاوم به متی‌سیلین را در سگ‌های ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی اونتاریو ۲/۱ درصد گزارش کرده بودند (Hanselman et al. 2007). Morris و همکاران در امریکا شیوع مقاومت به متی‌سیلین در *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس* جدا شده از حیوانات کوچک را ۱۷ درصد گزارش نمودند (Morris et al. 2006). Wang و همکاران در سال ۲۰۱۲ در چین، از تعداد ۲۶۰ سگ مبتلا به پیودرما، شیوع باکتری *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس* مقاوم به متی‌سیلین را ۱۲/۷ درصد گزارش کردند.

اختلاف در درصد و میزان مقاومت یا حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، ممکن است ناشی از اختلاف در منابع نمونه‌گیری (زخم، اوتیت، پیودرم، سواب ناحیه‌ی بینی، پرینه، پوست) و فشار انتخابی متفاوت، ناشی از استفاده‌ی آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در نواحی مختلف باشد. Ruscher و همکاران در سال ۲۰۰۹ در آلمان فراوانی *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس*‌های مقاوم به متی‌سیلین را در در سگ ۳۰ درصد گزارش نمودند. Penna و همکاران در سال ۲۰۱۰ در برزیل، شیوع ۶/۸ درصد *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس* مقاوم به متی‌سیلین را گزارش گردند. Feng و همکاران در مطالعات خود در سال ۲۰۱۲ در چین، شیوع *استافیلوکوکوس سودانیترمدیوس‌های* مقاوم به متی‌سیلین را ۴۷/۹ درصد گزارش کردند. حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) در بین جدایه‌های این تحقیق ۴۱/۷۹ درصد بود که تطابق نسبی با نتایج Feng و همکاران، Ruscher و همکاران و Morris و همکاران دارد. از نتایج این پژوهش‌ها و مطالعات محققان دیگر، چنین به نظر می‌رسد که شیوع نسبتاً بالای مقاومت به متی‌سیلین ممکن است ناشی از مصرف بیش از حد، نامنظم و وسیع آنتی‌بیوتیک‌ها و فشار انتخابی این آنتی‌بیوتیک‌ها در شیوع

www.SID.ir

Archive of SID

سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین باشد؛ به خصوص آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام نظیر آمپی‌سیلین، آموکسی-سیلین، آموکسی‌سیلین/کلاوولینیک‌اسید و سفالوپورین‌ها که به عنوان القاکنندگان بیان PBP2α (محصول ژن *mecA* و مسئول مقاومت به متی‌سیلین در باکتری استافیلوکوکوس) می‌باشند (Chambers et al. 1997).

در این تحقیق، در بین جدایه‌هایی که واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) بودند، بیش‌ترین مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین (۹۲/۸۵ درصد)، پنی‌سیلین (۵۷/۱۴ درصد) و کلوگزاسیلین (۴۲/۵۸ درصد) بود. در بین جدایه‌های فاقد ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) نیز بیش‌ترین مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین (۸۴/۶۱ درصد)، پنی‌سیلین (۴۸/۷۱ درصد) و تتراسیکلین (۲۳/۰۷ درصد) بود. علاوه بر آن، ۳۵/۷۱ درصد جدایه‌های واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین (۱۰ جدایه از ۲۸ جدایه) در روش دیسک دیفیوژن نسبت به اگزاسیلین حساس و ۲۰/۵۱ درصد جدایه‌های فاقد ژن مقاومت به متی‌سیلین (۸ جدایه از ۳۹ جدایه) نسبت به اگزاسیلین، مقاوم بودند. حساسیت جدایه‌های واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین نسبت به اگزاسیلین به دلیل هتروژن بودن این جدایه‌ها می‌باشد؛ یعنی با وجود این که باکتری ممکن است از لحاظ ژنوتیپی، اطلاعات ژنتیکی لازم برای مقاومت نسبت به متی‌سیلین را داشته باشد، ولی از لحاظ فنوتیپ تعدادی از باکتری‌ها در شرایط محیطی یا آزمایشگاهی می‌توانند به طور واقعی، ژن مقاومت به متی‌سیلین را بیان کنند. امروزه در بیش‌تر آزمایشگاه‌های تشخیصی از روش‌های فنوتیپی، به خصوص روش دیسک دیفیوژن برای شناسایی استافیلوکوکوس‌های مقاوم به متی‌سیلین استفاده می‌شود که عوامل مختلفی نظیر عوامل محیطی مؤثر در رشد باکتری از جمله pH، درجه‌ی حرارت انکوباسیون، اسمولاریتی محیط و غلظت املاح به ویژه نمک در محیط، ممکن است در نتایج حاصل، تأثیرگذار باشد. با وجود این که CLSI برای استاندارد کردن روش‌ها و کاهش آثار جانبی این عوامل، دستورالعمل‌هایی تهیه و ارائه کرده است ولی با این حال، درصدی از سویه‌ها هتروژن هستند و با این روش‌ها شناسایی نمی‌شوند و به طور کاذب، حساس گزارش می‌گردند؛ در صورتی که، بالقوه مقاومت بالایی نسبت به متی‌سیلین دارند که در درمان‌های ناموفق عفونت‌های ناشی از سویه‌های هتروژن مقاوم به متی‌سیلین یا اگزاسیلین یا آنتی‌بیوتیک‌های دیگر به اثبات رسیده است (میرصالحیان و همکاران ۱۳۸۲). در این تحقیق، تعداد ۸ جدایه از لحاظ ژنوتیپ فاقد ژن مقاومت به متی‌سیلین بودند؛ در حالی که به صورت فنوتیپی در روش دیسک دیفیوژن نسبت به اگزاسیلین مقاوم بودند. دلیل این امر نیز احتمالاً به دلیل تولید مقادیر فراوان آنزیم بتالاکتاماز توسط این سویه‌ها باشد. Kolbert و همکاران در سال ۱۹۹۵ موارد مشابهی را مشاهده کردند که استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز منفی، علی‌رغم نداشتن ژن *mecA* به متی‌سیلین مقاوم بودند.

نتایج مطالعه‌ی حاضر، نشان داد که مناسب‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر بر استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت مقاوم به متی‌سیلین، ونکومایسین، کلرامفنیکل، ریفامپین و نیتروفورانتوئین هستند. در عین حال، با توجه به این که برخی از این آنتی‌بیوتیک‌ها نظیر کلرامفنیکل در حال حاضر، مورد استفاده‌ی بالینی ندارند و یا این که برخی از آن‌ها گران قیمت و یا در دسترس نیستند، لذا استفاده از آنتی‌بیوتیک‌هایی توصیه می‌شود که ضمن داشتن قیمت مناسب، نداشتن عوارض جانبی و توانایی ایجاد مقاومت باکتریایی، دسترسی به آن‌ها نیز مقدور باشد؛ بنابراین، استفاده از ونکومایسین نسبت به مابقی آنتی‌بیوتیک به خصوص در درمان استافیلوکوکوس‌های مقاوم به متی‌سیلین کاربردی‌تر است. ضمن این که با توجه به میزان بالای مقاومت نسبت به برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها نظیر پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین، مصرف این آنتی‌بیوتیک‌ها در عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس باید با احتیاط و حتماً متعاقب آزمایش سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی صورت گیرد. امید است نتایج مطالعه‌ی حاضر، راهنمایی برای انتخاب مناسب نوع آنتی‌بیوتیک

www.SID.ir

Archive of SID

برای درمان مؤثر عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت، به ویژه *استافیلوکوکوس سودابنترمدیوس* در سگ و جلوگیری از بروز و انتقال بیش‌تر مقاومت‌های دارویی در این باکتری باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله، مراتب تشکر و قدردانی خود را از حوزه‌ی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز، در تأمین هزینه‌ی پژوهشی در قالب پژوهانه ابراز می‌دارند.

منابع

میرصالحیان، اکبر؛ جبل‌عاملی، فرشته؛ کاظمی، بهرام و علی‌زاده، صفرعلی (۱۳۸۲). مقایسه روش تعیین حساسیت دیسک دیفیوژن و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای شناسایی استافیلوکوکوس‌های مقاوم به متی-سیلین، مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران. دوره ۶۱، شماره ۶، صفحات: ۴۲۵-۴۲۰.

Baptiste, K.E.; Williams, K.; Williams, N.J.; Wattret, A.; Clegg, P.D.; Dawson, S. et al. (2005).Methicillin-resistant staphylococci in companion animals. Emerging Infectious Disease journal. 11, 1942–1944.

Bryan, M.; Finola, L.; Marie Ann, C. and Doris, M. (2013). *Clinical veterinary microbiology*. 2nd ed. London, Mosby Elsevier pp: 105-120.

Chambers, H.F. (1997). Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical Basis and clinical implications. Clinical Microbiology Reviews, 10(4):781-791.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2013). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard VET01-A4—4th ed. CLSI, Wayne, PA.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI): (2008), Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals, approved standard M31-A3, vol. 28, no. 8.CLSI, Wayne, PA.

Davis, M.F.; Iverson, S.A.; Baron, P.; Vasse, A.; Silbergeld, E.K.; Lautenbach, E. and Morris, D.O. (2012). Household transmission of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other staphylococci. Lancet Infectious Disease. 12(9):703-716.

Feng, Y.; Tian, W.; Lin, D.; Luo, Q.; Zhou, Y.; Yang, T. et al. (2012). Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in pets from South China. Veterinary Microbiology, 160 (3-4): 517-524.

Frank, L.A.; Kania, S.A.; Kirzeder, E.M.; Eberlein, L.C. and Bemis, D.A. (2009). Risk of colonization or gene transfer to owners of dogs with meticillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. Veterinary Dermatology. 20 (5-6): 496-501.

Griffeth, G.C.; Morris, D.O.; Abraham, J.L.; Shofer, F.S. and Rankin, S.C. (2008). Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. Veterinary Dermatology, 19, 142-149.

Hanselman, B.A.; Kruth, S.; and Weese, J.S. (2007). Methicillin-resistant staphylococcal colonization in dogs entering a veterinary teaching hospital. Veterinary Microbiology, 126 (1-3): 277-281.

Hanselman, B.A.; Kruth, S.A.; Rousseau, J. and Weese, J.S. (2009). Coagulase positive staphylococcal colonization of humans and their household pets. Canadian Veterinary Journal, 50, 954-958.

Kolbert, CP.; Connolly, J.E.; Lee, M.J. and Persing, D.H. (1995). Detection of staphylococcal *mecA* gene by chemiluminescent DNA hybridization. Journal of Clinical Microbiology, 33(8): 2179-82.

Loeffler, A.; Boag, A.K.; Sung, J.; Lindsay, J.A.; Guardabassi, L.; Dalsgaard, A. et al. (2005). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 56: 692-697.

www.SID.ir

Archive of SID

Merlino, J.; Watson, J.; Rose, B.; Beard-Pegler, M.; Gottlieb, T.; Bradbury, R. et al. (2002). Detection and expression of methicillin/oxacillin resistance in multidrug-resistant and non-multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in Central Sydney, Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 49: 793-801.

Moodley, A.; Stegger, M.; Ben Zakour, N.L.; Fitzgerald, J.R. and Guardabassi, L. (2009). Tandem repeat sequence analysis of staphylococcal protein A (*spa*) gene in methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. Veterinary Microbiology, 135: 320-326.

Morris, D.; Rook, K.; Shofer, F. and Rankin, S. (2006). Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003-04). Veterinary Dermatology, 17: 332-337.

Penna, B.; Varges, R.; Medeiros, L.; Martins, G.M.; Martins, R.R. and Lilenbaum, W. (2010). Species distribution and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from canine otitis externa Veterinary Dermatology, 21: 292-296.

Ruscher, C.; Lübke-Becker, A.; Wleklinski, C.G.; Soba, A.; Wieler, L.H. and Walther, B. (2009). Prevalence of Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from clinical samples of companion animals and equidaes. Veterinary Microbiology. 136: 197-201.

Sasaki, T.; Kikuchi, K.; Tanaka, Y.; Takahashi, N.; Kamata, S. and Hiramatsu, K. (2007). Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in a veterinary teaching hospital. Journal of Clinical Microbiology, 45: 1118-1125.

Sasaki, T.; Tsubakishita, S.; Tanaka, Y.; Sakusabe, A.; Ohtsuka, M.; Hirotaki, S. et al. (2010). Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. Journal of Clinical Microbiology, 48, 765-769.

Wang, Y.; Yang, J.; Logue, C.M.; Lio, K.; Cao, X.; Zhang, W. et al. (2012). Methicilin resistant *staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine pyoderma in north china. Journal Applied Microbiology, 112(4): 623-630.

Weese, J.S.; Dick, H.; Willey, B.M.; McGeer, A.; Kreiswirth, B.N.; Innis, B. and Low, D.E. (2006). Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. Veterinary Microbiology, 115 (1-3): 148-55.

Woodford, N. (2005). Biological counterstrike: Antibiotic resistance mechanisms of Gram-positive cocci. Clinical Microbiology and Infection. 11: supplement s3: 2-21.

www.SID.ir

Archive of SID

Vol. 11, No. 3, Autumn, 2015

Methicillin resistance in staphylococci isolates from dogs and their antibiotic susceptibility pattern

Gharibi, D.[1]; Mosallanejad, B.[2] and Hashemi, S.M.[3]

Received: 28.07.2014 Accepted: 03.01.2015

Abstract

In this study, the presence of methicillin-resistant gene (*mecA*) and antibiotic resistance pattern were investigated in coagulase positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius*) isolated from referred dogs to Veterinary Hospital of Ahvaz. Nasal swabs were collected from 143 dogs referred to Veterinary Hospital of Ahvaz and were cultured in mannitol salt agar (MSA) and blood agar. Coagulase-positive staphylococci were identified by routine identification methods. From 67 coagulase-positive staphylococci (13 isolates *Staphylococcus aureus* and 54 isolates *Staphylococcus pseudintermedius*) and by using specific primers for the methicillin-resistant gene (*mecA*), 28 (41.79%) isolates possessed the *mecA* gene. The presence of this gene was showed in 7 *Staphylococcus aureus* (25%) and 21 *Staphylococcus pseudintermedius* (75%) isolates. Among isolates carrying methicillin resistance gene (*mecA*), maximum resistance was to ampicillin (92.85%) and then to penicillin (57.14%), cloxacillin (42.58%), oxacillin (35.71%), tetracycline (32.14%), ceftazidime (25%), erythromycin and azithromycin (21.42%), gentamicin and Ceftizoxime (14.28%), methicilline, norfloxacin, meropenem, and cotrimoxazole (10.71%). No resistance was observed to vancomycin, chloramphenicol, rifampin, and nitrofurantoin in these isolates. Among isolates without methicillin resistance gene (*mecA*), highest resistance was to ampicillin (84.61%) and then to penicillin (48.71%), tetracycline (23.07%), oxacillin (20.51%), gentamicin (7.69%), chloramphenicol, erythromycin, azithromycin, cotrimoxazole (5.12%) and ceftazidime (2.54%) respectively. No resistance was observed to oxacillin, meropenem, vancomycin, ceftizoxime, rifampin, methicilline and nitrofurantoin. Identification and monitoring of methicillin-resistant staphylococci and determination of their antibiotic susceptibility pattern are essential for successful treatment and preventing the spread of antibiotic-resistant strains. These studies have also led to awareness and promote effective practices to prevent the spread of resistant strains.

Key words: *Staphylococcus*, Methicillin resistant, Susceptibility test, Dog

1- Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
2- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
3- DVM Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Gharibi, D., E-mail: d.gharibi@scu.ac.ir

www.SID.ir