الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی *سالمونلا تیفی موریوم* جدا شده از شیرهای خام و پنیرهای سنتی

مریم مظهری دهکردی [1]، مجتبی بنیادیان*[1] ، حمدالله مشتاقی[1]

۱. گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

*نویسنده مسئول: *boniadian@sku.ac.ir*

تاریخ دریافت۱۴۰۱/۱۰/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۰۱

چکیده

باکتری سالمونلا از جمله باکتری‌های بیماری‌زای است که می‌تواند در غذا و مواد اولیه غذایی راه پیدا کند. وجود این باکتری در مواد غذایی علاوه بر ایجاد بیماری باعث افت کیفیت تولید و کاهش رشد اقتصادی کشور نیز می‌شود. شیر و فراورده های آن از جمله مواد غذایی هستند که هم به‌طور اولیه و هم به‌طور ثانویه توسط کارکنان، آب و .. آلوده شده و به انسان انتقال می دهند. در این مطالعه، تعداد ۱۰۰ نمونه شیرخام و ۵۰ نمونه پنیر سنتی از نقاط مختلف استان چهارمحال و بختیاری جهت جداسازی و شناسایی باکتری سالمونلا در شیرخام و پنیرهای سنتی با استفاده از آزمون‌های میکروب شناسی و آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از پرایمرهای InvA، IE و FliCe مورد آزمایش قرار گرفتند. همچنین مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌های سالمونلا به روش دیسک انتشاری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمون‌های میکروبی نشان داد که ۷ نمونه مشکوک آلوده به سالمونلا، ۵ نمونه از شیر خام و ۲ نمونه از پنیرهای سنتی بودند. در آزمون PCR تعداد ۳ نمونه از موارد مشکوک شیرخام (۳ درصد) و ۱ نمونه از موارد مشکوک پنیر سنتی (۲ درصد) *سالمونلا تیفی موریوم* بودند. نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام روی جدایه‌های سالمونلا نشان داد بیش‌ترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و سیپروفلوکساسین و بیش‌ترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، تتراسایکلین و تری‌متوپریم سولفامتوکسازول وجود دارد. بر اساس نتایج شیرهای خام و پنیرهای سنتی آلوده به باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* بوده که نسبت به برخی از آنتی بیوتیکهای رایج در درمان عفونت با این باکتری مقاوم هستند. لذا بررسی فراورده های لبنی سنتی بخصوص پنیر از نظر پیشگیری از بروز بیماری در انسان بیش از پیش ضروری به نظر می رسد.

کلید واژه‌ها: سالمونلا، شیرخام، پنیر سنتی، PCR، مقاومت آنتی‌بیوتیکی.

مقدمه

شیر و فرآورده‌های آن از هزاران سال پیش در ردیف مهم-ترین مواد غذایی تامین کننده‌ی نیازهای بشری بوده‌اند و در بین غذاهای متعدد با منشا حیوانی و گیاهی از جایگاه خاصی برخوردارند و از گروه‌های اصلی در تغذیه‌ی انسان به شمار می‌روند. چربی شیر در میان چربی‌ها و روغن‌های رژیمی دارای بیش‌ترین قابلیت هضم می‌باشد، همچنین پروتئین آن اسیدهای آمینه‌ی ضروری مورد نیاز بدن را تا حد زیادی مرتفع ساخته و مواد معدنی شیر در تامین مقادیر کلسیم و فسفر مورد احتیاج بدن بسیار تاثیرگذار می‌باشند و از آن‌جایی که شیر غذایی تقریبا کامل و دارای کلیه‌ی عناصر لازم به‌صورت متعادل می‌باشد بدیهی است که مورد حمله‌ی میکروب‌ها قرار می‌گیرد(توکلی،۱۳۸۷). شیر و فرآورده‌های آن علاوه بر داشتن ارزش غذایی فوق العاده در پیشگیری بسیاری از بیماری‌ها نیز نقش موثری دارند به عنوان مثال پنیر که یکی از مهم‌ترین پدیده‌های بشری است، در تغذیه و تامین نیازهای جسمی بدن سهم به‌سزایی دارد و امروزه علیرغم رشد صنایع لبنی و توسعه-ی کارخانجات پنیرسازی بسیاری از تولیدکنندگان این

محصول لبنی در سراسر دنیا علاقه به حفظ روش‌های تولید سنتی خود را دارند و همچنین مصرف پنیر سنتی در بسیاری از نقاط دنیا و از جمله کشور ایران رایج می‌باشد(Razavilar,2003). نکته ی حائز اهمیت اینجاست که بخاطر تاثیر نامطلوب حرارت بر روی فاکتورهای انعقادی شیر ، تولیدکنندگان پنیر سنتی عمدتا حرارت مناسب پاستوریزاسیون را بکار نمی‌برند و از آنجایی که شیر دارای رطوبت بالایی است و pH طبیعی آن مناسب جهت رشد اکثر میکروارگانیسم‌ها است به راحتی می‌تواند محیط مناسب جهت تامین مواد مغذی مورد نیاز میکروارگانیسم‌ها و تکثیر آن‌ها را فراهم کند(Pavlov,2004). آلودگی مواد غذایی از جمله شیر یکی از مشکلات مهم در جوامع بشری است که با افزایش جمعیت جهان نیز بسیار گسترده‌تر می‌شود و آثار بسیار مخربی بر سلامت و اقتصاد کشورها دارد(Weinberger,2006). یکی از علل آلودگی مواد-غذایی وجود باکتری‌ها و یا سم حاصل از آنها در مواد غذایی بوده که باعث آلودگی و غیر قابل مصرف شدن آن-ها می‌شود(Razavilar,2003). باکتری‌های بیماری‌زا قادرند از طریق غدد پستانی، مدفوع و سایر ترشحات دام آلوده و یا فاقد نشانه‌های بالینی همچنین فعالیت‌های انسانی منتشر شده و نیز از طریق صنایع محیطی و وسایل آلوده باعث آلودگی شیر و فرآورده‌های آن از جمله پنیر سنتی شوند(Forbe Forbes,2007.).

شیر به علت مایع بودن و غنی بودن از مواد مغذی از فساد پذیرترین مواد غذایی محسوب می‌شود. بنابراین مصرف شیرخام و فرآورده‌های آن بارها با بیماری‌های منتقله از راه غذا به ویژه سالمونلا مرتبط شده‌اند. سالمونلا یک باکتری میله‌ای گرم منفی است که در خانواده‌ی انتروباکتریاسه‌ها (Entrobacteriacea) طبقه بندی می-شود. سالمونلاها سالیان درازی است که به عنوان عامل بیماری روده‌ای شناخته شده‌اند و مهم ترین عامل مسمومیت غذایی گزارش شده‌اند(Razavilar,2003). گاوهای شیری از مخازن طبیعی برای سالمونلا به حساب می‌آیند که این مسئله می‌تواند موجب بیماری در انسان از طریق مصرف مواد غذایی با منشا حیوانی باشد. سالمونلاها، به خصوص انواع غیر از سالمونلا تیفی‌موریوم، پیش از پیش باعث عفونت غذایی می‌شوند و شیر فقط مسئول چند مورد شیوع و تک‌گیری عفونت شناخته شده است. ممکن است ماده گاوی که مبتلا به شکل بالینی سالمونلوز (اسهال، بی‌اشتهایی و غیره) باشد سالمونلا را در شیر دفع نماید ولی در اکثر موارد، آلودگی به‌وسیله مدفوع حیوانات بیمار یا حامل انتقال می‌یابد. گاهی اوقات عفونت در دامداری‌ها و در محیط اطراف حیوانات از راهی غیر از مدفوع دام‌ها، مثلا از راه علوفه، فضولات جوندگان، گرد و غبار، وسایل شیردوشی و یا کارگرانی که شیر را دستکاری می‌نمایند، طیور، مگس یا کنه‌ها انتقال یابد. آلودگی به-طور غیرمستقیم از طرق دیگر نیز امکان‌پذیر است. مایه پنیر (بامنشاء حیوانی) که در تهیه پنیر از آن استفاده می-شود، می‌تواند باعث آلودگی شود (Espinal,2001). از لحاظ شرایط رشد، این میکروارگانیسم‌ها باکتری‌هایی انعطاف پذیر بوده و به آسانی با شرایط محیطی خود را هماهنگ می‌کنند. این جنس از میکروارگانیسم‌ها به حرارت حساس هستند و در درجه حرارت‌های پایین امکان بقای آن‌ها بیش‌تر است (Kim,2013 و Weinberger,2006) همه ساله شیرخام و پنیرهایی که تحت تیمار حرارتی مناسب قرار نگرفته‌اند از دلایل ابتلا به سالمونلوزیس در بسیاری از کشورها به خصوص کشورهای در حال توسعه می‌باشند (Gast,2003). با وجود تلاش-های قابل توجهی که برای بهداشت، تولید و فرآوری شیر و فرآورده‌های آن اتخاذ شده وجود آلودگی‌های سالمونلایی اجتناب ناپذیر بوده و به همین دلیل اکثر مصرف‌کنندگان در معرض آلودگی ناشی از مصرف شیر خام و پنیر سنتی می‌باشند (Van kessel,2003). از طرفی در دهه‌های اخیر استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان دام ها موجب مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های بیماری زا شده است که می‌تواند نهایتا با انتقال ژن‌های مقاومت به باکتری‌های دیگر سبب ایجاد

مقاومت در آن‌ها نیز شود. گزارش‌های متعددی از مقاومت سالمونلا به آنتی‌بیوتیک‌ها در سراسر دنیا به ثبت رسیده است. بر این اساس در این مطالعه شیوع سالمونلا در شیرخام و پنیرهای سنتی تولید شده در استان چهارمحال و بختیاری و بررسی ژن‌های حدت سالمونلاهای جدا شده و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است.

روش کار

نمونه گیری

در این مطالعه تعداد ۱۰۰ نمونه از شیرهای خام و ۵۰ نمونه پنیر سنتی عرضه شده در بازارهای استان چهارمحال و بختیاری در طی مدت زمان چهار ماه (خرداد تا شهریور) سال ۱۴۰۱ بطور تصادفی از مناطق مختلف استان شامل شهرکرد، کیان، فرخشهر، هفشجان، فارسان، چالشتر، بروجن، حاج کهوا اخذ شد. نمونه‌ها در کنار ژل یخ و در دمایی حدود ۴ تا ۶ درجه سلسیوس و در ظروف مخصوص(Coolbox) به آزمایشگاه منتقل شدند (Sanjuan,2003; Karim,2008).

کشت نمونه‌ها و جداسازی سالمونلا

پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، ابتدا نمونه ها در مجیط مایع پیش غنی‌کننده آب پپتونه بافری(Buffered Peptine Water) کشت داده شد. نمونه شیر/پنیر مورد نظر را با شیکر مخلوط و پس از یکنواخت شدن ۲۵ میلی-لیتر از نمونه مورد نظر را با ۲۲۵ میلی‌لیتر مایع پیش غنی‌کننده آب پپتونه بافری مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه با دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد. در مرحله بعد از محیط راپاپورت واسیلیادیس به عنوان محیط غنی کننده انتخابی استفاده شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر از محیط پیش غنی شده به محیط عنی کننده انتخابی افزوده و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در گرمخانه به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. پس از این محیط بریلیانت گرین آگار(Brilliant Green Agar) به عنوان محیط کشت جامد انتخابی استفاده شد. جهت کشت و شناسایی باکتری یک حلقه از کشت حاصل از لوله‌های حاوی راپاپورت واسیلیادیس بر روی سطح محیط بریلیانت گرین آگار به‌صورت خطی کشت داده شد. پلیت‌ها به‌صورت برعکس و وارونه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. کلنی‌های سیاه رنگ رشد کرده بر روی این محیط برای مرحله‌ی افتراقی انتخاب شدند. برای این منظور از محیط‌های سه قندی آهن‌دار، آگار لیزین حاوی آهن، سیمون سیترات و اوره آگار استفاده شد(Rambach,1990). به‌منظور تایید کلنی‌های مشکوک به سالمونلا از روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی استفاده شد.

استخراج DNA باکتری

ابتدا کلنی‌های مشکوک در محیط کشت TSB (Tryptic Soy Broth) کشت داده، پس از کشت باکتری برای استخراج DNA، از روش Boiling یا جوشاندن استفاده شد. در این روش ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر را با مقداری از کلنی رشد کرده در آگار، در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری ترکیب کرده به‌طوری که کدورتی معادل کدورت استاندارد نیم مک‌فارلند به‌دست آمد. پس از این مرحله میکروتیوپ به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه و در حمام آب با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از آن به مدت ۵ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید و مایع بالایی آن جدا و در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

آزمون PCR

آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای invA، IE، Flic انجام شد (جدول ۱). برای این منظور ۱۲ میکرولیتر از مسترمیکس را با ۲ میکرولیتر پرایمر و ۱ میکرولیتر DNA استخراج شده و ۱۵ میکرولیتر آب دیونایز استریل مخلوط کرده(مجموع ۲۵ میکرولیتر) و در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد. سیکل‌های حرارتی در آزمون PCR در جدول شماره ۲ آورده شده است.

چرخه حرارتی به تعداد ۳۰ سیکل تکرار شد.

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی باکتری سالمونلا

Primer	Primer sequence 5' → 3'	Amplify (bp)	Annealing T(°C)	Salmonella
inv-A forward	CGGTGGTTTTAAGCGTAC TCTT	796	55	*S. typhimorium*
inv-A reverse	CGAATATGCTCCACAAGGTTA			
IE-1 forward	AGTGCCATACTTTTAATGAC	316	51	*S. enteritidis*
IE-1 reverse	ACTATGTCGATACGGTGGG			
Flic-C forward	CCCGCTTACAGGTGGACTAC	432	57	*Salmonella sp.*
Flic-C reverse	AGCGGGTTTTCGGTGGTTGT			

جدول ۲- سیکل‌های حرارتی در آزمون PCR (درجه سلسیوس)

	واسرشت اولیه	چرخه واسرشت	اتصال پرایمر	گسترش	گسترش نهایی
InvA	۹۵	۹۴	۵۵	۷۲	۷۲
	۵ دقیقه	۶۰ ثانیه	۶۰ ثانیه	۶۰ ثانیه	۶ دقیقه
FliCe	۹۵	۹۴	۵۷	۷۲	۷۲
	۵ دقیقه	۶۰ ثانیه	۶۰ ثانیه	۶۰ ثانیه	۶ دقیقه
IE	۹۵	۹۴	۵۱	۷۲	۷۲
	۵ دقیقه	۶۰ ثانیه	۶۰ ثانیه	۶۰ ثانیه	۶ دقیقه

پس از آماده سازی محصول، ۵ میکرولیتر از محصول با ۱ میکرولیتر لودینگ بافر ترکیب و درون چاهک‌های ژل آگارز ۱ درصد وارد شد. الکتروفورز ژل با ولتاژ ۱۰۰، به مدت ۴۵ تا ۵۰ دقیقه در بافر TBE انجام شد. پس از این مرحله ژل توسط ژل رد رنگ آمیزی و توسط دستگاه ژل داک مورد بررسی قرار گرفت(Zahraei,2007).

سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه های سالمونلا

برای این منظور از روش دیسک انتشاری در محیط مولر هینتون آگار استفاده شد. ابتدا جدایه های سالمونلا در محیط نوترینت براث تلقیح و سپس به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند، بعد از گذشت ۲۴ ساعت نمونه‌های رشد کرده در محیط نوترینت براث به سرم فیزیولوژی استریل انتقال داده و کدورت آن‌ها با استاندارد ۰/۵ مک فارلند تنظیم شد. سپس با سوآپ آزمایشگاهی استریل به صورت جداگانه در محیط مولر هینتون آگار (Mueller Hinton Agar) به صورت چمنی کشت داده و دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفکسیم(CFM5)، سیپروفلوکساسین(CP5)، تتراسایکلین(TE30)، جنتامایسین(GM10)، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول(SXT25) و آمپی‌سیلین(AM10) برای هر نمونه بطور جداگانه مورد استفاده قرار گرفت(۱۳). پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شده و سپس قطر هاله عدم رشد باکتری توسط کولیس اندازه گیری شد. نتایج با استاندارد تدوین شده CLSI مورد مقایسه و به سه گروه حساس، مقاومت متوسط و مقاوم دسته بندی شدند(Cockerill,2012).

آنالیز آماری داده ها

داده های بدست آمده از آزمون‌ها به روش توصیفی توسط نرم افزار Sigma stat 4 و Exel مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و در قالب جداول و شکلها ارائه شدند.

نتایج

نتایج کشت و جداسازی سالمونلا

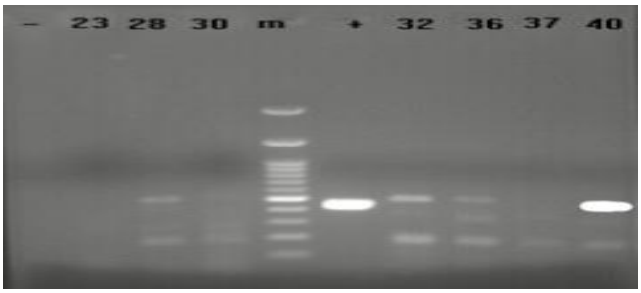
نتایج آزمایشات میکروبی و بیوشیمیایی بر روی ۱۰۰ نمونه شیرخام و ۵۰ نمونه پنیر نشان داد که ۷ نمونه کشکوک به آلودگی به باکتری سالمونلا هستند. از این تعداد ۵ مورد به شیر خام و ۲ مورد به پنیر تعلق داشت (جدول ۱).

نتایج آزمون PCR

نتایج آزمون PCR با استفاده از پرایمر Flic-C نشانگر این بود که از هفت جدایه مشکوک فقط چهار جدایه باکتری سالمونلا بوده، که سه جدایه (۳ درصد) متعلق به شیر خام و یک جدایه از پنیر (۲ درصد) بودند. (جدول ۳)، (شکل‌های ۱و ۲) همچنین نتایج آزمون‌های ملکولی با استفاده از پرایمر inv-A نشان داد که همه جدایه‌ها *سالمونلا تیفی موریوم* بودند.

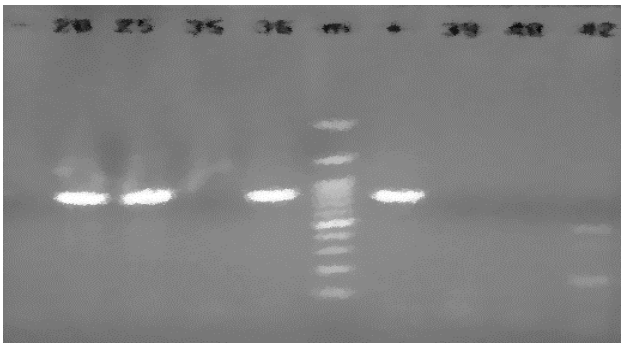
جدول ۳- نتایج آزمون‌های میکروبی و مولکولی برای شناسایی و تایید سالمونلا از شیرخام و پنیرهای سنتی

فراورده	تعداد نمونه (درصد)	موارد مشکوک	موارد مثبت PCR
شیر خام	۱۰۰	۵	۳(۳)
پنیر سنتی	۵۰	۲	۱(۲)
جمع	۱۵۰	۷	۴(۲/۶۷)



شکل ۱- شناسایی باکتری سالمونلا به روش PCR، با پرایمر Flic

M: مارکر(100bp)، + : کنترل مثبت، - : کنترل منفی



شکل ۲- شناسایی باکتری سالمونلا تیفی موریوم به روش PCR، با پرایمرInvA

M: مارکر(100bp)، + : کنترل مثبت، - : کنترل منفی

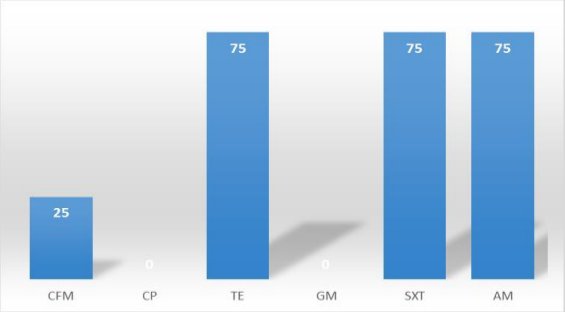
نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام

برای تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی روی جدایه های سالمونلا آزمون آنتی‌بیوگرام به روش دیسک انتشاری انجام شد. نتایج بدست آمده از اندازه گیری قطر هاله‌ی عدم رشد با استفاده از جدول CLSI تفسیر شدند. نتایج نشان داد مقاومت جدایه ها به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی-سیلین، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول و تتراسایکلین ۷۵ درصد و به سفکسیم ۲۵ درصد بود. این در حالی است که جدایه ها هیچ گونه مقاومتی نسبت به آنی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و جنتامایسین نشان ندادند. در میان

آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در این مطالعه بیش‌ترین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و سیپروفلوکساسین و بیش‌ترین مقاومت نسبت به آنتی-بیوتیک‌های تتراسایکلین، آمپی‌سیلین و تری‌متوپریم سولفامتوکسازول مشاهده شد. (جدول ۴ و شکل ۱).

جدول ۴- مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های سالمونلا از شیرخام و پنیرهای سنتی

	AM (درصد)	SXT (درصد)	GM (درصد)	TE (درصد)	CP (درصد)	CFM (درصد)
مقاوم	۳(۷۵)	۳(۷۵)	۰(۰)	۳(۷۵)	۰(۰)	۱(۲۵)
نیمه حساس	۱(۲۵)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۳(۷۵)	۱(۲۵)
حساس	۰(۰)	۱(۲۵)	۴(۱۰۰)	۱(۲۵)	۱(۲۵)	۲(۵۰)



شکل ۳- مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های سالمونلا از شیرخام و پنیرهای سنتی

بحث

بیماری‌های منتقله از طریق غذا یا مسمومیت‌های غذایی در سراسر جهان یکی از مشکلات رو به رشد در زمینه‌ی سلامت عمومی می‌باشد و باعث عوارض شدید و حتی مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه می‌شود. تخمین بروز بیماری‌های مرتبط با مواد غذایی دشوار است اما براساس گزارش و آمار ارائه شده توسط WHO سالانه ۱/۸ میلیون نفر از مردم به دلیل بیماری-های مربوط به دستگاه گوارش از جمله اسهال که اغلب ناشی از مصرف آب آشامیدنی و غذای آلوده است جان خود را از دست می دهند. استافیلوکوک‌ها، کلیفرم‌ها و باکتری‌های اسپوردار و سایر باکتری‌های گرم منفی می-توانند از سطح خارجی پستان و سر پستانک‌ها، وسایل و محیط، بستر و آب وارد شیر خام شوند(Perkins,2009). همچنین وارد شدن مدفوع در شیر نیز می‌تواند از دلایل مهم آلودگی شیر به باکتری سالمونلا باشد(Huston,2002). در مطالعه‌ی انجمن ملی کنترل سلامت حیوانات ایالات متحده از نمونه‌های جمع‌آوری شده از مخازن حمل شیر بررسی‌هایی روی شیرهای خام وجود سالمونلا در شیرخام را تایید کرده است(Draughon,1992). در مطالعه‌ی حاضر نیز به بررسی وجود یا عدم وجود سالمونلا در نمونه‌های شیرخام جمع‌آوری شده از نقاط مختلف استان چهارمحال و بختیاری به هر دو روش کشت و PCR پرداختیم که نتایج نشان از وجود سالمونلا در شیرهای جمع‌آوری شده دارد که با نتایج این مطالعه همخوانی دارد. همچنین Vankessel و همکاران در سال ۲۰۰۴ نیز به همین موضوع پرداخته‌اند که نتایج آن در شمارش کلی نشان از وجود باکتری‌های مختلف داشت و همچنین در جداسازی سالمونلا با تکنیک کشت نتایج اولیه بیانگر ۲/۶ درصد آلودگی شیر خام به سالمونلا بود. ولی با استفاده از روش PCR مستقیم از شیرخام مشخص شد که ۳/۳ درصد از نمونه‌های شیر آلوده به باکتری سالمونلا هستند که تفاوت تشخیص به‌وسیله روش کشت و روش PCR را بیان می-کند. Vankessel و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که در بسیاری از نمونه‌های جمع‌آوری شده از مخازن حمل شیر تعداد باکتری سالمونلا بسیار کم بوده و همچنین از روش کشت، باکتری سالمونلا بسیار کم جدا شده است(Van kessel,2004)، که نتایج مطالعه‌ی مذکور با یافته‌های تحقیق حاضر مشابه می‌باشد. Murinda و همکاران در سال ۲۰۰۲ در ایالات تنسی

آمریکا در بین ماه‌های سپتامبر و دسامبر از مخازن حمل شیر ۳۰ مزرعه نمونه‌گیری کردند که با استفاده از روش PCR، ۲/۲۴ درصد از آن‌ها باکتری سالمونلا تشخیص داده شدند(Murinda,2002)، که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی دارد. Jayarao و همکاران در سال ۲۰۰۱ از ۱۳۱ مزرعه در شرق و جنوب ایالت داکوتا و غرب ایالت مینه‌سوتا در ایالات متحده، نمونه‌گیری انجام دادند که ۶/۱ درصد از آن‌ها به باکتری سالمونلا آلوده بودند، این مطالعه بیان‌گر این موضوع که نمونه‌گیری مستقیم از مزارع احتمال جداسازی سالمونلا را نسبت به مخازن حمل شیر افزایش می‌دهد(Jayarao,2001)، که به نتایج مطالعه‌ی حاضرنزدیک می‌باشد.Giacometti و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی شیر تولیدی ۳۳ مزرعه مطالعه و بررسی انجام دادند به این صورت که از ۲۱۱ مخزن حمل شیر، نمونه‌گیری و از هر دو روش کشت و روش PCR استفاده کردند، در این تحقیق با استفاده از روش کشت نمونه‌ای پیدا نشد ولی با استفاده از روش PCR تنها یک نمونه مثبت شد که در کل ۱/۰۱ درصد از نمونه‌ها آلوده به باکتری سالمونلا بودند (Giacommeti,2012)در مطالعه‌ی حاضر به هر دو روش کشت و PCR از نمونه‌ها سالمونلا جدا شد. Oliver و همکاران در سال ۲۰۰۵ روی پاتوژن‌های غذازاد در شیر مطالعه‌ای را انجام دادند که نتایج مطالعات آن‌ها این موضوع را بیان می‌کرد که میزان شیوع باکتری سالمونلا در شیرخام، بخش کوچکی از بیماری‌های ناشی از آلودگی مواد غذایی را شامل می‌شود(Oliver,2005) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر همخوانی دارد، هرچند آلودگی شیرخام و محصولات آن دارای درصد کوچکی از آلودگی‌های باکتری‌های بیماری‌زای غذازاد می‌باشد ولی این آلودگی‌ها می‌توانند خطرات بالقوه‌ای را برای مصرف‌کنندگان محصولات خام ایجاد کنند(Claeys,2013). فهم و درک جامعه از کیفیت غذا در بازاریابی محصولات غذایی بسیار بحرانی است، بنابراین استفاده از روش‌های پاستوریزاسیون یک روش کارا جهت کنترل باکتری‌های پاتوژن است، اگرچه پاستوریزاسیون مناسب می‌تواند این خطرات را پایین بیاورد ولی بخشی از عموم مردم شیر یا محصولات غیر پاستوریزه را مصرف کرده که این امر ناشی از باور غلط و یا عادت فردی است که به تفکر اشتباه مبنی بر مفید بودن محصولات خام لبنی برای سلامتی برمی‌گردد. اگرچه میزان باکتری سالمونلا در نمونه‌های شیر آزمایش شده بسیار پایین بوده ولی عفونت بوجود آمده توسط این باکتری می‌تواند بسیار خطرناک باشد. ارگانیسم در شرایط نگهداری نامناسب شیرخام و محصولات حاصل از آن، دارای پتانسیل بالای رشد است که خطر بالقوه‌ای را برای سلامت عمومی جامعه دارد. Cerva و همکاران در سال ۲۰۱۴ در جنوب برزیل به بررسی DNA باکتری‌های بیماری‌زای موجود در شیرخام با استفاده از روش PCR پرداختند که تعداد این نمونه‌ها ۵۴۸ نمونه از ۱۲۵ مزرعه بودند، در این تحقیق ۲۰ درصد از نمونه‌ها دارای DNA باکتری سالمونلا بودند. علت بالا بودن نمونه‌های مثبت به عدم رعایت بهداشت فردی در منطقه گرم و استوایی منطقه و فصل نمونه‌گیری برمی‌گردد(Cerva,2014)، اما در مطالعه‌ی حاضر درصد پایینی از نمونه‌ها آلودگی به سالمونلا را داشتند. Pangloli و همکاران در سال ۲۰۰۸ در ایالت تنسی آمریکا به بررسی میزان شیوع سالمونلا در شیر خام حمل شده در مخازن حمل در فصل‌های مختلف پرداختند، نتیجه‌ی مطالعه به این شرح بود که میزان شیوع سالمونلا در مخازن حمل شیر، در فصل تابستان به بالاترین حد خود رسیده و در فصل زمستان کم‌ترین میزان شیوع را دارا است، استنباطی که از این مطالعه می‌توان داشت، این است که فاکتور فصل یک عامل بسیار مهم در میزان شیوع باکتری است(Pangloli,2008)، مطالعه حاضر نیز در فصل تابستان انجام گرفت و وجود سالمونلا در نمونه‌ها تایید شد که با نتایج مطالعه‌ی Pangloli و همکارانش همخوانی دارد اما پیشنهاد می‌شود این تحقیق در فصل زمستان هم تکرار شود تا بتوانیم

با قطعیت اثر فصل را در شیوع این باکتری عنوان کنیم. D'Amico و همکاران در سال ۲۰۰۸ با بررسی میزان شیوع باکتری‌های غذازاد شیرخام استفاده شده در تهیه پنیر سنتی، هیچ باکتری سالمونلا ای را با استفاده از روش کشت از ۱۳۳ نمونه شیرخام یافت نکردند(D'Amico,2008)، که با نتایج مطالعه‌ی حاضر همخوانی نداشت. به‌طور کلی شیرخام فلور میکروبی متنوعی دارد، و در کشور ما رساندن شیر به ایستگاه‌های جمع‌آوری طولانی است و در ایستگاه جمع‌آوری اعمال توزین، نمونه‌برداری و تحویل نیز زمان‌بر بوده و همچنین برای رسانیدن شیر به دمای کم‌تر از ۱۰ درجه سلسیوس هم چندین ساعت نیاز است و به دنبال آن نیز ساعت‌های زیادی در همین دما نگهداری می‌شود تا بعدا با مخازن حمل به نقاط دور دست حمل شود و در این مدت بار میکروبی شیر به‌خصوص باکتری‌های سرمادوست مثل پزودوموناس‌ها، کلی‌فرم‌ها و لاکتوباسیل‌ها بالا می‌رود(Van kessel,2004). بررسی‌های Sanguan و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان داد که در دمای ۶ درجه سلسیوس سودوموناس‌ها، کلی‌فرم‌ها، لاکتوباسیلوس‌ها و باکتری‌های ترمودوریک رشد معناداری را دارا می‌باشند، این تحقیقات نشان می‌دهد که مخازن حمل شیر می‌توانند حاوی بسیاری از میکروارگانیسم‌های دیگر باشند که در محیط‌های غنی‌کننده با سالمونلا دارای رقابت می‌باشند، و همین این امر باعث محدود بودن رشد سالمونلاها در محیط کشت می‌شود(Kim,2013). وجود باکتری‌های دیگر به جز سالمونلا می‌تواند به دلایل متعددی باشد که بیماری‌های متعددی را نیز در انسان و حیوانات باعث می‌شوند. افزایش بیماری‌ها و مسمومیت‌های ناشی از غذا به همراه مشکلات اقتصادی و اجتماعی ناشی از آن باعث گسترش مطالعات مختلف در زمینه تولید غذای سالم شده است، با توجه به اینکه پنیر یکی از مواد غذایی اصلی مورد مصرف در کشور ما می‌باشد آلودگی میکروبی آن باید در همه فصول سال مورد توجه متخصصان قرار گیرد. پنیر به این علت که دارای ترکیبات غذایی مختلف می‌باشد محیط مناسبی جهت رشد میکروارگانیسم‌های متعدد و مختلفی هم می‌باشد که همین مسئله منجر به میزان فسادپذیری بالای آن شده و این موضوع باعث اهمیت رعایت شرایط بهداشتی هنگام تولید و نگهداری آن می‌شود. در مطالعه‌ای که دانشمند و همکارانش در سال ۱۳۸۶ به بررسی میزان آلودگی پنیرهای سنتی تازه با گونه‌های سالمونلا و استافیلوکوکوس اورئوس در شهرستان جهرم استان فارس پرداختند، نتایج به این شرح بود: در این پژوهش تعداد ۲۰۰ نمونه پنیر سنتی تازه تهیه شده در شرایط استریل و یخچالی از مناطق مختلف شهری و روستایی جمع‌آوری شد و پس از ارزیابی آزمایشات از این ۲۰۰ نمونه هیچ گونه آلودگی با سالمونلا مشاهده نشد، در مطالعه‌ی حاضر نیز به بررسی وجود یا عدم وجود سالمونلا در نمونه‌های پنیر سنتی جمع‌آوری شده در استان چهارمحال و بختیاری به روش‌های کشت و PCR پرداختیم که از ۵۰ نمونه‌ی جمع‌آوری شده ۱ نمونه آلوده به سالمونلا بود که نتایج مطالعه دانشمند و همکارانش با نتایج پژوهش حاضر همخوانی ندارد(Daneshmand,2008). میرزایی و همکارانش نیز در سال ۱۳۸۷ بر روی کیفیت میکروبی و شیمیایی پنیرهای سنتی تولید شده در تبریز پژوهشی را انجام دادند که آن‌ها نیز هیچ گونه آلودگی با سالمونلا را گزارش نکردند(Mirzaei,2009) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مشابهتی ندارد. در پژوهش دیگری که سالک مقدم و همکارانش در سال ۱۳۸۰ پرداختند نتایج حاکی از عدم آلودگی نمونه‌های پنیر غیرپاستوریزه مورد بررسی به سالمونلا بودند(Salek Moghadam,2001)نتایج این مطالعه نیز با مطالعه‌ی حاضر یکی نیست. در سال ۱۳۹۷ هم حمزه‌پور و همکارانش میزان آلودگی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سالمونلای جدا شده از پنیرهای سنتی عرضه شده در شهرستان مهاباد را بررسی کردند که نتایج این مطالعه نیز هیچگونه آلودگی با سالمونلا را نشان نداد، که نتایج این مطالعات با مطالعه‌ی حاضر هیچ همخوانی

نداشت(Hamzeh Pour,2019). در مطالعه‌ای که مرتضوی و همکاران در سال ۱۳۹۲ بر روی ارزیابی تغییرات جمعیت میکروبی بیماری‌زا در طول دوره رسیدگی پنیر سنتی کردی انجام دادند نتایج بیانگر عدم حضور سالمونلا در نمونه پنیر کردی بود، طبق این نتایج در هیچ یک از بازه‌های زمانی سالمونلا پیدا نشده است. به‌نظر می‌رسد افزایش فعالیت آبی و اسیدیته‌ی پایین در بقای این میکروارگانیسم اثر مساعدی داشته باشد، تحقیقات نشان دادند که در صورت آلودگی شیر به گونه-های سالمونلا بعد از انجام فرآیند پاستوریزاسیون این میکروارگانیسم قادر است در طی پروسه تولید پنیر بقای خود را حفظ کند و برای ماه‌ها در پنیر باقی بماند، با این حال مشخص است که بقای گونه‌های سالمونلا در پنیرهای مختلف، متفاوت می‌باشد و بیان‌گر این مطلب است که وضعیت فیزیولوژیکی و نیز سوش‌های مختلف این میکروارگانیسم روی بقای آن تاثیرگذار می‌باشند. مشخص شده است که گونه‌های سالمونلا قادرند با تنش-های مختلف در محیط خود را تبطیق دهند به عنوان مثال سازگاری با اسید، نمک‌ها و دما که تمامی این موارد می‌تواند به افزایش بقای آن‌ها در محیط کمک کند(Mortazavi,2013)که البته نتایج مطالعه‌ی مذکور با یافته‌های تحقیق حاضر متفاوت است. Hayaloglu و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند سالمونلا در ۶۵ نمونه پنیر چدار بین ۲-۹ ماه باقی مانده است و عوامل اصلی که بقای آن‌ها را تحت تاثیر قرار داده بودند pH، نوع و میزان باکتری‌های آغازگر بود. در مطالعه‌ی حاضر نتایج حاصل از آزمون آنتی‌بیوگرام روی جدایه‌های سالمونلا نشان داد بیش‌ترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و سیپروفلوکساسین و بیش‌ترین مقاومت نسبت به آنتی-بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، تتراسایکلین و تری‌متوپریم سولفامتوکسازول وجود دارد. در بررسی مقاومت‌های دارویی مربوط به سالمونلاهای غیرتیفوئیدی در ترکیه طی سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۲ با تاکید بر توزیع در سروتایپ و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلا انتریکا گروه C مشخص شد که یک کاهش حساسیت ۶۱ درصدی به سیپروفلوکساسین در سروگروپ C1 و ۲۱ درصدی در C2 وجود دارد و به عنوان یک مشکل مهم در کشور ترکیه می‌باشد(Eradem,2005) البته نتایج مطالعه‌ی مذکور با مطالعه‌ی سلطان دلال و همکارانش که در سال ۱۳۹۳ متفاوت بود چرا که سروتیپ‌های جداسازی شده همگی به سیپروفلوکساسین حساس بودند (Soltan Dallal,2015)که نتایج مطالعه‌ی حاضر به نتایج پژوهش انجام گرفته توسط سلطان دلال و همکارانش نزدیک است اما با مطالعه‌ای که در ترکیه انجام گرفته همخوانی ندارد. امروزه در نقاط مختلف جهان سویه‌های مقاوم به آمپی سیلین، کوتریموکسازول، فلوروکینولون‌ها و سفالوسپورین-های نسل سوم گزارش می‌شوند(Bhutta,2006) که جدایه‌های سالمونلا در این پژوهش نیز به آمپی‌سیلین مقاومت نشان دادند.

در بررسی‌های انجام شده در فلسطین اشغالی طی سال-های ۱۹۹۷ تا ۲۰۰۲، ۵۳/۳ درصد سالمونلاهای غیرتیفوئیدی جدا گردید که بیش‌ترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در نالیدیکسیک اسید(۸۹ درصد) دیده شد(۷۱). در اواخر دهه ۸۰ میلادی سالمونلا تیفی با مقاومت چندگانه نسبت به کوتریموکسازول، آمپی سیلین و کلرامفنیکل از هندوستان، آفریقای جنوبی وچندکشور دیگر گزارش گردید(Chinh,2000) از این رو توجه به آنتی‌بیوتیک‌های جدید و یا آنتی‌بیوتیک‌هایی که کم‌تر در درمان عفونت‌های حاصل از این میکروارگانیسم استفاده می‌شوند، می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد درمانی مدنظر باشد. در مطالعه Zaidi و همکارانش روی ۳۹۲ سویه سالمونلای جدا شده طی سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۵ در کشور مکزیک مشخص شد که ۲۵/۵ درصد ایزوله‌ها نسبت به آمپی‌سیلین، ۲۳/۴ درصد به کلرامفنیکل، ۱۹/۲ درصد به کوتریموکسازول و ۴۸/۸ درصد به تتراسایکلین مقاوم بوده‌اند(Zaidi,2008) که با نتایج حاصل از این

مطالعه هم‌خوانی دارد. بطور کلی بررسی‌های اپیدمیولوژیکی بیماری‌های قابل انتقال از طریق غذا نشان‌دهنده‌ی این است که رفتار مصرف‌کنندگان مانند خوردن غذاهای خام و کم پخته شده و شرایط بهداشتی ضعیف نقش مهمی در اپیدمی بیماری ناشی از مواد غذایی دارد. لذا بررسی آگاهی و نگرش افراد یک ضرورت به‌حساب آمده و به همین دلیل مطالعات مختلفی در خصوص آگاهی و نگرش و همچنین عملکرد افراد در زمینه‌ی بهداشت مواد غذایی از مرحله‌ی تولید تا مصرف انجام شده است که نتایج آن حاکی از نقش مهم و تاثیرگذار آموزش بر آگاهی و نگرش و در نتیجه آن عملکرد افراد است.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج مطالعه حاضر شیرهای خام و پنیرهای سنتی به باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* آلوده، که در برابر برخی آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند. اگر چه آلودگی شیرخام در مراحل سالم سازی حرارتی مانند پاستوریزاسیون، جوشاندن یا استریلیزاسیون رفع می‌شود ولی پنیرهای سنتی آلوده به این باکتری خطر بالقوه برای سلامتی مصرف کنندگان محسوب می‌شوند.

منابع

1. Chinh NT, Parry CM, Ly NT, Ha HD, Thong MX, Diep TS, et al. A randomized controlled comparition of azithromycim and ofloxacin for treatment of multi-drug resistant or nalidixic acid-resistant enteric fever. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44: 1855-1859.
2. SA Mortazavi, M Moein Fard and EMilani. Evaluation of pathogenic microbial population changes during the ripening period of traditional Kurdish cheese. J of sci and tech.2013; 6(2): 90-91. [Persian]
3. Cockerill FR, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing: approved standard. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 11th ed. Table 2A: Enterobacteriaceae M02 and M07. 2012; 32(3): 44-60. Available from www. CLSI.org.
4. D'Amico DJ, Groves E, and Donnelly CW. Low incidence of foodborne pathogens of concern in raw milk utilized for farmstead cheese production. Journal of Food Protection, 2008; 71: 1580-1589.
5. Daneshmand A, Rasoli M, Kareqar M, Kiany S. A survey on the contaminanation of traditional fresh cheese produced in Jahrom Township with Salmonella and Staphylococcus areus. Iranian South Medical Journal. 2008; 10(1): 12-15.
6. Draughon F, Davidson P, and Oliver S. Prevalence of Listeria monocytogenes, Campylobacter jejuni, Yersinia enterocolitica, and Salmonella in bulk tank milk: risk factors and risk of human exposure. Journal of Food Protection. 1992; 55: 93-97.
7. Eradem B, Ercis S, Hascelik G, Gur D, Aysev AD. Antimicrobial resistance of salmonella enterica group C strains isolated from human in Turkey 2000-2002. International journal Antimicrob Agents. 2005; 26: 33-37.
8. Espinal MA, Laszlo A, Simonsen L, Boulahbal F, Kim SJ, Reniero A, et al. Global trends in resistanceto antituberculosis drugs. World Health Organization International Union against Tuberculosis and Lung Disease Working Group on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance. 2001; 344: 1294-1303.
9. Forbe Forbes BA, Sahm DF, and Weissfeld AS, Study Guide for Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12nd ed. Philadelphia, Mosby. 2007; pp: 323-330.
10. Gast RK, Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, Mc Dougald LR, et al. Diseases of Poultry. 11th ed. Iowa State University Press: Ames Iowa. 2003; 583-613.
11. Giacometti F, Serraino A, Finazzi G, Daminelli P, Losio MN, Arrigoni N, et al. Sale of raw milk in Northern Italy: Food

safety implications and comparison of different analytical methodologies for detection of foodborne pathogens. Food borne Pathogical Diseases. 2012; 9(4):293-297.
12. Hamzeh Pour S, Vaziri S, Molaee Aghaee E. Survey on the contamination rate and determination of antibiotic resistance of Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Salmonella strains isolated from traditional cheeses distributed in Mahabad, Iran. Iran J Health and Environ. 2019; 11(4): 465-476. [Persian]
13. Huston CL, Wittum TE, Love BC, et al. Prevalence of fecal shedding of Salmonella spp in dairy herds. Journal of the American Veterinary Medical Association. 2002; 220: 645-649.
14. Jayarao B and Henning D. Prevalence of foodborne pathogens in bulk tank milk. Journal of Dairy Science. 2001; 84: 2157-2162.
15. Karim G. Food Microbial Testing Tehran University Press. 2008; PP: 128-138.
16. Kim EJ, Christian B, Christoph GG and Quack. T. Improved PCR/Nested PCR Approaches with Increased Sensitivity and Specificity for the bDetection of Pathogens in Hard Ticks. Tick and Tick-borne Diseases 4.2013; no.5:409-416.
17. Mirzaei H, Khosroshahi AG, Karim G. The microbilogical and chemical quality of traditional Lighvan cheese (White cheese in brine) produced in Tabriz, Iran. Journal of Animal and Veterinary Advances. 2008; 7(12); 1594-99.
18. MM Soltan Dallal, S Motalebi, H Masoomi Asl, A Rahimi Foroushani, MK Sharifi Yazdi, N Aghili. Investigation of the frequency of Salmonella Spp. In foodborne disease outbreaks in Iran and determination of their antibiotic resistance. Pejouhandeh. 2015; 19(6): 341-347. [Persian]
19. Murinda S, Nguyen L, Ivey S, et al. Molecular characterization of Salmonella spp. isolated from bulk tank milk and cull dairy cow fecal samples. Journal of Food Protection. 2002; 65: 1100-1105.
20. Oliver SP, Jayarao BM, and Almeida RA. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. Foodborne Pathogens & Disease. 2005; 2: 115-129.
21. Pangloli P, Dje Y, Ahmed O, et al. Seasonal incidence and molecular characterization of Salmonella from dairy cows, calves, and farm environment. Foodborne Pathogens and Disease. 2008; 5: 87-96.
22. Pavlov AR, Pavlov NV, Kozyavkin SA and Slesarev AI. Recent developments in the optimization of thermostable DNA polymerases for efficient applications. Trends in Biotechnology. 2004; 22(5): 253-260.
23. Perkins N, Kelton D, Hand K, et al. An analysis of the relationship between bulk tank milk quality and wash water quality on dairy farms in Ontario, Canada. Journal of Dairy Science. 2009; 92: 3714-3722.
Rambach A, New plate medium for facilitated differentiation of Salmonella spp. From Proteus spp. and other enteric bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 1990; 56: 301-303.
24. Razavilar V. Pathogenic microorganisms in foods and epidemiology of food poisoning. Tehran University Press. 2003; 2(1): 61-68.
25. Salek Moghadam A, Foruhesh Tehrani H, Anssari H, Ravadgar B, Noorani Vatani A, Ghassemi M. A Survey on Bacterial contamination on one-hundred unpasteurized cheese samples and pasteurized cheese as control and astability of commonly contaminating bacteria to different salt concentration. JIUMS.2001; 8(25): 293-299. [Persian]
26. Sanjuan S, Rúa J, and García-Armesto M R. Microbial flora of technological interest in raw ovine milk during 6 ºC storage. International Journal of Dairy Technology. 2003; 56: 143-148.

27. Shanahan PM, Kramat KA, Thomas CJ, Amyes SG. Molecular analysis of and identification of antibiotic resistance genes in clinical isolates of salmonella typhi from India. Journal Clin Microbial. 1998; 36: 159-160.
28. Van Kessel J, Karns J, Gorski L, et al. Prevalence of Salmonellae, Listeria monocytogenes, and Fecal Coliforms in Bulk Tank Milk on US Dairies. Journal of Dairy Science. 2004; 87: 2822-2830.
29. Van Kessel J, Karns J, Perdue M. Using a portable real-time PCR assay to detect Salmonella in raw milk. Journal of Food Protection. 2003; 66(10):1762-7.
30. Weinberger M, Solnik-Isaac H, Shachar D, Reisfeld A, Valinsky L, Andron N, et al. Salmonella enterica serotype virchow epidemiology resistance patterns and molecular characterization of an invasive salmonella serotype in Israel. Clin Microbial Infection. 2006; 12(10):999-1005.
31. Zahraei Salehi T, Tadjbakhsh H, Atashparvar N, et al. Detection and identification of Salmonella Typhimurium in bovine diarrhoeic fecal samples by immunomagnetic separation and multiplex PCR assay. Zoonoses and Public Health. 2007; 54: 231-236.
32. Zaidi MB, Calva JJ, Estrada-Garcia MT, Leon V, Vazquenz G, Figueroa G, et al. Integrated food chain surveillance system for Salmonella spp in mexico. Emerg Infect Disease Journal. 2008; 14(3): 429-435.

samples Antibiotic resistance profile of Salmonella typhimurium isolated from raw milk and traditional cheese

Mazhari M[1], Bonyadian M[1*], Moshtaghi H[1]

1.Department of Healyh and Food Quality Control, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

Received: 27 December 2022 Accepted:23 July 2023

***Corresponding author**: *boniadian@sku.ac.ir*

Abstract

Salmonella is one of the most important bacteria which cause illnesses, may exist in raw foods. The presence of this bacterium in food also causes a decrease in the quality of productions and a decrease in the economic growth. Milk and its products are among the food that may contaminate with Salmonella both primarily and secondarily by employees, water, etc., and transmitted to human. In this study, 100 samples of raw milk and 50 samples of traditional cheese from different parts of Chaharmahal and Bakhtiari province were obtained to isolate and identify Salmonella bacteria using microbiological, and polymerase chain reaction tests. Also, the antibiotic resistance of Salmonella isolates was evaluated by the diffusion disk method. The results of microbiological tests showed that 7 samples were contaminated with salmonella. Suspicious isolates included 5 samples belonging to raw milk and 2 samples belonging to traditional cheeses. The results of PCR test revealed that 3 samples of suspected isolates of raw milk (%3) and 1 sample of suspected isolates of traditional cheese (%2) were *S. typhimurium.* The results of the antibiogram test on Salmonella isolates showed the highest sensitivity to Gentamicin and Ciprofloxacin, and the highest resistance to Ampicillin, Tetracycline and Trimethoprim sulfamethoxazole antibiotics. According to the results of the present study, raw milk and traditional cheeses are contaminated with *Salmonella typhimurium*, which are resistant to some antibiotics. Although the contamination of raw milk is removed during the heat treatment steps such as pasteurization, boiling or sterilization, traditional cheeses contaminated with this bacterium are considered a potential risk for the health of consumers. Therefore, the examination of traditional dairy products, especially cheese, in terms of preventing the occurrence of diseases in humans seems to be more necessary.

Key words: Salmonella, Raw milk, Traditional cheese, PCR, Antibiotic resistance.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Copyright © 2023 Shahrekord Branch, Islamic Azad University