Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Food Processing and Preservation Journal

Print ISSN: 2423-3544
Online ISSN: 2423-3803

Iranian Association of Food Scientists and Technologists

Study of the frequency of enterotoxin-coding genes and antibiotic resistance patterns of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates isolated from meat and offal of broiler chickens supplied in Shahrekord

Seyedeh Mozhgan Mousavi Bideli [1], Ebrahim Rahimi [2*], Seyed Majid Hashemi [3], Noosha Zia Jahromi[4]

[1] Ph.D. student in food hygiene, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
[2] Professor, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran, Email : ebrahimrahimi55@yahoo.com
[3] Assistant Professor, Nutrition and Organic Products Research Center, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Biology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2024-11-02
Revised: 2024-12-08
Accepted: 2025-01-11

Keywords:
Staphylococcus aureus
Methicillin resistance
Chicken meat
Food safety

ABSTRACT

Background and Objective: Staphylococcus aureus is a Gram-positive bacterium that is present in approximately one-third of the general population and causes staphylococcal food poisoning (SFP) associated with vomiting, toxic shock syndrome, pneumonia, and sepsis. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is responsible for several serious infections and staphylococcal food poisoning (SFP). The emergence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus associated with food-producing livestock and poultry has received increasing attention, raising concerns about the presence of MRSA in foods of animal origin and potential sources of transmission to humans through the food chain. In this regard, the aim of the present study was to investigate the prevalence and enterotoxigenic characteristics of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in meat and offal of broilers supplied in Shahrekord using Multiplex PCR.

Materials and Methods: 150 samples of chicken meat and offal were selected as the sample size, which included 75 meat samples (breast and thigh) and 75 edible offal samples (liver, gizzard and heart). The samples were collected over three months and transferred to the Food Hygiene Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine, Azad University, in compliance with hygiene principles under sterile conditions to avoid re-contamination in the vicinity of an ice flask. To isolate Staphylococcus aureus from Baird Parker Agar medium by surface culture method, to detect methicillin-positive Staphylococcus aureus (MRSA) by measuring positive Staphylococcus aureus samples resistant to antibiotics cefoxitin and oxacillin in Mueller-Hinton agar medium, to detect genes (sea, seb, sec and sed) by Multiplex PCR method and to evaluate antibiotic resistance of genes by Diffusion-Disk method were used.

Results: The results showed that out of a total of 170 meat and offal

samples sampled in Shahrekord city, 93 samples (54.70%) were contaminated with Staphylococcus aureus, of which 43 samples from meat and 50 samples from offal were contaminated with Staphylococcus aureus. The results also showed that out of 93 Staphylococcus aureus samples, 35 samples (20.58%) were resistant to methicillin. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates showed that the highest and lowest frequencies of the carrier gene were related to sea (54.28%), seb (22.85%), sec (11.42%) and sed (5.74%). Also, the highest resistance against methicillin-resistant Staphylococcus aureus was related to penicillin (94.2%) and erythromycin (85.7%) and the lowest resistance was related to imipenem (2.85%).

Conclusion: Given the sensitivity of Staphylococcus aureus to cooking temperatures, it is recommended to heat foods to eliminate or minimize the risk of poisoning and reduce the use of antibiotics in case of poisoning.

Cite this article: Mousavi Bideli S.M., Rahimi E., Hashemi S.M., Zia Jahromi N. 2025. Study of the frequency of enterotoxin-coding genes and antibiotic resistance patterns of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates isolated from meat and offal of broiler chickens supplied in Shahrekord. *Food Processing and Preservation Journal*, 16(4), 103-102.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/fppj.2025.22936.1845
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

فرآوری و نگهداری مواد غذایی
شاپا چاپی: ۳۵۴۴-۲۴۲۳
شاپا الکترونیکی: ۳۸۰۳-۲۴۲۳

بررسی فراوانی ژن‌های کد کننده انتروتوکسین و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جدا شده در گوشت و احشاء خوراکی جوجه‌های گوشتی عرضه‌شده در شهرکرد

سیده‌مژگان موسوی بیدلی[۱]، ابراهیم رحیمی[۲*]، سیدمجید هاشمی[۳]، نوشا ضیاء جهرمی[۴]

[۱] دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران،
[۲] استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران رایانامه: ebrahimrahimi55@yahoo.com
[۳] استادیار، مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
[۴] استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۲
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۲

واژه‌های کلیدی:
استافیلوکوکوس اورئوس
مقاومت به متی‌سیلین
گوشت مرغ
ایمنی غذایی

چکیده

سابقه و هدف: *استافیلوکوکوس اورئوس* باکتری گرم مثبت است که سبب مسمومیت غذایی استافیلوکوک (SFP) مرتبط با فعالیت استفراغ و اسهال می‌شود. *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین (MRSA) مسئول چندین عفونت خطرناک و مسمومیت غذایی استافیلوکوک (SFP) است. ظهور *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین مرتبط با دام و طیور تولیدکننده مواد غذایی مورد توجه فزاینده‌ای قرار گرفته است و ابهاماتی را در مورد وجود MRSA در مواد غذایی با منشأ حیوانی و منابع بالقوه انتقال به انسان از طریق زنجیره غذایی ایجاد می‌کند. در همین راستا هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع و خصوصیات انتروتوکسیژنیک *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین در گوشت و احشاء خوراکی جوجه‌های گوشتی عرضه‌شده در شهرکرد به روش Multiplex PCR بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۷۰ نمونه از گوشت و احشاء خوراکی جوجه‌های گوشتی به‌عنوان حجم نمونه انتخاب شد که شامل ۸۰ نمونه گوشت (سینه و ران) و ۹۰ نمونه احشاء خوراکی (کبد، سنگدان و قلب) بودند. نمونه‌ها در سه ماه جمع‌آوری و با رعایت اصول بهداشتی در شرایط سترون جهت عدم آلودگی مجدد در مجاورت فلاسک یخ، به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد انتقال داده شدند. برای جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس* از محیط برد پارکر آگار (Baird Parker Agar) به روش کشت سطحی، جهت تشخیص متی‌سیلین مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* (MRSA) از سنجش نمونه‌های مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های سفوکسیتین و اگزاسیلین در محیط کشت مولر هینتون آگار (Mueller-Hinton agar)، جهت تشخیص ژن‌های (sea، seb، sec و sed) از روش Multiplex PCR و جهت ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ژن‌ها از روش Diffusion-Disk استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد از مجموع ۱۷۰ نمونه گوشت و احشاء نمونه‌گیری شده در شهرستان شهرکرد ۹۳ نمونه (۵۴/۷۰ درصد) به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلودگی داشتند که ۴۳ نمونه از گوشت و ۵۰ نمونه از احشاء به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلودگی داشتند. همچنین نتایج نشان داد که از ۹۳ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۳۵ نمونه (۳۷/۶۳ درصد) به متی‌سلین مقاوم بودند. جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین نشان داد که بیشترین و کمترین فراوانی ژن حامل مربوط به sea (۵۴/۲۸ درصد)، seb (۲۲/۸۵ درصد)، sec (۱۱/۴۲ درصد) و sed (۵/۷۴ درصد) بود. همچنین بیشترین مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* مربوط به پنی‌سیلین (۹۴/۲ درصد) و اریترومایسین (۸۵/۷ درصد) و کمترین مقاومت مربوط به امی‌پنم (۲/۸۵ درصد) بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد بین نمونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین ارتباط معنی‌داری وجود ندارد.

نتیجه‌گیری: با توجه به حساسیت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به دماهای پخت، توصیه می‌شود مواد غذایی را حرارت داده تا ریسک مسمومیت‌زائی از بین رفته یا به حداقل برسد و در صورت مسمومیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها کاهش یابد.

استناد: موسوی بیدلی، سیده‌مژگان؛ ابراهیم رحیمی، هاشمی، سیدمجید؛ ضیاء جهرمی، نوشا. (۱۴۰۳). بررسی فراوانی ژن‌های کد کننده انتروتوکسین و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جدا شده در گوشت و احشاء خوراکی جوجه‌های گوشتی عرضه‌شده در شهرکرد. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۶ (۴)، ۱۰۲-۱۰۳.

DOI: 10.22069/fppj.2025.22936.1845

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

از دهه ۱۹۶۰، انتخاب ژنتیکی، تغذیه‌ی بهبودیافته و افزایش محبوبیت در بین مصرف‌کنندگان، منجر به رشد قابل توجهی در تولید گوشت مرغ در سراسر جهان شده است. نرخ رشد سریع و ضریب تبدیل غذایی پایین جوجه‌های گوشتی در مقایسه با سایر صنایع دام، به‌عنوان مثال، تولید گاو گوشتی، هزینه تولید و منابع نسبتاً پایینی را به همراه دارد (۱).

در میان انواع گوشت‌های خوراکی، گوشت مرغ به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد خود از اولویت خاصی نزد مصرف‌کنندگان برخوردار است. گوشت مرغ علاوه بر ارزش غذایی عالی، منبع پروتئین سالم‌تری است که در مقایسه با سایر گوشت‌ها، محتوای چربی و کلسترول کم‌تری دارد. گوشت مرغ در مراحل آماده‌سازی و فرآوری به‌احتمال زیاد با عوامل بیماری‌زای مختلفی آلوده می‌شود. این آلودگی میکروبی نشان‌دهنده یک موضوع بهداشت عمومی است که به‌طور قابل توجهی بر مراقبت‌های بهداشتی و همچنین هزینه تولید محصول تأثیر می‌گذارد که منجر به زیان اقتصادی بالایی برای صنایع و پرسنل مرتبط می‌شود (۲). با توجه به ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های بیولوژیکی ذکر شده، گوشت مرغ جزء مواد غذایی فاسدشدنی است که دارای مواد مغذی برای رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا است و باعث مسمومیت و عفونت در انسان و در نتیجه فساد گوشت و ضررهای اقتصادی می‌شوند (۳). از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های فسادزا که سبب بیماری‌های ناشی از غذا می‌شوند می‌توان به *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلای*، *سالمونلا*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *کمپیلوباکتر* اشاره کرد (۴).

مهم‌ترین میکروارگانیسم گرم مثبت، که به دلیل عفونت‌های اکتسابی در بیمارستان و جامعه و همچنین مسمومیت‌های غذایی مورد توجه قرار گرفته است *استافیلوکوکوس اورئوس* است. *استافیلوکوکوس اورئوس* از باکتری‌های مزوفیل بوده که در حداقل فعالیت آبی ۰/۸۶، pH محدوده ۴/۸ تا ۸/۱، بازه دمایی ۱۰ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد رشد می‌کند. زیستگاه این باکتری همه‌جایی است و عمدتاً در مخاط دهان و بینی، آب‌وخاک می‌باشد. توانایی توکسین‌های مقاوم به حرارت از ویژگی‌های بارز این باکتری بوده؛ به‌گونه‌ای که توکسین‌های حاصل از *استافیلوکوکوس اورئوس* توانایی تحمل دمای ۱۰۰ درجه به مدت ۲۰ دقیقه را دارند. این باکتری رقابت‌کننده ضعیفی در مقایسه با سایر میکروارگانیسم‌ها می‌باشد و در حضور سایر باکتری‌های دیگر، توانایی رشد خود را ازدست‌داده؛ اما وجود نشاسته و پروتئین رشد این باکتری را تشویق می‌کنند (۵).

انتروتوکسین‌های استافیلوکوکوس در ماده غذایی از طریق سویه های کواگولاز مثبت جنس استافیلوکوکوس ترشح می‌شوند. آن‌هاخانواده‌ای از نه نوع انتروتوکسین‌های پایدار در برابر حرارت هستند. sea شایع‌ترین نوع در سویه‌های بالینی و غذایی *استافیلوکوکوس اورئوس* است و مشوق اکثر مطالعات بوده است. ژن‌های sea و see توسط باکتریوفاژهای معتدل حمل می‌شوند. دراین‌بین seb و sec روی کروموزوم‌ها قرارمی‌گیرند و sed و sej توسط پلاسمیدها حمل می‌شوند. استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA)، دارای ژن مقاومت به متی‌سیلین (mec-A) است که این ژن دارای پروتئینی به‌نام PBP2a (پروتئین‌های باندشونده به پنی‌سیلین) را رونویسی می‌کند که میل ترکیبی آن در اتصال به متی-سیلین کمتر از دیگر پروتئین‌های اتصال شده به پنی‌سیلین در دیواره باکتر است؛ بنابراین در باکتری‌هایی که فاقد ژن mecA هستند، متی‌سیلین با میل ترکیبی بیشتری به پروتئینی PBP در دیواره سلول متصل می‌شود که سبب لیز دیواره سلول باکتری و مرگ آن

می‌شود. لذا سویه‌هایی که دارای این ژن می‌باشند، به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های دیگر هم مقاومت نشان می‌دهند و این موضوع، درمان بیماری‌های ناشی از این میکروارگانیسم را با مشکلات مواجه می‌کند که سبب گستردگی انتشار آن در محیط و جامعه می‌شود (۶). با توجه به مخاطرات ذکر شده در خصوص بیماری‌های ناشی از مواد غذایی همچنین شیوع بالای مسمومیت‌های ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس*، میزان بالای مصرف مرغ در ایران و سراسر جهان، ظهور مقاومت آنتی‌بیوتیکی پایش گوشت مرغ و آلایش‌های خوراکی آن بسیار حائز اهمیت است؛ بنابراین هدف از مطالعه حاضر، بررسی شیوع و خصوصیات انتروتوکسیژنیک *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین در گوشت و احشاء خوراکی جوجه‌های گوشتی عرضه‌شده در شهرکرد بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: تعداد ۱۷۰ نمونه شامل ۸۰ نمونه گوشت (ران و سینه هر کدام ۴۰ نمونه) و ۹۰ نمونه احشاء خوراکی (قلب، کبد و سنگدان هر کدام ۳۰ نمونه) از مراکز عرضه محصولات در شهرستان شهرکرد، استان چهارمحال و بختیاری به‌صورت تصادفی از فروردین تا خرداد ۱۴۰۳، نمونه‌برداری و در سریع‌ترین زمان ممکن در شرایط سترون به آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، جهت انجام آزمایش‌ها انتقال داده شد.

روش جستجوی استافیلوکوکوس اورئوس: برای جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس ۵ گرم از نمونه‌های مورد آزمایش به درون ظرف توزین استریل منتقل و سپس توسط دستگاه استومایکر کاملاً یکنواخت شد سپس میزان ۴۵ سی‌سی محلول رینگر به‌عنوان حلال به آن افزوده شد تا رقت 10^{-1} به دست آید. پس از حل کردن مخلوط کردن و یکدست شدن و ایجاد یک محلول همگن، میزان ۰/۱سی‌سی از آن به‌وسیله سمپلر روی محیط برد پارکر آگار (Agar Parker -Baird) به روش کشت سطحی کشت داده شد. پلیت‌های کشت داده شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرما گذاری شدند. بعد از پایان گرما گذاری در صورت رشد، باکتری‌های با کلنی‌های گرد و سیاه‌رنگ، دارای هاله زرد یا شفاف اطراف کلنی (به‌دلیل استفاده از زرده تخم‌مرغ و فعالیت لسیتیناز)، جهت انجام آزمایش‌های تأییدی، از کلونی‌های مشکوک به‌وسیله لوپ استریل روی محیط مانیتول سالت آگار (Salt Manitol Agar) کشت داده و محیط‌ها مجدداً به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرارگرفته و روی کلنی‌های مانیتول مثبت، تست‌های بیوشیمیایی تکمیلی انجام شد (۷).

شناسایی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین: برای این منظور تمامی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌ها از نظر مقاومت نسبت به دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفوکسیتین (۳۰ میکروگرم) و اگزاسیلین (۱ میکروگرم) در محیط کشت مولر هینتون آگار ارزیابی شدند و ایزوله‌هایی که به‌صورت همزمان نسبت به هر دو آنتی‌بیوتیک مقاومت داشتند، به‌عنوان ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در نظر گرفته شدند (۸).

انجام واکنش PCR: برای استخراج DNA، باکتری‌های رشد کرده در طول ۲۴ ساعت در محیط آب پپتونه که در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شده بودند، به وسیله کیت استخراج DNA شرکت سیناژن ایران و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده استخراج و تا زمان انجام PCR در فریزر منفی ۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس برای انجام واکنش PCR از جفت پرایمرهای طراحی‌شده بر

اساس ردیف نوکلئوتیدی ژن SrRNA16 باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، استفاده شد. پرایمرهای رفت‌وبرگشت مورد استفاده در این مطالعه از سایت NCBI با کد دسترسی MN982872 تهیه شدند. توالی پرایمرها به شرح زیر می‌باشد: F:5′-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC-3′ و R:5′-AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC-3′.

جهت تشخیص ژن S ۱۶rRNA از دستگاه Master cycler gradient (Mastersycler, Germany) استفاده شد. حجم کلی واکنشPCR، ۳۰ میکرولیتر و شامل ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر F و R، ۱۵ میکرولیتر مسترمیکس (سیناکلون، ایران) ۲ میکرولیتر DNA الگو و ۱۲ میکرولیتر آب فوق خالص عاری از نوکلئاز (یکتا تجهیز آزما، ایران) بود. برنامه‌ی حرارتی مورد استفاده شامل: یک سیکل ۹۵ درجه سلسیوس ۳ دقیقه برای واسرشت شدن DNA الگو، ۳۵ سیکل دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سلسیوس ۱ دقیقه (دناتوراسیون)، ۵۳ درجه سلسیوس ۱ دقیقه (اتصال پرایمر)، ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه (طویل سازی) و در نهایت یک سیکل ۷۲ درجه سلسیوس ۸ دقیقه به‌منظور طویل سازی نهایی بود. سپس تمام نمونه‌هایی که از نظر حضور ژن16SrRNA مثبت بودند، با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلی مراز چندتایی (PCR Multiplex) برای ردیابی توکسین‌های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ارزیابی شدند. واکنش PCR چندتایی (مولتی پلکس) جهت ردیابی ژن‌های کد کننده توکسین‌ها در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر بافر PCR 10X، ۰/۵ میکرولیتر MgCl2 با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار، ۱۰ میکرولیتر dNTP با غلظت ۱۰ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر F و R با غلظت ۱۰۰ نانومولار، ۵ میکرولیتر از DNA الگو و ۱/۲۵ واحد آنزیم Polymerase Taq DNA معادل ۱ میکرولیتر انجام شد. برنامه‌ی حرارتی مورد استفاده شامل: یک سیکل ۹۵ درجه سلسیوس ۵ دقیقه (دناتوراسیون اولیه)، سپس ۳۰ سیکل دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سلسیوس ۱ دقیقه (دناتوراسیون)، ۵۰ درجه سلسیوس ۱ دقیقه (اتصال پرایمر)، ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه (طویل‌سازی) و یک سیکل نهایی ۷۲ درجه سلسیوس ۵ دقیقه (طویل‌سازی‌نهایی) بود. به‌منظور تأیید وجود قطعات تکثیر یافته از ژل آگارز ۱ درصد با رنگ‌آمیزی Safe stain استفاده شد. در تمام واکنش‌های PCR، از آب مقطر فاقد DNA به‌عنوان کنترل منفی و از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 10357 و همچنین نمونه‌های DNA مثبت از نظر ژن‌های کد کننده انتروتوکسین‌ها عنوان کنترل مثبت، استفاده شد (۹). جدول (۱)

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی ژن‌های هدف *استافیلوکوکوس اورئوس* در واکنش PCR

Table 1. Sequence of primers used to identify target genes of Staphylococcus aureus in PCR reaction

ژن هدف	توالی پرایمر	اندازه محصول (Pb)	منبع
sea	ACGATCAATTTTTACAGC TGCATGTTTTCAGAGTTAATC	102	(۹)
seb	GAATGATATTAATTCGCATC TCTTTGTCGTAAGATAAACTTC	164	
sec	GACATAAAAGCTAGGAATTT AAATCGGATTAACATTATCCA	451	
sed	TTACTAGTTTGGTAATATCTCCTT CCACCATAACAATTAATGC	278	

سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی: تست‌آنتی‌بیوگرام به روش diffusion_Disk انجام گرفت. بعد از تهیه سوسپانسیون میکروبی مطابق با محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند، در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و پس‌ازآن دیسک‌های آنتی‌بیوگرام، شامل: کوتریماکسازول (CTX)، اریترومایسین (ER)، پنی‌سیلین (PEN)، جنتامایسین (GM)، امی‌پنم - (IMP)، سفالکسین (CEP)، سیپروفلوکساسین (CIP)، سفتریاکسون (CRO) و کلیندامایسین (CM) روی محیط کشت قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، با تعیین قطر هاله‌های عدم رشد، میزان وضعیت مقاومت، نیم‌حساس و حساس بودن جدا یه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها اندازه‌گیری شد (۱۰).

آنالیز آماری: در مطالعه حاضر برای بررسی داده‌ها، از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ استفاده شد. روش آماری تجزیه‌وتحلیل داده‌ها، آزمون مربع‌کای و تست دقیق فیشر بود. در این مطالعه روابط آماری بین نوع ماده غذایی و ارتباط معنی‌دار بودن یا نبودن مقایسه شد. سطح معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در نظر گرفته شد. جهت ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها از آزمون آماری نانپارامتریک فریدمن استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد از مجموع ۱۷۰ نمونه گوشت و احشاء نمونه‌گیری شده در شهرستان شهرکرد ۹۳ نمونه (۵۴/۷۰ درصد) به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلودگی داشتند که ۴۳ نمونه از گوشت (۲۷ نمونه ران (۱۵/۸۸ درصد) و ۱۶ نمونه سینه (۹/۴۱ درصد) و ۵۰ نمونه از احشاء (۱۳ نمونه قلب (۷/۶۴ درصد)، ۱۹ نمونه سنگدان (۱۱/۱۷ درصد) و ۱۸ نمونه جگر (۱۰/۵۸ درصد) به استافیلوکوکوس اورئوس آلودگی داشتند. همچنین نتایج نشان داد که از ۹۳ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۳۵ نمونه (۲۰/۵۸ درصد) به متی‌سلین مقاوم بودند که شامل ۱۹ نمونه از گوشت ران و سینه مرغ و ۱۸ نمونه مربوط به احشاء بود.

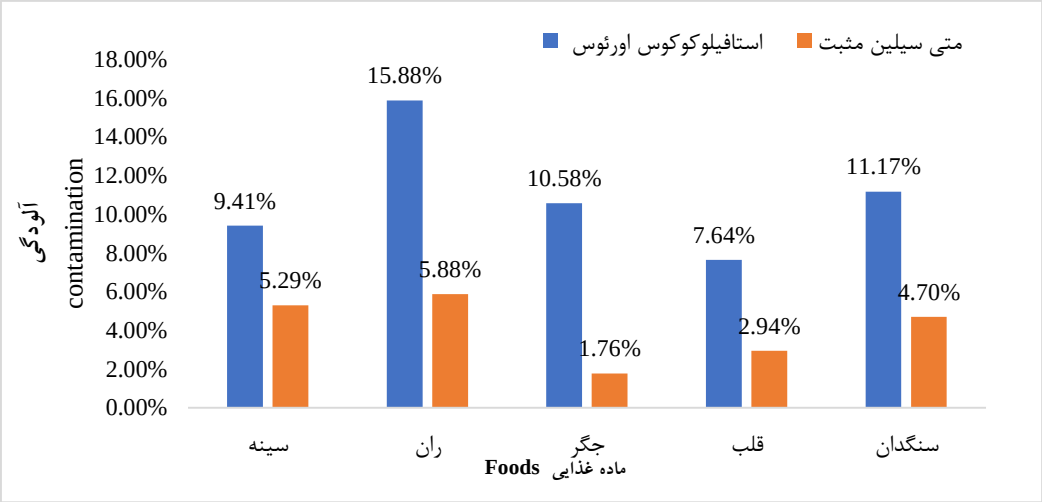
جدول ۲- وضعیت آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین در نمونه‌ها

Table 2. Methicillin-resistant *staphylococcus aureus* infection status in the samples

نوع ماده غذایی Type of food	قسمت نمونه‌گیری Sampling part	تعدادنمونه (N)	آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* *Staphylococcus aureus* Contamination	جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین Methicillin resistant isolates
گوشت مرغ Chicken Meat	سینه breast	40	(%9/41) 16^{bc}	(%5/29) 9^{ab}
	ران thigh	40	(%15/88) 27^{a}	(%5/88) 10^{a}
احشاء خوراکی Viscus	جگر liver	30	(%10/58) 18^{bc}	(%1/76) 3^{e}
	قلب Heart	30	(%7/64) 13^{d}	(%2/94) 5^{cd}
	سنگدان gizzard	30	(%11/17) 19^{bc}	(%4/70) 8^{bc}
مجموع		170	(% 54/70) 93	(%20/58) 35

در هر سطر، اعداد برچسب خورده با حروف انگلیسی متفاوت، با Pvalue < ۰/۰۱ با هم تفاوت معنی‌دار آماری دارند.

In each row, numbers labeled with different English letters are statistically significantly different from each other with a Pvalue > 0.01.



شکل ۱- میزان آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* و جدایه‌های استافیلوکوکوس متی‌سیلین مثبت

Figure 1. Infection rates with Staphylococcus aureus and methicillin-positive *Staphylococcus* Strain

مطابق آنالیزهای آماری در جدول ۳، بین آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* و جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین ارتباط معنی‌داری وجود نداشت. مطابق جدول ۴. نتایج جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین نشان داد که بیشترین و کمترین فراوانی ژن حامل مربوط به sea (۵۴/۲۸ درصد)، seb (۲۲/۸۵ درصد)، sec (۱۱/۴۲ درصد) و sed (۵/۷۴ درصد) بود.

جدول ۳- وضعیت ارتباط آماری بین نمونه‌های حاوی استافیلوکوکوس اورئوس و جدایه‌های استافیلوکوکوس متی‌سیلین مثبت

Table 3. Statistical correlation status between samples containing Staphylococcus aureus and methicillin-positive Staphylococcus Strain

جدایه‌های باکتریایی Bacterial isolates	آلودگی (٪) Contamination (%)
استافیلوکوکوس اورئوس *Staphylococcus aureus*	(% 54/70) 93
استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin	(% 20/58) 35
سطح معنی‌داری Significant level	$0/107^{ns}$

ns: تفاوت فصول مختلف معنی‌دار نیست.

ns: the difference between different seasons is not significant.

مطابق نتایج به‌دست‌آمده از مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدول ۵، بیشترین مقاومت علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین مربوط به پنی‌سیلین (۹۴/۲ درصد) و اریترومایسین (۸۵/۷ درصد) و کمترین مقاومت مربوط به امی‌پنم (۲/۸۵ درصد) بود.

جدول۴- فراوانی ژن‌های انتروتوکسین در جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از گوشت مرغ و احشاء

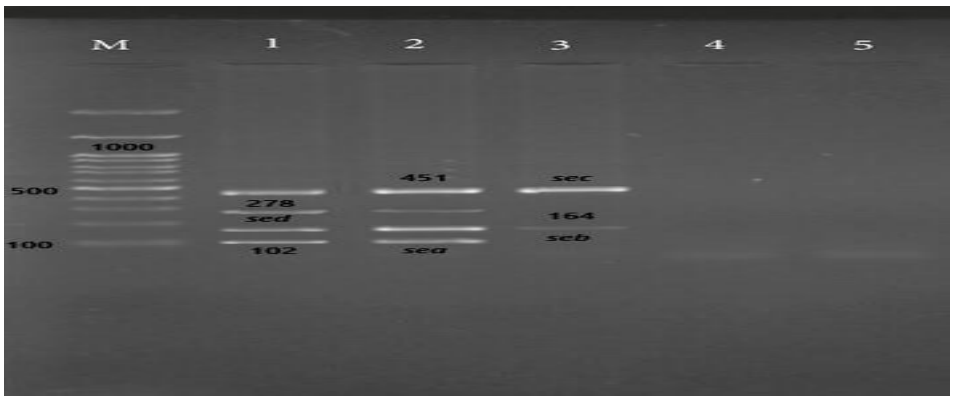
Table 4. Frequency of enterotoxin genes in methicillin-resistant Staphylococcus aureus Strain from chicken meat and viscera.

نمونه‌ها و تعداد جدایه‌های متی‌سیلین مثبت Samples and number of methicillin positive isolates		شیوع ژن‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین Prevalence of Staphylococcus aureus genes resistant to methicillin			
		sea	seb	sec	sed
سینه breast	9	(%44/44) 4	(%22/22) 2	(%11/11) 1	-
ران thigh	10	(%60) 6	(%30) 3	(%10) 1	(%8/33) 1
جگر liver	3	-	(%33/33) 1	-	-
قلب Heart	5	(%40) 2	(%20) 1	-	-
سنگدان gizzard	8	(%87/5) 7	(%12/5) 1	(%25) 2	(%12/5) 1
مجموع total	35	(%54/28) 19	(%22/85) 8	(%11/42) 4	(%5/74) 2

جدول ۵- الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از نمونه‌های گوشت مرغ و احشاء

Table 5. Antibiotic resistance pattern of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains from chicken meat and viscera samples.

آنتی‌بیوتیک Antibiotic	وضعیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین Status of antibiotic resistance in methicillin-resistant isolates		
	حساس Sensitive	نیم‌حساس Semi-sensetive	مقاوم Resistance
کوتریماکسازول (CTX)	7 (20/1%)	15 (42/8%)	13 (37/1%)
اریترومایسین (ER)	0	5 (14/3%)	30 (85/7%)
پنی‌سیلین (PEN)	0	2 (5/8%)	33 (94/2%)
جنتامایسین (GM)	6 (17/3%)	12 (34/2)	17 (48/5%)
امی پنم (IMP)	26 (74/35%)	8 (22/8%)	1 (2/85%)
سفالکسین (CEP)	2 (7/2%)	4 (11/5%)	29 (82/8%)
سیپروفلوکساسین (CIP)	3 (8/6%)	9 (25/7%)	23 (65/7%)
سفتریاکسون (CRO)	8 (22/8%)	8 (22/8)	19 (54/4%)
کلیندامایسین (CM)	3 (8/6%)	8 (22/8%)	24 (68/9%)



شکل ۳- تصویر PCR. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک‌های ۱-۲: نمونه‌های حاوی هر ۴ ژن *sea* (102bp)، *seb* (164bp) *sec* (451bp) و *sed* (278bp) چاهک ۳: ژن‌های *seb* (164bp) و *sec* (451bp)، چاهک ۴: کنترل منفی.

استافیلوکوکوس اورئوس، تأثیر مهمی بر بخش‌های دامپزشکی و پزشکی دارد. در طیور، با چندین اختلال بالینی مانند تنوسینوویت، امفالیت، نکروز سر استخوان ران و مفاصل عفونی در ارتباط است، به‌گونه‌ای که استافیلوکوکوس اورئوس به‌عنوان دومین باکتری مهم مسئول عفونت کیسه زرده شناخته شده است. *استافیلوکوکوس اورئوس* متی‌سیلین مثبت در گوشت، یک تهدید مشترک بین انسان و دام و سلامت عمومی است و نگرانی‌های را در مورد ایمنی مواد غذایی ایجاد می‌کند. این به‌طور مستقیم با اقدامات بهداشتی ضعیف توسط افراد درگیر در مراحل مختلف فرآوری گوشت، مانند تولید، جابجایی، حمل‌ونقل، برش، ذخیره‌سازی و نقطه فروش مرتبط است. پژوهش حاضر باهدف بررسی فراوانی ژن‌های کد کننده انتروتوکسین و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جدا شده در گوشت و احشاء خوراکی جوجه‌های گوشتی عرضه‌شده در شهرکرد انجام شد، در همین راستا نتایج حاصل از پژوهش حاضر نتایج نشان داد از مجموع ۱۷۰ نمونه گوشت و احشاء نمونه‌گیری شده در شهرستان شهرکرد ۹۳ نمونه (۵۴/۷۰ درصد) به استافیلوکوکوس اورئوس آلودگی داشتند که ۴۳ نمونه از گوشت (۲۷ نمونه ران (۱۵/۸۸ درصد) و ۱۶ نمونه سینه (۹/۴۱ درصد) و ۵۰ نمونه از احشاء (۱۳ نمونه قلب (۷/۶۴ درصد)، ۱۹ نمونه سنگدان (۱۱/۱۷ درصد) و ۱۸ نمونه جگر (۱۰/۵۸ درصد) به استافیلوکوکوس اورئوس آلودگی داشتند. همچنین نتایج نشان داد که از ۹۳ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس، ۳۵ نمونه (۳۷/۶۳ درصد) به متی‌سلین مقاوم بودند که شامل ۱۹ نمونه از گوشت ران و سینه مرغ و ۱۸ نمونه مربوط به احشاء بود. نتایج جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین نشان داد که بیشترین و کمترین فراوانی ژن حامل مربوط به sea (۵۴/۲۸ درصد)، seb (۲۲/۸۵ درصد)، sec (۱۱/۴۲ درصد) و sed (۵/۷۴ درصد) بود. بیشترین مقاومت علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین مربوط به پنی‌سیلین (۹۴/۲ درصد) و اریترومایسین (۸۵/۷ درصد) و کمترین مقاومت مربوط به امی‌پنم (۲/۸۵ درصد) بود.

Nacer و همکاران (۲۰۲۲) در پژوهشی بر روی آلودگی گوشت‌های مرغ کشتار شده گزارش آلودگی ۱۵/۲۹ درصدی را دادند (۱۱) همچنین کریمی و ممتاز در پژوهشی (۲۰۲۲) آلودگی ۴۳ درصد به *استافیلوکوکوس اورئوس* را گزارش دادند که بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به پنی‌سیلین و سفالوتین و تتراسایکلین بود (۱۲) که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقتی ندارد.

Lee و همکاران (۲۰۲۳) در پژوهشی هم‌راستا بامطالعه حاضر، آلودگی ۵۶/۶ درصدی به *استافیلوکوکوس اورئوس* را گزارش دادند (۱۳). Parvin و همکاران در سال ۲۰۲۱ پژوهشی هم‌راستا با مطالعه حاضر باهدف آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در بنگلادش گزارش دادند که آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس ۵۴/۹ بود و مقاومت پنی‌سیلین ۸۵ درصد بود و بیشترین فراوانی ژن حدت مربوط به sea۴۵/۵۰ بود (۱۴). Pinar در مطالعه‌ای آلودگی ۶۳ درصدی به *استافیلوکوکوس اورئوس* را در گوشت پرندگان گزارش داد و مقاومت به متی-سیلین نیز در بین جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* ۲۱/۲۳ درصد همچنین فراوانی ژن‌های حدت برای sea ۴۸/۷۱، seb ۲۰/۵۱، sec ۱۰/۲۵ و ۵/۱۲ برای sed گزارش داد و بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به پنی‌سیلین را گزارش شد (۱۵).Magdy و همکاران در پژوهشی به بررسی آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت مرغ گزارش دادند که ۵۶/۶ درصد آلودگی وجود داشته است و

بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی مربوط به پنی‌سیلین و تتراسایکلین بود (۱۶). در پژوهشی در سال ۲۰۲۴ توسط shabbir و همکاران باهدف ردیابی آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های گوشت مرغ انجام گرفت که آلودگی ۵۷/۴۹ درصدی به *استافیلوکوکوس اورئوس* را گزارش دادند و بیشترین مقاومت تتراسایکلین و پنی‌سیلین بود (۱۷). Kim و همکاران آلودگی ۶۰ درصدی به *استافیلوکوکوس اورئوس* را نشان دادند و جدایه‌های مقاوم به متی-سیلین ۲۰/۸۰ را گزارش دادند. همچنین تتراسایکلین و اریترومایسین نیز بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی را داشتند (۱۸). پژوهشی در سال ۲۰۱۸ توسط Mebkhout و همکاران هم‌راستا با پژوهش حاضر گزارش دادند آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت مرغ ۲۸/۸ درصد گزارش دادند و فراوانی ژن‌های sea ،seb ،sec و sed به ترتیب ۰، ۹/۷۶، ۰ و ۲/۴۴ بودند که ازلحاظ آلودگی مطابق با پژوهش حاضر اما ازلحاظ فراوانی ژن‌ها مطابقتی وجود ندارد (۱۹).

مطالعه Li و همکاران (۲۰۱۸) روی آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلودگی ۵۶ درصدی به *استافیلوکوکوس اورئوس* را گزارش دادند و فراوانی ژن‌های sea، seb ،sec و sed به ترتیب ۹، ۶/۹، ۱۱/۵ و ۵/۱۰ گزارش دادند که همراستا با پژوهش حاضر است (۲۰). Benrabia و همکاران (۲۰۲۰) در خصوص مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، علیه کلینداماسین ۶۸/۶ درصد گزارش داد (۲۱). اما مقاومت آنتی‌بیوتیکی کوتریماکسازول و جنتامایسین بامطالعه حاضر هم‌سو است. پژوهشی-systematic review and meta analysis توسط Jia و همکاران باهدف ارزیابی کلی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های متی‌سیلین مثبت نشان دادند که بیشترین مقاومت‌ها مربوط به پنی‌سیلین ۸۷ درصد، آمپی‌سیلین ۷۲ درصد و اریترومایسین ۴۱ درصد بود (۲۲) که هم‌راستا با پژوهش حاضر است.

Morshdy و همکاران (۲۰۲۳) در مطالعه‌ای بر روی آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت مرغ آلودگی ۹/۵ درصدی را گزارش دادند (۲۳). پژوهش فرهمند و همکاران (۲۰۲۰) روی آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* گزارش دادند که ۲۵ درصد نمونه‌های مرغ، آلوده بودند (۲۴).Kizanlik و Goksoy در مطالعه‌ای بر روی آلودگی *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱۲ درصد و فراوانی ژن‌های sea، seb،sec و sed را به ترتیب ۲/۵، ۱/۸ و ۰ و ۰ گزارش دادند (۲۵) پژوهشی توسط Amoaka و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد که آلودگی ۲/۳۱ درصدی در گوشت مرغ به *استافیلوکوکوس اورئوس* را گزارش دادند (۲۶). ارزیابی‌ها Zhang و همکاران (۲۰۲۳) نشان داد که ژن‌های کدکننده شامل sea، seb، sec و sed در نمونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین به ترتیب ۱۱ درصد،۲/۵ درصد و ۰ و ۰ بودند (۲۷) که با یافته‌های حاضر هم‌راستا نمی‌باشد. که میزان آلودگی و فراوانی ژن‌ها در تمامی پژوهش‌های یادشده از نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر پائین‌تر است.

Naas و همکاران در پژوهشی آلودگی ۸۰/۶ درصدی به *استافیلوکوکوس اورئوس* را گزارش دادند (۲۸). Lika و همکاران (۲۰۲۱) آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* را ۸۳/۵ درصد گزارش دادند که فراتر از پژوهش حاضر است (۳) که فراتر از نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر می‌باشند. Li و همکاران در بررسی گزارش دادند که جدایه‌های متی-سیلین مثبت ۸۴ درصد بود (۲۹) که با نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر مطابقت ندارد.

نتیجه‌گیری

گوشت مرغ و فرآورده‌های آن به دلیل دستکاری‌های مختلف در مراحل فرآوری و بهداشت نامناسب پرسنل، متصدیان هندلینگ غذا، منبع بالقوه‌ای برای *استافیلوکوکوس اورئوس* محسوب می‌شوند. بسیاری از سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از گوشت مرغ و محصولات آن، توانایی تولید انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی (SEs) مختلف را دارند که نشان‌دهنده خطری برای سلامت عمومی هستند، زیرا این سموم حتی پس از پختن در برابر حرارت پایدار هستند. محصولات گوشتی مرغ به دلیل تکنیک‌های مختلف فرآوری و دستکاری در طول فرآوری بیشتر در معرض آلودگی قرار دارند. بنابراین استفاده دقیق از اقدامات بهداشتی خوب و بهداشت مناسب پرسنل برای جلوگیری از خطرات استافیلوکوکوس اورئوس و انتروتوکسین های آن توصیه می‌شود.

منابع

1. Phibbs D, Groves P, Muir W. (2021). Leg health of meat chickens: impact on welfare, consumer behaviour, and the role of environmental enrichment. Animal Production Science, 61(12):1203-1212.
2. Elmossalamy DA, Hamdy MM, Aideia HA, Yassien NA, zaki HM. (2020). Incidence of Staphylococcus aureus and its enterotoxins in chicken meat and its products, International Journal of Veteinary Science, 9(4):573-577
3. Lika E, Puvača N, Jeremić D, Stanojević S, Shtylla Kika T, Cocoli S, et al. (2021). Antibiotic susceptibility of Staphylococcus species isolated in raw chicken meat from retail stores. Antibiotics,10(8): 904-914.
4. Heidarzadi M-A. (2021). A systematic review on the contamination of traditional Iranian fruit juices with Escherichia coli. New Findings in Veterinary Microbiology, 4(1):83-93.
5. Foster TJ, Geoghegan JA. (2024). Staphylococcus aureus. Molecular Medical Microbiology: Elsevier, 655-679.
6. Manfredi E, Leotta G, Rivas M. (2010). Multiplex PCR for the detection of sea, seb, sec, sed and see genes of Staphylococcus aureus. Characterization of isolates from food. Revista Argentina de Microbiologia, 42(3):212-215.
7. Heidarzadi MA, Ayazi N, Vahed Dehkordi N, Karami M, Ahmadi SK, Hoseini Nasab SE. (2023). Prevalence of contamination of sandwiches with pathogenic microorganisms and antibiotic resistance of isolates in Kermanshah city, Iran. Food Hygiene, 13(51):53-66.
8. Mehrotra M, Wang G, Johnson WM. (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.
9. Torky HA, Kamar AM, Abotaleb MM, Tawfik RG. (2023). Risk of Staphylococcus aureus Isolated from Poultry Meat of Chicken with Arthritis in Poultry Farms. Journal of Advanced Veterinary Research, 13(6):904-909.
10. Heidarzadi M ,Rahnama M, Alipoureskandani M, Saadati D, Afsharimoghadam A. (2021). Salmonella and Escherichia coli contamination in samosas presented in Sistan and Baluchestan province and antibiotic resistance of isolates. Food Hygiene, 11(2 (42)):81-90.
11. Nacer S, El Ftouhy FZ, Derqaoui S, Khayli M, Nassik S, Lkhider M. (2022). Prevalence and antibiotic resistance of Salmonella spp. and Staphylococcus aureus isolated from broiler chicken meat in modern and traditional slaughterhouses of Morocco. World's Veterinary Journal, 9(4):430-439.
12. Karimi S, Momtaz H. (2022). Molecular typing, phenotypic and genotypic assessment of antibiotic resistance and virulence factors amongst the Staphylococcus aureus bacteria

isolated from raw chicken meat. Molecular Genetics, Microbiology and Virology, 37(4):226-241.
13. Lee GY, Lee SI, Kim SD, Park JH, Kim G-B, Yang S-J. (2022). Clonal distribution and antimicrobial resistance of methicillin-susceptible and -resistant Staphylococcus aureus strains isolated from broiler farms, slaughterhouses, and retail chicken meat. Poultry Science, 101(10):102-110.
14. Parvin MS, Ali MY, Talukder S, Nahar A, Chowdhury EH, Rahman MT, et al. (2021). Prevalence and multidrug resistance pattern of methicillin resistant S. aureus isolated from frozen chicken meat in Bangladesh. Microorganisms, 9(3): 636-651.
15. Şanlıbaba P. (2022). Prevalence, antibiotic resistance, and enterotoxin production of Staphylococcus aureus isolated from retail raw beef, sheep, and lamb meat in Turkey. International Journal of Food Microbiology, 36(1): 101-112.
16. Magdy OM, Tarabees R, Badr H, Hassan HM, Hussien AM. (2020). Methicillin-Resistant Staphylococcus Auras (MRSA) from poultry meat products regarding mecA Gene, antibiotic Sensitivity, and biofilm Formation. Alexandria Journal of Veterinary Sciences, 2(75): 175-190.
17. Shabbir MAB, Ul-Rahman A, Iftikhar MR, Rasheed M, Maan MK, Sattar A, et al. (2024). Exploring the Interplay of the CRISPR-CAS System with Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus: A Poultry Meat Study from Lahore, Pakistan. Medicina, 60(1):130-141.
18. Kim YH, Kim HS, Kim S, Kim M, Kwak HS. (2020). Prevalence and characteristics of antimicrobial-resistant Staphylococcus aureus and methicillin-resistant Staphylococcus aureus from retail meat in Korea. Food Science of Animal Resources, 40(5):758-769.
19. Mebkhout F, Mezali L, Hamdi T, Cantekin Z, Ergun Y, Ramdani-Bouguessa N, et al. (2018). Prevalence and distribution of staphylococcal enterotoxin genes among Staphylococcus aureus isolates from chicken and turkey carcasses in Algeria. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society, 69(4):1297-1304.
20. Li S, Wang P, Zhao J, Zhou L, Zhang P, Fu C, et al. (2018). Characterization of toxin genes and antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus from retail raw chicken meat. Journal of food protection, 81(4): 528-533.
21. Benrabia I, Hamdi TM, Shehata AA, Neubauer H, Wareth G. (2020). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in poultry species in Algeria: Long-term study on prevalence and antimicrobial resistance. Veterinary sciences, 7(2): 54-61
22. Jia K, Fang T, Wang X, Liu Y, Sun W, Wang Y, et al. (2020). Antibiotic resistance patterns of Staphylococcus aureus isolates from retail foods in mainland China: a meta-analysis. Foodborne Pathogens and Disease, 17(5): 296-307.
23. Morshdy AE, Tharwat AE ,Merwad A, Abdallah NA, Saber T. (2023). Prevalence, phenotypic-genotypic resistance and biofilm formation of Staphylococcus aureus in chicken meat with reference to its public health hazard. Slovenian Veterinary Research/Slovenski Veterinarski Zbornik, 8(2): 60-69.
25. Farahmand S, Haeili M, Darban-Sarokhalil D. (2020). Molecular Typing and Drug Resistance Patterns of Staphylococcus aureus Isolated From Raw Beef and Chicken Meat Samples. Iranian Journal of Medical Microbiology, 14(5): 478-89.
25. Kizanlik PK, Goksoy EO. (2024). The prevalence, enterotoxigenic properties and antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus isolated from various foods of animal origin. Veterinarski arhiv, 94(1): 43-54.
26. Amoako DG, Somboro AM, Abia AL, Molechan C, Perrett K, Bester LA ,et al. (2020). Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus from poultry and poultry products in uMgungundlovu District, South Africa, using the “Farm to Fork” approach. Microbial Drug Resistance, 26(4): 402-411.
27. Zhang P, Wang P, Fu X, Xu X, Ruan F, Wang T, et al. (2023). Prevalence and characterization of Staphylococcus aureus in raw eggs and it's growth and enterotoxin a production in egg contents. LWT. 174(12): 1143-1159.

28. Naas HT, Edarhoby RA, Garbaj AM, Azwai SM, Abolghait SK, Gammoudi FT, et al. (2019). Occurrence, characterization, and antibiogram of Staphylococcus aureus in meat, meat products, and some seafood from Libyan retail markets. Veterinary World, 12(6):925-937.
29. Li X, Zhang J, Zhang H, Shi X, Wang J, Li K, et al. (2022). Genomic analysis, antibiotic resistance, and virulence of Staphylococcus aureus from food and food outbreaks: A potential public concern. International journal of food microbiology. 37(7):109-118.