




بررسی شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *یرسینیا انتروکولیتیکا*، لیستریا مونوسیتوژنز و سودوموناس در شیر خام گاو عرضه شده در شهرستان گچساران

مقداد نظری^۱، ابراهیم رحیمی^{۲*}

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۲- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

دریافت مقاله: ۰۴ آذر ۱۴۰۲، بازنگری: ۰۱ بهمن ۱۴۰۲، پذیرش نهایی: ۰۹ بهمن ۱۴۰۲

 10.22034/nfvm.2024.426869.1214

چکیده

باکتری های سرماگرا در شیر خام به دلیل توانایی در تولید آنزیمها و بیوفیلیمهای مقاوم در برابر حرارت، صنایع لبنی را با فساد و مشکلات فنی قابل توجهی مواجه می کنند، همچنین می توانند سبب مخاطراتی از جمله گاستروانتریت در انسان شوند. در همین راستا هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *یرسینیا انتروکولیتیکا*، لیستریا مونوسیتوژنز و سودوموناس در شیر خام گاو عرضه شده در شهرستان گچساران می باشد. در این مطالعه ۱۰۰ نمونه شیر خام از مراکز عرضه این محصول به صورت تصادفی نمونه گیری و در شرایط سترون به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی انتقال داده شد. نتایج نشان داد که میزان آلودگی به سودوموناس ۳۰ نمونه (۳۰ درصد)، لیستریا مونوسیتوژنز ۱۰ نمونه (۱۰ درصد) و *یرسینیا انتروکولیتیکا* ۴ نمونه (۴ درصد) بود، همچنین آنالیزهای آماری نشان داد که بین میزان آلودگی سودوموناس و *یرسینیا انتروکولیتیکا* و لیستریا مونوسیتوژنز تفاوت آماری معنی دار است ($P < 0.05$). نتایج تست های آنتی بیوتیکی نشان داد که بیشترین مقاومت در سودوموناس، مربوط به آموکسی کلاو و آمپی سیلین، در لیستریا مونوسیتوژنز مربوط به آموکسی کلاو و سولفامتاکسازول و در *یرسینیا انتروکولیتیکا* پنی سیلین و جنتامایسین بود. با توجه به بالا بودن میزان آلودگی شیرهای خام به میکروارگانیزم های سایکروتروف، توصیه می شود از مصرف شیر به صورت خام خودداری شود و جهت درمان گاستروانتریت ناشی از شیوع باکتری های پاتوژن غذایی محدودیت اعمال گردد.

واژگان کلیدی: سودوموناس، شیر خام، لیستریا مونوسیتوژنز، مقاومت آنتی بیوتیکی، *یرسینیا انتروکولیتیکا*

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

مقدمه

بیماری و مرگ و میر ناشی از آلودگی‌های مواد غذایی یک تهدید دائمی برای سلامت عمومی و مانع مهمی برای توسعه اجتماعی-اقتصادی در سراسر جهان است. برای اندازه‌گیری بیماری‌های منتقله از غذا (Food Borne Diseases)، سازمان بهداشت جهانی (WHO)، گروه مرجع اپیدمیولوژی بار بیماری‌های منتقله از غذا (Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group) را ایجاد کرد که در اینجا اولین تخمین‌های خود را از بروز، میزان مرگ و میر و بار بیماری ناشی از ۳۱ عامل منتقل شونده از غذا به انسان را گزارش دادند (۱).

شیوع بیماری‌های ناشی از مواد غذایی با عوارض قابل توجهی در سراسر جهان گزارش شده است و خطری برای جمعیت انسانی به همراه دارد. به‌طور همزمان، در کشورهای در حال توسعه، بیماری‌های اسهالی دلیل اصلی مرگ و میر هستند. در کشورهای صنعتی، بیماری‌های ناشی از غذا نادر نیستند زیرا ۳۰ درصد از جمعیت جهان هر ساله بیماری‌های ناشی از غذا را تجربه می‌کنند. میزان بروز در فرانسه ۱۲۱۰ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر، ۲۶۰۰ مورد در ۱۰۰۰۰۰ در بریتانیا و بیش از ۲۵۰۰۰ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر در استرالیا و ایالات متحده گزارش شده است. باکتری‌های بیماری‌زای ناشی از مواد غذایی می‌توانند در مراحل مختلف تهیه غذا منتقل شوند. انتقال باکتری‌های بیماری‌زا، می‌تواند در هنگام ذبح و در تماس گوشت با روده، پوست یا خز حیوان و در نهایت در آشپزخانه در حین تهیه غذا به‌دلیل حمل نادرست رخ دهد (۲).

از آنجایی که شیر جزو مواد غذایی زودفاسدشدنی است که دارای مواد مغذی مورد نیاز رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشد، از ادوار گذشته تحت مطالعات و تیمارهای مختلف نگهداری، قرار گرفته است. شیر به‌دلیل فعالیت آبی (Aw)، بالا، pH نزدیک خنثی (محدوده ۶/۶ تا ۶/۸) و ویتامین‌های گروه B و مواد معدنی محیط مطلوبی جهت رشد بسیاری از میکروارگانیسم‌ها است.

اگرچه شیر حاوی بسیاری از مواد مغذی معدنی مانند آهن، کبالت، مس و مولیبدن است، اما برخی از آنها مانند آهن ممکن است به شکل قابل استفاده وجود نداشته باشند، همچنین حاوی اسید اورونیک محرک رشد (پیش‌ساز متابولیک پیریمیدین‌ها) است. مهارکننده‌های میکروبی عمده در شیر خام، لاکتوفرین و سیستم لاکتوپراکسیداز هستند. مهارکننده‌های طبیعی با اهمیت کمتری شامل لیزوزیم، ایمونوگلوبولین‌های اختصاصی c و سیستم‌های اتصال فولات و ویتامین B12 هستند. لاکتوفرین، یک گلیکوپروتئین، به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی عمل می‌کند (۳).

باکتری‌های سرماگرا که شیر خام و پاستوریزه را فاسد می‌کنند، عمدتاً میله‌ای‌های گرم‌منفی هوازی از خانواده Pseudomonadaceae هستند که ۶۵ تا ۷۰ درصد جدایه‌های سرماگرا از شیر خام مربوط به گونه‌های *Sودوموناس* هستند. اگرچه سایر جنس‌ها، از جمله *آئروموناس*، *لیستریا*، *استافیلوکوکوس*، *انتروکوکوس* و خانواده انتروباکتریاسه‌ها ممکن است در شیر خام وجود داشته باشند و تعداد آنها در طول ذخیره‌سازی افزایش یابد، اما زمانی که شیر نگهداری می‌شود، معمولاً توسط هوازی‌های اجباری گرم‌منفی دچار فساد می‌شوند (۳، ۴).

خاک، آب، حیوانات و مواد گیاهی زیستگاه طبیعی باکتری‌های سرماگرای موجود در شیر را تشکیل می‌دهند. مواد گیاهی، مانند چمن و یونجه مورد استفاده برای خوراک دام، ممکن است حاوی بیش از 10^8 سایکروتروف در هر گرم باشد. باکتری‌های سرماگرا جدا شده از آب اغلب تولیدکنندگان فعال آنزیم‌های خارج سلولی هستند و به سرعت در شیر خام نگهداری شده در یخچال رشد می‌کنند (۳، ۴).

لیستریا مونوسی‌توزنز یک پاتوژن غذایی است که عامل بیماری لیستریوزیس در انسان است. این باکتری در درجه اول یک ساپروفیت محیطی است که در محیط‌هایی مانند آب، خاک و پوشش گیاهی یافت می‌شود. در افراد مستعد، مانند نوزادان، سالمندان، زنان باردار و افرادی که دارای

تنوع آنتی‌ژنی در دیواره سلولی لیپوپلی ساکاریدی خود بیش از ۵۰ سروتیپ مختلف تقسیم می‌شود. سویه‌هایی با سروتیپ: O:5، O:27، O:3، O:9 جزو عوامل عمده بیماری غذایی افراد در اروپا، ژاپن، آفریقای جنوبی و کانادا هستند (۹).

یرسینیا انتروکولیتیکا به دلیل توانایی رشد و تکثیر در دمای یخچال از باکتری‌های سرمادوست بوده و تولیدکننده انتروتوکسین است. *یرسینیا انتروکولیتیکا* به وسیله گوشت حیوانات آلوده به خصوص خوک، گاو، گوسفند، بز و طیور و همچنین شیر و سبزی‌های آلوده به انسان منتقل می‌شود. این باکتری عامل بیماری‌های گوارشی متعدد به خصوص در کودکان و نوجوانان می‌باشد که منجر به التهاب قسمت انتهایی ایلیوم، اسهال، تورم عقده‌های لنفاوی مزانتریک، شبه آپاندیسیت، تورم صفق، سوراخ شدن روده‌ها و در موارد حاد موجب آسیب‌های کلیوی، التهاب مزمن مفاصل و اختلال در سیستم اعصاب مرکزی می‌شود (۹، ۱۰)؛ لذا با توجه به مخاطرات ذکر شده، هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *یرسینیا انتروکولیتیکا*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *سودوموناس* در شیر خام گاو عرضه شده در شهرستان گچساران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها: ابتدا ۱۰۰ نمونه شیر خام از ۵ مرکز عرضه این محصول در شهرستان گچساران به صورت تصادفی در ۴ ماه (مرداد، شهریور، مهر و آبان) نمونه‌گیری و سپس در شرایط سترون، داخل لوله‌های استریل درپوش دار و در فلاسک حاوی یخ به آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد شهرکرد انتقال داده شدند.

جستجوی لیستریا مونوسیتوژنز: نمونه‌ها در هر کدام از محیط‌های مغذی به مدت ۲۹ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری و به منظور رشد پرگنه‌های لیستریا، باکتری‌ها از محیط مغذی ثانویه به محیط آگار انتخابی لیستریا (Merck, Palcam agar

نقص ایمنی هستند، عفونت‌ها منجر به لیستریوز مهاجم می‌شود که میزان مرگ و میر بالایی بین ۲۰ تا ۳۰ درصد دارد. به‌عنوان یک پاتوژن منتقله از غذا، لیستریا مونوسیتوژنز با چندین تنش فیزیکی و شیمیایی مواجه می‌شود که مانع رشد و بقای آن در طول زنجیره ارزش غذایی می‌شود. این باکتری گرم‌مثبت، میکروآئروفیلیک، میله‌ای شکل، بدون اسپور، متحرک و کاتالاز مثبت است. لیستریا ۷ گونه هستند که مهم‌ترین گونه‌ای که سبب ایجاد لیستریوزیس در انسان و حیوان می‌شود، *لیستریا مونوسیتوژنز* است. لیستریوز به‌طور معمول با علائم شبیه سرماخوردگی بروز می‌کند، اما در لیستریوز تهاجمی علائم شدیدتری مانند سپتیسمی، مننگوانسفالیت و سقط جنین ایجاد می‌شود. حداقل تعداد باکتری برای بیماری‌زای *لیستریا مونوسیتوژنز* وابسته به حساسیت فرد و نوع غذا است (۵، ۶).

جنس *سودوموناس* یکی از متنوع‌ترین گروه‌های زیست محیطی مهم باکتری‌های شناخته شده است. این باکتری‌ها به‌وسیله یک یا تعدادی فلاژل قطبی، متحرک هستند اما برخی سویه‌ها واجد فلاژل‌های جانبی با طول موج‌های متفاوت نیز هستند، به استثنای گونه *سودوموناس مالتی* که فاقد فلاژل است. *سودوموناس* یک پاتوژن فرصت‌طلب شایع بیمارستانی است که مسئول بخش وسیعی از عفونت‌های انسانی شامل عفونت‌های دستگاه ادراری است. *سودوموناس* از رایج‌ترین میکروارگانیزم‌های فاسدکننده مواد غذایی به‌ویژه غذاهای با محتوای بالای Aw و pH محدود خنثی، مانند گوشت قرمز، شیر، گوشت سفید و... هستند (۷، ۸).

یرسینیا انتروکولیتیکا پاتوژنی قابل انتقال از طریق مواد غذایی است که در آب، فرآورده‌های لبنی و گوشت یافت می‌شود. این پاتوژن از رایج‌ترین عوامل التهاب دستگاه گوارش ناشی از عفونت‌های مواد غذایی در غرب و اروپای شمالی است و دارای شیوع فزاینده‌ای در ایالات متحده و کانادا می‌باشد. *یرسینیا انتروکولیتیکا* بر اساس

با استفاده از آزمایش‌های بیوشیمیایی از جمله تست اکسیداز، کاتالاز، تست MR/VP، بررسی حرکت و تولید اندول در محیط کشت SIM، تولید پیگمان، واکنش در محیط کشت TSI بررسی شدند (۱۲).

سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی: تست آنتی‌بیوگرام به روش Diffusion_Disk انجام گرفت. بعد از تهیه سوسپانسیون میکروبی مطابق با محلول استاندارد ۱/۵ مک‌فارلند، در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و پس از آن دیسک‌های آنتی‌بیوگرام، شامل آمپی‌سیلین (AM)، پنی‌سیلین (PEN)، جنتامایسین (GM)، سولفامتاکسازول (SXT)، آموکسی‌کلاو (AMC)، کانامایسین و آمی‌کاسین روی محیط کشت قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، با تعیین قطر هاله‌های عدم رشد، میزان مقاومت جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها مشخص گردید (۱۴).

آنالیزهای آماری: در مطالعه حاضر از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ و آنالیز آماری کای اسکور برای آنالیز داده‌ها استفاده شد، همچنین برای سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها از روش ناپارامتریک فریدمن استفاده شد. سطح معنی‌داری ($p < 00/05$) در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج نشان داد که بیشترین میزان آلودگی در شیر خام عرضه شده در شهرستان گچساران مربوط به سودوموناس بود، در خصوص سایر باکتری‌ها به ترتیب لیستریا مونوسی‌توزنز و سپس یرسینیا انتروکولیتیکا دارای کمترین میزان نسبت به سودوموناس بودند. همچنین آنالیزهای آماری نشان داد که تفاوت بین میزان آلودگی در سودوموناس نسبت به یرسینیا انتروکولیتیکا و لیستریا مونوسی‌توزنز از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0/05$). همان‌گونه که در جدول (۱) مشخص شده است، در مجموع میزان آلودگی به سودوموناس ۳۰ نمونه (۳۰ درصد)، لیستریا مونوسی‌توزنز ۱۰ درصد (۱۰ نمونه) و یرسینیا انتروکولیتیکا ۴ درصد (۴ نمونه) بوده است که

(Germany) انتقال داده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری در انکوباتور (EC 160, Parsfaraso, Iran) شدند. پرگنه‌های رشد کرده در هر پلیت از نظر ریخت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفته و پرگنه‌های رشد کرده، سبز زیتونی به قطر ۱/۵ میلی‌متر که مرکز آنها سیاه یا خاکستری رنگ و اطراف همه آنها هاله سیاه‌رنگ است. پرگنه‌های مشکوک به لیستریا را مورد آزمون رنگ‌آمیزی گرم قرار داده تا گرم‌مثبت یا منفی بودن آنها تشخیص داده شود. سپس روی پرگنه‌های گرم‌مثبت، آزمایش کاتالاز انجام شد. آزمایش حرکت در ۲۵ درجه سلسیوس روی نمونه‌هایی که کاتالاز مثبت بودند انجام و نمونه‌های مثبت مشخص و شمارش شدند (۱۱، ۱۲).

جستجوی یرسینیا انتروکولیتیکا: ابتدا ۳۰/۹۳ گرم از محیط کشت اولیه که PSB (Mirmedia, Iran) بود به داخل ۱۰۰۰ سی‌سی آب مقطر اضافه شد. سپس برای استریلیزاسیون به اتوکلاو انتقال و مدت ۱۵ دقیقه در فشار ۱۵ پوند و دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس استریل شد. سپس مقدار ۴۰ گرم از محیط کشت اصلی یرسینیا انتروکولیتیکا (Mirmedia, Iran) CIN به ۱۰۰۰ سی‌سی آب مقطر اضافه شد. سپس برای استریلیزاسیون در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در فشار ۱۵ پوند و حرارت ۱۲۱ درجه سلسیوس قرار داده شد. بعد از این مرحله، یک ویال مکمل به آرامی به محیط کشت پایه اضافه و در پلیت‌های یکبار مصرف پخش شد. محیط CIN آگار شامل آنتی‌بیوتیک‌هایی از جمله: سفسلودین، ایرگاسان، نوویسین است. ظهور کلنی‌های چشم‌گاو نشان‌دهنده آلودگی به یرسینیا انتروکولیتیکا بود (۱۳).

جستجوی سودوموناس: ۱۰ میلی‌لیتر از هر نمونه شیر خام بر روی محیط‌های بلادآگار و مک‌کانکی آگار کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری در انکوباتور (EC 160, Parsfaraso, Iran) شدند. پس از رشد باکتری نمونه‌ها از نظر وجود پرگنه‌های مشکوک به سودوموناس بررسی و

بیشترین و کمترین میزان آلودگی به ترتیب برای *سودوموناس* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* بوده است.

جدول ۱- مقایسه درصد آلودگی باکتری‌های مختلف در شیر خام

بakterی	تعداد نمونه	<i>سودوموناس</i>	<i>لیستریا مونوسیتوژنز</i>	<i>یرسینیا انتروکولیتیکا</i>
مرداد	۲۵	(۴ نمونه) ۱۶ درصد	(۱ نمونه) ۴ درصد	(۰)
شهریور	۲۵	(۶ نمونه) ۲۴ درصد	(۳ نمونه) ۱۲ درصد	(۱ نمونه) ۴ درصد
مهر	۲۵	(۸ نمونه) ۳۲ درصد	(۲ نمونه) ۸ درصد	(۲ نمونه) ۸ درصد
آبان	۲۵	(۱۲ نمونه) ۴۸ درصد	(۴ نمونه) ۱۶ درصد	(۱ نمونه) ۴ درصد
مجموع	۱۰۰	(۳۰ نمونه) ۳۰ درصد	(۱۰ نمونه) ۱۰ درصد	(۴ نمونه) ۴ درصد
سطح معنی‌داری	-	۰/۳۴*	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۹۶ ^{ns}

ns: تفاوت بین آلودگی نمونه‌های مختلف معنی‌دار نیست. *: تفاوت بین آلودگی نمونه‌های مختلف معنی‌دار است ($P < 0.05$).



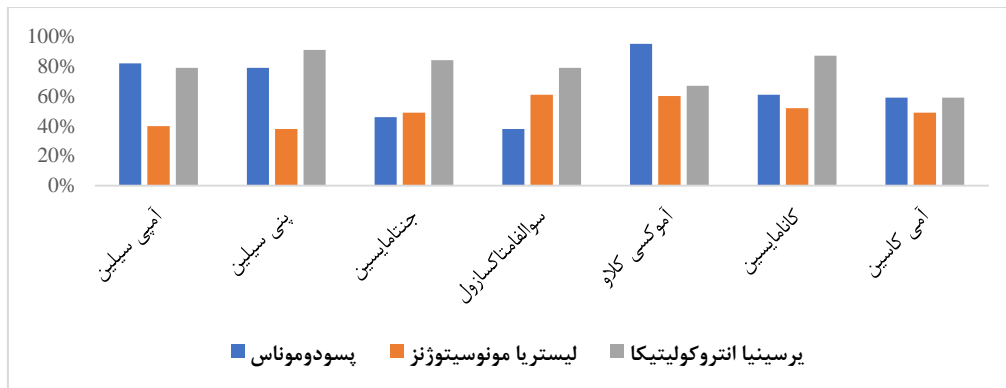
نمودار ۱- شیوع آلودگی باکتری‌ها در مواد غذایی مختلف

مونوسیتوژنز مربوط به آموکسی‌کلاو (۶۰ درصد) و سولفامتاکسازول (۶۱ درصد) و در *یرسینیا انتروکولیتیکا* پنی‌سیلین (۹۱ درصد) و جنتامایسین (۸۴ درصد) بود.

نتایج تست‌های آنتی‌بیوتیکی نشان داد که بیشترین مقاومت در *سودوموناس*، مربوط به آموکسی‌کلاو (۹۵ درصد) و آمپی‌سیلین (۸۲ درصد)، در *لیستریا*

جدول ۲- درصد مقاومت آنتی‌بیوتیک جدایه‌ها

آنتی‌بیوتیک	<i>سودوموناس</i>	<i>لیستریا مونوسیتوژنز</i>	<i>یرسینیا انتروکولیتیکا</i>
آمپی‌سیلین (AM)	۸۲ درصد	۴۰ درصد	۷۹ درصد
پنی‌سیلین (PEN)	۷۹ درصد	۳۸ درصد	۹۱ درصد
جنتامایسین (GM)	۴۶ درصد	۴۹ درصد	۸۴ درصد
سولفامتاکسازول (SXT)	۳۸ درصد	۶۱ درصد	۷۹ درصد
آموکسی‌کلاو (AMC)	۹۵ درصد	۶۰ درصد	۶۷ درصد
کانامایسین (KN)	۶۱ درصد	۵۲ درصد	۸۷ درصد
آمی‌کاسین (AN)	۵۹ درصد	۴۹ درصد	۵۹ درصد
مجموع	۶۵/۷۱ درصد	۴۹/۸۵ درصد	۷۸ درصد



نمودار ۲- میزان مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌های مختلف

بحث و نتیجه‌گیری

شیر خام به دلیل ارزش غذایی بالا، محیطی عالی برای رشد طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها است. بیش از ۱۶۰ گونه باکتری در شیر خام شناسایی شده است. این باکتری‌ها از منابع مختلفی از جمله هوا، خاک، آب، تیت و تجهیزات شیردوشی آلوده منشاء می‌گیرند. نگهداری شیر خام در شرایط یخچال در سطح جهانی برای کنترل باکتری‌های مزوفیل و گرمادوست در شیر خام انجام می‌شود، اما یخچال نیز شرایط ایده‌آلی را برای رشد باکتری‌های سایکروتروف فراهم می‌کند که می‌توان به لیستریا، یرسینیا انتروکولیتیکا و سودوموناس اشاره کرد (۱۵). باکتری‌های سرماگرا را می‌توان با فرایندهای حرارتی معمولی از بین برد، اما بیشتر آنزیم‌های تولید شده توسط این باکتری‌ها در برابر حرارت مقاوم هستند؛ بنابراین در محصولات لبنی فعال باقی می‌مانند که متعاقب آن سبب فساد در محصول و ایجاد بیماری در انسان می‌شود. بنابراین پایش میکروبی شیرخام از دیدگاه سلامت و ایمنی غذایی حائز اهمیت است. در مطالعه حاضر نشان داده شد که میزان آلودگی در شیر خام به سودوموناس ۳۰ درصد، لیستریا مونوسیژنوز ۱۰ درصد و یرسینیا انتروکولیتیکا ۴ درصد بود که زنگ خطری برای مصرف‌کنندگان و حتی تولیدکنندگان به سبب عدم رعایت شرایط بهداشتی می‌باشد.

مطالعه رضاپور و حنیفان (۱۳۹۶)، روی بررسی میزان آلودگی و تولید بیوفیلم باکتری‌های سرماگرا در مخازن

شیرخام و تجهیزات فرآوری محصولات لبنی گزارش دادند که تعداد ۸۰ نمونه از شیرخام که شامل ۳۰ نمونه از مخازن شیرخام، ۳۰ نمونه تجهیزات و فرآوری و ۲۰ نمونه از سطوح مختلف نمونه‌گیری شد. نتایج آنها نشان داد که از ۸۰ نمونه، ۲۶/۲۵ درصد آلوده به باکتری‌های سرمادوست بودند که از مجموع آنها ۳۲/۲۵ درصد آلوده به سودوموناس بودند (۱۶)، که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. در این مطالعه شیوع آلودگی به سودوموناس ۳۰ درصد بود. زادصفر و همکاران (۱۳۹۲)، بر روی شیوع آلودگی شیر خام گاو نمونه‌گیری شده در شهرستان قم به سودوموناس و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جداپه‌ها دریافتند که از مجموع ۱۱۷ نمونه مورد آزمایش ۳۲/۵۵ درصد آلوده به سودوموناس بودند و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها نشان داد که بیشترین مقاومت به سفنازیدیموم و کمترین مقاومت به آمیکاسین وجود داشته است (۱۲)، که مطابق با نتایج حاصل از مطالعه حاضر است. در مطالعه حاضر بیشترین مقاومت مربوط به آموکسی‌کلاو و آمپی‌سیلین بود. در پژوهشی مختاری و همکاران (۱۳۹۵) بر روی نمونه‌های شیر گاو در شهرستان تهران گزارش دادند که از تعداد ۱۵۰ نمونه، ۵۱ نمونه (۳۴ درصد) آلوده به سودوموناس بودند. نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام نشان داد که بیشترین میزان مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین، تتراسایکلین و کانامایسین به میزان ۱۰۰ درصد، ۹۴/۲ و ۹۴/۲ درصد به ترتیب مشاهده شد. بیشترین مقاومت چندگانه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کانامایسین،

آمی‌سیلین و تتراسایکلین مشاهده شد (۱۷)، که با مطالعه حاضر در خصوص میزان شیوع آلودگی به سودوموناس همسو است. همچنین بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مطالعه حاضر مربوط به آموکسی‌کلاو و آمی‌سیلین بود که با مطالعه نامبرده مطابقت دارد.

شریف‌زاده و همکاران (۱۳۷۹) در یک بررسی به جداسازی *یرسینیا انتروکولیتیکا* و لیستریا مونوسیتوژنز از شیرهای خام و پاستوریزه چهارمحل و بختیاری دریافتند که از مجموع ۴۰۰ نمونه شیر خام و پاستوریزه (هر کدام ۲۰۰ نمونه) برای شیر خام ۳ نمونه (۱/۵ درصد) آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز و ۶ نمونه (۳ درصد) آلوده به *یرسینیا انتروکولیتیکا* آلوده بود. همچنین در شیرهای پاستوریزه لیستریا مونوسیتوژنز منفی و *یرسینیا انتروکولیتیکا* ۲ مورد مثبت بودند (۱۸)، در مطالعه حاضر شیوع آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز و *یرسینیا* به ترتیب ۱۰ و ۴ درصد بود که در خصوص *یرسینیا انتروکولیتیکا* تا حدودی با مطالعه نامبرده مطابقت دارد.

فضل‌آرا و همکاران (۱۳۹۴) به بررسی آلودگی به *یرسینیا انتروکولیتیکا* در شیرهای گاو عرضه شده در اهواز و ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها گزارش دادند که از ۱۵۰ نمونه، ۳۶ نمونه (۲۴ درصد) به *یرسینیا انتروکولیتیکا* آلوده بود. نتایج تست سنجش حساسیت نشان داد که ۱۰۰ درصد جدایه‌ها به سیپروفلوکسین حساس بودند. پس از آن به ترتیب ۱۵/۷۷ درصد به جنتامایسین، ۱۷/۷۱ درصد به تتراسایکلین، ۲۷/۸۵ درصد به سفنازیدیم، ۳۵/۸۲ درصد به نالیدیکسیک اسید، ۴۱/۷۷ درصد به کانامایسین، ۶۴/۶۷ درصد به تری‌متوپریم سولفامتاکسازول، ۶۴/۱۷ درصد به آموکسی‌سیلین و ۷۱/۱۴ درصد به سفالوتین حساس بودند. همچنین در هیچ‌کدام از جدایه‌ها حساسیت به اریترومایسین مشاهده نشد که نشان‌دهنده‌ی بیشترین مقاومت جدایه‌های *یرسینیا انتروکولیتیکا* به این

آنتی‌بیوتیک می‌باشد (۱۹) که با مطالعه حاضر از لحاظ بار میکروبی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی مطابقت دارد. در مطالعه‌ای که توسط حنیان (۱۳۹۱) بر روی جداسازی، شناسایی و تعیین بیوتیپ *یرسینیا انتروکولیتیکا* بیماری‌زا از شیرهای پاستوریزه انجام شد نشان داده شد که از تعداد ۲۴۲ نمونه شیر پاستوریزه عرضه‌شده در تبریز *یرسینیا انتروکولیتیکا* بیماری‌زا در ۱۶ نمونه (۶/۶۱ درصد) از نمونه‌های شیر پاستوریزه مثبت بود (۲۰)، که مطابقتی با مطالعه حاضر ندارد. در این مطالعه شیوع *یرسینیا انتروکولیتیکا* ۴ درصد در شیر خام بود.

مطالعه‌ای توسط رحیمی و همکاران (۱۳۸۸) بر روی فراوانی گونه‌های لیستریا مونوسیتوژنز در لبنیات عرضه شده در شهرستان‌های شهرکرد و شیراز انجام شد. آنها گزارش دادند که از تعداد ۱۷۸ نمونه شیر خام گاو، ۳۲ نمونه شیر خام بز، ۴۱ نمونه پنیر سنتی و ۶۰ نمونه پنیر سنتی، ۲۴ نمونه (۱۳/۵ درصد) به لیستریا مونوسیتوژنز آلوده بودند. به ترتیب میزان آلودگی برای شیر خام گاو، گوسفند، پنیر سنتی و بستنی سنتی برابر ۱۱/۱ درصد، ۳/۱ درصد، ۲۴/۴ درصد و ۱۳/۳ درصد بود (۲۱)، که در شیر خام گاو با مطالعه حاضر همسو می‌باشد.

مجتهدی و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه‌ای بر روی تعیین فراوانی آلودگی لیستریایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در استان لرستان دریافتند که از مجموع ۷۲۰ نمونه مواد لبنی، در ۹/۷۲ درصد لیستریا مونوسیتوژنز وجود داشت همچنین نتایج تست آنتی‌بیوگرام همه ایزوله‌ها به پنی‌سیلین، آمی‌سیلین، کوتریموکسازول و جنتامایسین حساس بودند و ۵ ایزوله لیستریا مونوسیتوژنز به اریترومایسین مقاوم بود (۲۲)، که همسو با مطالعه حاضر می‌باشد. در مطالعه حاضر میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آموکسی‌کلاو و سولفامتاکسازول بود.

نوروزی و همکاران (۱۳۹۱) بر روی ارزیابی لیستریا مونوسیتوژنز جداسازی شده روی ۷۰ نمونه جمع‌آوری شده از فرآورده‌های لبنی مختلف در شهرهای تهران و

بابلسر دریافتند که در مجموع ۱۰ مورد آلودگی با لیستریا مونوسیتوژنز، ۴ مورد لیستریا اینوکوا، ۲ مورد لیستریا ولشیمیری و ۱ مورد لیستریا سلیگری در نمونه‌های شیر، پنیر معمولی و پنیر نرم شناسایی گردید. همچنین در این مطالعه در هیچ یک از نمونه‌های ماست و کره آلودگی لیستریایی مشاهده نگردید. (۲۳) که در خصوص میزان آلودگی با شیر خام مرتبط با مطالعه حاضر می‌باشد.

در مطالعه خالد و عباس (۲۰۱۹) در عراق بر روی آلودگی‌های میکروبی شیر خام به *یرسینیا/انتروکولیتیکا* و *لیستریا مونوسیتوژنز*، در مجموع ۱۵۰ نمونه شیر گاو، گاو میش و گوسفند از بصره، عراق (۵۰ نمونه از هر گونه) جمع‌آوری شد. بیشترین آلودگی در شیر گاو (۲۴ درصد) و پس از آن شیر گاو میش (۲۲ درصد) و شیر گوسفند (۱۲ درصد) مشاهده شد. بیشترین حساسیت (۱۰۰ درصد) نسبت به استرپتومایسین، آزیترومایسین و جنتامایسین و پس از آن سیپروفلوکساسین و کلرامفنیکل با ۹۳/۳ درصد برای هر کدام مشاهده شد. حساسیت کم نسبت به وانکومایسین (۶/۶۶ درصد) و کلوکساسیلین (۳۳/۳ درصد) مشاهده شد (۲۴)، که برای شیر خام به *لیستریا مونوسیتوژنز* و *یرسینیا/انتروکولیتیکا* تا حدودی با مطالعه حاضر مطابقت دارد. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی *لیستریا مونوسیتوژنز* مربوط به آموکسی‌کلاو (۶۰ درصد) و سولفامتاکسازول (۶۱ درصد) و در *یرسینیا/انتروکولیتیکا* پنی‌سیلین (۹۱ درصد) و جنتامایسین (۸۴ درصد) بود.

در مطالعه‌ای که توسط Ali و Al-Samarai (۲۰۲۰) بر روی آلودگی شیر خام گاو و بوفالو در عراق انجام گرفت گزارش دادند که از ۲۴۵ نمونه شیر خام گاو و گاو میش (۱۶۸ نمونه شیر خام گاو و ۷۲ نمونه شیر خام گاو میش) ۱۲ درصد به *یرسینیا/انتروکولیتیکا* آلوده بود. بیشترین نمونه‌های آلوده در شیر گاو (۱۴/۲ درصد) و پس از آن شیر گاو میش (۶/۹ درصد) به دست آمد (۲۵)، که با مطالعه حاضر در خصوص شیر خام گاو به *یرسینیا/انتروکولیتیکا* ۴ درصد و *لیستریا مونوسیتوژنز* ۱۰ درصد

آلودگی وجود داشت و مطابقت دارد.

مطالعه‌ای توسط شریفی‌یزدی و همکاران (۲۰۲۳) بر روی شیوع و ویژگی‌های *یرسینیا/انتروکولیتیکا* و *یرسینیا سودوتوبرکلوزیس* از شیر خام عرضه شده در تهران انجام شد. در این مطالعه ۳۶۰ نمونه شیر خام عرضه شده در شهرستان نمونه‌گیری شد. از ۳۶۰ نمونه شیر خام، ۴ جدایه *یرسینیا/انتروکولیتیکا* (۱/۱ درصد) شامل یک *Y. pseudotuberculosis* (۰/۲۷ درصد) و سه *Y. enterocolitica* (۰/۸۳ درصد) جدا شد (۲۶)، که میزان آلودگی مطالعه حاضر فراتر از آلودگی گزارش شده توسط نامبرده است.

مطالعه Zafar و همکاران (۲۰۲۰) بر روی آلودگی شیر خام به *لیستریا مونوسیتوژنز* نشان داد که تعداد ۹۰ نمونه از مراکز عرضه مختلف لبنیات شامل ۴۰ نمونه شیر خام، ۲۵ نمونه پنیر و ۲۵ نمونه ماست جمع‌آوری شد. نتایج مطالعه نشان داد که از مجموع ۹۰ نمونه، ۲۴ نمونه (۲۶/۶۶ درصد) برای *لیستریا مونوسیتوژنز* با بیشترین شیوع در شیر خام (۱۶) و پس از آن پنیر (۵) و ماست (۳) نمونه مثبت تشخیص داده شدند. بیشترین مقاومت برای پنی‌سیلین (۶۳/۱۵ درصد) در بین جدایه‌ها مشاهده شد و پس از آن کلیندامایسین (۵۷/۸۹ درصد)، سیپروفلوکساسین (۲۶/۳۱ درصد) و ریفامپیسین (۲۶/۳۱ درصد) و ۱۰۰ درصد ایزوله‌ها حساس به آمپی‌سیلین، سفالوتین و کلرامفنیکل بودند (۲۷)، که شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* فراتر از مطالعه حاضر است. مقاومت پنی‌سیلین در مطالعه حاضر ۷۹ درصد بود که مطابقتی وجود ندارد.

در مطالعه‌ای بر روی شیوع و حساسیت ضد میکروبی گونه *لیستریا* جدا شده از شیر خام فله در شمال شرقی لهستان انجام شد که در آن ۵۰۰ نمونه شیر فله مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در مجموع، از ۵۰۰ نمونه شیر، بر اساس خواص بیوشیمیایی، ۸ جدایه متعلق به جنس *لیستریا مونوسیتوژنز* (۱/۶ درصد) تایید شد. شناسایی بیشتر سویه‌های *لیستریا* نشان داد که ۳ سویه متعلق به

ژله‌ای شدن شیر، آزادسازی اسیدهای آمینه و کاهش عملکرد در تولید پنیر می‌شوند که می‌تواند ناشی از تولید پروتئاز باکتریایی باشد. به‌عنوان مثال لیپاز باکتریایی ناشی از فعالیت سرماگراها می‌تواند دمای پاستوریزاسیون را به راحتی تحمل کند. کیفیت شیر خام و فرآورده‌های لبنی با سرد کردن از مزرعه تا کارخانه‌های فرآوری به‌طور قابل توجهی بهبود یافته است. اما متأسفانه شیوه‌های کنونی برای جمع‌آوری و ذخیره‌سازی شیر خام علی‌الخصوص در ایران، باعث رشد باکتری‌های سرماگرا می‌شوند که می‌توانند در دمای زیر ۷ درجه سانتی‌گراد رشد کنند. کلید تضمین ایمنی مواد غذایی فاسد شدنی، کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها است و کنترل دما در طول نگهداری غذا نقش مهمی در محدود کردن تولید مثل میکروارگانیسم‌ها دارد. بنابراین توصیه می‌شود استراتژی‌های پیشگیرانه برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های سرماگرا و آنزیم‌های آنها شامل محدود کردن رشد این باکتری‌ها و غیر فعال کردن آنزیم‌های آنها، حفظ شیوه‌های بهداشتی از مزرعه تا کارخانه رعایت گردد. همچنین جهت درمان گاستروانتریت ناشی از بیماری‌های منتقل شونده از مواد غذایی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به حداقل برسد.

گونه *L. monocytogenes* و ۵ سویه متعلق به گونه *L. innocua* بود. تجزیه و تحلیل حساسیت به عوامل ضد میکروبی نشان داد که همه جدایه‌ها، هر دو متعلق به گونه‌های *L. innocua* و *L. monocytogenes*، به آمپی‌سیلین حساس بودند (۲۸)، که با مطالعه حاضر همسو نمی‌باشد در این مطالعه ۱۰ درصد به لیستریا مونوسی‌توژنز آلودگی وجود داشت. در مطالعه‌ای (۲۰۱۱) که بر روی میزان آلودگی سودوموناس در شیر خام انجام گرفت، محققان گزارش دادند که از مجموع ۵۵ نمونه، ۴۲ نمونه سودوموناس جداسازی شد (۲۹)، که بسیار فراتر از مطالعه حاضر است. در مطالعه‌ای که توسط محمد و همکاران (۲۰۱۵) در مصر صورت گرفت دریافتند که از مجموع ۱۰۰ نمونه تصادفی شیر خام، گونه سودوموناس در ۶ درصد از نمونه‌های شیر خام قابل شناسایی است (۳۰)، که تا حدودی با مطالعه حاضر مطابقت دارد.

باکتری‌های سرماگرا با محدود کردن ماندگاری شیر خام و محصولات لبنی از طریق تولید آنزیم‌های خارج سلولی پایدار در برابر حرارت، بر جنبه‌های اقتصادی در صنایع لبنی تأثیر می‌گذارند. این آنزیم‌ها همچنین باعث ایجاد مشکلات تکنولوژیکی مانند تشکیل طعم‌های بد،

References

- 1- Havelaar AH, Kirk MD, Torgerson PR, Gibb HJ, Hald T, Lake RJ, et al. World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. *PLoS med.* 2015; 12(12): e1001923.
- 2- Abdul-Mutalib N, Syafinaz A, Sakai K, Shirai Y. An overview of foodborne illness and food safety in Malaysia. *Int Food Res J.* 2015; 22(3): 896.
- 3- Roberts D, Greenwood M. Practical food microbiology: John Wiley & Sons; 2008.
- 4- Fung F, Wang H-S, Menon S. Food safety in the 21st century. *Biomed J.* 2018; 41(2): 88-95.
- 5- Lyytikäinen O, Autio T, Maijala R, Ruutu P, Honkanen-Buzalski T, Miettinen M, et al. An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. *J infec dise.* 2000; 181(5): 1838-41.
- 6- Abdimoghdam Z, Shamloo E, Atefi M. Frequency of *Listeria* species in raw milk and traditional dairy products in Isfahan, Iran. *Iran J Nut Sci Food Tech.* 2015; 10(3): 101-7.
- 7- Thi MTT, Wibowo D, Rehm BH. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Int J molec sci.* 2020; 21(22): 8671. [In persian]
- 8- Pachori P, Goyalwal R, Gandhi P. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Gen & dise.* 2019; 6(2): 109-19.
- 9- Guillier L, Fravallo P, Leclercq A, Thebault A, Kooh P, Cadavez V, et al. Risk factors for sporadic *Yersinia enterocolitica* infections: a systematic review and meta-analysis. *Microb Analys.* 2021; 17: 100141.
- 10- Lamps LW, Havens JM, Gilbrech LJ, Dube PH, Scott MA. Molecular biogrouping of

pathogenic *Yersinia enterocolitica*: development of a diagnostic PCR assay with histologic correlation. *Amr J clin path.* 2006; 125(5): 658-64.

11- Townsend A, Strawn LK, Chapman BJ, Dunn LL. A systematic review of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* prevalence, persistence, and diversity throughout the fresh produce supply chain. *Foods.* 2021; 10(6): 1427.

12- Zadsafar F, Zargar M. Determine the antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from raw milk. *App Bio.* 2013; 3(10): 60-70. [In persian]

13- Alavi SM, Rahimi E, Tajbakhsh E. Identification and characterization of the virulence genes in *Yersinia enterocolitica* strains isolated from sheep and goat milk in Shahrekord. *J Mic World.* 2017; 10(3): 256-62. [In persian]

14- Heidarzadi M, 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]

15- Yuan L, Sadiq FA, Burmølle M, Wang N, He G. Insights into psychrotrophic bacteria in raw milk: a review. *J food protec.* 2019; 82(7): 1148-59.

16- Rezapour R, Hanifian S. Contamination rate and biofilm formation by psychrotrophic bacteria from bulk milk tanks and dairy processing equipments. *J Food Microb.* 2018; 5(2): 79-89. [In persian]

17- Mokhtari AR, Zahraee Salehi T, Amini K, Shahcheraghi F. Isolation *Pseudomonas aeruginosa* bacteria and genes integron class I of subclinical mastitis in dairy cows in Tehran. *Vet Res Bio Products.* 2016; 29(2): 37-44. [In persian]

18- Sharifzadeh A, Akhavan M, zarasvandi A, Alagha A. Isolation of *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* from raw and pasteurized milks of Chaharmahal and Bakhtiari. *J Food Sci Industry.* 2001; 1(1): 13-6. [In persian]

19- Fazlara A, Zarei M, Mavalizadeh A. Survey on contamination to *Yersinia enterocolitica* in raw cow milk distributed in Ahvaz area and evaluation of antibiotic resistance of isolates. *J Food Mic.* 2016; 3(3): 11-23. [In persian]

20- Hanifian S. Isolation, identification and biotyping of virulent *Yersinia enterocolitica* from pasteurized milk. *Food Hygiene.* 2012; 4(1): 25-33.

[In persian]

21- Rahimi E, Behzadnia A, Shakerian A, Momtaz H. Frequency of *Listeria* species from raw milk, traditional cheese and ice-cream in Shahrekord and Shiraz. *J Mic World.* 2010; 2(4): 243-8. [In persian]

22- Mojtahedi A, Tarrahi MJ, Sepahvand A, Khakpour AD, Radsari E, Ttavasoli M, et al. Frequency determination of *Listeria* contamination in dairy products and their antibiotic resistance pattern, department for controlling food stuffs, Lorestan. *Sci mag yafte.* 2004; 6(3): 27-32.

23- Norowzi J, Moradi Bidhendi S, Shafiee M. Detection of *actA* gene in *Listeria monocytogenes* isolated from dairy products. *J Mic World.* 2013; 6(6): 246-52.

24- Khalid D, Abbas B. Prevalence, antibiotic susceptibility, and virulence factors of *Yersinia enterocolitica* isolated from raw milk in Basrah, Iraq. *Bulg J Vet Med.* 2021; 4(24): 12-23.

25- Ali MM, Al-Samarai FR. Isolation and Molecular Identification of *Yersinia Enterocolitica* in Locally Produced Raw Milk in Iraq. *Bioch Cellul Arch.* 2020; 20(2): 78-91.

26- Sharifi Yazdi S, Mobasseri B, Torabi Bonab P, Sharifi Yazdi S, Mirbagheri Z, Soltan Dallal MM. Prevalence and Characteristics of *Yersinia Enterocolitica* and *Yersinia Pseudotuberculosis* from Raw Milk Supplied in Tehran. *J Nut Food Secu.* 2023; 8(1): 114-21.

27- Zafar N, Nawaz Z, Anam S, Kanwar R, Ali A, Mudassar M, et al. 31. Prevalence, molecular characterization and antibiogram study of *Listeria monocytogenes* isolated from raw milk and milk products. *Pure App Bio.* 2020; 9(3): 1982-7.

28- Soltysuik M, Wiszniewskalaszczych A, Wojtacka J, Wysok B. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Listeria* spp. isolated from bulk raw milk in north-eastern Poland. *Med vet.* 2002; 1(2):162-180.

29- De Jonghe V, Coorevits A, Van Hoorde K, Messens W, Van Landschoot A, De Vos P, et al. Influence of storage conditions on the growth of *Pseudomonas* species in refrigerated raw milk. *App envment microb.* 2011; 77(2): 714-728.

30- Mohammed GMO, Megahed AA, Nasr SS. Bacteriological and molecular detection of *Pseudomonas* species from raw milk sold in Port-Said City markets. *Egyp J Chem envment Health.* 2015; 1(1): 986-1002.



Investigating the antibiotic resistance of *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas* isolates in raw cow's milk supplied in Gachsaran County

Meghdad Nazari¹, Ebrahim Rahimi^{2*}

1- Graduated in Food Hygiene, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2- Professor, Department of Food Hygiene, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

Receive: November 25, 2023; Revise: January 21, 2024; Accept: January 29, 2024

 [10.22034/nfvm.2024.426869.1214](https://doi.org/10.22034/nfvm.2024.426869.1214)

Summary

Psychrotrophic bacteria in raw milk, due to their ability to produce heat-resistant enzymes and biofilms, face the dairy industry with significant corruption and technical problems, and can also cause risks such as gastroenteritis in humans. In this regard, the purpose of this study is to investigate the prevalence of antibiotic resistance of *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas* isolates in raw milk sold in Gachsaran County. In this study, 100 samples of raw milk were randomly sampled from the supply centers of this product and transferred to the food hygiene laboratory under sterile conditions. The results showed that the level of infection with *Pseudomonas* was 30 samples (30%), *Listeria monocytogenes* was 10 samples (10%) and *Yersinia enterocolitica* was 4 samples (4%), also statistical analysis showed that there was a difference between the level of infection with *Pseudomonas* and *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes*. The difference is statistically significant ($P < 0.05$). The results of antibiotic tests showed that the highest resistance in *Pseudomonas* was related to amoxiclav and ampicillin, in *Listeria monocytogenes* it was related to amoxiclav and sulfamethoxazole, and in *Yersinia enterocolitica* it was penicillin and gentamicin. Due to the high level of contamination of raw milk with psychrotrophic microorganisms, it is recommended to refrain from consuming raw milk and to apply restrictions for the treatment of gastroenteritis caused by the spread of food pathogenic bacteria.

Keywords: *Pseudomonas*, Raw milk, *Listeria monocytogenes*, Antibiotic resistance, *Yersinia enterocolitica*