نشریه تازه ها در میکروب‌شناسی دامپزشکی
وبگاه: nfvm.uoz.ac.ir
دو فصلنامه - شاپا چاپی: ۲۶۴۵-۴۴۹۱ شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۵۰۰۴



دوره ٦، شماره ۲، پائیز و زمستان ۱٤۰۲، صفحات ٦٥- ۵۷

# ارزیابی میزان شیوع، مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های *fljb* و *rfljb* *سالمونلا تیفی‌موریوم* در لبنیات صنعتی و سنتی

**ابراهیم رحیمی*[۱]، محمدامین حیدرزادی[۲]، نجمه واحد دهکردی[۳]**

۱- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۲- دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۳- دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

دریافت مقاله: ۱۳ تیر ۱۴۰۲، بازنگری: ۲۶ مهر ۱۴۰۲، پذیرش نهایی: ۲۰ آبان ۱۴۰۲

10.22034/nfvm.2024.405215.1194 20.1001.1.26454491.1402.6.2.3.1

## چکیده

*سالمونلا* از پاتوژن‌های گرم‌منفی است که حضور آن در مواد غذایی سبب کاهش کیفیت تولید و رخداد گاستروانتریت در انسان می‌شود. شیوع *سالمونلا* در فراورده‌های لبنی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری از بحران‌های کنونی می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع *سالمونلا تیفی‌موریوم* در لبنیات سنتی و صنعتی عرضه شده در شهرستان شهرکرد و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها است. در این مطالعه تعداد ۱۴۰ نمونه از لبنیات سنتی و صنعتی مختلف جداسازی و در شرایط سترون به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی انتقال و نمونه‌ها جهت جداسازی باکتری توسط روش‌های استاندارد، مورد ارزیابی قرار گرفتند و مقاومت جدایه‌ها به روش Disk diffution انجام گرفت. نتایج نشان داد که از مجموع ۶۰ نمونه لبنیات صنعتی ۲ نمونه (۳/۳۳ درصد) و از ۸۰ نمونه لبنیات سنتی ۳۸ نمونه (۴۷/۵ درصد) به *سالمونلا* آلوده بودند که بیشترین آلودگی مربوط به کشک صنعتی (۶/۴۲ درصد) و سپس کره و پنیر سنتی (۵/۷۱ درصد) بود، همچنین بیشترین میزان مقاومت مربوط به سولفاماتاکسازول (۷۱ درصد) و کمترین مقاومت مربوط به آموکسی‌کلاو (۵۰ درصد) بود. نتایج این مطالعه نشان داد که ردیابی باکتری به روش PCR نسبت به سایر روش‌های سنتی ارجحیت داشته و با توجه به رخداد بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی جهت درمان گاستروانتریت ناشی از *سالمونلا*، استفاده از آنتی‌بیوتیک جهت درمان باید به حداقل برسد.

***واژگان کلیدی:*** *لبنیات، سالمونلا، گاستروانتریت، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، شهرکرد*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: ebrahimrahimi55@yahoo.com

## مقدمه

شیر و فراورده‌های لبنی حاصل از آن، در میان غذاهای متعدد با منشأ حیوانی حائز اهمیت می‌باشند، بنابراین تضمین کیفیت بهداشت و ایجاد ایمنی غذایی برای این فرآورده‌ها امری ضروری بوده که فراهم‌کننده بهداشت و سلامت جامعه می‌باشد (۱).

مسمومیت‌ها و عفونت‌های باکتریایی ناشی از مواد غذایی منبع نگرانی برای کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه است. در اروپا، *سالمونلا* و کمپیلوباکتر مهم‌ترین علل بیماری‌های ناشی از غذا هستند. تعداد زیادی از محصولات غذایی مورد استفاده مردم از جمله گوشت، سبزیجات و محصولات لبنی هر روز در سراسر جهان مصرف می‌شوند که آلودگی آنها به پاتوژن‌ها، شایع است و اغلب باعث عفونت، مسمومیت، اسهال، استفراغ و مرگ و میر قابل توجهی می‌شود. *سالمونلا* یکی از این میکروارگانیسم‌های پاتوژن است. *سالمونلا* از باکتری‌های بیماری‌زا مشترک بین انسان و دام بوده که سبب بیماری سالمونلوز می‌شود و شایع‌ترین بیماری منتقله از طریق غذا گزارش شده است و آن را به یک مشکل جدی در حوزه بهداشت عمومی و مواد غذایی در سراسر جهان تبدیل کرده است (۲، ۳).

گونه‌های *سالمونلا* باسیل‌های گرم‌منفی، دارای تاژک هستند که دمای بهینه رشد آنها بین ۲۵ تا ۴۰ درجه بوده و از میکروارگانیسم‌های روده‌ای می‌باشند و متوسط Aw در آن ۰/۹۸ تا ۰/۹۵ است. این میکروارگانیسم به خشکی ضعیف بوده و برای رشد خود به آهن نیاز دارد. به همین دلیل در غذاهای دارای آهن رشد بیشتری داشته و سالانه ۹۳/۸ میلیون مورد گاستروانتریت را سبب می‌شود. در حال حاضر بیش از ۲۶۰۰ سروار *سالمونلا* وجود دارد که *S. Enteritidis* و *S.Typhimurium* شایع‌ترین پاتوژن‌های غذایی هستند. شدت عفونت سالمونلایی به نوع سویه و وضعیت سلامت میزبان بستگی دارد. کودکان زیر ۵ سال، سالمندان و بزرگسالان دارای نقص ایمنی، بیشتر مستعد ابتلا به سالمونلوز هستند. علائم بیمای شامل اسهال، استفراغ، گرفتگی عضلات شکم و به ندرت اسهال خونی است (۴، ۵).

به‌طور کلی، داده‌های اپیدمیولوژیک در مورد FBDs به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه، به‌صورت دقیق در دست نیست. اما با این حال، سیستم نظارت بر شیوع بیماری‌های منتقله از غذا در ایالات متحده گزارش داده است که *سالمونلای* غیر تیفوئیدی تهاجمی در درجه اول مسئول بخش عمده‌ای از بیماری‌های گوارشی در محدوده سال‌های ۲۰۰۹ و ۲۰۱۵ بوده است (۶، ۷)، لذا با توجه به اهمیت *سالمونلا*، هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان شیوع *سالمونلا تیفی‌موریوم* در لبنیات صنعتی و سنتی عرضه شده در شهرستان شهرکرد و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

***جمع‌آوری نمونه‌ها:*** ۱۴۰ نمونه شامل ۶۰ نمونه لبنیات صنعتی و ۸۰ نمونه لبنیات سنتی شامل شیر گاو، شیر گوسفند، شیر بز، پنیر، ماست، دوغ و کره به‌صورت تصادفی در مدت دو ماه جمع‌آوری شد. همه نمونه‌ها در شیشه‌های استریل جمع‌آوری یا در بسته‌بندی اصلی خود با برچسب نگهداری شدند. این نمونه‌ها در سریع‌ترین زمان ممکن کنار فلاسک یخ جهت جلوگیری از آلودگی‌های ثانویه جهت شناسایی مرسوم سالمونلا به آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی انتقال داده شدند.

***جداسازی سالمونلا:*** ابتدا ۲۵ گرم از نمونه لبنی با ۲۲۵ میلی‌لیتر محیط لاکتوز براث مخلوط و به مدت ۲۴ تا ۴۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. مقدار یک میلی‌لیتر از نمونه غنی شده به ۱۰ میلی‌لیتر محیط سلنیت سیستین (Italy, liofilchem) و یک میلی‌لیتر از نمونه غنی شده به ۱۰ میلی‌لیتر محیط تتراتیونات براث (Italy, liofilchem) منتقل شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری، از محیط سلنیت سیستین روی محیط‌های سالمونلا-شیگلا آگار،

بیسموت سولفیت آگار و بریلیانت گرین آگار ( Italy, liofilchem) به‌صورت خطی کشت داده شد. به همین ترتیب از تتراتیونات، روی محیط‌های مذکور کشت انجام گرفت. بعد از ۲۴ ساعت تعداد دو یا بیشتر از پرگنه‌های تیپیک به‌صورت جداگانه در محیط‌های ( Triple Sugar TSI (Iron و LIA (Lysine Iron Agar) منتقل و نتایج بر اساس دستورالعمل استاندارد مورد تفسیر قرار گرفت (۸).

***سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی:*** پس از جداسازی نمونه‌های سالمونلا، مقاومت آنتی‌بیوتیکی با انجام تست آنتی‌بیوگرام از طریق روش استاندارد دیسک دیفیوژن (Baur-Kirby) و طبق استاندارد CLSI، با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی آمپی‌سیلین (۱۰µg)، پنی‌سیلین (۱۰µg)، جنتامایسین (۱۰µg)، تری متوپریم سولفامتوکسازول (۵µg) و آموکسی‌کلاو (۱۰µg) تعیین گردید. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی از شرکت پادتن طب (ایران) خریداری شد. پس از ۱۸-۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷°C، قطر هاله عدم رشد اطراف هر دیسک اندازه‌گیری و نتایج آن ثبت گردید (۸).

***استخراج DNA ژنومی و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز:*** استخراج DNA ژنومی از جدایه‌های سالمونلا با استفاده از کیت استخراجDNA شرکت فرمنتاز لیتوانی و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. تمامی نمونه‌های DNA تا زمان انجام واکنش PCR در دمای ۲۰ °C- نگهداری شدند. پرایمرهای مورد استفاده جهت شناسایی جنس سالمونلا و ژن‌های *fljb* و *rfbJ* *سالمونلا تیفی‌موریوم* و برنامه دمایی آنها در جدول ۱ نشان داده شده است (۹). جهت انجام تمامی واکنش‌های PCR از دستگاه Master cucle gradient (Eppendorf) استفاده شد.

**جدول ۱- لیست پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه**

| نام ژن | توالی (5′-----3′) | اندازه قطعه تکثیر شده (bp) | شرایط دمایی واکنش |
|---|---|---|---|
| ***invA*** | F: GTGAAATTATCGCCACGTTCGGGCAA<br>R: TCATCGCACCGTCAAAGGAACC | ۲۸۴ | واسرشت اولیه در دمای ۹۵ °C به مدت ۵ دقیقه<br>۳۵ سیکل در ۹۴ °C به مدت ۱ دقیقه<br>دمای اتصال ۵۶ °C به مدت ۳۰ ثانیه<br>دمای باز شدن ۷۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه<br>دمای باز شدن نهایی ۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه |
| ***fljb*** | F: ACGAATGGTACGGCTTCTGTAACC<br>R: TACCGTCGATAGTAACGACTTCGG | ۵۲۶ | واسرشت اولیه در دمای ۹۴ °C به مدت ۶ دقیقه<br>۳۵ سیکل در ۹۴ °C به مدت ۱ دقیقه<br>دمای اتصال ۵۷ °C به مدت ۱ دقیقه<br>دمای باز شدن ۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه<br>دمای باز شدن نهایی ۷۲ °C به مدت ۸ دقیقه |
| ***rfbJ*** | F: CCAGCACCAGTTCCAACTTGATAC<br>R: GGCTTCCGGCTTTATTGGTAAGCA | ۶۶۳ | |

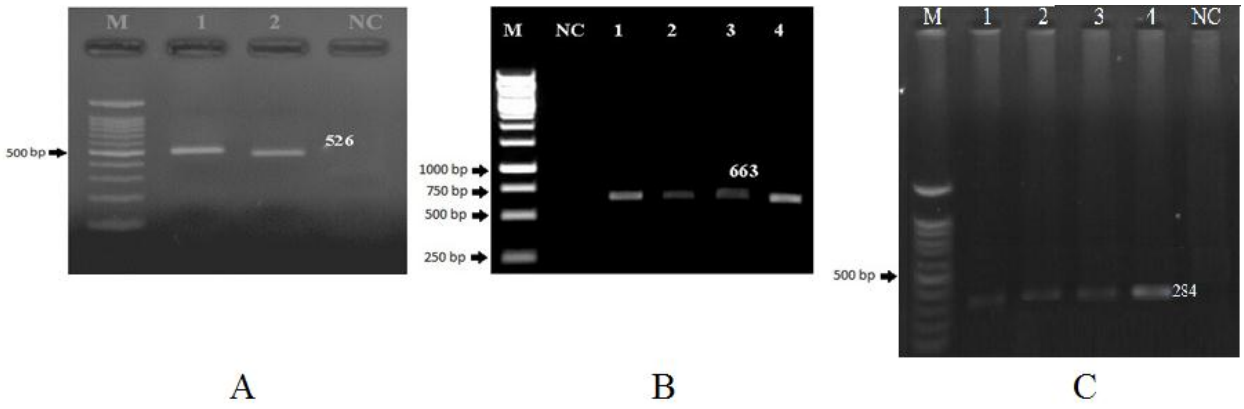
در نهایت بررسی محصولات PCR با استفاده از ژل آگاروز ۱درصد و رنگ‌آمیزی DNA با رنگ سایبرگرین انجام شد. ژلها با استفاده از دستگاه Gel Documentation مشاهده و مورد بررسی قرار گرفتند.

***بررسی آماری داده‌ها:*** داده‌های حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و آزمون‌های آماری مربع کای و فیشر تجزیه و تحلیل شد و اختلاف آماری بین حضور و فراوانی *سالمونلا* و ژن‌های حدت بر پایه ضریب اطمینان ۰۵درصد انجام شد.

## نتایج

آزمایشات بیوشیمیایی و شناسایی مولکولی نشان داد از مجموع ۱۴۰ نمونه لبنیات سنتی و صنعتی، در مجموع ۴۰ نمونه (۲۸/۵۷ درصد) به *سالمونلا* آلودگی داشتند که این میزان در شیر خام گاو ۲، شیر خام گوسفند ۴، شیر خام بز ۴، پنیر سنتی ۸، پنیر صنعتی ۲، ماست سنتی ۲، دوغ سنتی ۱، کره سنتی ۸ و در کشک سنتی ۹ مورد بود

(جدول ۲). در این بین بیشترین میزان آلودگی در کشک سنتی با ۹ مورد (۶/۴۲ درصد) مشاهده گردید. همچنین در دوغ، کشک، کره و ماست صنعتی هیچ‌گونه آلودگی وجود نداشت. در بین محصولات صنعتی، پنیرهای صنعتی مورد آزمایش ۲ نمونه (۱/۴۲ درصد) به سالمونلا آلودگی داشتند. به‌طور کلی، از بین این ایزوله‌ها، چهار سروار *سالمونلا* منحصراً به‌عنوان *سالمونلا تیفی‌موریوم* شناسایی شدند. PCR محصولاتی با اندازه ۲۸۴، ۵۲۶ و ۶۶۳ جفت باز مربوط به ژن‌های *invA*، *fljb* و *rfbJ* به‌ترتیب در تمام چهار سروار *سالمونلا تیفی‌موریوم* تولید کرد (شکل ۱).




**شکل ۱- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت تشخیص ژن‌های حدت در *سالمونلا تیفی‌موریوم* جداسازی شده از فرآورده‌های لبنی، شکل A مربوط به ژن *fljb*، شکل B مربوط به ژن *rfljb* و شکل C مربوط به ژن *invA* است.**

**جدول ۲- میزان آلودگی به *سالمونلا* در لبنیات سنتی و صنعتی شهرستان شهرکرد**

| نوع ماده غذایی | تعداد نمونه | میزان آلودگی به *سالمونلا* (٪) | میزان آلودگی به *سالمونلا تیفی‌موریوم* (٪) |
|---|---|---|---|
| شیر خام گاو | ۱۰ | ۲ (۱/۴۲) | - |
| شیر پاستوریزه گاو | ۱۰ | ۰ (۰) | - |
| شیر خام گوسفند | ۱۰ | ۴ (۲/۸۵) | - |
| شیر خام بز | ۱۰ | ۴ (۲/۸۵) | - |
| پنیر سنتی | ۱۰ | ۸ (۵/۷۱) | - |
| پنیر صنعتی | ۱۰ | ۲ (۱/۴۲) | - |
| ماست سنتی | ۱۰ | ۲ (۱/۴۲) | - |
| ماست صنعتی | ۱۰ | ۰ (۰) | - |
| دوغ سنتی | ۱۰ | ۱ (۰/۷۱) | - |
| دوغ صنعتی | ۱۰ | ۰ (۰) | - |
| کره سنتی | ۱۰ | ۸ (۵/۷۱) | ۲ (۱/۴۲) |
| کره صنعتی | ۱۰ | ۰ (۰) | |
| کشک سنتی | ۱۰ | ۹ (۶/۴۲) | ۲ (۱/۴۲) |
| کشک صنعتی | ۱۰ | ۰ (۰) | - |
| جمع کل | ۱۴۰ | ۴۰ (۲۸/۵۷) | ۴ (۲/۸۵) |
| سطح معنی‌داری | | ۰/۰۰۱** | ۰/۰۳* |

*:تفاوت آلودگی محصولات مختلف با احتمال ۹۵٪ معنی‌دار است ($p<0.05$). **: تفاوت آلودگی محصولات مختلف با احتمال ۹۹٪ معنی‌دار است ($p<0.01$).

مطابق نتایج به‌دست آمده از جدول ۳ حاصل از آنالیزهای آماری، نشان داده شد که رابطه آماری معنی‌داری بین وجود و عدم وجود سالمونلا در بین محصولات صنعتی و سنتی وجود دارد ($p<00/05$).

جدول ۳- میزان آلودگی به *سالمونلا* در لبنیات صنعتی و سنتی شهرستان شهرکرد

| نوع محصول | تعداد | میزان آلودگی (٪) | عدم آلودگی (٪) |
|---|---|---|---|
| صنعتی (پاستوریزه) | ۶۰ | ۲ (۳/۳۳) | ۵۸ (۹۶/۶۶) |
| سنتی (غیر پاستوریزه) | ۸۰ | ۳۸ (۴۷/۵) | ۴۲ (۵۲/۵) |

همچنین مطابق آنالیز داده‌های به دست آمده از سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی (جدول ۴)، مشخص شد که بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آنتی‌بیوتیک تری‌متوپریم سولفامتوکسازول با ۷۱ درصد و کمترین مقاومت نسبت به آموکسی‌کلاو با ۵۰ درصد مقاومت بود، که ارتباط معنی‌داری بین جدایه‌ها و مقاومت آنتی‌بیوتیکی وجود نداشت (P<00/05).

جدول ۴- درصد مقاومت جدایه‌های *سالمونلا* به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

| آنتی‌بیوتیک / باکتری | آمپی‌سیلین | پنی‌سیلین | جنتامایسین | سولفامتوکسازول | آموکسی‌کلاو |
|---|---|---|---|---|---|
| سالمونلا | ۶۰ درصد | ۶۵ درصد | ۶۳ درصد | ۷۱ درصد | ۵۰ درصد |

## بحث و نتیجه‌گیری

شیر به دلیل وجود مواد مغذی، pH مناسب و شرایط اکسیداسیون و احیا (Eh)، بستر مطلوبی جهت رشد و نمو میکروارگانیسم‌های پاتوژن می‌باشد. در مطالعه حاضر، میزان آلودگی به شیر خام گاو به سالمونلا ۱/۴۲ درصد بود که با نتایج حاصل از تحقیقات Castaneda Salazar و همکاران (۲۰۲۱)، Garbaj و همکاران (۲۰۲۲)، Adzitey و همکاران (۲۰۲۰) و Bedassa و همکاران (۲۰۲۳) مطابقت دارد (۱۳-۱۰). شیر گوسفند به دلیل عدم دوشش به‌وسیله ماشین‌های شیردوشی و همچنین وجود پشم در ناحیه زیر شکم، بیشتر از گاو مستعد آلودگی به میکروارگانیسم‌های پاتوژن می‌باشد که در مطالعه حاضر ۲/۸۵ درصد از نمونه‌های شیر خام گوسفند به *سالمونلا* آلودگی داشتند که با نتایج حاصل از تحقیقات تاجبخش و همکاران (۲۰۱۴)، Lee و همکاران (۲۰۲۲) و Cetin و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت دارد (۱۶-۱۴). در دهه گذشته، شیر بز عمدتاً به دلیل خواص تغذیه‌ای متمایز آن در مقایسه با شیر گاو مورد توجه مصرف‌کنندگان قرار گرفته است، به گونه‌ای که بار میکروبیولوژیکی آن برای تولیدکنندگان پنیر حاصل از شیر بز اهمیت بالایی دارد که در همین راستا، در مطالعه Cavicchioli و همکاران (۲۰۱۵) بر روی ارزیابی آلودگی شیرهای عرضه شده در برزیل به *سالمونلا* دریافتند که از ۵۱ نمونه، ۲۷ نمونه (۵۲/۲۴ درصد) به *سالمونلا* آلودگی داشت که بیشتر از نتایج حاصل از تحقیق حاضر بود (۱۷). همچنین نتایج حاصل از تحقیق حاضر پائین‌تر از نتایج مطالعه Muhllherr و همکاران (۲۰۰۳) در سوئیس است (۱۸).

پنیر سفید ایرانی یکی از مهم‌ترین انواع پنیر است که در سطح وسیع و با مصرف بالا در کشور تولید و مصرف می‌شود که نسبت به شیر دارای میزان بالاتری از کلسیم می‌باشد (۱۹)، اما با توجه به مرطوب بودن، وجود نمک کم در برخی از انوع پنیرها و همچنین عدم حرارت‌دهی در برخی از مکان‌های تولید و عرضه پنیر سنتی، لذا این فرآورده به راحتی توسط میکروارگانیسم‌های پاتوژن دچار دگرگونی در خواص ارگانولپتیک شده و سبب ایجاد آلودگی می‌گردد. به‌علاوه پنیرهای سنتی از منابع بالقوه انتقال تب مالت حاصل از باکتری بروسلا و سل ناشی از مایکوباکتریوم توبرکلوزیس می‌باشند (۲۰). در همین راستا در مطالعه حاضر میزان آلودگی در پنیرهای سنتی و صنعتی به *سالمونلا* از مجموع ۲۰ نمونه، ۱۰ نمونه و در

مجموع ۵۰ درصد بود که با نتایج حاصل از تحقیقات دوستی و همکاران (۲۰۱۷)، Colac و همکاران (۲۰۰۷) و Trmcic و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت داشته و نشان‌دهنده ریسک بالای آلودگی میکروبی در این محصول است (۲۳-۲۱).

کره یکی از منابع تأمین‌کننده اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع در انسان بوده و تأمین‌کننده انرژی روزانه می‌باشد؛ به گونه‌ای که فراوانی اسیدهای چرب غیر اشباع در آن به مصرف علوفه دام ارتباط دارد، لذا به هر میزانی که دام علوفه سبز و تازه مصرف کند، میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در آن نیز بالا می‌رود. اسیدهای چرب به میزان اندکی دارای نقش بازدارندگی از رشد میکروارگانیسم‌ها هستند اما میزان بازدارندگی آنها ناچیز ذکر شده است (۲۴). در مطالعه حاضر میزان آلودگی به *سالمونلا* در کره‌های سنتی ۵/۷۱ درصد بود که این میزان آلودگی با نتایج حاصل از تحقیق Burnett و همکاران (۲۰۰۰) و Choki و همکاران (۲۰۲۱) مطابقت و همسویی ندارد (۲۵، ۲۶)، در حالی که مطالعه اسلاملو و همکاران (۲۰۰۹) در ارومیه نشان از عدم وجود *سالمونلا* در کره را گزارش دادند (۲۷). آلودگی کره در مطالعه‌ی حاضر با تحقیق Li و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد (۲۸). به دلیل عدم وجود نهادهای نظارتی در تهیه کره‌های سنتی علاوه بر تقلب چشمگیر، میزان آلودگی‌های باکتریایی بالا در این محصول نیز دور از انتظار نخواهد بود.

کشک یکی از فرآورده‌های شیر به حساب می‌آید که دارای مقادیر زیادی پروتئین بوده و به ازای هر کیلو، ۴۳۰ میلی‌گرم کلسیم دارد (۲۹)، در نتیجه می‌توان از آن به‌عنوان یکی از منابع تأمین‌کننده کلسیم اشاره کرد که قاعدتاً این موضوع افرادی را سوق می‌دهد که جهت تأمین کلسیم مورد نیاز بدن خود به این منبع غذایی رجوع کنند، لذا سالم‌بودن آن از دیدگاه میکروبیولوژیکی حائز اهمیت است. در مطالعه حاضر ۶/۴۲ درصد کشک‌های نمونه‌گیری شده سنتی دارای آلودگی به *سالمونلا* بودند که با نتایج حاصل از تحقیقات کلانتری و مهدوی (۲۰۱۵) مبنی بر منفی بودن آلودگی نمونه‌ها به *سالمونلا* همخوانی ندارد (۳۰).

پاتوژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک یک تهدیدکننده سلامتی هستند. نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر در خصوص مقاومت آنتی‌بیوتیکی به آمپی‌سیلین و جنتامایسین با مطالعه حیدرزادی و همکاران (۲۰۲۱) و Garbaj و همکاران (۲۰۲۲) مطابقت دارد (۸، ۱۱). در خصوص فراوانی ژن‌های *fljb* و *rfljb* در لبنیات نمونه‌گیری شده، مطالعه حاضر با مطالعات امینی و همکاران (۲۰۱۰)، Bisi Johnson و همکاران (۲۰۱۱) و Nashwa و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد (۳۳-۳۱).

نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که لبنیات صنعتی دارای شیوع پائین‌تر *سالمونلا* نسبت به لبنیات سنتی بودند، رعایت الزامات بهداشتی در طول فرآیند دوشش، نگهداری، حمل و نقل، ضد عفونی وسایل حمل و نقل، ضد عفونی وسایل دوشش، جلوگیری از ورود آب آلوده به شیر و همچنین عدم ارتباط خوراک ذخیره شده در سیلو و رعایت زنجیره سرما از زمان دوشش تا تحویل به کارخانه می‌تواند در کاهش آلودگی مدفوعی و در نتیجه آلودگی به پاتوژن‌هایی چون *سالمونلا* نقش قابل توجهی داشته باشد. با توجه به این که حداقل حرارت سالم‌سازی شیر ۷۲ تا ۷۵ درجه به مدت ۱۵ ثانیه برای از بین بردن کامل انواع *سالمونلا* کافی است لذا آلودگی فراورده‌های لبنی سنتی به گونه‌های *سالمونلا* می‌تواند دلیل محکمی برای عدم سالم‌سازی حرارتی شیر قبل از تهیه فراورده‌ها یا آلودگی در طول فرآیند تولید باشد. در انتها پیشنهاد می‌شود سالم‌سازی شیر قبل از تولید فراورده‌های لبنی، رعایت اصول بهداشتی در طول ذخیره‌سازی و انتقال، همچنین سالم‌سازی وسایل شیردوشی، رعایت بهداشت در فرآیند تولید، بسته‌بندی مناسب، نگهداری در شرایط یخچال و سالم‌سازی شیر خام قبل از مصرف، رعایت اصول HACCP و GMP در کارخانه‌ها، عدم استفاده از شیرهای مشکوک به آلودگی بالا، رعایت بهداشت فردی دست‌اندرکاران و صدور کارت

سلامت برای آنها می‌توانند از بروز عفونت‌های سالمونلایی در مصرف‌کنندگان جلوگیری کنند و در نهایت در صورت ابتلا به بیماری‌های گاستروانتریت، اسهال، تب و استفراغ، حتی‌الامکان استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به دلیل رخداد مقاومت ناشی از آنها علیه باکتری‌های گرم‌منفی را به حداقل رساند.





## References


**1- Rostami F, Rahimi E, Yahaghi E, Khodaverdi Darian E, Bagheri Moghadam M.** Isolation and evaluation virulence factors of Salmonella typhimurium and Salmonella enteritidis in milk and dairy products. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2014; 8(1): 54-6. [In Persian]

**2- Jajere S.M.** A review of Salmonella enterica with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Veterinary world*. 2019; 12(4): 504.

**3- Oladapo O.D, Onifade A.K, Bayode M.T.** Direct detection of iro B, stn and hil A virulence genes in Salmonella enterica serovar typhimurium from non-ripened cheese. *Bulletin of the National Research Centre*. 2022; 46(1): 1-12.

**4- Duong V.T, The H.C, Nhu T.D.H, Tuyen H.T, Campbell J.I, Minh P.V, *et al.*** Genomic serotyping, clinical manifestations, and antimicrobial resistance of nontyphoidal Salmonella gastroenteritis in hospitalized children in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Journal of clinical microbiology*. 2020; 58(12): e01465-20.

**5- Takkinsatian P, Silpskulsuk C, Prommalikit O.** Clinical features and antibiotic susceptibility of Salmonella gastroenteritis in children: A ten-year review. *Medical Journal Malasia*. 2020; 75: 672-6.

**6- Tseng C.F, Chiu N.C, Huang C.Y, Huang D.T.N, Chang L, Kung Y.H, *et al.*** The epidemiology of non-typhoidal Salmonella gastroenteritis and Campylobacter gastroenteritis in pediatric inpatients in northern Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2019; 52(3): 449-55.

**7- Ehuwa O, Jaiswal A.K, Jaiswal S.** Salmonella, food safety and food handling practices. *Foods*. 2021; 10(5): 907.

**8- Heidarzadi M.A, Rahnama M, Alipoureskandani M, Saadati D, Afsharimoghadam A.** Salmonella and Escherichia coli contamination in samosas presented in Sistan and Baluchestan province and antibiotic resistance of isolates. *Food Hygiene*. 2021;11(2(42)):81-90. [In Persian]

**9- Emadi C.S, Hasanzadeh M, Bozorg M.M, Mirzaei S.** Characterization of the Salmonella isolates from backyard chickens in north of Iran, by serotyping, multiplex PCR and antibiotic resistance analysis. 2009; 64 (2): 77-83. [In Persian]

**10- Castañeda-Salazar R, del Pilar Pulido-Villamarín A, Ángel-Rodríguez G.L, Zafra-Alba C.A, Oliver-Espinosa O.J.** Isolation and identification of Salmonella spp. in raw milk from dairy herds in Colombia. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 2021; 58: e172805-e.

**11- Garbaj A.M, Gawella T.B.B, Sherif J.A, Naas H.T, Eshamah H.L, Azwai S.M, *et al.*** Occurrence and antibiogram of multidrug-resistant Salmonella enterica isolated from dairy products in Libya. *Veterinary World*. 2022; 15(5): 1185.

**12- Adzitey F, Asiamah P, Boateng E.** Prevalence and antibiotic susceptibility of Salmonella enterica isolated from cow milk, milk products and hands of sellers in the Tamale Metropolis of Ghana. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*. 2020; 2 (1): 64-59.

**13- Bedassa A, Nahusenay H, Asefa Z, Sisay T, Girmay G, Kovac J, *et al.*** Prevalence and associated risk factors for Salmonella enterica contamination of cow milk and cottage cheese in Ethiopia. *International Journal of Food Contamination*. 2023.11 (1): 10-17.

**14- Tajbakhsh F, Rahimi E, Tajbakhsh E.** Isolation and identification of Salmonella typhimurium from raw cow, sheep and goat milk in Chahamaha Va Bakhteyari Province. *Food Hygiene*. 2014; 4(1): 47-55. [In Persian]

**15- Lee J.I, Kim S.S, Park J.W, Kang D.H.** Detection of Salmonella enterica serovar Montevideo in food products using specific PCR primers developed by comparative genomics. *LWT*. 2022; 165: 113677.

**16- Cetin E, Temelli S, Eyigor A.** Salmonella prevalence and serovar distribution in healthy slaughter sheep and cattle determined by ISO 6579 and VIDAS UP Salmonella methods. *Journal of*

*food science and technology*. 2019; 56(12): 5317-25.

**17- Cavicchioli V, Scatamburlo T, Yamazi A, Pieri F, Nero L.** Occurrence of Salmonella, Listeria monocytogenes, and enterotoxigenic Staphylococcus in goat milk from small and medium-sized farms located in Minas Gerais State, Brazil. *Journal of Dairy Science*. 2015; 98(12): 8386-90.

**18- Mühlherr J.E, Zweifel C, Corti S, Blanco J, Stephan R.** Microbiological quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. *Journal of Dairy Science*. 2003; 86(12): 3849-56.

**19- Irkin R.** Determination of microbial contamination sources for use in quality management of cheese industry:"Dil" cheese as an example. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit.* 2010; 5(1): 91-6.

**20- Kara R, Akkaya L.** Investigation of" Brucella abortus" and" Brucella melitensis" at Cheeses inAfyonkarahisar, Turkey. *British Journal of Dairy Sciences*. 2013; 3(1): 5-8.

**21- Doosti A, Doosti E, Rahimi E, Ghasemi-Dehkordi P.** Frequency of antimicrobial-resistant genes in Salmonella enteritidis isolated from traditional and industrial iranian white cheeses. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: *Biological Sciences*. 2017; 87(1): 73-80. [In Persian]

**22- Colak H, Hampikyan H, Bingol E.B, Ulusoy B.** Prevalence of L. monocytogenes and Salmonella spp. in tulum cheese. *Food Control*. 2007; 18(5): 576-9.

**23- Trmčić A, Chauhan K, Kent DJ, Ralyea R.D, Martin N.H, Boor K.J, *et al.*** Coliform detection in cheese is associated with specific cheese characteristics, but no association was found with pathogen detection. *Journal of Dairy Science*. 2016; 99(8): 6105-20.

**24- Kumar P, Lee J.H, Beyenal H, Lee J.** Fatty acids as antibiofilm and antivirulence agents. *Trends in microbiology*. 2020; 28(9): 753-68.

**25- Burnett S, Gehm E, Weissinger W, Beuchat L.** Survival of Salmonella in peanut butter and peanut butter spread. *Journal of applied microbiology*. 2000; 89(3): 472-7.

**26- Choki K, Zangmo S, Norbu P.T.** Microbial quality of traditionally produced butter and cheese (datshi). *Bhutan Journal of Animal Science*. 2021; 5(1): 1-7.

**27- Farrokh Eslamlo H, Hami M, Athari S.H, 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. *Nursing and Midwifery Journal*. 2009; 7(3): 10-17. [In Persian]

**28- Li H, Fu X, Bima Y, Koontz J, Megalis C, Yang F, *et al.*** Effect of the local microenvironment on survival and thermal inactivation of Salmonella in low-and intermediate-moisture multi-ingredient foods. *Journal of food protection*. 2014; 77(1): 67-74.

**29- Somroo A.A, ur Rehman K, Zheng L, Cai M, Xiao X, Hu S, *et al.*** Influence of Lactobacillus buchneri on soybean curd residue co-conversion by black soldier fly larvae (Hermetia illucens) for food and feedstock production. *Waste Management*. 2019; 86: 114-22.

**30- Kalantary R, Mahdavi S.** Isolation and Molecular Identification of Salmonella spp. from Local Dairy Products in Maragheh City in 2015 (Iran). *Qom Univ Med Sci J*. 2017; 11(10): 98-105. [In Persian]

**31- Amini K, Salehi T.Z, Nikbakht G, Ranjbar R, Amini J, Ashrafganjooei S.B.** Molecular detection of invA and spv virulence genes in Salmonella enteritidis isolated from human and animals in Iran. *African Journal of Microbiology Research*. 2010; 4(21): 2202-10. [In Persian]

**32- Bisi-Johnson M.A, Obi C.L, Vasaikar S.D, Baba K.A, Hattori T.** Molecular basis of virulence in clinical isolates of Escherichia coli and Salmonella species from a tertiary hospital in the Eastern Cape, South Africa. *Gut pathogens*. 2011; 3: 1-8.

**33- Nashwa M.H, Mahmoud A, Sami S.A.** Application of multiplex polymerase chain reaction (MPCR) for identification and characterization of Salmonella Enteritidis and Salmonella Typhimurium. *Journal of Applied* Sciences. 2009; 5: 2343-8.

New Findings in Veterinary Medicine
Homepage: nfvm.uoz.ac.ir
Semiannual - Print ISSN: 2645-4491 Online ISSN: 2676-5004

Volume 6, Issue 2, Autumn & Winter 2023, pages: 57-65

# Evaluation of prevalence rate, antibiotic resistance and frequency of *fljb* and *rfljb* genes of *Salmonella Typhimurium* in industrial and traditional dairies

**Ebrahim Rahimi*[1], Mohammad amin heidarzadi[2], Najmeh Vahed dehkordi[3]**

1- Professor, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2- Ph.D. student in food hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
3- PhD student in food hygiene, Department of Food Hygiene, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Receive: July 4, 2023; Revise: October 18, 2023; Accept: November 11, 2023

10.22034/nfvm.2024.405215.1194 20.1001.1.26454491.1402.6.2.3.1

Summary

Salmonella is one of the gram-negative pathogens, whose presence in food reduces the quality of production and the occurrence of gastroenteritis in humans. The prevalence of salmonella in dairy products and the antibiotic resistance of this bacterium is one of the current crises. The purpose of this study is to investigate the prevalence of Salmonella Typhimurium and Enteritidis in traditional and industrial dairy products sold in Shahrekord city and the antibiotic resistance of the isolates. In this study, 140 samples from different traditional and industrial dairies were isolated and transferred to the food hygiene laboratory under sterile conditions, and the samples were evaluated for bacterial isolation by standard methods, and the resistance of the isolates was performed by disk diffusion method. took The results showed that out of a total of 60 industrial dairy samples, 2 samples (3.33%) were contaminated and 38 samples (47.5%) out of 80 traditional dairy samples were contaminated with Salmonella, and the highest contamination was related to industrial curd (6.42%). And then there was traditional butter and cheese (71.5%); Also, the highest level of resistance was related to sulfamethoxazole (71%) and the lowest resistance was related to Amoxiclav (50%). The results of this study showed that the detection of bacteria by PCR method is preferable to other traditional methods and considering the high occurrence of antibiotic resistance for the treatment of gastroenteritis caused by salmonella, the use of antibiotics for treatment should be minimized.

***Keywords:*** *dairy, salmonella, gastroenteritis, antibiotic resistance, Shahrekord*