AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences
نشریه دانشگاه علوم پزشکی البرز، تابستان ۱۴۰۲ ، سال ۱۲، شماره ۳، صفحه‌های ۲۲۹ - ۲۴۲
مقاله تحقیقی

ارزیابی مقایسه ای میزان آلودگی *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی سیلین و ناقلین باکتری *هلیکوباکتر پیلوری* در کارکنان رستوران

علی جمیل زاده[۱]، علیر ضا فتحی پور[۱]، علی شم سی زاده میمندی[۲]، ح سین فتاحی[۳*]، احسان استبرقی[۴]، علی اسدی[۲]

[۱] *دانشجوی دکترای حرفه ای دامپزشکی، گروه درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، وا حد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران*
[۲] *دانش آموخته دکترای حرفه ای دامپز شکی، دان شکده دامپز شکی، واحد بافت، دان شگاه آزاد اسلامی، بافت، ایران*
[۳] *استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران*
[۴] *استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپز شکی، واحد شهربابک، دان شگاه آزاد اسلامی، شهربابک، ایران*

تاریخ دریافت مقاله:۱۴۰۱/۳/۳۰ ؛ تاریخ پذیرش:۱۴۰۲/۶/۱۴

چکیده

مقدمه: *استافیلوکوکوس اورئوس*، مهمترین عامل بیماریزایی انسان محسوب می‌گرددکه سویه‌های مولد کوآگولاز آن دارای فعالیت آنزیمی و توکسینی وسیعی است. سوراخهای بینی و ناحیه پرینه از عمده ترین مراکز استقرار *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* می‌باشد. *هلیکوباکتر پیلوری* با ایجاد عفونت معده بیش از ۵۰ در صد مردم سرا سر جهان به‌عنوان شایع‌ترین بیماری عفونی ان سان شناخته شده ا ست. هدف ازاین مطالعه ارزیابی مقایسه ای میزان آلودگی به *ا ستافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی سیلین و ناقلین باکتری *هلیکوباکتر پیلوری* در کارکنان رستوران می‌باشد.

روش کار: مطالعه حا ضر تحقیقی از نوع تو صیفی – مقطعی بوده که برای اخذ نمونه‌ها از سوآب بینی و کف د ست شستشو شده و بخش تهیه وآماده سازی خوراک (آشپزخانه رستوران) و همچنین از مدفوع ۵۴ نفر از کارکنان مستقر در رستوان فعال تهران با در نظر گرفتن سن، جنس، سابقه بیماری گوارشی و شغل گذشته جمع آوری شد. محیط کشت مورد استفاده مولر هینتون آگار (مرک-آلمان) بوده که طبق دستور العمل تهیه و دیسکهای خریداری شده از شرکت Hi media (های‌مدیا هند) از لحاظ کیفیت کنترل شد. استخراج DNA از نمونه های مدفوعی با استفاده از کیت تجاری سیناژن مطابق د ستورالعمل ارائه شده تو سط کیت انجام و از روش ت ست Multiplex PCR جهت شنا سایی ژنهای *vacA*، *cagE*، *cagT*، *cagA* و *hrgA* و نیز *BlaCTX-M* و *16SrRNA* و *mecA* استفاده شد.

نتایج: در این مطالعه نتایج آنتی بیوگرام حاصل از بررسی ۵۴ مورد از آلودگی‌های *استافیلوکوکی* کوآگولاز مثبت و منفی و آلودگی *هلیکوباکتر پیلوری* برر سی شد. در صد مقاومت هر یک از ایزوله های مختلف ن سبت به آنتی بیوتیک های مورد استفاده بصورت جنتامایسین ۱۱٪، آمیکاسین ۲۱٪، اگزاسیلین ۴۸٪، پنی سیلین۶۷٪، سیپروفلوکساسین ۱۹٪، اریترومایسین ۴۹٪، متی سیلین ۷۹٪، تتراسایکلین ۲۴٪. درصد مقاومت ایزوله های مختلف دیده شد.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به بالابودن میزان فراوانی *هلیکوباکتر*در افراد شاغل با علائم بالینی آنتریت، عفونت معده می‌توان بیان کرد که *هلیکوباکتر* نقش مهمی درایجاد آنتریت و به‌عنوان یک عامل سرطانزا درنمونه های مورد مطالعه دارد. به دلیل وجود باکتری قابل انتقال به سایرین شناسایی انسانهای ناقل و درمان آنها ضروری است.

کلمات کلیدی: *استافیلوکوک اورئوس*، *هلیکوباکتر پیلوری*، رستوران، مقاومت آنتی بیوتیکی

نویسنده مسئول:
*استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران
۰۹۱۷۷۱۱۵۱۶۷
iranian_vet@yahoo.com

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس از خانواده میکروکوکاسه و از مهم ترین باکتریهای بیماریزا و یکی از شایع ترین عوامل ایجاد کننده عفونت بیمارستانی محسوب می شود. متأسفانه به علت پیدایش سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک در استافیلوکوک اورئوس، روز به روز تعداد آنتی بیوتیک های در دسترس برای درمان این عفونت ها کاهش می یابد. خانواده میکروکوکاسه شامل جنس‌های دیگری مانند *میکروکوکوس* و *پلانوکوکوس* نیز می باشد. *استافیلوکوک ها* گروه بزرگی از باکتری‌ها هستند که در پوست و غشای مخاطی پستانداران جایگزین می شوند. این باکتری ها روی سطح پوست سر و صورت بصورت میکروکلونی بوده، مجرای خروجی گوش، بخش قدامی سوراخ‌های بینی، نواحی مرطوب و چین‌دار پوست، محل‌های مناسب استقرار استافیلوکوک ها هستند [۱].

اوّلین مورد MRSA در اواسط دهۀ ۷۰ میلادی گزارش شد و بتدریج درصد آن افزایش یافت تا اواسط دهه ۱۹۹۰ MRSA اکثراً از بیمارستان ها، خانه سالمندان جدا می شد. ریسک فاکتورهای کلونیزاسیون و عفونت با MRSA شامل مصرف آنتی بیوتیک، تماس با فردی که با MRSA کلونیزه دارد، جراحی و بستری درICU بود. اختلافی که MRSA بیمارستانی با CA- MRSA دارد در این است که CA-MRSA به دیگر آنتی‌بیوتیک‌هایی که روی *استافیلوکوک* تاثیر دارند اکثراً حساس (کلیندامایسین، اریترومایسین، کوتریموکسازول، کینولون‌ها، ریفامپین) ولی MRSA بیمار ستانی به اکثر این آنتی‌بیوتیک ها مقاوم می‌باشد [۲]. در نوع مقاوم به متی سیلین از هیچ یک از بتالاکتام ها نباید استفاده کرد زیرا تاثیری روی میکروارگانیسم ندارند. این نوع مقاومت کروموزومال بوده و در آن ژن *mecA* موجب ایجاد تغییراتی در PBP2a شده که این تغییر منجر به کاهش میل ترکیبی (Affinity) PBP برای بتالاکتام ها می‌شود. برای تشخیص این نوع ازمیکروارگانیسم ها می توان از آنتی بیوگرام به روش MIC استفاده کرد و یا می‌توان توسط PCR، ژن *mecA* را شناسائی کرد و داروی انتخابی برای آنها ونکومایسین و تئیکوپلانین (گلیکوپپتیدها) هستند [۳]. از داروی کلیندامایسین به دلیل نفوذپذیری بالا در پوست و تجمع مناسب در آبسه به عنوان داروی منتخب برای درمان بسیاری از عفونت های استافیلوکوکی و بخصوص عفونت های پوستی و بافت نرم استفاده می شود. بیشترین مقاومت در بررسی های متعدد به آنتی بیوتیک های پنی سلین و اریترومایسین و کلینداماسین مشاهده شده و کمترین مقاومت هم در آنتی بیوتیک های ونکومایسین و تیکوپلانین و لینزولید بوده است که استناد به همین مسئله در مقایسه با داده های کشور های دیگر حاکی از افزایش مقاومت در ایران به نسبت کشورهای منطقه بود [۴]. سوراخ های بینی و ناحیه غشایی اطراف از عمده ترین مراکز استقرار *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* می‌باشد. *استافیلوکوکوس اورئوس*، مهمترین عامل بیماریزایی انسان محسوب می‌گردد که سویه‌های مولد کوآگولاز را *استافیلوکوکوس اورئوس* درنظرگرفته و دارای فعالیت آنزیمی و توکسینی وسیعی بوده که برخلاف دیگر *استافیلوکوک‌ها* قند مانیتول را تخمیر کرده و همولیز کامل دارد [۵].

هلیکوباکترها باکتری‌های گرم منفی میله‌ای شکل، متحرک، و میکروآئروفیلیک و اکسیداز مثبت با قدرت تخمیری هستند که می‌توانند قسمتی از فلور نرمال دستگاه گوارش بوده و مرتبط با ضایعات التهابی و آماس در دستگاه گوارش انسان است. نقش گونه‌های مختلف *هلیکوباکتر*، به‌عنوان پاتوژن بالقوه مورد بررسی بوده و شواهدی مبنی بر احتمال انتقال از حیوانات به انسان مشاهده شده است. الگوی اپیدمیولوژیک آلودگی این باکتری درکشورهای درحال توسعه ۹۰٪ و در کشورهای توسعه یافته ۵۰٪ گزارش شده است [۶].

هلیکوباکتر پیلوری عامل مهمی در ایجاد زخم های پپتیک و سرطان معده در انسان است. هنگامی که این باکتری در درون آب قرار می گیرد به فرم زنده اما غیرقابل کشت کوکوئید در می آید. این امر می تواند یکی از عوامل مهم انتقال آلودگی محسوب گردد [۷]. سرطان معده در انسان که عامل *هلیکوباکتری* در آن دخیل است، دومین علت مرگ‌ومیر ناشی از سرطان و چهاردهمین عامل مرگ‌ومیر در جهان است. شایعترین محل لوکالیزه شدن *هلیکوباکتر* در معده به ترتیب در ناحیه کاردیا، فاندوس، بدنه و آنتروم گزارش شده و همچنین این باکتری پس از معده، روده، کبد، مجرای صفراوی در قلب لوکالیزه می‌شود [۸].

براساس آنالیز فیلوژنی ژن های *23S rRNA* و *16S rRNA*، اعضای جنس *هلیکوباکتر* به دو گروه مهم معدی، روده‌ای – کبدی

تقسیم می‌شوند. اوره آز تولید شده توسط باکتری به تنهایی کموتاکسی فاگوسیت‌ها را باعث شده و سلولهای ایمنی را فعال می کند و محصولات سیتوتوکسین را افزایش می دهد. اتصال *هلیکوباکتر پیلوری* به اپتیلیوم معده و ترشح اینترلوکین‌ها یک مرحله مهم در القای التهاب فعال لایه مخاطی می باشد که می تواند به تولید زخم منجر شود. ژن های *rRNA* برای زنده ماندن همه موجودات ضروری هستند و همچنین توالی بازهای آلی در این ژن‌ها به شدت محافظت شده است. به همین علت تعیین توالی بازهای آلی ژن *16SrRNA* به عنوان یک روش استاندارد برای شناسایی گونه‌ها، جنس‌ها و خانواده باکتری‌ها به کار می‌رود. امروزه روشن است که تجزیه و تحلیل توالی‌های ژن *16SrRNA* اهمیت زیادی دارد[۹].

پروتئین دیگری که از لحاظ وزن مولکولی بسیار شبیه به پروتئین ترشحی اوره آز می باشند نیز شناسایی شده که همولوگ با GroEl در باکتری *اشریشیاکلی* (E. Coli) می باشد. هشت آنتی ژن بر سطح *هلیکوباکترپیلوری* شناسایی شده که دو تا از آنها به صورت لیپوپلی ساکارید می باشند و شش تای دیگر به صورت آزاد در غشای خارجی باکتری قرار دارند. جزیره ژنومی cag با وزن مولکولی ۴۰ کیلوباز که منجر به افزایش ترشح اینترلوکین ۸ در سلولهای اپی تلیال معده می شوند و بیماری زایی باکتری را افزایش می دهد. این منطقه شامل ژن های متعددی شامل *cagA*، *cagB*، *cagC*، *cagE* و *cagT* است. پروتئین القا کننده واکوئل (VacA)، متشکل از تعدادی پلی پپتید با وزن مولکولی ۹۵kDa می باشد که دو زیر واحد A و B را تشکیل می دهند. پروتئین BabA یکی از پروتئین های غشا خارجی *هلیکوباکتر پیلوری* است، توانائی اتصال این پروتئین به آنتی ژن های گروه خونی لوئیس b استقرار باکتری را در معده تسهیل کرده و ممکن است مستقیمًا در بیماریزائی نقش داشته باشد. پروتئین BabA دارای دو آلل ژن *babA* شناسایی شده که عبارتند از *babA1* و *babA2*، دربین این دو آلل، تنها آلل *babA2* فعال بوده و پروتئین BabA را رمزدهی می نماید[۱۰].

روش های متعددی جهت شناسایی حضور *هلیکوباکتر پیلوری* وجود دارد که هر کدام با مزایا، معایب و محدودیتی همراه می باشند و شامل روش اندوسکوپی، هیستولوژی، تست اوره‌آز و کشت، تستهای سرولوژی، اوره تنفسی و آنتی ژن مدفوعی می باشند. این مطالعه با هدف ارزیابی میزان بقای فرم های کوکوئید *هلیکوباکتر پیلوری* در نمونه های غذایی توسط روش های کشت و PCR انجام شد. در هر بار، نمونه ها بر روی محیط بروسلا بلاد آگار کشت داده شدند. *هلیکوباکتر پیلوری* با ایجاد عفونت معده بیش از ۵۰ در صد مردم سراسر جهان به‌عنوان شایع‌ترین بیماری عفونی انسان شناخته شده است. هدف از انجام این پژوهش ارزیابی مقایسه ای میزان آلودگی به *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی سیلین و ناقلین به باکتری *هلیکوباکتر پیلوری* در پرسنل رستوران شهر تهران می باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر تحقیقی از نوع توصیفی – مقطعی بوده که برای اخذ نمونه‌ها از سوآب بینی و از کف دست شستشو شده قسمت تهیه و آماده سازی خوراک (آشپزخانه رستوران) و همچنین از مدفوع ۵۴ نفر از کارکنان مستقر در رستوران فعال تهران با در نظر گرفتن سن، جنس، سابقه بیماری گوارشی و شغل گذشته جمع آوری شد و سریعا" به آزمایشگاه میکروب شناسی مرکزی منتقل گردید. نمونه گیری از ناحیه بینی به روش وارد کردن سوآب پنبه ای استریل به ناحیه قدامی بینی هر فرد انجام شد و نمونه ها بلافاصله در محیط کشت مانیتول سالت آگار (شرکت مرک، آلمان) کشت داده شدند[۱۱]. برای نمونه گیری از دست افراد مستقر در آشپزخانه در دو مرحله که ابتدا قبل از شستشو نمونه برداری به کمک سوآب صورت گرفته و مجددا پس از شستن دستها نمونه گیری انجام شد و به محیط کشت منتقل گردید.

آزمایش آنتی ژن مدفوعی جهت بررسی *هلیکوباکتر* نیز با استفاده از کیت شرکت Astra (ایتالیا) به روش الایزا انجام گرفت. داده های حاصل با استفاده از آزمون های Chi-Square و Fisher's Exact مورد بررسی قرار گرفتند و دقت تست های سرولوژی و آنتی ژن مدفوعی ارزیابی شد.

روش استخراج DNA از باکتری

در این مطالعه برای استخراج DNA باکتری از کیت (Cinna Pure DNA– سیناژن– ایران) با شماره PR881613 استفاده شد. ابتدا ویال های حاوی باکتری، پس از خروج از فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد، در محیط بیرون قرار داده شد تاکاملاً ذوب شود. سپس

توسط میکروسانتریفیوژ، به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و ادامه کار بر روی رسوب بدست آمده طبق دستور کیت انجام گردید. استخراج DNA از نمونه های مدفوعی با استفاده از کیت تجاری سیناژن مطابق دستورالعمل ارائه شده توسط کیت انجام و از روش تست Multiplex PCR جهت شناسایی ژن های *vacA*، *cagE*، *cagT* *cagA* و *hrgA* استفاده شد. مقادیر مصرفی مواد در آزمایش به حجم ۲۵ میکرولیتر که شامل ۱/۵ mM کلرید منیزیم، ۲۵۰ µmol از dNTP، ۰/۴ µmol از هر یک از پرایمرهای اختصاصی و ۱ واحد از Taq پلی مراز و ۵ میکرولیتر DNA با غلظت (۱۰ نانوگرم) الگو انجام شد.

شرایط سیکل حرارتی برای PCR اینگونه است که واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل هرکدام شامل: واسرشت در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه، اتصال در ۵۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله بسط در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و نیز بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد(جدول۱). محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۵ در صد الکتروفورز شدند، با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و تحت نور UV مشاهده و مستند سازی شدند.

جدول ۱: برنامه تنظیم درجه حرارت و زمان برای انجام مراحل *PCR*

مرحله	دما(درجه سیلسیوس)	زمان(ثانیه)	تعداد سیکل
واسرشت اولیه	۹۴	۳۰۰	۱
واسرشت	۹۴	۴۰	-
اتصال	۵۲	۶۰	-
بازآرایی(گسترش)	۷۲	۹۰	۳۴
بازآرایی نهایی	۷۲	۶۰۰	-

آماده سازی پرایمرها

پس از مطالعه و جستجو در مقالات مختلف پرایمرهای مناسب باکتری هلیکوباکتر پیلوری برای ژن های cagT- cagE-vacA - hrgA- cagA و برای باکتری استافیلوکوک اورئوس نیز ژن های BlaCTX-M و 16SrRNA و mecA انتخاب شدند[۸]. پرایمرها درسایت (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) مقایسه و بلاست شدند و به شرکت سیناژن سفارش داده شد. در جدول ۲و۳ توالی پرایمر و طول قطعه تکثیری مشخص است.

پرایمر بکاررفته در این تحقیق

پرایمر قطعه کوتاهی از اسید نوکلئیک است که این قطعه، مکمل یک قطعه تک رشته ای در پلی نوکلئوتید DNA الگو است. انجام یک PCR موفقیت آمیز بستگی تمام به انتخاب پرایمر مورد استفاده دارد. برای طراحی پرایمر لازم است توالی دو انتهای قطعه ای که بایستی تکثیر شود مشخص شده و پرایمر مورد نظر جهت انجام این آزمایش در ایزوله هلیکوباکتر پیلوری و استافیلوکوک اورئوس جدول شماره ۱ آورده شده است[۹].

جدول ۲ : توالی‌های نوکلئوتیدی پرایمر جهت شناسایی ژن های حدت در ایزوله های *هلیکوباکتر پیلوری*

پرایمر	توالی پرایمر (′3→′5)	اندازه باند (bp)
vacA	Forward: 5´ - ATGGAAATACAACAAACACAC - 3´ Reverse: 5´ - CTGCTTGAATGCGCCAAAC - 3´	۲۵۹
cagE	Forward: 5´ - GATAACAGGCAAGCTTTTGA - 3´ Reverse: 5´ - CTGCAAAAGATTGTTTGGCA - 3´	۳۲۹
cagT	Forward: 5´ - TCTCGTGAAAGAGAATTTCC - 3´ Reverse: 5´ - TAAGTGTGGGTATATCAATC - 3´	۸۴۲
cagA	Forward: 5´ - ATGAAAGTGAGAGCAAGTGT - 3´ Reverse: 5´ - TCACTTACCACTGAGCAAAC - 3´	۴۹۹
hrgA	Forward: 5´ - ATGGAAATACAACAAACACAC - 3´ Reverse: 5´ - CTGCTTGAATGCGCCAAAC - 3´	۵۹۴

جدول ۳: توالی‌های نوکلئوتیدی پرایمر جهت شناسایی ژنهای حدت در ایزوله های *استافیلوکوک اورئوس*

پرایمر	توالی پرایمر (′3→′5)	اندازه باند (bp)
BlaCTX-M	Forward: 5´ - GGTTAAAAATCACTGCGTC - 3´ Reverse: 5´ - TTGGTGACGATTTTAGCCGC - 3´	۵۵۴
16SrRNA	Forward: 5´ - GTAGGTGGCAAGCGTTACC - 3´ Reverse: 5´ - CGCACATCAGCGTCAG - 3´	۲۲۹
mecA	Forward: 5´ - AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC - 3´ Reverse: 5´ - AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC - 3´	۵۸۳

ارزیابی تکثیر ژنها

پس از اتمام واکنش PCR، جهت سنجش وجود تکثیر در ناحیه اختصاصی از ژن مورد نظر، از تکنیک الکتروفورز استفاده گردید. در این مطالعه از ژل آگارز ۱/۵در صد دارای قدرت تفکیک bp ۳۰۰۰– ۳۰۰ استفاده شد.

آزمایش دیسک دیفیوژن: محیط کشت مورد استفاده مولر هینتون آگار (مرک–آلمان) بوده که طبق دستور العمل کارخانه سازنده تهیه و سپس PH آن بین ۷/۴ – ۷/۲ تنظیم شد (توسط اسید کلریدریک نرمال) سپس در اتوکلاو استریل گردید. تمامی دیسک های خریداری شده (اگزا سیلین، سیپروفلوکسا سین، پنی سیلین، اریترومایسین، تتراسایکلین، آمیکاسین، جنتامیسین) از شرکت Hi media (های‌مدیا هند) از لحاظ کیفیت کنترل گردید. سوسپانسیون میکروبی (۰/۵ مک فارلند) به روش مستقیم از سویه استاندارد ATCC 25923 تهیه شد. توسط سوآب استریل روی محیط مولر هینتون آگار کشت خطی شد و بعد از ۱۵ دقیقه دیسک ها با

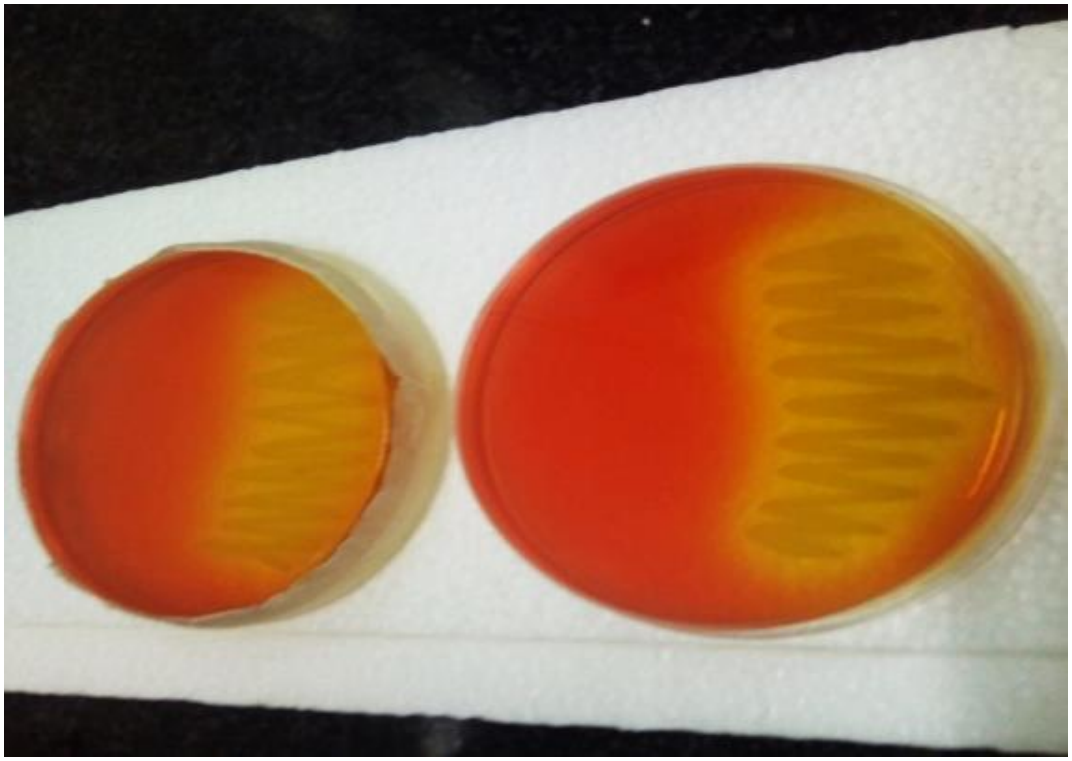
فاصله mm۲۲ از همدیگر و mm۱۶ از جداره پلیت در روی محیط کاشته شد. در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴-۱۸ ساعت انکوبه شد و سپس نتایج قرائت شده (قطر هاله عدم رشد با خط کش اندازه گیری شد) و نتایج برای هر دیسک آنتی بیوتیک با نتایج جدول CLSI برای آن دیسک آنتی بیوتیکی مقایسه گردید(جدول۲) تا کیفیت دیسک های مورد استفاده تائید شود. با توجه به اینکه از ایزوله های ارسالی به آزمایشگاه های تحقیقاتی میکروب شناسی استفاده شده است، لذا ملاحظات اخلاقی و کد اخلاقی نیاز ندارد.

یافته ها

در این مطالعه نتایج آنتی بیوگرام حاصل از بررسی ۵۴ مورد از آلودگی های استافیلوکوکی کوآگولاز مثبت و منفی و آلودگی هلیکوباکتر پیلوری در جدول ۱ آورده شده است. باکتری کوکسی گرم مثبت تخمیر کننده مانیتول در محیط مانیتول سالت آگار با قابلیت تولید آنزیم های کاتالاز، کوآگولاز، همولیزین و DNase به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی و مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج کشت بر روی محیط مانیتول سالت آگار

تمامی نمونه ها بر روی محیط مانیتول سالت آگار کشت داده و به دلیل تخمیر قند مانیتول توسط استافیلوکوکوس اورئوس (تصویر ۱) رنگ قرمز محیط به صورت زرد رنگ تغییر کرد.



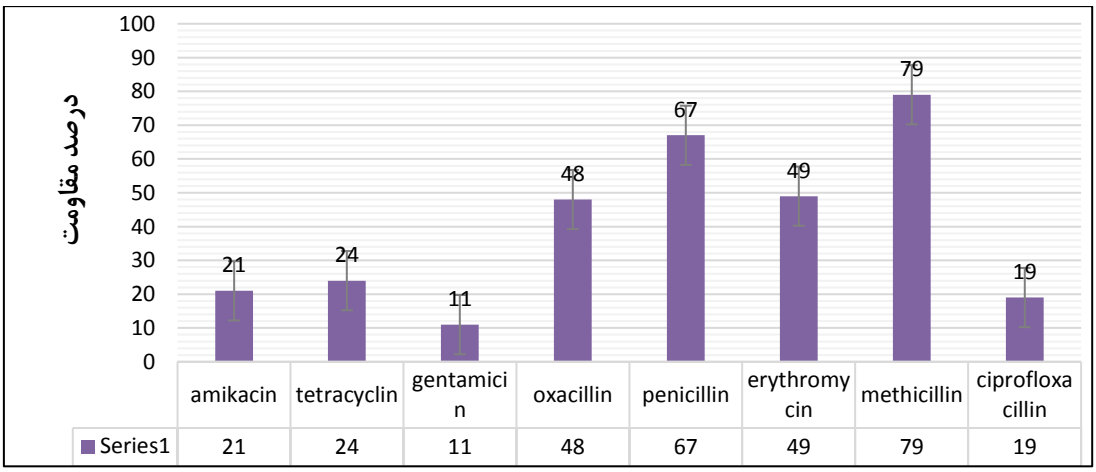
تصویر۱: نشان دهنده تخمیر قند مانیتول توسط *استافیلوکوکوس اورئوس*

جدول ۲ : نتایج حاصل از آزمایش دیسک دیفیوژن بر حسب میلی متر بر روی سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC۲۵۹۲۳

ردیف	آنتی بیوتیک ها	محتویات دیسک	قطر هاله استاندارد (NCCLS) (mm)	نتیجه آزمایش ها (mm)
۱	OXاگزاسیلین	mg۱	۱۸-۲۴	۱۹
۲	CIPسیپروفلوکساسین	mg۵	۲۲-۳۰	۲۳
۳	PENپنی سیلین	mg۱۰	۲۷-۳۷	۲۸
۴	ERاریترومایسین	mg۱۵	۲۲-۳۰	۲۲
۵	TETتتراسایکلین	mg۳۰	۲۴-۳۰	۲۵
۶	AMآمیکاسین	mg۳۰	۲۰-۲۶	۲۰
۷	GENجنتامیسین	mg۱۰	۱۹-۲۷	۲۴
۸	METمتی سیلین	µl۵	۱۷-۲۲	۱۱

نتایج تست آنتی بیوگرام: تست آنتی بیوگرام بر روی تمامی ایزوله های مورد نظر از ا ستافیلوکوکوس اورئوس ها انجام پذیرفت که نتایج درصد مقاومت هر یک از ایزوله های مختلف نسبت به آنتی بیوتیک های مورد استفاده به صورت زیر می باشد:

جنتا مایسین ۱۱٪، آمیکاسین ۲۱٪، اگزاسیلین ۴۸٪، پنی سیلین ۶۷٪، سیپروفلوکساسین ۱۹٪، اریترومایسین ۴۹٪، متی سیلین ۷۹٪، تتراسایکلین ۲۴٪. درصد مقاومت ایزوله های مختلف نسبت به هر یک از آنتی بیوتیک ها در نمودار ۲ نشان داده شده است.

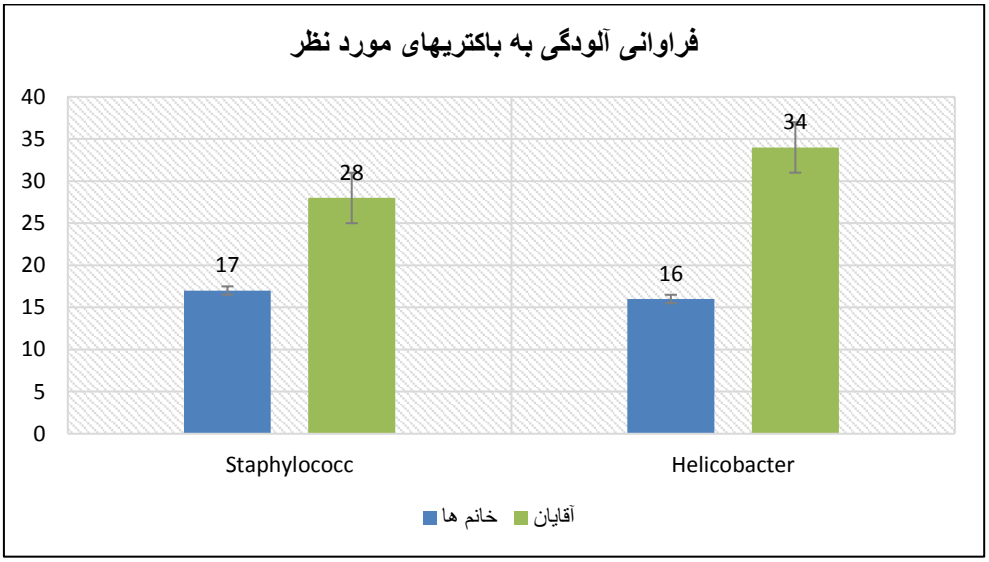


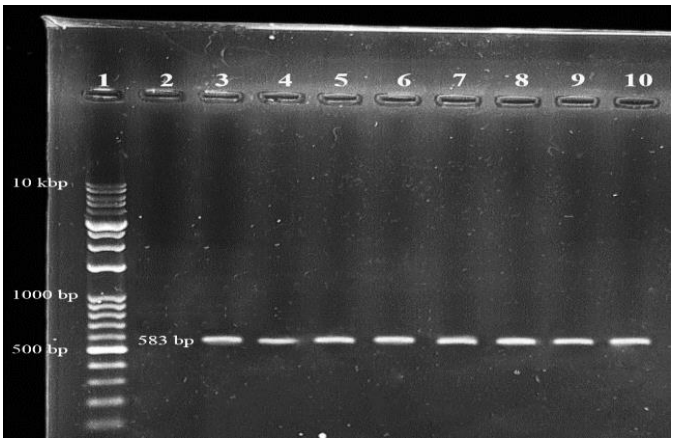
نمودار۱: نشان دهنده درصد مقاومت هر یک از ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف

جدول ۳ : نتایج حاصل از کشت نمونه ها (کارکنان خانم و آقا) بر روی محیط اختصاصی جهت جداسازی باکتری های موردنظر

ردیف	باکتری مورد مطالعه	درصد فراوانی	فراوانی آلودگی در خانمها	درصد فراوانی	فراوانی آلودگی در آقایان
۱	آلودگی به استافیلوکوک اورئوس	٪ ۳۱	۱۷	٪ ۵۲	۲۸
۲	آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری	٪ ۲۹	۱۶	٪ ۶۳	۳۴
جمع کل	۵۴ نفر پرسنل فعال				

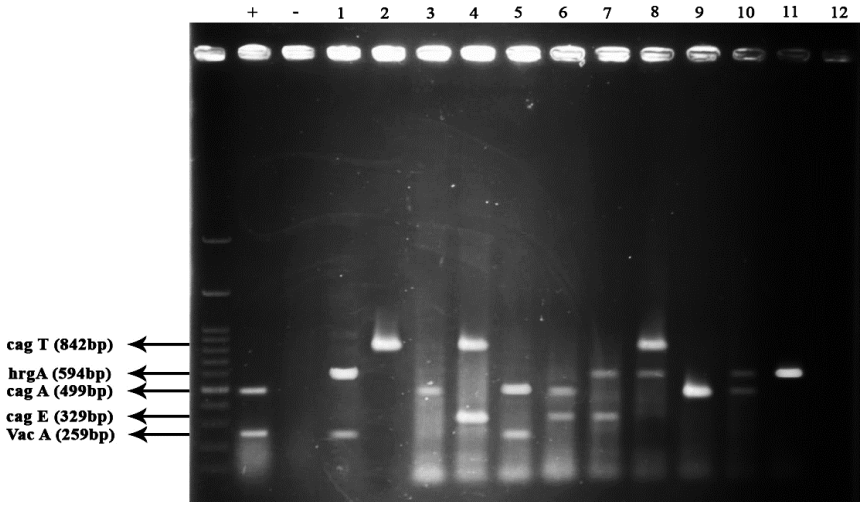
نمودار ۲ : فراوانی آلودگی به باکتری های مورد مطالعه





شکل ۱ : تعیین هویت نمونه های ۱۰-۱ استافیلوکوکوس اورئوس الکترفورز محصول PCR منطقه متغیر ژن mecA.

ستون ۱ : مارکر، ستون۲ کنترل منفی، ستون های ۳ -۱۰: محصول PCR نمونه های استافیلوکوکوس اورئوس (۵۸۳bp) mecA است.



شکل۲- نتیجه آزمایش M-PCR بر روی نمونه های هلیکوباکتر پیلوری جداشده از مدفوع افراد مبتلا شاغل در رستوران که به ترتیب از چپ به راست: مارکر ۱۰۰ bp DNA plus marker، + کنترل مثبت، – کنترل منفی، طول باند ژن های cagA ۴۹۹، cagT ۸۴۲، cagE۳۲۹، vacA ۲۵۹ و hrgA ۵۹۴ به ترتیب جفت باز است.

پس از تهیه تصاویر ژل با استفاده از دستگاه Gel documentation و اسکن تصاویر آن‌ها، الگوی باندی تمام نمونه ها، برای هر پرایمر به‌صورت جداگانه رسم گردید. در نتایج Multiplex-PCR نیز مشخص گردید. ۴۱٪ نمونه ها دارای یکی از ژن‌های ویرولانس مورد بررسی بودند.

انجام دیسک دیفیوژن بر روی سویه استاندارد : با توجه به اینکه دیسک های آنتی بیوتیک خریداری شده قبل از استفاده بایستی کیفیت آنها توسط سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳ مورد تائید قرار می گرفت در این تحقیق آزمایش دیسک دیفیوژن با استفاده از دیسک های آنتی بیوتیکی بر روی سویه استاندارد انجام گرفت و نتایج ذیل حاصل شد(جدول ۱).

جدول۴: نتایج حاصل از آزمایش دیسک دیفیوژن بر روی نمونه های استافیلوکوکوس اورئوس استاندارد

آنتی‌بیوتیک‌ها	محتویات دیسک µg	قطر هاله استاندارد(mm) NCCLS)	نتیجه آزمایش‌ها (mm)
کلیندامایسین (CD)	۲	۲۴-۳۰	۲۴
متی‌سیلین (MET)	۱۰	۱۷-۲۲	۲۳

جدول ۵ : نتایج حاصل از آزمایش دیسک دیفیوژن بر روی نمونه های بالینی با سوش‌های استاندارد ناحیه زون آنتی بیوتیک ها برحسب میلی متر نتایج نشان داد که بیشترین مقاومت آنتی بیوتیک مربوط به کلیندامایسین و کمترین مقاومت مربوط به متی‌سیلین می باشد.

ردیف	نوع آنتی بیوتیک	اندازه ناحیه مقاوم (mm)	نیمه حساس(mm)	حساس(mm)
۱	کلیندامایسین (cd)	۱۴	۱۵-۲۰	۲۱
۳	متی‌سیلین (met)	۹	۱۰-۱۳	۱۴

جدول ۶: توزیع فراوانی بر حسب آنتی بیوتیک های سویه های استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده

	مقاوم	نیمه حساس	حساس	
نوع آنتی بیوتیک	فراوانی(تعداد)	فراوانی(تعداد)	فراوانی(تعداد)	
CD	۷	۱۴	۲۱	
MET	۱۳	۱	۳۰	

بحث و نتیجه گیری

استافیلوکوکوس اورئوس عامل طیف وسیعی از عفونت های چرکی نظیر ضایعات پوستی، ادراری، سپتی سمی، پنومونی، تورم مفاصل، مننژیت، اندوکاردیت و مسمومیت غذایی است. با توجه به تحقیقات اپیدمیولوژی شیوع این باکتری بسیار بالا می باشد و بیش از نیمی از مردم جهان به آن مبتلا می باشند [۱۲].

فیروزی و همکاران (۱۳۹۵) نیز به بررسی فراوانی سویه های MRSA و VRSA استافیلوکوکوس اورئوس در میان پرسنل درمانی و بیماران بستری پرداختند.در ۴۴۷ بیمار بستری و پرسنل درمانی، بیمارستان‌های آموزشی شهر ساری استافیلوکوکوس اورئوس با آزمایش‌های تشخیصی جداسازی گردید. سپس مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌ها به روش دیسک دیفیوژن بررسی شد. از روش E-TEST جهت تعیین MIC و شناسایی سویه‌های MRSA استفاده گردید [۱۳].

فراوانی ژن مقاومت mecA در ایزوله‌ها با روش PCR بررسی شد و در نهایت مقاومت القایی کلیندامایسین بررسی گردید. نتایج حاصل از تعیین MIC به روش E-TEST نشان داد که ۳۱/۳۱ درصد ایزوله‌ها مقاوم به متی‌سیلین بودند و ۱۶/۱ درصد ایزوله‌های MRSA دارای مقاومت نسبی به وانکومایسین بوده‌اند. شیوع ژن mecA در ایزوله‌های مقاوم ۹۶/۸ درصد بود. بیش‌ترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۴۵/۵ درصد) و کم‌ترین مقاومت به وانکومایسین (صفر درصد) و آمیکاسین (۱۴/۱ درصد) بود. در بین ایزوله های MRSA، ۹/۱۲ درصد مقاومت القایی به دیسک کلیندامایسین مشاهده شد.

این تحقیق نشان داد که مقاومت نسبتاً بالایی به اریترومایسین، کلیندامایسین، جنتامایسین و سیپروفلوکساسین در بین ایزوله‌های مقاوم به متی سیلین وجود دارد و درصد بالایی از مقاومت چند دارویی در میان ایزوله‌های MRSA مشاهده گردید.

براساس مطالعه سعادت و همکاران در ۱۳۹۵، علی‌رغم مقاومت نسبی به ونکومایسین، این آنتی‌بیوتیک کماکان داروی با ارزشی در درمان MRSA می‌باشد. در مطالعه ای نیز که روی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس انجام شده مشخص شد که بیشترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، ریفامپین، لینزولید و سینرسید (۹۱/۱ درصد) و کمترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۴/۷ درصد) وجود دارد. از ۹ سویه مقاوم به متی‌سیلین، یک ایزوله مقاوم به ونکومایسین و ۲ ایزوله مقاوم به تیکوپلانین و لینزولید بودند [۱۴]. در مان عفونت های حاصل از باکتری های مولد آنزیم های TEM، CTX-M و SHV بسیار مشکل است چون از یک سو مقاومت به طیف وسیعی از سفالوسپورین ها مشاهده می‌شود. بسیاری از ژن های ESBL برروی پلاسمیدهای بزرگی (بیش از ۱۰۰ کیلوباز) قرار دارد که همزمان حامل ژن‌های مقاومت به سایر عوامل ضد میکروبی مثل آمینوگلیکوزیدها، کلرامفنیکل، سولفونامیدها وتتراسایکلین نیز هست. این عفونت‌ها رابطه معنی‌داری با میزان مرگ و میر بیماران داشته و بار مالی زیادی را در پی دارند [۱۵].

در مطالعه حسیبی و همکاران مشاهده شد که با شناسایی ژن bla-CTX-M می توان تا حدی از انتقال این ژن و ایجاد مقاومت های آنتی بیوتیکی جلوگیری نمود .لازم به ذکر است که آنزیم‌های بتالاکتامازی براساس عملکرد در چهار گروه یا چهار کلاس اصلی A،B،C و D طبقه‌بندی می شوند. براساس این طبقه‌بندی، آنزیم‌های SHV, TEM و CTX-M در کلاس A قرار دارند [۱۶]. از سال ۱۹۸۴ که هلیکوباکتر پیلوری به عنوان عامل بیماری های گوارشی شناخته شد و در سراسر جهان توجه زیادی هم در بین محققین و هم پزشکان به این میکروارگانیسم شده است. این باکتری عامل

کارسینوما و لنفوم معده، گاستریت، اولسرهای پپتیک و دیس پپسی می باشد.

سازمان جهانی بهداشت، هلیکوباکتر پیلوری را به دلیل ارتباط آن با آدنوکارسینومای معده و لنفوم MALT به‌عنوان یک عامل سرطانزا از گروه اول طبقه‌بندی کرده است. هلیکوباکترپیلوری به فرم کوکوئیدی در آب وجود دارد و یکی از منابع انتقال این باکتری می باشد. در بیشتر مطالعات بیان شده است که هلیکوباکترپیلوری می‌تواند از منابع محیطی معمولی به ویژه منابع حیوانی و آبهای آلوده انتقال یابد. زیستگاه هلیکوباکترپیلوری در بیشتر موارد به جز سیستم گوارشی، دارای شکل کوکوئیدی باکتری بوده و تشخیص آلودگی تنها با روشهای مولکولی و سرولوژیکی میسر است [۱۷]. هلیکوباکتر پیلوری میکروارگانیسمی است که عامل رایج و پایدارترین عفونت باکتریایی در جهان می‌باشد و معمولا نیمی از جمعیت جهان با آن درگیر هستند. در کشورهای در حال توسعه شیوع این عفونت تا ۹۰ درصد هم می‌رسد در حالی که در کشورهای توسعه یافته به غیر از ژاپن این میزان کمتر از ۴۰ درصد می باشد [۱۸]. با توجه به اهمیت بالای تفاوت ژنوتیپی ژن cagA هلیکوباکترپیلوری در توانایی بیماری زایی ، یکی از مهمترین مباحث در رابطه با بیماری زایی این باکتری، شناخت هرچه بهتر این ارگانیسم و عوامل دخیل در پاتوژنز آن می باشد. حضور ژنcagA در بسیاری از جمعیت های انسانی در ارتباط با بیماری های گوارشیPUD گزارش شده است و این ژن توانایی بیشتری جهت لانه گزینی و تخریب بافتی و التهاب بافتی به سویه حامل می بخشد. زیستگاه هلیکوباکتر پیلوری لایه موکوس معده است که این باکتری به کمک تاژک و آنزیم اوره آز از سد اسیدی معده عبور کرده و با کمک عوامل چسبندگی مانند BabA و SabA به سلول های اپیتلیال معده متصل شده، با استفاده از عوامل حدت باکتری مانند ژن مرتبط با سیتوکسین (cag) و سیتوکسین واکوئل زا (vacA) موجب التهاب معده، گاستریت و متعاقبا بیماری هایی نظیر زخم معده، زخم دوازدهه، سرطان معده و لنفوم می شود [۱۹]. بنابراین شناسایی دقیق مکانیسم بیماری جهت درمان بهتر بیماری از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد. پروتئین های سطحی از ویژگی های هر باکتری می باشد. در ارتباط با هلیکوباکتر پیلوری پروتئین هایی شناسایی شده اند که نقش مهمی در بقای آن دارند. یکی از آن ها پروتئین ترشح کننده اوره آز می باشد که در رنگ آمیزی منفی و روش سایه زنی به صورت جفت و تتراد کنار هم مشاهده شده اند. [۲۰]

هلیکوباکتر پیلوری دارای عوامل حدت متعددی می باشد که حضور این عوامل حدت متفاوت منجر به تظاهرات بالینی متفاوتی می شود. ژن VacA نفوذپذیری اپیتلیوم معده به اوره را افزایش داده محیط مناسبی جهت ایجاد عفونت برای باکتری فراهم می سازد. cagA خود به تنهایی سیتوتوکسین زا نمی باشد اما حضور آن جهت بیان ژن vacA ضروری می باشد [۲۱]. یکی دیگر از ژن های حدت این باکتری ژن hrgA می باشد که در ترشح اینترلوکین ۸ و القای آپوپتوز در سلولهای اپی تلیال معده موثر می باشد. شناسایی این ژن ها در پیش بینی حدت و نوع بیماری زایی موثر می باشد به طوری که در مطالعات قبلی بین حضور این ژن ها و اولسرهای پپتیک و کارسینومای معده رابطه مستقیمی وجود داشت [۲۲]. در نتیجه آنکه با توجه به خطر بالا و روز افزون ابتلا به بیماری‌های گوارشی در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه بررسی عوامل ایجاد کننده بسیار حائز اهمیت می باشد. هلیکوباکترپیلوری عامل باکتریایی ایجاد کننده زخم معده، زخم دوازدهه و سرطان معده، افزایش شیوع ژنهای مهم مانند cagA و متغیرهای تاثیر گذار آن قابل توجه می باشد. تاثیر این ژن و ژنهای دیگر همچون hrgA و dupA در سرعت تخریب بافتی و ایجاد التهاب در روند مزمن شدن بیماری امروزه بسیار گزارش می گردد. با توجه به یافته های مطالعه حاضر می توان با بررسی ژنوتیپ hrgA و انواع موتیف cagA قدرت مزمن شدن بیماری را پیش بینی نمود واز الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی مرتبط جهت طراحی پروتوکل درمانی مناسب بهره برد، به صورتی که شکست درمانی در مرحله اول کاهش یافته و با تشخیص به موقع بیماری و سویه ایجاد کننده می توان با استفاده از برنامه دارویی مناسب جهت ریشه کنی بیماری اقدام نمود و مانع ورود عفونت به مرحله مزمن شد.

نتایج نشان دهنده درصد بالای فراوانی ژن های مقاومت مانند mecA و fem و nuc است که با مقاومت آنتی‌بیوتیکی رابطه مستقیم دارد، با این حال حضور این ژنها و رابطه آن ها با میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت مستقیم دارد. مقاومت بالای استافیلوکوک اورئوس به آنتی‌بیوتیک ها بسیار نگران کننده است، زیرا کنترل و درمان این باکتری را مشکل می سازد. فراوانی سویه

های مقاوم به متی سیلین در کارکنان ر ستورانها قابل توجه و رو به افزایش ا ست. با توجه به اپیدمی های نا شی از ا ستافیلوکوک مقاوم نحوه شناسایی و کنترل عفونت در کارکنان رستوران ها بسیار حائز اهمیت می باشد. درمان مناسب در عفونت های استافیلوکوکی ،انتخاب یک آنتی بیوتیک با کارایی بالا و ارزان می‌باشد و با توجه به افزایش روزافزون مصرف آنتی بیوتیک و متعاقب آن افزایش مقاومت‌های آنتی بیوتیکی،در مناطق مختلف دنیا مطالعه بررسی مقاومت های آنتی بیوتیکی این باکتری ضروری به نظر می رسد بنابراین در این مطالعه بررسی مقاومت دارویی سویه‌های جدا شده استافیلوکوکوس اورئوس و هلیکوباکتر پیلوری از رستوران انجام شد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر مطالعه مستقلی در حیطه میکروب شناسی بوده و بدون هیچ گونه حمایت مالی صورت گرفته ودر نهایت از کارکنان آزمایشگاه تحقیقاتی پاسارگاد و از حمایت و راهنمایی‌های کلیه عزیزانی که در انجام این پژوهش دخیل بوده اند کمال تشکر و امتنان را دارم.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می دارند که در این مطالعه هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود نداشته است.

References

1. Fu X-j, Fang Y, Yao M. Antimicrobial photodynamic therapy for methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection. BioMed research international 2013:263-289.
2. Pierce R, Lessler J, Popoola VO, Milstone AM. MRSA acquisition risk in an endemic NICU setting with an active surveillance culture and decolonization program. The Journal of hospital infection 2017;95(1): 91.
3. Pierce R, Lessler J, Popoola VO, Milstone AM. Meticillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) acquisition risk in an endemic neonatal intensive care unit with an active surveillance culture and decolonization programme. Journal of Hospital Infection 2017;95(1): 91-7.
4. Zhang L-j, Guerrero-Juarez CF, Hata T, et al. Dermal adipocytes protect against invasive Staphylococcus aureus skin infection. Science 2015;347(6217): 67-71.
5. Turner RD, Hurd AF, Cadby A, et al. Cell wall elongation mode in Gram-negative bacteria is determined by peptidoglycan architecture. Nature communications 2013;4(1): 1-8.
6. Nguyen TH, Mallepally N, Hammad T, et al. Prevalence of Helicobacter pylori positive non-cardia gastric adenocarcinoma is low and decreasing in a US population. Digestive diseases and sciences 2020;65(8): 2403-11.
7. Tongtawee T, Wattanawongdon W, Simawaranon T. Effects of periodontal therapy on eradication and recurrence of Helicobacter pylori infection after successful treatment. Journal of International Medical Research 2019;47(2): 875-83.
8. Urrutia-Baca VH, Gomez-Flores R, De La Garza-Ramos MA, et al. Immunoinformatics approach to design a novel epitope-based oral vaccine against Helicobacter pylori. Journal of Computational Biology 2019;26(10): 1177-90.
9. Elyasi B, Rezaie A, Bakhtiari NM, Mosallanejad B. Helicobacter genus in the intestine and liver of stray cats: the molecular, histopathological, and immunohisto-chemical study. Brazilian Journal of Microbiology 2020;51(4): 2123-32.
10. Paiva I. PRESENÇA DE HELICOBACTER SPP. EM CÃES HÍGIDOS. Revista Científica de Medicina Veterinária do UNICEPLAC 2021;6(1): 39-46.
11. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology-e-book: Elsevier Health Sciences; 2018.
12. Sahar Khalili Dizabadi, Hamid Reza Goli, Mohammad Ahanjan, et al. Frequency of enterotoxin A and B genes in Staphylococcus aureus strains isolated from hospitalized patients, medical staff and kitchen staff of Sari teaching hospitals.1397. 28(165): 159-164.
13. Firoozi, Akhtar, Nasrallah, Respected. Prevalence of M RSA and VRSA strains of Staphylococcus aureus among medical staff and hospitalized patients. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences (JMUMS) 2016;26(142): 53-89.
14. Saadat S, Solhjoo K, Norouz-nejadfard M J, Kazemi A, Rouhi R, Mardaneh J. The frequency of Staphylococcus aureus among Shiraz hospital personnel and determination of their antibiotic sensitivity pattern. Iran South Med J. 2014; 17 (5) :916-926.
15. Sara Saadat, Kaus Solhjoo, Mohammad Javad Norouzenjad et al .Pattern of Staphylococcus aureus resistance to vancomycin in clinical specimens (Shiraz hospitals) .Medical Laboratory Journal;8(4): 1-6.
16. Hosseibi Mehrdad , Babak Mohajeri Ravani, Seifi Mahnaz, Jafari Sirous, Hadizadeh Nissan Ghalb Mohammad, Saadat Amoli Bazman .Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Amiralam Hospital 1386. 1(1): 71-72.

17. Tegtmeyer N, Backert S. Molecular Pathogenesis and Signal Transduction by Helicobacter pylori: Springer; 2017.

18. Takahashi-Kanemitsu A, Knight CT, Hatakeyama M. Molecular anatomy and pathogenic actions of Helicobacter pylori CagA that underpin gastric carcinogenesis. Cellular & molecular immunology 2020;17(1) :50-63.

19. Guevara B, Cogdill AG. Helicobacter pylori: a review of current diagnostic and management strategies. Digestive Diseases and Sciences 2020;65(7): 1917-31.

20. Azami M, Baradaran HR, Dehghanbanadaki H, et al. Association of Helicobacter pylori infection with the risk of metabolic syndrome and insulin resistance: an updated systematic review and meta-analysis. Diabetology & Metabolic Syndrome 2021;13(1): 1-18.

21. Mejías-Luque R, Lozano-Pope I, Wanisch A, et al. Increased LIGHT expression and activation of non-canonical NF-κB are observed in gastric lesions of MyD88-deficient mice upon Helicobacter felis infection. Scientific reports 2019;9(1): 1-9.

22. Chung WC, Jeon EJ, Oh JH, et al. Dual-priming oligonucleotide-based multiplex PCR using tissue samples from the rapid urease test kit for the detection of Helicobacter pylori in bleeding peptic ulcers. Digestive and Liver Disease 2016;48(8): 899-903.

AUMJ Alborz University of Medical Sciences Journal

Alborz University of Medical Sciences Journal, Summer 2023, Vol. 12, No. 3: 229 - 242 *Original Article*

Ali Jamilzadeh [1], Alireza Fathipour [1],Ali Shamsizadeh meimandi[2], Hossein Fattahi [3*], Ehsan Estabarghi [4], Ali Asadi[2]

[1-] Graduated doctorate in veterinary medicine, clinic department, faculty of veterinary medicine, Kazerun branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

[2-] Graduated with a professional doctorate in veterinary medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Baft Unit, Islamic Azad University, Baft, Iran.

[3-] Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

[4-] Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrbabak Branch, Shahrbabak, Iran.

***Corresponding Author:**

Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

09177115167
iranian_vet@yahoo.com

Comparative evaluation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection and carriers of *Helicobacter pylori* in restaurant staff

Received: 20 Jun 2022 ; Accepted: 5 Sep 2023

Abstract

Background: *Staphylococcus aureus* is the most important human pathogen. *Staphylococcus aureus* is considered as a coagulase-producing strain and has extensive enzymatic and toxin activity. The nostrils and perineum are the major centers of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermis*. *Helicobacter pylori* is the most common human infectious disease, causing gastric infections in more than 50% of people worldwide. The aim of this study was to compare the incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus* aureus and *Helicobacter pylori* carriers in restaurant staff.

Methods: The present study is a descriptive cross-sectional study that was taken from the nasal swab and the palm of the hand to take samples and the food preparation department (restaurant kitchen) as well as the feces of 54 employees located in the active restaurant in Tehran with Gathering age, sex, history of gastrointestinal disease and previous occupation were collected. The culture medium used was Müller Hinton Agar (Merck-Germany) which was prepared according to the instructions and the discs purchased from Hi media (Himedia India) were quality controlled. DNA extraction from fecal samples was performed using Sinagen commercial kit according to the instructions provided by the kit and Multiplex PCR test was used to identify vacA, cagE, cagT, cagA and hrgA genes as well as BlaCTX-M, 16SrRNA and mecA.

Results: In this study, the results of antibiogram from 54 cases of coagulase positive and negative staphylococcal infections and Helicobacter pylori infection were evaluated. Percentage of resistance of each of the different isolates to antibiotics used as gentamicin 11%, amikacin 21%, oxacillin 48%, penicillin 67%, ciprofloxacin 19%, erythromycin 49%, methicillin 79%, and tetracycline 24%. Percentage of resistance of different isolates was seen.

Conclusion: Considering the high prevalence of *Helicobacter pylori* in people working with clinical signs of enteritis, gastric infection, it can be stated that *Helicobacter pylori* has an important role in causing enteritis and as a carcinogen in the studied samples. Due to the presence of bacteria that can be transmitted to others, it is necessary to identify and treat human carriers.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, Restaurant, Antibiotic resistance