# بررسی الگوی مقاومت دارویی در باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از پنیرهای سنتی شهرستان جلفا

**زهرا نیکبخت[۱]، درنا رفیقی[۲]، جاوید تقی نژاد[۳]***

۱- دانشجوی دکتری، گروه میکروبیولوژی، واحد علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشجوی دکتری، گروه میکروبیولوژی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

نویسنده مسئول: jataghinejad@gmail.com

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۷/۰۹، پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۹/۰۳

## چکیده

پنیر سنتی از محبوب‌ترین انواع پنیر در مناطق غربی ایران است. آلودگی پنیر به میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌تواند سلامت انسان را به خطر انداخته و موجب ضررهای اقتصادی قابل‌توجهی گردد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی حضور باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها در پنیرهای سنتی تولید شده در شهرستان جلفا بود. ۶۰ نمونه پنیر سنتی به‌صورت تصادفی از مغازه‌های شهرستان جلفا، جمع‌آوری شد. برای بررسی حضور میکروارگانیسم‌های موردنظر طبق استانداردهای ملی موادغذایی، از محیط گیولیتی کانتونی براث، بردپارکر، بلاد آگار و مولر هینتون آگار و همچنین برای تأیید گونه باکتری از تست‌های تشخیصی و بیوشیمیایی استفاده شد. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به شش آنتی‌بیوتیک تعیین شد. نتایج نشان داد که تمامی نمونه‌ها آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* بودند. همچنین، در جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آمیکاسین با ۶۶/۶۷ درصد و مقاومت دارویی به سفکسیم با ۷۵ درصد بود. در مورد *اشریشیاکلی*، بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آمیکاسین با ۱۰۰ درصد و بیشترین میزان فراوانی مقاومت در این باکتری به آزیترومایسین با ۲۵ درصد، گزارش شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که وضعیت پنیرهای سنتی در شهرستان جلفا بسیار نامطلوب بوده و آگاهی صحیح در زمینه استفاده از فرآورده‌های سنتی در پیشگیری از بروز مشکلات بهداشتی و درمانی ازجمله بیماری‌های گوارشی بسیار ضروری می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی**: *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیاکلی*، مقاومت دارویی، پنیر سنتی، جلفا

## مقدمه

پنیر محصول اصلی صنایع لبنی است و ارزش غذایی و اقتصادی بالایی دارد. به دلیل تفاوت در موقعیت جغرافیایی و فرهنگی فرآیند تولید و طعم پنیر متفاوت است و پنیرهای محلی غالباً بیشترین طرفدار را دارند (۱). تولید و مصرف پنیر سنتی به هزاران سال قبل برمی‌گردد. اولین نمونه‌های پنیر در جهان در شهر سین کیانگ چین، کشف شده است(۲). ازآنجایی‌که پنیر دست‌ساز سنتی بیشتر در یک محیط باز ساخته می‌شود، انواع میکروارگانیسم‌های محیطی به تخمیر و پس از رسیدن پنیر کمک می‌کنند (۳). دست کارگران و سطوح تماس با پنیر به‌عنوان وسیله نقلیه *استافیلوکوکوس اورئوس* در کارخانه‌های فرآوری شناسایی شده است(۴). نقطه اصلی آلودگی قبلاً در حدفاصل بین دریافت مواد خام و مناطق فرآوری صنعتی مشاهده شده است، درحالی‌که برای برخی از عوامل بیماری‌زا مانند *لیستریا مونوسیتوژنز*، آلودگی می‌تواند در کل کارخانه فرآوری، نیز منتشر شود(۵). pH نسبتاً پایین به دلیل وجود اسیدهای آلی (عمدتاً اسید لاکتیک،

استیک، بوتیریک یا سوربیک اسید) و رطوبت پایین برخی از انواع پنیرها، باعث کاهش ظرفیت رشد و بقای باکتری‌های بیماری‌زا در طول مدت ماندگاری می‌شود (۶). دمای پایین یخچال، استفاده از شیر پاستوریزه و مواد طبیعی ضدمیکروبی، موانع بیشتری برای جلوگیری از تکثیر میکروبی و ماندگاری در این محصولات محسوب می‌شود (۷). با وجود آن، در دهه‌های اخیر پنیرها با شیوع بسیاری از بیماری‌ها در سایر نقاط جهان مرتبط بوده‌اند (۸). پنیرهای نرم تهیه شده با شیر خام حرارت ندیده رایج‌ترین عامل بیماری‌زای غذایی بوده‌اند، اگرچه پنیرهای تهیه شده با شیر پاستوریزه نیز ناقل عوامل ایجادکننده در شیوع بیماری‌ها بوده‌اند (۹). همه‌گیری‌های ناشی از غذا در ارتباط با مصرف پنیرهای دست‌ساز، هم برای مقامات بهداشتی به‌عنوان یک خطر سلامت عمومی و هم برای تولیدکنندگان صنایع به‌عنوان عاملی برای بی‌اعتباری هویت برند، دلالت دارد. میزان بروز *استافیلوکوکوس اورئوس* (۲۶/۴ درصد)، *اشریشیاکلی* (۱۱/۹ درصد) و *لیستریا مونوسیتوژنز* (۸/۵درصد) از طریق یک رویکرد متاآنالیز از داده‌های میکروبیولوژیکی پنیرهای حاصل از شیر بز خام برآورده شده است (۱۰).*استافیلوکوکوس اورئوس* گرم‌مثبت، کوکسی هوازی-بی هوازی اختیاری بوده که این باکتری تقریباً مسئول ۸۰ درصد بیماری‌هایی از قبیل فولیکولیت، زرد زخم، پنومونی، اندوکاردیت حاد و مسمومیت غذایی می‌باشد. مسمومیت غذایی ناشی از انتروتوکسین استافیلوکوکی با دوره نهفتگی کوتاه (۱-۸ ساعت)، تهوع شدید، استفراغ و اسهال و دوره نقاهت کوتاه تظاهر می‌یابد و تب در آن دیده نمی‌شود (۱۱). *اشریشیاکلی* از اعضای مهم فلور طبیعی روده بزرگ بوده است و ازآنجایی‌که از عوامل بیماری‌زای عفونت‌های زخم، سیستم ادراری، پنومونی، مننژیت و سپتمی سمی در انسان نیز می‌باشد لذا در میان بقیه اعضای فلور طبیعی، منحصربه‌فرد است. بعضی از سوش‌های *اشریشیاکلی* از بیماری‌زاهای روده‌ای مهم نیز، می‌باشند و انواع مختلفی از بیماری‌های سیستم گوارشی را به خود اختصاص می‌دهد. *اشریشیاکلی* مکانیسم‌های بیماری‌زایی متنوع و پیچیده‌ای را در بروز اسهال نشان می‌دهند. یکی از این مکانیسم‌های بیماری‌زایی تولید انتروتوکسین‌های مختلف می‌باشد که برخی از آن‌ها در انسان و حیوانات بیماری‌زا بوده و اندام هدف برای انتروتوکسین‌های این باکتری، روده کوچک و نتیجه آن اسهال آبکی می‌باشد (۱۲). انتقال پاتوژن‌های باکتریایی در طول مرحله پنیر سازی را می‌توان به آلودگی مستقیم یا رویدادهای آلودگی متقابل در طول فرآوری، خرده‌فروشی و محیط‌های خانگی نسبت داد (۱۳). درحالی‌که شیر خام منبع اصلی آلودگی پنیرها محسوب می‌شود (۱۴). توانایی پاتوژن‌ها برای تشکیل بیوفیلم و ماندگاری بر روی سطوح در تماس با غذا و آلودگی متقابل در طول تولید مرتبط است (۱۵). استفاده ناایمن و شیوه‌های ذخیره‌سازی غیر استریل در محیط‌های خانگی به آلودگی پنیر و رشد یا تداوم میکروبی کمک می‌کند و خطر ابتلا به بیماری‌های مرتبط با مصرف پنیر را افزایش می‌دهد (۱۶). با وجود این، در دهه‌های اخیر پنیرها با شیوع بسیاری از بیماری‌ها در اروپا و سایر نقاط جهان مرتبط بوده‌اند (۱۷). استفاده از آزمایش چالش و مدل‌های میکروبیولوژی پیش‌بینی‌کننده به‌عنوان ابزارهای مرتبط برای اپراتورهای موادغذایی برای بررسی اینکه آیا سطوح میکروبی در پنیرها ممکن است از معیارهای میکروبیولوژیکی تعیین‌شده فراتر رود و برای ارزیابی تأثیر اقدامات کنترلی و پیامدهای رویدادهای آلودگی متقابل در طول تولید، شناسایی شده‌اند(۱۵). هدف از مطالعه حاضر جداسازی، شناسایی و بررسی الگوی مقاومت دارویی *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از پنیرهای سنتی کوزه‌ای به روش دیسک دیفیوژن در شهرستان جلفا بوده، و تاکنون مطالعه‌ای در خصوص آلودگی میکروبی پنیرهای سنتی در این شهرستان گزارش نشده بود، لذا تحقیق در این زمینه می‌تواند در این منطقه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد.

## روش کار

### جمع‌آوری نمونه‌ها

مطالعه حاضر از نوع توصیفی- مقطعی بوده که در طی ۵ ماه از فروردین تا مرداد سال ۱۴۰۲ تعداد ۶۰ نمونه پنیر سنتی به‌صورت تصادفی از بازار و فروشگاه‌های سطح شهرستان جلفا، جمع‌آوری گردید و ازنظر حضور *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* مورد بررسی قرار گرفت. از هر کدام از پنیرها به مقدار ۳۰ گرم نمونه‌برداری شده و در ظرف استریل یکبار مصرف ریخته و سپس مشخصات نظیر: تاریخ نمونه‌برداری و محل تولید بر روی هر یک از ظروف ثبت گردید. نمونه‌ها در مجاورت یخ، به آزمایشگاه موادغذایی انتقال داده شد.

### کشت باکتری‌ها

نمونه‌های پنیر ازنظر حضور *استافیلوکوکوس اورئوس* مطابق دستورالعمل استاندارد ایران به شماره ۶۸۰۶-۳ مورد بررسی قرار گرفتند به این ترتیب که ابتدا مقدار ۱۰ گرم از نمونه در ۹۰ سی‌سی بافر پپتون واتر رقیق‌سازی شد سپس از سوسپانسیون اولیه میزان ۱۰ سی‌سی به محیط گیولیتی کانتونی براث[1] (مرک-آلمان) مضاعف حاوی ۰/۲ سی‌سی تلوریت پتاسیم اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، انکوباسیون گردید. سپس کشت خطی در محیط برد پارکر (مرک-آلمان) انجام شد و کلنی‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شدند. کلنی‌های شاخص سیاه‌رنگ به‌عنوان کلنی مشکوک خالص‌سازی شدند و سپس تست‌های تأییدی کاتالاز و کواگولاز انجام شد و در صورت مثبت بودن تمام این تست‌ها، جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* برای انجام مراحل بعدی در محیط TSA ذخیره شدند (۱۸). جهت شناسایی باکتری *اشریشیاکلی*، نمونه‌ها طبق دستورالعمل استاندارد ۲۹۴۶ مورد بررسی قرار گرفتند. برای این منظور، از نمونه‌های موردنظر ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اولیه تهیه و به ۱۰ میلی‌لیتر محیط لوریل سولفات مضاعف اضافه گردید. لوله‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوباسیون شدند در صورت مشاهده گاز یا کدورت، به محیط EC broth (مرک-آلمان) تلقیح گردیده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۴ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شد. در صورت مشاهده مجدد گاز، نمونه‌ها به محیط تریپتون واتر (مرک-آلمان) انتقال یافته و در دمای ۴۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون شده و سپس به لوله‌ها، معرف کواکس اضافه گردید (۱۹ و۲۹).

### آنتی‌بیوگرام

بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شده با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بر روی محیط مولر هینتون آگار (مرک-آلمان) و بر اساس دستورالعمل CLSI[2] سال ۲۰۲۲ (۲۰)، مورد بررسی قرار گرفتند. دیسک‌های آنتی‌بیوگرام (پادتن طب، ایران) مورد استفاده عبارت بودند از: آمیکاسین (۳۰µg)، آزیترومایسین (۱۵µg)، سفتریاکسون (۳۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، سفکسیم (۵µg). در این مطالعه جهت کنترل کیفی از *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 و *اشریشیاکلی* ATCC 25922 و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار GraphPad Prism 10.4.0.621 استفاده و از خط کش آنتی‌بیوگرام برای اندازه‌گیری هاله‌ی عدم رشد باکتری در تست آنتی‌بیوگرام استفاده گردید.

### آنالیز آماری

در این مطالعه برای تجزیه‌وتحلیل آماری از نرم‌افزار Spss ورژن ۲۰ و از آزمون T-test و میانگین استفاده

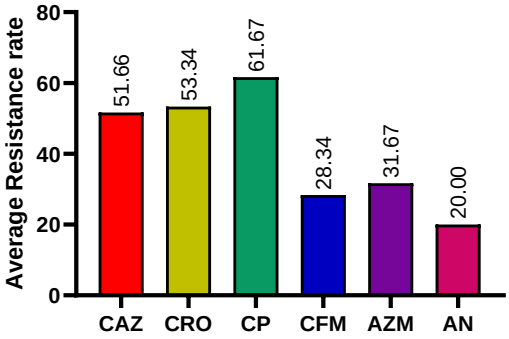
[1] Giolitti-Cantoni Broth

[2] Clinical and Laboratory Standards Institute

شد و مقدار p در این مطالعه کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

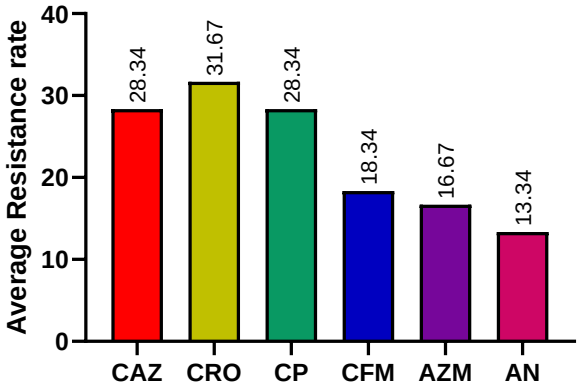
## نتایج

نتایج نشان داد که از ۶۰ نمونه مورد بررسی، تمامی نمونه‌ها آلوده به *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. در نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام مشخص گردید که بیشترین مقاومت در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با ۵۳/۳۴ درصد به سفتریاکسون و سپس به سفتازیدیم با ۵۱/۶۶ درصد و کمترین میانگین هاله عدم رشد به سفکسیم با ۲۸/۳۴ درصد و آمیکاسین با ۲۰ درصد گزارش گردید (نمودار ۱).




نمودار ۱- میانگین مقاومت در *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از پنیرهای سنتی برحسب میلی‌متر. Amikacin (AN), Azithromycin (AZM), Cefixime (CFM), Ciprofloxacin (CP), Ceftriaxone (CRO), Ceftazidime (CAZ)

در مورد باکتری *اشریشیاکلی* بیشترین میانگین مقاومت به سفتریاکسون با ۳۱/۶۷ درصد و سیپروفلوکساسین و سفتازیدیم هر کدام به‌طور مشابه ۲۸/۳۴ درصد و کمترین میانگین مقاومت به ترتیب به آزیترومایسین و آمیکاسین با ۱۶/۶۷ درصد و ۱۳/۳۴ درصد، ملاحظه گردید (نمودار ۲).




نمودار ۲- میانگین مقاومت در *اشریشیاکلی* جدا شده از پنیرهای سنتی برحسب میلی‌متر. Amikacin (AN), Azithromycin (AZM), Cefixime (CFM), Ciprofloxacin (CP), Ceftriaxone (CRO), Ceftazidime (CAZ)

نتایج آنتی‌بیوگرام *اشریشیاکلی* جدا شده از نمونه‌های پنیر سنتی نشان داد که بیشترین حساسیت دارویی به آمیکاسین با ۱۰۰ درصد حساسیت و پس از آن به ترتیب سفکسیم و سفتازیدیم به‌طور مشابه با

۸۶/۶۷ درصد و بیشترین میزان فراوانی مقاومت در این باکتری به آزیترومایسین با ۲۵ درصد و کمترین فراوانی مقاومت به سفتریاکسون با ۱۰ درصد ثبت گردید (جدول ۱). بر اساس آنالیز میانگین با روش T-test، داده‌های مستقل، مشخص گردید که میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *اشریشیاکلی* با میانگین ۸۷/۲ درصد با میانگین ۳/۲۹± ۸/۰۷ نسبت به شش آنتی‌بیوتیک موردنظر به‌صورت معناداری (P<۰/۰۵) بیشتر از *استافیلوکوکوس اورئوس* با ۳۹/۷ درصد با میانگین ۷/۳۹± ۱۸/۱۱ بود.

جدول ۱- میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن در جدایه‌های *اشریشیاکلی*

| نام آنتی‌بیوتیک | علامت اختصاری | غلظت دارو µg | حساسیت (درصد) | نیمه‌حساس (درصد) | مقاومت (درصد) |
|---|---|---|---|---|---|
| آمیکاسین | AN | ۳۰ | ۶۰(۱۰۰) | ۰ | ۰ |
| آزیترومایسین | AZM | ۱۵ | ۴۵(۷۵) | ۰ | ۱۵(۲۵) |
| سفیکسیم | CFM | ۵ | ۵۲(۸۶/۶۷) | ۱(۱/۶۷) | ۷(۱۱/۶۶) |
| سیپروفلوکساسین | CP | ۵ | ۵۱(۸۵) | ۱(۱/۶۷) | ۸(۱۳/۳۳) |
| سفتریاکسون | CRO | ۳۰ | ۵۴(۹۰) | ۰ | ۶(۱۰) |
| سفتازیدیم | CAZ | ۳۰ | ۵۲(۸۶/۶۷) | ۰ | ۸(۱۳/۳۳) |

همچنین در نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های پنیر، مشخص گردید که بیشترین میزان حساسیت دارویی به آمیکاسین با ۶۶/۶۷ درصد و پس از به سیپروفلوکساسین با ۵۸/۳۳ درصد و بیشترین فراوانی مقاومت دارویی به سفکسیم با ۷۵ درصد و پس از آن به سفتریاکسون و سفتازیدیم به‌طور مشابه با ۶۶/۶۷ درصد و کمترین میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین با ۲۵ درصد می‌باشد (جدول ۲). جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با اختلاف معناداری مقاومت بیشتری با ۵۳/۳۳ درصد با میانگین۸/۲۲ ± ۲۰/۱۳ در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه نشان دادند.

جدول ۲- نتایج تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن در جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*

| **نام آنتی‌بیوتیک** | **علامت اختصاری** | **غلظت دارو** µg | **حساسیت (درصد)** | **نیمه‌حساس (درصد)** | **مقاومت (درصد)** |
|---|---|---|---|---|---|
| آمیکاسین | AN | ۳۰ | ۴۰(۶۶/۶۷) | ۰ | ۲۰(۳۳/۳۳) |
| آزیترومایسین | AZM | ۱۵ | ۱۸(۳۰) | ۱۰(۱۶/۶۷) | ۳۲(۵۳/۳۳) |
| سفیکسیم | CFM | ۵ | ۱۵(۲۵) | ۰ | ۴۵(۷۵) |
| سیپروفلوکساسین | CP | ۵ | ۳۵(۵۸/۳۳) | ۱۰(۱۶/۶۷) | ۱۵(۲۵) |
| سفتریاکسون | CRO | ۳۰ | ۲۰(۳۳/۳۳) | ۰ | ۴۰(۶۶/۶۷) |
| سفتازیدیم | CAZ | ۳۰ | ۱۵(۲۵) | ۵(۸/۳۳) | ۴۰(۶۶/۶۷) |

## بحث

در مطالعه حاضر از ۶۰ نمونه پنیر سنتی همه موارد آلوده به *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. در نتایج آنتی‌بیوگرام به‌دست‌آمده از *اشریشیاکلی* بیشترین میزان فراوانی حساسیت دارویی به آمیکاسین با ۱۰۰ درصد و همچنین بیشترین فراوانی مقاومت دارویی به آزیترومایسین با ۲۵ درصد گزارش گردید. در *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشترین فراوانی حساسیت دارویی به آمیکاسین با ۶۶/۶۷ درصد و بیشترین فراوانی مقاومت دارویی به سفکسیم با ۷۵ درصد ملاحظه شد. پنیر یکی از قدیمی‌ترین انواع غذاهای تولیدی شناخته‌شده است. در ایالات‌متحده، میزان۶۵ درصد شیوع موادغذایی مربوط به محصولات لبنی طی سال‌های ۱۹۹۳ تا ۲۰۰۶ گزارش شده است. از این شیوع، ۲۷ مورد (۴۵ درصد) با پنیر شیر خام و ۳۸ (۵۸/۵ درصد) به پنیر شیر پاستوریزه مرتبط بود؛ بنابراین، در دهه‌های اخیر، پنیرهای شیر خام اغلب به‌عنوان غذاهای پرخطر در نظر گرفته می‌شدند (۲۱). در مطالعات انجام‌شده در تهران (۲۲) و زاهدان (۲۳) بیشتر پنیرهای سنتی به *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند. همچنین در مطالعه صورت گرفته در پاکستان (۲۴) و بنگلادش (۲۵) بیشترین فراوانی آلودگی میکروبی به *استافیلوکوکوس اورئوس*، گزارش گردیده است. در مطالعه حاضر از ۶۰ نمونه مورد بررسی همه نمونه‌ها به *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* آلوده بودند. در مطالعه انجام شده توسط عزیزخانی و همکاران، ۳۶۰ نمونه پنیر سنتی از فروشگاه‌های استان مازندران جمع‌آوری گردید. نتایج مطالعه نشان داد که از بین ۳۶۰ نمونه، ۱۹۹ نمونه حاوی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند که از این میان ۴۸ جدایه (۲۴ درصد) به یک آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. در مطالعه حاضر ۱۵ جدایه (۲۵ درصد) از *اشریشیاکلی* و ۴۵ جدایه (۷۵ درصد) از *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب به آزیترومایسین و سیفکسیم مقاوم بودند. نتایج هر دو مطالعه به دلیل حجم نمونه و میزان مقاومت در یک راستا نبودند (۲۶).Adhita و همکاران در یونان چین، ۱۲۴ نمونه پنیر سنتی از بازارهای محلی مختلف و مغازه‌های خرده‌فروشی جمع‌آوری کردند نتایج این بررسی نشان داد که از بین ۱۲۴ نمونه تنها ۲۳ نمونه پنیر به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند. آنتی‌بیوگرام *استافیلوکوکوس اورئوس‌های* جدا شده مشخص کرد که فراوانی مقاومت به پنی‌سیلین ۱۰۰ درصد بوده و سپس به دو آنتی‌بیوتیک اریترومایسین و تری‌متوپریم به‌طور یکسان ۳۴/۷۸ درصد مقاومت داشتند (۲۷). خلیفه‌زاده و همکاران با بررسی ۱۰۰ نمونه پنیر سنتی جمع‌آوری‌شده از بازار سقز، ۹۰ نمونه دارای رشد در محیط برد پارکر آگار بوده که پس از انجام تست‌های بیوشیمیایی ۴۱ جدایه از جنس *استافیلوکوکوس اورئوس*، بودند. نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد که بیشترین فراوانی مقاومت به پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد) و پس از آن به فوسیدیک اسید (۸۵ درصد) ملاحظه شد. در مطالعه حاضر، بیشترین فراوانی مقاومت در *استافیلوکوکوس اورئوس* به سیفکسیم با ۷۵ درصد گزارش گردید. نتایج هر دو مطالعه به‌طور معنی‌دار در یک راستا بودند (۲۸). در پژوهش‌های حمزه پور و همکاران در شهرستان مهاباد با بررسی ۱۰۰ نمونه پنیر سنتی، ۵۴ جدایه *اشریشیاکلی* و ۴۵ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی گردید. نتایج آنتی‌بیوگرام این مطالعه نشان داد که بیشترین فراوانی مقاومت به تری‌متوپریم- سولفامتوکسازول با ۸۳/۳ درصد در *اشریشیاکلی* و همچنین در *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشترین فراوانی مقاومت به آموکسی‌سیلین با ۱۰۰ درصد، گزارش گردید. در مطالعه حاضر بیشترین فراوانی مقاومت دارویی به آزیترومایسین با ۲۵ درصد در *اشریشیاکلی* و بیشترین فراوانی مقاومت دارویی به سفکسیم با ۷۵ درصد در *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد (۲۹). پژوهش انجام شده توسط ملاعباس‌زاده و همکاران با بررسی ۸۰ نمونه پنیر سنتی تهیه‌شده از منطقه قطور شهرستان خوی، ۴۳ نمونه (۵۳/۷۵ درصد) پنیر سنتی آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. نتایج آنتی‌بیوگرام این مطالعه نشان داد

که بیشترین فراوانی مقاومت دارویی به متی‌سیلین با ۹/۳۰ درصد و بیشترین فراوانی حساسیت دارویی به آنتی‌بیوتیک‌های ریفامپین، کلیندامایسین، ونکومایسین و جنتامایسین با ۱۰۰ درصد حساسیت گزارش گردید. در مطالعه حاضر بیشترین فراوانی مقاومت دارویی به سیفکسیم با ۷۵ درصد و بیشترین فراوانی حساسیت دارویی به آمیکاسین با ۶۶/۶۷ درصد در *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده گردید که نتایج هر دو مطالعه به هم نزدیک بودند (۳۰). ورود میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به شیر و محصولات لبنی طی شیردوشی توسط فرد یا استفاده از دستگاه شیردوشی، ذرات معلق در هوای محل نگهداری شیر، حشرات و جوندگان و لباس می‌تواند انتقال یابد. معمولاً در تولید پنیرهای سنتی از شیر خام حرارت ندیده استفاده می‌شود. این مسئله خود در آلودگی پنیر نقش مهمی را دارد. در شیر و فرآورده‌های آن معمولاً *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تیفی موریوم* حضور دارند و این باکتری‌های بیماری‌زا ازنظر بهداشتی و درمانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند (۲۶).

## نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که وضعیت پنیرهای سنتی در شهرستان جلفا بسیار نامطلوب بوده و عدم آگاهی در استفاده از فرآورده‌های سنتی موجب بروز مشکلات بهداشتی و درمانی ازجمله بروز بیماری‌های گوارشی در بین مردم می‌گردد. با توجه به میزان مقاومت دارویی در آنتی‌بیوگرام دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* جدا از پنیرهای سنتی نشان داد که موادغذایی می‌تواند در انتقال میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی داشته باشد.

## سپاسگزاری

از دکتر بهنام اشتری گرگری و دکتر حسین جدی به خاطر در اختیار قرار دادن امکانات آزمایشگاهی، از خانم مهسا قضاتی جهت همکاری در کشت نمونه‌ها و از حمایت‌های مالی آقای حامد خدمتی و تمامی پرسنل آزمایشگاه ثمین نوژن دام ارس شهرستان جلفا تشکر و قدردانی می‌گردد.

## Reference

1. Zheng XiaoJi ZX, Liu Fei, LF, Ren QuanLu RQ, Li BaoKun LB, Li KaiXiong LK, Zhuge Bin ZB. Comparative analysis of volatile compounds in Kazak cheeses from different regions of Xinjiang by SPME-GC-MS. Food Science. 2018; 39(8): 83-89.
2. Song Y, Sun Z, Guo C, Wu Y, Liu W, Yu, Zhang H. Genetic diversity and population structure of *Lactobacillus delbrueckii* subspecies bulgaricus isolated from naturally fermented dairy foods. Scientific reports, 2016; 6(1):22704.
3. Zheng X, Liu F, Li K, Shi X, Ni Y, Li B, Zhuge B. Evaluating the microbial ecology and metabolite profile in Kazak artisanal cheeses from Xinjiang, China. Food Research International, 2018; 111: 130-136.
4. Carrascosa C, Millán R, Saavedra P, Jabe JR, Raposo A, Sanjuán E. Identification of the risk factors associated with cheese production to implement the hazard analysis and critical control points (HACCP) system on cheese farms. Journal of Dairy Science, 2016; 99(4):2606-2616.
5. Dzieciol M, Schornsteiner E, Muhterem-Uyar M, Stessl B, Wagner M, Schmitz-Esser S. Bacterial diversity of floor drain biofilms and drain waters in a *Listeria monocytogenes* contaminated food processing environment. International Journal of Food Microbiology, 2016; 223: 33-40.
6. Calzada Gómez J, Olmo AD. High pressure processing of cheese: Lights, shadows and prospects. International Dairy Journal. 2020; 100:104558.
7. Rolim FR, Neto OCF, Oliveir MEG, Oliveira, CJ, Queiroga RC. Cheeses as food matrixes for probiotics: *In vitro* and *In vivo* tests. Trends in Food Science & Technology, 2020; 100: 138-154.
8. Martinez-Rios V, Dalgaard P. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in European

cheeses: A systematic review and meta-analysis. Food Control, 2018; 84:205-214.
9. Possas A, Bonilla-Luque OM, Valero A. From cheese-making to consumption: Exploring the microbial safety of cheeses through predictive microbiology models. Foods, 2021: 10(2), 355.
10. Cadavez VA, Rodrigues V, Gonzales-Barron UA. Microbiological safety of goat milk and cheese: evidences from a meta-analysis. Sustainable goat production in adverse environments: Volume I: Welfare, Health and Breeding, 2017: 379-390.
11. Sastry AS, Bhat S. Essentials of medical microbiology. JP Medical Ltd; 2018 Oct 31.
12. Endres CM, Moreira E, de Freitas AB, Castel AP, Graciano F, Mann MB, Frazzon AP, Mayer FQ, Frazzon J. Evaluation of enterotoxins and antimicrobial resistance in microorganisms isolated from raw sheep milk and cheese: ensuring the microbiological safety of these products in southern Brazil. Microorganisms. 2023; 11(6):1618.
13. Jordan K, Hunt K, Lourenco A, Pennone V. *Listeria monocytogenes* in the food processing environment. Current Clinical Microbiology Reports. 2018; 5:106-19.
14. André MCD, Campos MRH, Borges LJ, Kipnis A, Pimenta FC, Serafini AB. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following SmaI digestion. Food Control, 2008; 19(2), 200-207.
15. Schön K, Schornsteiner E, Dzieciol M, Wagne M, Müller M, Schmitz-Esser S. Microbial communities in dairy processing environment floor-drains are dominated by product-associated bacteria and yeasts. Food Control, 2016; 70: 210-215.
16. Kousta M, Mataragas M, Skandamis P, Drosinos EH. Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. Food control, 2010; 21(6): 805-815.
17. Martinez-Rios V, Dalgaard P. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in European cheeses: A systematic review and meta-analysis. Food Control, 2018; 84: 205-214.
18. Possas A, Bonilla-Luque OM, Valero A. From cheese-making to consumption: Exploring the microbial safety of cheeses through predictive microbiology models. Foods. 2021; 10(2):355.
19. Tiwari U, Walsh D, Rivas L, Jordan K, Duffy G. Modeling the interaction of storage temperature, pH, and water activity on the growth behavior of *Listeria monocytogenes* in raw and pasteurized semi-soft rind washed milk cheese during storage following ripening. Food Control, 2014; 42: 248-256.
20. Tamma PD, Harris PN, Mathers AJ, Wenzler E, Humphries RM. Breaking down the breakpoints: rationale for the 2022 Clinical and Laboratory Standards Institute revised piperacillin-tazobactam breakpoints against Enterobacterales. Clinical Infectious Diseases, 2023; 77(11), 1585-1590.
21. Yoon Y, Lee S, Choi KH. Microbial benefits and risks of raw milk cheese. Food Control, 2016; 63: 201-215.
22. Salek MA, Forouhesh TH, Ansari H, Ravadgar B, Noorani VA, Ghassemi MA. Investigation of microbial contamination in unpasteurized cheese samples compared to pasteurized cheeses and the effect of different amounts of salt added to cheese on contaminating pathogenic bacteria. Iranian Journal of Health Sciences 2001; 8(25): 175-181. [In Persian]
23. Shadan MR, Khoshabi FA. Survey on Microbial Contamination on traditional cheeses in ZahedanpProvince. Zahedan. Journal of Research in Medical Sciences, 2003; 4(1): 33-41. [In Persian]
24. Al-Tahiri RA. A Comparison on Microbial Conditions Between Traditional Dairy Products Sold in Karak and Same Products Produced by Modern Dairies. Pakistan Journal of Nutrition.2005; 4(5): 345-348.
25. Nusrat J, Ifra TN, Mrityunjoy A. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* within raw milk and cheese samples. International Food Research Journal, 2015; 22(6):2629.

26. Azizkhani M, Tooryan F. Contamination of Traditional Cheese in Mazandaran Province to Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 2018; 28(163): 47-56. [In Persian]
27. Sri Prabakusuma A, Zhu, J, Shi Y, Ma, Q, Zhao Q, Yang Z, Huang A. Prevalence and antimicrobial resistance profiling of *Staphylococcus aureus* isolated from traditional cheese in Yunnan, China. 3 Biotech, 2022;12: 1-15.
28. Khalifezadeh S, Sadeghi Z M, Nahaee M R. Prevalence and antibiotics susceptibility of *Staphylococcus aureus* in traditional Kouzeh cheese at Saqqez retails. Journal of Food Hygiene 2015;4(4):1-9. [In Persian]
29. Hamzeh PS, Vaziri S, Molaef A. 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. International Journal of Hydrogen Energy.2019;11(4):465-475. [In Persian]
30. Molla Abaszadeh, H, Haji Sheikhzadeh, B. Surveying the contamination rate, sensibility and antimicrobial resistance patterns in *staphylococcus aureus* isolated from traditional cheese consumed in Qotur of khoy province. Journal of Advanced Biomedical Sciences, 2014;4(2): 209-217. [In Persian]

# Investigation of antibiotic resistance patterns in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from traditional cheeses in Jolfa county

**Zahra Nikbakht[1], Dorna Rafighi[2], Javid Taghinejad[3]***

1- Ph.D. student, Department of Microbiology, Medicine Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Ph.D. student, Department of Microbiology, Research and Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3- MSc. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

*Corresponding Author: jatghinejad@gmail.com

Received: 30/09/2024, Accepted: 23/11/2024

## Abstract

Traditional cheese is one of the most popular types of cheese in the western regions of Iran. Contamination of cheese with pathogenic microorganisms can pose a risk to human health and result in significant economic losses. The aim of the present study was to investigate the presence of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and to determine their antibiotic resistance patterns in traditional cheeses produced in Jolfa County. 60 samples of traditional cheese were randomly collected from shops in Jolfa County. To examine the presence of the targeted microorganisms according to national food standards, the study utilized Giolitti-Cantoni broth, Baird-Parker agar, blood agar, and Mueller-Hinton agar, as well as diagnostic and biochemical tests for bacterial species confirmation. The antibiotic resistance pattern against six antibiotics was determined. The results indicated that all samples were contaminated with *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Additionally, among the *Staphylococcus aureu*s isolates, the highest antibiotic sensitivity was to amikacin at 66.67%, while the highest resistance was to cefixime at 75%. In case of *Escherichia coli*, the highest antibiotic sensitivity was also to amikacin at 100%, and the highest resistance frequency for this bacterium was reported for azithromycin at 25%. The results of the present study showed that the condition of traditional cheeses in Jolfa County is highly undesirable, and awareness regarding the proper use of traditional products is essential in preventing health and treatment issues, including gastrointestinal diseases.

**Keywords**: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Antibiotic Resistance, Traditional Cheese, Jolfa