مجله سلامت و محیط زیست، فصلنامه‌ی علمی پژوهشی
انجمن علمی بهداشت محیط ایران
دوره یازدهم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۷، صفحات ۴۷۶ تا ۴۶۵

Available online: http://ijhe.tums.ac.ir

مقاله پژوهشی

Downloaded from ijhe.tums.ac.ir at 17:09 IRST on Monday November 23rd 2020

بررسی میزان آلودگی و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سالمونلا جدا شده از پنیرهای سنتی عرضه شده در شهرستان مهاباد

سیاوش حمزه پور[۱]، سمیرا وزیری[۲]، ابراهیم مولایی آقایی[۳،*]

۱- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران
۳- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۲۸
تاریخ ویرایش: ۹۷/۱۱/۰۳
تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۰۹
تاریخ انتشار: ۹۷/۱۲/۲۱

واژگان کلیدی: پنیرسنتی، مقاومت آنتی بیوتیکی، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:

emolaeeaghaee@tums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: پنیر سنتی ویژگی‌های ارگانولپتیک مطلوبی برای مصرف کننده ایرانی دارد. اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلاها از مهمترین عوامل میکروبی در بروز مسمومیت‌های غذایی و عفونت‌های گوارشی هستند که می‌توانند این فرآورده را آلوده نمایند. هدف از این مطالعه، بررسی میزان آلودگی و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های باکتریایی اشاره شده جدا شده از پنیرهای سنتی عرضه شده در شهرستان مهاباد بود.

مواد و روش‌ها: در یک مطالعه توصیفی – مقطعی، در سال ۱۳۹۵، تعداد ۱۰۰ نمونه پنیر سنتی از مراکز تولید و توزیع این فرآورده از سطح شهرستان مهاباد انتخاب و به‌منظور بررسی میزان آلودگی باکتریایی طبق دستورالعمل استاندارد ایران، از نظر وجود استافیلوکوکوس اورئوس، شناسایی اشریشیاکلی و شناسایی سالمونلا مورد بررسی واقع شدند. تست آنتی بیوگرام با استفاده از روش استاندارد انتشار از دیسک و اندازه گیری قطر هاله مهاری بر روی محیط مولر هینتون آگار صورت گرفت.

یافته‌ها: از ۱۰۰ نمونه مورد بررسی، به ترتیب ۵۴، ۴۵ و صفر نمونه از نظر وجود باکتری اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا مثبت شدند. تمامی اشریشیاکلی جدا شده به آموکسی سیلین و استافیلوکوکوس اورئوس به آموکسی سیلین-کلاولانیک اسید و آموکسی سیلین مقاوم بودند. ولی ۶۶/۶ درصد ایزوله‌های جدا شده اشریشیاکلی به سفتریاکسون و ۹۷/۷ درصد ایزوله‌های جدا شده استافیلوکوکوس اورئوس به تری متوپریم – سولفامتوکسازول حساسیت داشتند.

نتیجه‌گیری: پنیرهای سنتی عرضه شده در شهرستان مهاباد از نظر میکروبی در وضعیت مطلوبی قرار نداشته و با استانداردهای موجود فاصله دارند که نیاز به اعمال پایش و کنترل‌های بیشتری است.

Please cite this article as: 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. Iranian Journal of Health and Environment. 2019;11(4):465-76.

Downloaded from ijhe.tums.ac.ir at 17:09 IRST on Monday November 23rd 2020

مقدمه

در طول چند دهه گذشته بیماری‌های منتقله از غذا (Food Borne Disease) همواره یکی از عمده‌ترین بیماری‌های تهدید کننده سلامت و بهداشت عمومی کشورهای مختلف جهان محسوب گردیده است. این بیماری‌ها که جزء بیماری‌های روده‌ای تقسیم بندی می‌گردند، نه تنها در کشورهای در حال توسعه بلکه در کشورهای توسعه یافته با استاندارد بالای بهداشتی نیز رو به افزایش بوده‌اند (۱). شیر و فرآورده‌های آن به‌ویژه پنیر که بخشی از احتیاجات غذایی انسان را تامین می‌کنند از مهمترین منابع عفونت و مسمومیت‌های منتقله از غذا هستند و نقش مهمی از نظر انتقال بیماری‌ها به انسان دارند (۲). از عوامل گوناگونی که در انتقال بیماری‌های منتقله از غذا وجود دارند، می‌توان به باکتری‌ها، ویروس‌ها، انگل‌ها، قارچ‌ها و برخی از سموم اشاره کرد (۳، ۴). از میان این عوامل، عمده‌ترین و شایع‌ترین عامل، باکتری‌ها و توکسین حاصل از آنها هستند (۵، ۶). اشریشیاکلی (E.coli O157:H7)، سالمونلا و شیگلا شایع‌ترین عوامل عفونت و استافیلوکوکوس اورئوس، کلستریدیوم بوتولینوم و باسیلوس سرئوس از عوامل مسمومیت‌زای باکتریایی هستند که می‌توانند بهداشت عمومی را به مخاطره بیاندازند (۷، ۸). سالمونلوز یکی از عوامل شایع بروز بیماری‌های منتقله از غذا در انسان است که توسط گونه‌ها و زیر گونه‌های مختلف باکتری سالمونلا ایجاد می‌شود. عفونت انسانی با این باکتری به چهار شکل اصلی شامل وضعیت حامل بدون علامت، تب تیفوئید، مسمومیت غذایی و سپتی سمی بروز می‌کند (۹، ۱۰). برخی از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس انتروتوکسین تولید می‌کنند که عامل ایجاد کننده گاستروانتریت در انسان است. مسمومیت حاصل از استافیلوکوکوس اورئوس از نظر وقوع، یکی از شایع‌ترین مسمومیت‌های منتقله از غذا و در فهرست سه مسمومیت درجه اول در اغلب کشورها قرار دارد (۱۱، ۱۲). مسمومیت غذایی استافیلوکوکی در نتیجه مصرف غذای آلوده به انتروتوکسین استافیلوکوکی ایجاد می‌شود. علائم آن بسیار متغیر بوده و اسهال، استفراغ و کرامپ‌های شکمی از علائم شایع و معمول این مسمومیت است (۱۳). اشریشیاکلی یکی از باکتری‌های مهم بیماری‌زای روده‌ای عامل اسهال بوده که به‌صورت کومنسال در دستگاه گوارش انسان و سایر حیوانات خونگرم وجود دارند (۱۴). لذا وجود این میکروارگانیسم در مواد غذایی معرف آلودگی مدفوعی است (۱۵). اشریشیاکلی O157:H7 به‌عنوان یکی از عمده‌ترین سویه‌های بیماری‌زای انسانی معرفی شده است که علائم آن از اسهال، کولیت هموراژیک تا سندرم همولیتیک اورمیک متغیر است (۱۶، ۱۷). با توجه به نقش مهم لبنیات، بررسی‌ها نشان می‌دهند که مقدار مصرف و دریافت لبنیات در چرخه غذایی خانواده‌های ایرانی بسیار کم است؛ به‌طوری‌که سهم مصرف شیر و لبنیات در غذای خانوارهای ایرانی ۱۰ درصد است. بدین معنی که به ازای هر نفر در روز حدود ۳۸ g لبنیات مصرف می‌شود. به‌عبارت دیگر مصرف روزانه شیر و فرآورده‌های آن ۰/۷ سهم در مقایسه با ۳ تا ۴ سهم توصیه شده است که در الگوی مصرف نیاز به تغییر دارد (۱۸). علی‌رغم اینکه تولید پنیر سنتی و کوزه در ایران قدمت زیادی دارد (۱۹)، بخش عمده پنیر تولیدی در ایران مربوط به پنیر سنتی بوده که به‌علت ویژگی‌های ارگانولپتیک مطلوب یکی از پرطرفدارترین محصولات لبنی محسوب می‌شود. در نتیجه با توجه به تولید و مصرف بالای پنیر سنتی (کوزه) در شهرستان مهاباد، مخاطرات بهداشتی ناشی از حضور باکتری‌های بیماری‌زا در مواد غذایی و اهمیت موضوع و احتمال انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی از طریق باکتری‌های موجود در مواد غذایی، هدف از این مطالعه بررسی میزان آلودگی و تعیین الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سالمونلا جدا شده از پنیرهای سنتی عرضه شده در منطقه مهاباد در سال ۱۳۹۵ بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی - مقطعی طی فاصله زمانی اردیبهشت تا تیر ماه ۱۳۹۵ انجام شده است. برای تعیین حجم نمونه با استفاده از معادله ۱ و با در نظرگرفتن میزان شیوع آلودگی ۴۱ درصدی استافیلوکوکوس اورئوس (۲۰)، و میزان شیوع آلودگی

Downloaded from ijhe.tums.ac.ir at 17:09 IRST on Monday November 23rd 2020

۵۰ درصدی اشریشیاکلی (۲۱)، با فاصله اطمینان ۹۵ درصدی و سطح خطای ۱۰ درصدی مطالعه به ترتیب حداقل ۹۲ و ۹۶ نمونه کافی بود. در نهایت جهت اطمینان بیشتر ۱۰۰ نمونه پنیر سنتی کوزه به‌صورت تصادفی از مراکز مختلف تهیه و توزیع این فرآورده در بازار سنتی سطح شهرستان مهاباد جمع آوری گردید. شایان ذکر است که در هر بار مراجعه مقدار g ۱۰۰ پنیر تهیه و در ظروف یکبار مصرف استریل قرار داده شد. سپس به هر نمونه کد مخصوص اختصاص داده و مشخصات نمونه نظیر محل تولید، تاریخ نمونه برداری بر روی هر یک از ظروف ثبت شد. نمونه‌ها با رعایت زنجیره سرد °C ۴در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه میکروب‌شناسی منتقل شدند و مورد آزمایش و آزمون‌های میکروبی مربوطه قرار گرفتند.

$$n = \frac{Z^2 . P(1-P)}{d^2} \qquad (۱)$$

نمونه‌ها از نظر وجود استافیلوکوکوس اورئوس طبق دستورالعمل استاندارد ایران به شماره ۱۱۹۴ مورد بررسی قرار گرفتند (۲۲). ابتدا g ۱ نمونه را به mL ۹ محیط کشت جیولیتی مایع اضافه کرده و پس از h ۲۴ نگهداری در دمای °C۳۷ محیط‌ها را از نظر ایجاد رنگ بررسی کرده و در صورت مشاهده رنگ سیاه یک لوپ از آنها بر روی محیط بردپارکر کشت خطی داده شد و h ۴۸-۲۴ در °C۳۷ انکوباسیون گردید. بعد از انقضای مدت زمان مذکور از کلنی‌های گرد سیاه رنگ با هاله نفتی بر روی محیط کشت مذکور، به‌عنوان کلنی مشکوک خالص‌سازی و تست‌های تاییدی و بیوشیمیایی از قبیل: کاتالاز، کوآگولاز، کشت در محیط Manitol Salt Agar (MSA)، DNase و Voges Proskauer (VP) انجام شد. در صورت مثبت بودن همه این تست‌ها، باکتری جدا شده به‌عنوان استافیلوکوکوس اورئوس در محیط Tryptic Soy Agar (TSA) برای استفاده در مراحل بعدی ذخیره گردید. شایان ذکر است که در تمام مراحل کار از سوش استاندارد ATCC 6538 به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

جهت شناسایی باکتری اشریشیاکلی، نمونه‌ها طبق دستورالعمل استاندارد ملی به شماره ۲۹۴۶ مورد بررسی قرار گرفتند (۲۳). برای این منظور ابتدا در کنار شعله از نمونه مورد نظر g ۱۰ درون ظرف استریل وزن کرده و به آن mL ۹۰ از محلول رقیق کننده سیترات سدیم ۲ درصد اضافه گردید. سپس آن را مخلوط کرده و min ۲۰ در دمای اتاق و در یک مکان به‌صورت ثابت قرار داده شد. پس از انقضای مدت زمان مذکور mL ۱ از رقت $۱۰^{-۱}$ به محیط کشت Lauryl Sulphate Broth (LSB) با غلظت معمولی افزوده و به مدت h ۴۸ در °C۳۷ انکوبه گردید. پس از انقضای مدت زمان مذکور و در صورت تشکیل گاز یا کدورت، از محیط فوق یک لوپ بر روی محیط Eosin Methylene Blue (EMB) کشت خطی داده شد و h ۴۸-۲۴ در °C۳۷ انکوباسیون گردید. بعد از گذشت مدت زمان مذکور کلنی‌های سبز رنگ با جلای فلزی خالص‌سازی شده و تست‌های افتراقی شامل Triple Sugar Iron TSI Agar (TSI)، Sulfide Indol Motility (SIM)، سیمون سیترات، اوره و Metyl Red Voges Proskauer (MRVP) انجام گرفت. سپس با توجه به نتایج تست‌های افتراقی وجود یا عدم وجود اشریشیاکلی تعیین شد. شایان ذکر است که در تمام مراحل کار از سوش استاندارد ATCC 25922 به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

جهت جداسازی سالمونلا نیز از دستورالعمل استاندارد ملی به شماره ۱۸۱۰ استفاده شد (۲۴). به این صورت که ابتدا g ۲۵ از نمونه در mL ۲۲۵ پپتون واتر بافره هموژن گردید و به مدت h۲۴ در دمای °C۳۷ انکوبه گذاری شد. سپس mL ۱ از محیط غنی شده اولیه را به mL ۱۰ محیط Rappaport Vassiliadis Broth (RVB) منتقل کرده و به مدت h ۲۴-۱۸ در °C۴۲ گرمخانه گذاری گردید. بعد از گذشت از این مدت زمان از محیط فوق یک لوپ بر روی محیط سالمونلا شیگلا آگار Salmonella Shigella Agar (SSA) و محیط Xylose lysine deoxycholate agar (XLD) کشت خطی داده شدند و h۴۸ -۲۴ در °C۳۷ انکوباسیون گردید. بعد از انقضای مدت زمان مذکور کلنی‌های سیاه رنگ روی محیط خالص‌سازی شده و تست‌های افتراقی

Downloaded from ijhe.tums.ac.ir at 17:09 IRST on Monday November 23rd 2020

شامل TSI، SIM، سیمون سیترات، اوره و MRVP انجام گردید. سپس با توجه به نتایج تست‌های افتراقی وجود یا عدم وجود سالمونلا تعیین شد.

با توجه به اهمیت موضوع و احتمال انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی از طریق باکتری‌های موجود در مواد غذایی، برای بررسی تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی، ایزوله‌های مورد مطالعه به روش دیسک دیفیوژن روی محیط مولر هینتون آگار، براساس دستورالعمل ۲۰۱۴ انستیتوی استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) مورد بررسی قرار گرفتند (۲۵). دیسک‌های آنتی بیوتیکی مورد استفاده عبارت بودند از سفتازیدیم (۳۰ µg)، آمپی سیلین سولباکتام (۱۰ µg)، آموکسی سیلین (۲۵ µg)، آموکسی سیلین کلاونیک اسید (۲۵ µg)، سفتریاکسون (۳۰ µg)، کلاریترومایسین (۱۵ µg)، آمیکاسین (۳۰ µg)، تری متو پریم سولفامتوکسازول (۵ µg)، سفیکسیم (۵ µg)، آزیترومایسین (۱۵ µg)، افلاکساسین(۵ µg)، سیپروفلوکساسین (۵ µg) و متی سیلین (۵ µg).

نتایج توصیفی حاصل از این مطالعه به‌صورت درصد و میانگین به کمک نرم افزار SPSS 23 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

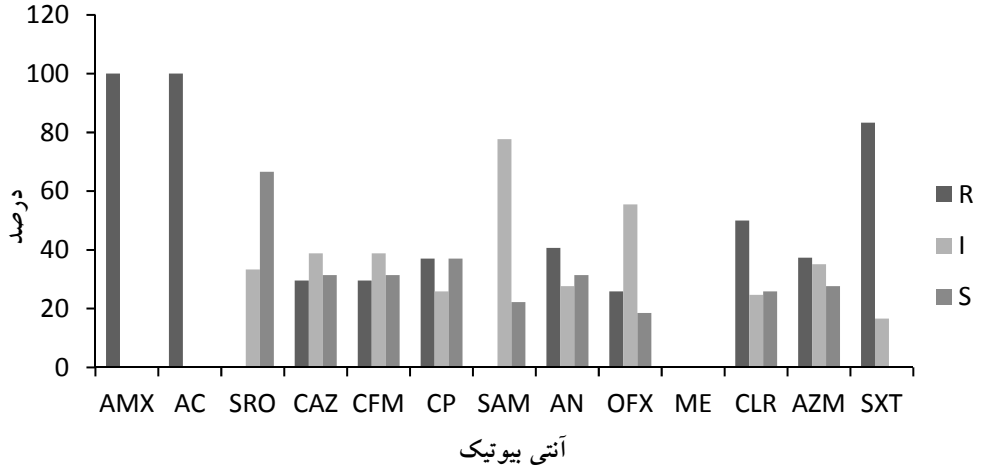
یافته‌ها

از مجموعه ۱۰۰ نمونه مورد آزمایش، به ترتیب ۵۴، ۴۵ و صفر نمونه از نظر وجود باکتری اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا مثبت شدند. نتایج حاصل از تست آنتی بیوگرام برای سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آموکسی سیلین وآموکسی سیلین- کلاولانیک اسید (۱۰۰ درصد) و بیشترین حساسیت نسبت به سفتریاکسون (۶۶/۶ درصد) است (جدول و نمودار ۱). همچنین نتایج حاصل از تست آنتی بیوگرام برای سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آموکسی سیلین (۱۰۰ درصد) و بیشترین حساسیت نیز نسبت به تری متو پریم – سولفامتوکسازول (۹۷/۷ درصد) گزارش شد (جدول و نمودار ۲).

جدول ۱- نتایج آنتی بیوگرام به‌دست آمده از سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از پنیرهای سنتی شهرستان مهاباد

نام آنتی بیوتیک	علامت اختصاری	غلظت دارو بر حسب µg	مقاوم (درصد)	نیمه حساس (درصد)	حساس (درصد)
آموکسی سیلین	AMX	۲۵	(۱۰۰)۵۴	(۰)۰	(۰)۰
آموکسی سیلین- کلاولانیک اسید	AC	۲۵	(۱۰۰)۵۴	(۰)۰	(۰)۰
سفتریاکسون	SRO	۳۰	(۰)۰	(۳۳/۳)۱۸	(۶۶/۶)۳۶
سفتازیدیم	CAZ	۳۰	(۲۹/۶)۱۶	(۳۸/۸)۲۱	(۳۱/۴)۱۷
سفیکسیم	CFM	۵	(۲۹/۶)۱۶	(۳۸/۸)۲۱	(۳۱/۴)۱۷
سیپروفلوکساسین	CP	۵	(۳۷/۰۳)۲۰	(۲۵/۹)۱۴	(۳۷/۰۳)۲۰
آمپی سیلین سولباکتام	SAM	۱۰	(۰)۰	(۷۷/۷)۴۲	(۲۲/۲)۱۲
آمیکاسین	AN	۳۰	(۴۰/۷)۲۲	(۲۷/۷)۱۵	(۳۱/۴)۱۷
افلاکساسین	OFX	۵	(۲۵/۹)۱۴	(۵۵/۵)۳۰	(۱۸/۵)۱۰
متی سیلین	ME	۵	(۰)۰	(۰)۰	(۰)۰
کلاریترومایسین	CLR	۱۵	(۵۰/۰)۲۷	(۲۴/۰۷)۱۳	(۲۵/۹)۱۴
آزیترومایسین	AZM	۱۵	(۳۷/۰۳)۲۰	(۳۵/۱)۱۹	(۲۷/۷)۱۵
تری متوپریم- سولفامتوکسازول	SXT	۵	(۸۳/۳)۴۵	(۱۶/۶)۹	(۰)۰

Downloaded from ijhe.tums.ac.ir at 17:09 IRST on Monday November 23rd 2020



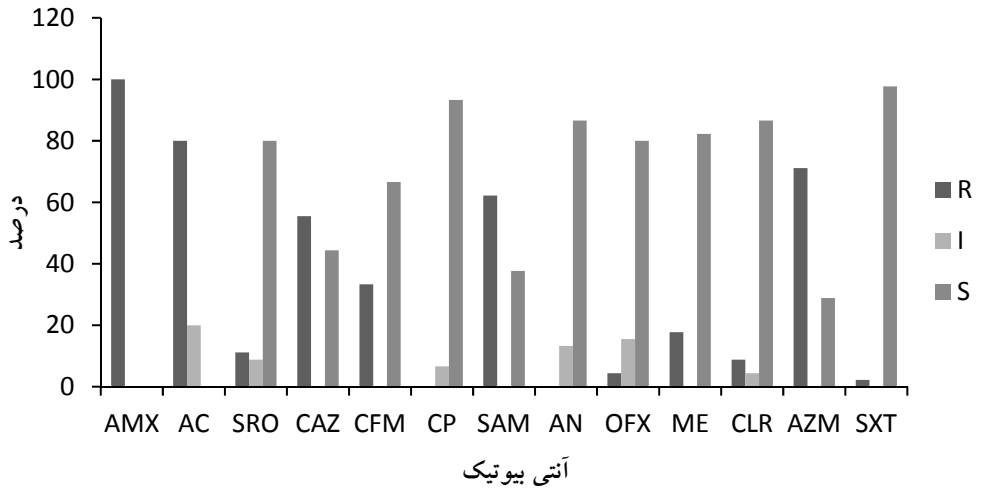
S: Sensitive I: Intermediate R: Resistant

نمودار ۱- نتایج آنتی بیوگرام به‌دست آمده از سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از پنیرهای سنتی شهرستان مهاباد برحسب درصد

جدول ۲- نتایج آنتی بیوگرام به‌دست آمده از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از پنیرهای سنتی شهرستان مهاباد

نام آنتی بیوتیک	علامت اختصاری	غلظت دارو بر حسب µg	مقاوم (درصد)	نیمه حساس (درصد)	حساس (درصد)
آموکسی سیلین	AMX	۲۵	۴۵(۱۰۰)	۰(۰)	۰(۰)
آموکسی سیلین- کلاولانیک اسید	AC	۲۵	۳۶(۸۰/۰)	۹(۲۰/۰)	۰(۰)
سفتریاکسون	SRO	۳۰	۵(۱۱/۱)	۴(۸/۸)	۳۶(۸۰/۰)
سفتازیدیم	CAZ	۳۰	۲۵(۵۵/۵)	۰(۰)	۲۰(۴۴/۴)
سفیکسیم	CFM	۵	۱۵(۳۳/۳)	۰(۰)	۳۰(۶۶/۶)
سیپروفلوکساسین	CP	۵	۰(۰)	۳(۶/۶)	۴۲(۹۳/۳)
آمپی سیلین سولباکتام	SAM	۱۰	۲۸(۶۲/۲)	۰(۰)	۱۷(۳۷/۷)
آمیکاسین	AN	۳۰	۰(۰)	۶(۱۳/۳)	۳۹(۸۶/۶)
افلاکساسین	OFX	۵	۲(۴/۴)	۷(۱۵/۵)	۳۶(۸۰)
متی سیلین	ME	۵	۸(۱۷/۷)	۰(۰)	۳۷(۸۲/۲)
کلاریترومایسین	CLR	۱۵	۴(۸/۸)	۲(۴/۴)	۳۹(۸۶/۶)
آزیترومایسین	AZM	۱۵	۳۲(۷۱/۱)	۰(۰)	۱۳(۲۸/۸)
تری متوپریم- سولفامتوکسازول	SXT	۵	۱(۲/۲)	۰(۰)	۴۴(۹۷/۷)

Downloaded from ijhe.tums.ac.ir at 17:09 IRST on Monday November 23rd 2020



S: Sensitive I: Intermediate R: Resistant

نمودار ۲- نتایج آنتی بیوگرام به‌دست آمده از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از پنیرهای سنتی شهرستان مهاباد برحسب درصد

بحث

پنیر به‌عنوان یکی از فرآورده‌های شیری مغذی با دارا بودن اکثر عناصر و ترکیبات غذایی، محیط مناسبی جهت رشد و بقای میکروارگانیسم‌ها و تولید توکسین توسط آنها مطرح است. در نتیجه سبب انتقال این عوامل میکروبی به مصرف کنندگان و ایجاد انواع بیماری، مسمومیت و مشکلات اقتصادی و اجتماعی می‌گردد (۲). با توجه به اینکه پنیر یکی از مواد غذایی اصلی مورد مصرف در کشور است، عدم رعایت شرایط مناسب و استاندارد در مراحل تهیه، تولید، نگهداری و عرضه پنیر سنتی باعث انتقال میکروارگانیسم‌ها به‌خصوص باکتری‌های بیماری‌زا به این فرآورده می‌شود. از جمله این باکتری‌ها می‌توان به استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سالمونلا اشاره کرد (۲۶). بیماری‌های با منشاء مواد غذایی یکی از عوامل عمده نگرانی در بهداشت و سلامت جامعه بوده و استافیلوکوکوس اورئوس از نظر اهمیت سومین عامل ایجاد کننده بیماری‌های با منشاء مواد غذایی در دنیا است (۲۷، ۲۸). به طوری‌که در مطالعه Soltan Dallal و همکاران که به بررسی تجزیه و تحلیل داده‌های اپیدمیولوژی بیماری‌های ناشی از مواد غذایی در ایران پرداخته بودند مشخص شد که استافیلوکوکوس اورئوس با سهم (۱۲/۸ درصد) شایع‌ترین عامل مسمومیت‌زای باکتریایی بوده است (۲۹). نتایج کلی این بررسی نشان داد که وضعیت پنیرهای تولیدی در شهرستان مهاباد از نظر آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی در وضع نامطلوبی به سر می‌برد. به‌طوری‌که نتایج

Downloaded from ijhe.tums.ac.ir at 17:09 IRST on Monday November 23rd 2020

حاصل از این مطالعه نشـان داد که ۴۵ درصد از کل نمونه‌های مورد بررسی آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بودند که همسو با نتایج اغلب مطالعات دیگر در ایران است و این بدان معناست که پنیرهای سـنتی تولید شـده در نقاط مختلف از نظر میزان آلودگی به اسـتافیلوکوکوس اورئوس در وضعیت نامطلوبی قرار دارنـد (۳۲-۳۰). در مطالعـه Abbaszadeh و همکاران که به بررسـی میزان آلودگی و تعیین الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی سـویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از ۸۰ نمونه پنیرهای سـنتی مصرفی در بخش قطور شهرسـتان خوی در سال ۱۳۹۰ پرداخته بودند، ۴۳ نمونه (۵۳/۷۵ درصد) آلودگی با استافیلوکوکوس اورئوس را نشان دادند. میزان مقاومت به متی سـیلین در ۴ نمونه (۹/۳ درصد)، کوتریموکسازول در ۲ نمونه (۴/۶۵ درصد) مشـاهده شد (۲۷) که مشابه و نزدیک بـه مطالعه حاضـر اسـت. در مطالعـه Khalifehzadeh و همکاران که به بررسی میزان شیوع و حساسیت آنتی بیوتیکی اسـتافیلوکوکوس اورئوس در ۱۰۰ نمونه پنیر سـنتی کوزه در شهرستان سقز استان کردستان انجام شده بود، ۴۱ نمونه (۴۱ درصد) آلوده به اسـتافیلوکوکوس اورئوس تشخیص داده شد. همچنین بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که ۹۲/۸۲ درصد جدایه‌ها به کوتریموکسازول حساسیت داشتند (۲۰) که مشابه و نزدیک به مطالعه حاضر با ۹۷/۷ درصد جدایه‌ها است. همسـو با نتایج این مطالعه، علاوه بر ایران در سـایر کشـورها از جملـه آلمـان (۳۳)، ایتالیا (۳۴) و هند (۳۵) نیز مشـخص شـد که پنیرهایی که از شـیر خام به‌دسـت می‌آینـد میزان استافیلوکوکوس اورئوس بیشتری نسبت به پنیرهای حاصل از شیر پاستوریزه دارند. از جمله مهمترین عوامل موثر در این امر می‌توان به موارد زیر اشـاره کرد؛ از طریق دام مبتلا به بیماری ورم پسـتان، باکتری اسـتافیلوکوکوس اورئوس منتقل شده به شـیر و عدم اعمال فرایند حرارتی مناسب در فرایند تهیه پنیر سـنتی که باعث بقای آن در شیر و انتقال این باکتری به پنیر می‌شود. همچنین اسـتافیلوکوکوس اورئوس یک گونه فرصت طلب در سـطح بدن بوده که از طریق محیط و طی روند تولید و عرضه این فرآورده (پنیر سنتی) همراه با دستکاری‌های زیاد آن را آلـوده می‌کند (۳۶). یافته‌های دیگر این مطالعه نشـان داد کـه ۵۴ درصـد کل نمونه‌ها به اشریشـیاکلی آلوده بودند و نتایـج آن با سـایر تحقیقـات انجام شـده در داخل و خارج کشور همخوانی دارد (۴۰-۳۷). جداسازی اشریشیاکلی از پنیر سـنتی نشـان‌دهنده آلودگی آن با مواد مدفوعی، هم از طریق منبع تهیه (شـیر غیر پاستوریزه) و هم از طریق آلودگی ثانویه مانند نحوه توزیع، نگهداری و عرضه آن به مصرف کننده است (۱۵، ۴۱). مشاهده آلودگی فرآورده‌های لبنی از جمله پنیر به اشریشیاکلی در بیشتر موارد وجود دارد. به‌طوری‌که در مطالعه Nooroozi و همـکاران که به بررسـی ۱۰۰ نمونه پنیرهای محلی لیقوان تبریز به کلیفرم‌ها و اشریشـیاکلی در شهر مراغه در سـال ۲۰۱۲ پرداخته بودند، ۵۰ نمونـه (۵۰ درصد) آلوده بـه اشریشـیاکلی شناسـایی شـد (۲۱). در مطالعه مشـابهی Pourali و همکاران که به بررسـی ۹۰ نمونه پنیرهای سنتی عرضه شده در بازار تبریز به کلیفرم‌ها و اشریشیاکلی بیماری‌زا پرداختند، ۸۸ نمونه (۸۸ درصد) آلوده به اشریشـیاکلی بودند (۴۲). همچنین در مطالعه مشـابه دیگری که Shariatifar و همکاران به بررسـی حساسیت آنتی بیوتیکی اشریشیاکلی‌های جدا شـده از بستنی‌های سـنتی گناباد پرداختند مشخص شد کـه ۱۲۶ نمونه از ۵۲۳ نمونه بسـتنی سـنتی از لحاظ وجود اشریشـیاکلی مثبت هسـتند، و تمامی جدایه‌ها به آموکسـی سـیلین و آموکسی سـیلین-کلاولانیک اسـید (۱۰۰ درصد) مقاوم بودند و نسـبت به آنتی بیوتیک‌های سـفتی زوکسـیم (۶۸/۸۹ درصد) و سفتریاکسـون (۶۴/۲۸ درصد) حساسـیت داشـتند که با مطالعه حاضر که تمامی جدایه‌ها به آموکسـی سـیلین و آموکسی سیلین کلاونیک اسید (۱۰۰ درصد) مقاوم بودند و نسـبت به آنتی بیوتیک سفتریاکسـون (۶۶/۶ درصد) حساسـیت داشـتند مطابقت و همخوانـی دارد (۴۳). از نظر آلودگـی به سـالمونلا در یافته‌های مطالعه حاضـر هیچ گونه مـوارد مثبتی از این باکتری مشـاهده نگردیـد که با مطالعات سـایر محققین همخوانـی دارد (۳۰، ۴۱، ۴۴). اما در مطالعه Rezaei و همکاران که به بررسـی وضعیت آلودگی میکروبی پنیرهای سـنتی توزیع شده در استان مرکزی در سال ۲۰۱۰

Downloaded from ijhe.tums.ac.ir at 17:09 IRST on Monday November 23rd 2020

پرداخته بودند (۸/۷۵ درصد) نمونه‌ها آلوده به سالمونلا گزارش شـدند (۲۶). این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت میزان pH در حین مراحل تولید باشد به‌صورتی‌که عموما این باکتری در طی مراحل سـاخت پنیر در pH حدود ۴/۵ از بین رفته و یا تعداد آن بسـیار کاهش می‌یابد (۴۵).

نتیجه‌گیری

نتایج نشـان داد کـه وضعیت میکروبی پنیرهای سـنتی کوزه توزیع شده در شهرستان مهاباد مطلوب نبوده و با استانداردهای موجـود انطباق نـدارد و مصـرف آنها برای مصـرف کنندگان می‌تواند مخاطره آمیز باشـد. پیشـنهاد می‌شـود بـرای بهبود کیفیت بهداشـتی در تولیـد این فرآورده، به‌جای شـیرخام از شیر پاسـتوریزه و یا شیر اولیه با کیفیت بالا که به اندازه کافی نیز حرارت دیده اسـتفاده شـود. همچنین براسـاس یافته‌های این مطالعه، در موارد ضروری و قبل از مشـخص شـدن نتایج آنتی بیوگرام، بهترین آنتی بیوتیک‌ها جهت درمان اسـهال‌های ناشـی از مصـرف پنیرهای سـنتی آلـوده به اشریشـیاکلی و اسـتافیلوکوکوس اورئـوس به‌ترتیب می‌تواند سفتریاکسـون و کوتریموکسازول باشند.

ملاحظات اخلاقی

نویسـندگان کلیه نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانـه، تحریف داده‌ها و داده‌سـازی را در ایـن مقاله رعایت کرده‌اند.

References

1. De Oliveira MA, De Souza VM, Bergamini AMM, De Martinis ECP. Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. Food Control. 2011;22(8):1400-403.
2. Farrokh Eslamlo H, Athari S, Hami M, Haji Mohammadi B, Hosseini Jazani N. The evaluation of contamination rate with E. coli, staphylococcus aeureus, Listeria monocytogenesis and Salmonella sp. in handmade butters in Urmia City. The Journal of Urmia Nursing and Midwifery Faculty. 2009;7(3):157-65 (in Persian).
3. Wang XW, Zhang L, Jin LQ, Jin M, Shen ZQ, Chao FH, et al. Development and application of an oligonucleotide microarray for the detection of foodborne bacterial pathogens. Applied Microbiology and Biotechnology. 2007;76(1):225-33.
4. Sarshar M, Doosti A, Jafari A, Shahrokhi N. Evaluation of oligonucleotide microarray technology for the detection of foodborne bacterial pathogens. Journal of Microbial World. 2009;2(2):73-80 (in Persian).
5. Headrick ML, Tollefson L. Food borne disease summary by food commodity. Veterinary Clinics: Food Animal Practice. 1998;14(1):91-100.
6. Baldursson S, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks–an update 2004–2010. Water Research. 2011;45(20):6603-14.
7. Greig J, Ravel A. Analysis of foodborne outbreak

Downloaded from ijhe.tums.ac.ir at 17:09 IRST on Monday November 23rd 2020

data reported internationally for source attribution. International Journal of Food Microbiology. 2009;130(2):77-87.

8. Strachan NJ, Doyle MP, Kasuga F, Rotariu O, Ogden ID. Dose response modelling of Escherichia coli O157 incorporating data from foodborne and environmental outbreaks. International Journal of Food Microbiology. 2005;103(1):35-47.
9. De Freitas CG, Santana ÂP, Da Silva PHC, Gonçalves VSP, Barros AF, Torres FAG, et al. PCR multiplex for detection of Salmonella Enteritidis, Typhi and Typhimurium and occurrence in poultry meat. International Journal of Food Microbiology. 2010;139(1-2):15-22.
10. Solhan S, Chan PP, Kurupatham L, Foong BH, Ooi PL, James L, et al. An outbreak of gastroenteritis caused by Salmonella enterica serotype Enteritidis traced to cream cakes. Western Pacific Surveillance and Response. 2011;2(1):23-30.
11. Normanno G, Firinu A, Virgilio S, Mula G, Dambrosio A, Poggiu A, et al. Coagulase-positive Staphylococci and Staphylococcus aureus in food products marketed in Italy. International Journal of Food Microbiology. 2005;98(1):73-79.
12. Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. International Journal of Food Microbiology. 2000;61(1):1-10.
13. Capita R, Alonso-Calleja C, Garcia-Fernandez M, Moreno B. Characterization of Staphylococcus aureus isolated from poultry meat in Spain. Poultry Science. 2002;81(3):414-21.
14. Mehdizadeh M, Eskandari S, Zavar M, Pirouz B. The Importance of Escherichia coli O157: H7 in Foodborn Infection. Journal of Kerman University of Medical Sciences. 2015; 15(4): 353-361 (in Persian).
15. Edberg S, Rice E, Karlin R, Allen M. Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology. 2000;88(S1):106S-116S.
16. Jamshidi A, Bassami M, Rasooli M. Isolation of Escherichia coli O157: H7 from ground beef samples collected from beef markets, using conventional culture and polymerase chain reaction in Mashhad, northeastern Iran. Iranian Journal of Veterinary Research. 2008;9(1):72-76.
17. Takahashi M, Taguchi H, Yamaguchi H, Osaki T, Komatsu A, Kamiya S. The effect of probiotic treatment with Clostridium butyricum on enterohemorrhagic Escherichia coli O157: H7 infection in mice. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2004;41(3):219-26.
18. Kholdi N, Piraste A, Khajavi Shojaie K, Shetkhani A, Zayeri F, Meskin A. Assessing the perceived barriers and benefits for milk products consumption in women living in Tehran. Iranian Journal of Health Education and Health Promotion. 2018;6(1):29-38 (in Persian).
19. Robinson RK. Dairy Microbiology. The Netherlands: Elsevier Applied Science; 1990.
20. Khalifezadeh S, Sadeghi ZM, Nahaee M. 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).
21. Nooroozi M. Investigation of contamination of traditional cheeses of Lighvan with E. coli and in Coliforms Maragheh. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2012;5(4):23-28 (in Persian).
22. ISIRI. Staphylococcus aureus identification procedure, Standard No. 1194. Tehran: Institute of Standard and Industrial Research of Iran; 1998 (in Persian).
23. ISIRI. E. coli identification procedure, Standard No. 2946. Tehran: Institute of Standard and Industrial Research of Iran; 1998 (in Persian).
24. ISIRI. Salmonella identification procedure. Standard No. 1810. Tehran: Institute of Standard and Industrial Research of Iran; 1998 (in Persian).
25. Patel JB. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
26. Rezaei M, Yahyaei M, Parviz M. A survey of microbial contamination in traditional cheese distributed in Markazi Province in 2010. Iranian Journal of Health and Environment. 2014;7(1):115-22 (in Persian).
27. Molla Abaszadeh H, Haji Sheikhzadeh B. Surveying the contamination rate, sensibility and antimicrobial resistance patterns in staphylococcus aureus

Downloaded from ijhe.tums.ac.ir at 17:09 IRST on Monday November 23rd 2020

isolated from traditional cheese consumed in Qotur District of Khoy County. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2014;4(2):209-17 (in Persian).

28. Farajvand N, Alimohammadi M. Prevalence of Staphylococcus aureus in four famous brand of Doogh produced in Iran. Iranian Journal of Health and Environment. 2014;7(1):85-94 (in Persian).
29. Soltan Dallal MM, Motalebi S, Asl HM, Forushani AR, Yazdi MKS, Rajabi Z, et al. Analysis of epidemiological data of foodborne outbreak reported in Iran. Tehran University Medical Journal. 2015;72(11):780-88 (in Persian).
30. Mirzaei H, Javadi A, Farajli M, Shah-Mohammadi A, Monadi A, Barzegar A. Prevalence of Staphylococcus aureus resistant to methicillin in traditional cheese and cream: a study in city of Tabriz, Iran. Journal of Veterinary Research. 2012;67(1):65-70 (in Persian).
31. Marhamati Zadeh M, Karim Q, Nikafrooz R, Peikar J, editors. Survey on the white traditional cheese by Staphylococcus aureus in Kazeroun. 16th National Congress of Iran Food Industry; 2006; Iran (in Persian).
32. Chaleshtori RS, Arani NM, Taghizadeh M, Chaleshtori FS, Barfrosh F. Detection of antibiotic resistance pattern in Staphylococcus aureus isolated from ready to eat foods in Kashan, 2015. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2017;10(6):60-65 (in Persian).
33. Akineden Ö, Hassan AA, Schneider E, Usleber E. Enterotoxigenic properties of Staphylococcus aureus isolated from goats' milk cheese. International Journal of Food Microbiology. 2008;124(2):211-16.
34. Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia N, Corrente M, Parisi A, et al. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated from meat and dairy products. International Journal of Food Microbiology. 2007;115(3):290-6.
35. Singh P, Prakash A. Prevelence of coagulase positive pathogenic Staphylococcus aureus in milk and milk products collected from unorganized sector of agra. Act Agriculture Slovenia. 2010;96(1):37-41.
36. Baniassadi B, Azhdari A. Survey of the total microbial count and the rate of contamination to coliform, Staphylococcus aureus, mold and yeast in traditional cheese in Birjand during 2015. Journal of Food Microbiology. 2017; 4(1):29-37 (in Persian).
37. Ali Mohamadi Asl H, Nemati A, Hazratian T. Organoleptic properties and microbial contamination of traditional and pasteurized cheeses in Ardebil township. The Scientific Journal of Zanjan University of Medical Sciences 2002;1(33):33-38 (in Persian).
38. Bateni J, Samadzadeh R. A survery on the contamination of traditional cheese and milk survey in zanjan city with brucella and E. coli. The Scientific Journal of Zanjan University of Medical Sciences. 2002;9(35):58-65 (in Persian).
39. Giammanco GM, Pepe A, Aleo A, D'Agostino V, Milone S, Mammina C. Microbiological quality of Pecorino Siciliano" primosale" cheese on retail sale in the street markets of Palermo, Italy. New Microbiologica. 2011;34(2):179-85.
40. Aygun O, Aslantas O, Oner S. A survey on the microbiological quality of Carra, a traditional Turkish cheese. Journal of Food Engineering. 2005;66(3):401-4.
41. Salek MA, Forouhesh TH, Ansari H, Ravadgar B, Noorani VA, Ghassemi M. A survey on bacterial contamination on one-hundred unpasteurized cheese samples and pasteurized cheese as control and stability of commonly contaminating bacteria to different salt concentration. Journal of Iran University of Medical Sciences. 2001;8(25):175-81 (in Persian).
42. Pourali BM, Mirzaei H. Study on the contamination rate of traditional white cheese presented in tabriz markets to coliforms and pathogenic escherichia coli. Journal of Food Hygiene. 2011; 1(3):71-80 (in Persian).
43. Shariatifar N, Mokhtarian DH, Mohamadzadeh MM, Ghahramani M. Antimicrobial susceptibility of Escherichia coli isolated from traditional ice cream in Gonabad. Journal of Gonabad University of Medical Sciences. 2011; 17(1):58-64 (in Persian).
44. Daneshmand A RM, Kareqar M, Kiany S. A survey on the contamination of traditional fresh cheese produced in Jahrom Township with Salmonella and Staphylococcus aureus. Iranian South Medical Jour-

nal 2008;10(1):19-26 (in Persian).
45. Karim Q, Simani S. Survey on staphylococcus aureus in salt water that use in order maintenance of Iranian white cheese. Iranian Journal of National Nutrition & Food Technology Research Institute. 1997;1:210-11 (in Persian).

Downloaded from ijhe.tums.ac.ir at 17:09 IRST on Monday November 23rd 2020

Available online: http://ijhe.tums.ac.ir

Original Article

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

S Hamzeh Pour[1], S Vaziri[2], E Molaee Aghaee[3,*]

1- Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Department of Biology, Payam Nour University of Tehran, Tehran, Iran

3- Department of Environmental Health, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

ARTICLE INFORMATION:

Received: 19 December 2018

Revised: 23 January 2019

Accepted: 29 January 2019

Published: 12 March 2019

Keywords: Traditional cheese, Antibiotic resistance, *Escherichia coli, Staphylococcus aureus*, *Salmonella*

***Corresponding Author:**

emolaeeaghaee@tums.ac.ir

ABSTRACT

Background and Objective: Traditional cheese has desirable organoleptic characteristics for Iranian consumers. *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* and *Salmonella* are some of the most important microbial agents in food poisoning and gastrointestinal infections, which can contaminate this product and endanger the health of consumers. The aim of this study was to survey the contamination rate and determination of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* and *Salmonella* strains isolated from traditional cheeses distributed in Mahabad, Iran.

Materials and Methods: In a cross-sectional study, 100 samples of traditional cheese from the production and distribution centers in Mahabad city were randomly selected in 2016 to determine the bacterial contamination in accordance to national standard guidelines for the presence of *Staphylococcus aureus, E.coli and Salmonella spp.* Anti-biograms test was conducted using a standard disc diffusion method through the measurement of the inhibitory zone diameter on the Muller Hinton agar.

Results: Among the 100 samples, 54, 45 and 0 samples were positive for *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* and *Salmonella*, respectively. All *E.coli* (100%) were found to be resistant to Amoxicillin, while *Staphylococcus aureus* isolates (100%) were resistant to Amoxicillin-Clavulanic acid and Amoxicillin. However, 66.6% isolates of *E.coli* were susceptible to Ceftriaxone and 97.7% isolates of *Staphylococcus aureus* were susceptible to Trimethoprim – Sulfamethoxazole.

Conclusion: The microbial quality of traditional cheeses distributed in Mahabad city was not evaluated as appropriate and the values did not meet the national standards. Thus, further monitoring and control are needed.

Please cite this article as: 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. Iranian Journal of Health and Environment. 2019;11(4):465-76.

Downloaded from ijhe.tums.ac.ir at 17:09 IRST on Monday November 23rd 2020