

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه زابل

مدیریت تحصیلات تکمیلی

دانشکده دامپزشکی

گروه پاتوبیولوژی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته باکتری شناسی

**بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت به متی سیلین در جدایه های استافیلوکوکوس
اورئوس به دست آمده از شیر عرضه شده در مراکز عرضه محصولات لبنی منطقه
سیستان**

اساتید راهنما:

دکتر سعید سالاری

دکتر محسن نجیمی

اساتید مشاور:

دکتر احمد راشکی

دکتر داریوش سرگزی

تهیه و تدوین:

فاطمه هاشمی

پاییز ۱۴۰۲

چکیده

استافیلوکوکوس اورئوس پاتوژن اصلی انسان و عامل مهم عفونت های دامی است. *استافیلوکوکوس اورئوس* یکی از شایع ترین علل مهم بیماری های منتقله از راه غذا در سراسر جهان می باشد. شیر یک ماده غذایی بسیار مغذی است و عاری بودن آن از هرگونه میکروب بیماری زا که می تواند به انسان منتقل شود و سلامت عمومی را تحت تاثیر قرار دهد مهم است. برخی از سویه های باکتری متعلق به جنس *استافیلوکوکوس* به آنتی بیوتیک های مختلف از جمله متی سیلین مقاوم هستند. سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین حاوی ژن *mecA* هستند، ژنی که پروتئین متصل شونده به پنی سیلین 2a را کد می کند، که باعث ایجاد مقاومت در برابر متی سیلین و سایر آنتی بیوتیک های بتالاکتام (بجز سفالوسپورین ها) می شود، هدف از تحقیق حاضر بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت به متی سیلین در جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* به دست آمده از شیر عرضه شده در مراکز عرضه محصولات لبنی منطقه سیستان بود.

مواد و روش : در این تحقیق تعداد 100 ایزوله *استاف* به صورت تصادفی از مراکز عرضه لبنیات در منطقه سیستان جداسازی شد. برای جدا سازی *استافیلوکوکوس اورئوس*، در گرمخانه به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد نگهداری شد. برای شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* پس از رنگ آمیزی گرم از آزمون های بیوشیمیایی استاندارد شامل تست های کاتالاز، کوآگولاز و DNASE استفاده گردید.

برای ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری به شکل فنوتیپی از تست آنتی بیوگرام استفاده شد. مقاومت دارویی ایزوله ها نسبت به آنتی بیوتیک متی سیلین و اگزاسیلین به روش دیسک دیفیوژن و مطابق با دستورالعمل های فعلی توصیه شده توسط موسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی CLSI انجام شد.

به منظور استخراج DNA از باکتری های جدا شده، از روش جوشاندن استفاده شد و همچنین برای تعیین ژن مورد مطالعه از روش PCR استفاده گردید.

یافته ها : از 147 نمونه، 100 ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی شد. ارزیابی فنوتیپی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های متی سیلین (99٪) و اگزاسیلین (45٪) وجود دارد. بررسی مولکولی نشان دهنده ی حضور 95 درصدی ژن *mecA* بودند.

واژه های کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، سیستان، شیر، فنوتیپ، ژنوتیپ، متی سیلین.

Abstract

Staphylococcus aureus is the main human pathogen and an important cause of livestock infections.

Staphylococcus aureus is one of the most common and important causes of foodborne diseases all over the world. Milk is a very nutritious food and its freedom from any pathogenic microbes. It can be transmitted to humans and affect public health.

Some strains of bacteria belonging to the genus *Staphylococcus* are resistant to various antibiotics, including methicillin. Methicillin-resistant *S. aureus* strains contain the *mecA* gene, which encodes penicillin-binding protein 2a, which confers resistance to methicillin and other beta-lactam antibiotics (except cephalosporins).

The purpose of this research was to investigate the phenotypic and genotypic resistance to methicillin in *Staphylococcus aureus* isolates obtained from milk supplied in dairy product supply centers in Sistan region.

Materials and methods: In this research, 100 *Staph* isolates were randomly isolated from dairy supply centers in Sistan region. To isolate *Staphylococcus aureus*, it was kept in a greenhouse for 24 hours at a temperature of 37 degrees Celsius. Standard biochemical tests including catalase, coagulase and DNASE tests were used to identify *Staphylococcus aureus* after gram staining.

Antibiogram test was used to evaluate the antibiotic resistance of bacteria in phenotypic form. The drug resistance of the isolates to the antibiotics methicillin and oxacillin was determined by the disk diffusion method and according to the current guidelines recommended by the CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute.

In order to extract DNA from the isolated bacteria, the boiling method was used, and the PCR method was also used to determine the studied gene.

Findings: 100 isolates of *Staphylococcus aureus* were isolated from 147 samples. The phenotypic evaluation of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* strains showed that there is the highest resistance to methicillin (99%) and oxacillin (45%) antibiotics. Molecular analysis showed the presence of 95% *mecA* gene.

Key words: *Staphylococcus aureus*, Sistan, Milk, Phenotype, Genotype, Methicillin



University of Zabol
Management of graduate education
Faculty of Veterinary
Group: Pathobiology
The Thesis Submitted for the Degree of M. Sc
(bacteriology)

Title: Phenotypic and Genotypic Investigation of Methicilin Resistance In
***Staphylococcus aureus* Isolates Obtained From Milk Supplied In Dairy Product Supply**
Centers In Sistan Region.

Supervisors:

Dr.Saeed Salari

Dr.Mohsen Najimi

Advisor

Dr.Ahmad Rashki

Dr. Dariush Sargazi

By:Fatemeh Hashemi

Autumn 2023