مجله علوم پزشکی زانکو/ دانشگاه علوم پزشکی کردستان/ تابستان ۱۴۰۰/ ۴۶-۳۶

مقاله پژوهشی
(Original paper)

ارزیابی آلودگی بستنی‌های سنتی به سالمونلا، استافیلوکوکوس اورئوس و کلی‌فرم‌ها و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها

مهدی شریفی سلطانی[۱]، **عاطفه بزرگی**[۲*]

۱- استادیار میکروب‌شناسی، گروه دامپزشکی، واحد چالوس، دانشگاه آزاد اسلامی، چالوس، ایران.

۲- استادیار میکروب شناسی، گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران.

نویسنده مسئول: تلفن: ۰۹۳۵۳۹۲۹۵۷۵ ایمیل: atefeh.bozorgi@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: مصرف بستنی آلوده به میکروب‌ها باعث بروز بیماری‌های مختلف می‌شود. بررسی و غربالگری این محصول از نظر وجود میکروب‌های مختلف مهم است، بنابراین، این مطالعه به منظور بررسی آلودگی بستنی سنتی انجام شد.

مواد و روش کار: از سه شهر بندر ترکمن، گرگان و کردکوی، ۲۰ نمونه مجزا و به‌طور کلی ۶۰ نمونه بستنی سنتی جمع‌آوری شد. شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا و کلی‌فرم‌ها به وسیله تست‌های فنوتیپی میکروب‌شناسی شامل کشت روی محیط‌های کشت مربوط به هر باکتری و تست‌های کاتالاز، اکسیداز، و کوآگولاز انجام شد. حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش انتشار از دیسک و طبق دستورالعمل موسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی ۲۰۱۸، و با کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۶و آزمون مجذورکای (X2) انجام گرفت ($p\leq ۰/۰۵$).

یافته‌ها: بیشترین آلودگی نمونه‌ها در بندر ترکمن به جنس سالمونلا و کلی فرم‌ها (هر کدام ۶۰ درصد)، در گرگان و همچنین در کردکوی نیز به کلی فرم‌ها (به ترتیب ۹۰ درصد و ۸۰ درصد) بود. ۱۰۰ درصد از گونه‌های سالمونلا جدا شده در هر سه شهر به داکسی‌سایکلین مقاوم بودند. بین مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های بستنی گرفته شده از شهرها، تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p\leq ۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری: آلودگی باکتریایی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در نمونه‌های بستنی سنتی دریافت شده از شهرهای مورد بررسی وجود داشت. کنترل و رسیدگی دقیق به عوامل ایجادکننده آلودگی در کارخانه‌های تولیدکننده بستنی سنتی ضروری است.

واژه‌های کلیدی: سالمونلا، استافیلوکوکوس اورئوس، ، مقاومت داروئی، میکروبی، ایران

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-11-19]

مقدمه

بستنی یک فرآورده شیری و مطبوع و همچنین خوشایند ذائقه است که در تمام فصول سال، مخصوصا بهار و تابستان مصرف‌کنندگان فراوان دارد. اجزای تشکیل‌دهنده بستنی چربی شیر، مواد جامد بدون چربی شیر، شیرین‌کننده‌ها، قوام دهنده‌ها، امولسیون کننده‌ها و نمک‌های معدنی است (۲ ،۱). بستنی به دلیل داشتن مقادیر بالای قند و چربی منبع خوبی برای تولید انرژی در بدن است و به علت اینکه بر پایه ترکیبات شیری می‌باشد، از نظر پروتئینی نیز قابل بررسی است. پروتئین شیر به دلیل داشتن اسیدهای آمینه ضروری، هضم و جذب خوب در بدن، در میان منابع پروتئینی شاخص هستند (۳). اگر بستنی به نحوه بهداشتی و با رعایت اصول استاندارد تهیه و بسته‌بندی شود، منبع سرشاری از مواد انرژی‌زا جهت سوخت و ساز بدن خواهد بود (۴). در صورتی که بستنی به صورت صنعتی تولید شود و به اصطلاح پاستوریزه باشد، به دلیل انجام فرآیندهای سالم‌سازی و بهداشتی بر روی شیری که قرار است به بستنی تبدیل شود، این ماده غذایی باکتری بیماری‌زایی نخواهد داشت (میکروب‌هایی که قبل از پاستوریزه یا استریل‌کردن در شیر وجود داشته باشند، جز آلودگی‌های اولیه این ماده غذایی به‌شمار می‌روند) و اگر دچار آلودگی ثانویه (آلودگی‌های میکروبی که بعد از پاستوریزه یا استریل‌کردن در شیر بوجود می‌آید) نشود، مصرف آن عاری از خطر است. اما در صورتی که بستنی به روش سنتی و دستی تهیه شود و عمل پاستوریزه یا استریل‌کردن روی آن انجام نشود، همچنین در صورت نداشتن بسته‌بندی مناسب، ممکن است به صورت اولیه یا ثانویه به باکتری‌های بیماری‌زا آلوده شود (۵). بیماری‌های مرتبط با عفونت باکتریایی که از طریق بستنی امکان انتقال دارند شامل تب مالت یا بروسلوزیس (عامل بیماری: جنس *بروسلا*)، سالمونلوز (عامل بیماری:جنس سالمونلا)، لیستریوز (عامل بیماری: جنس لیستریا)، کمپیلوباکتریوز (عامل بیماری: جنس کمپیلوباکتریوم)، اسهال (عامل بیماری: اشریشیا کلی)، مسمومیت باکتریایی (عامل بیماری: استافیلوکوکوس اورئوس) می‌باشند. از طرفی دیگر، علاوه بر مشکل عفونت ایجاد شده توسط باکتری‌ها، مشکل مهم دیگر در این بین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های استفاده شده جهت درمان این بیماری‌هاست. مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایجاد شده به علت استفاده بی‌رویه و طولانی مدت از آنتی‌بیوتکی‌ها توسط انسان‌ها و همچنین استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مشابه و به‌صورت طولانی‌مدت در غذای دام و طیور یکی از مهم‌ترین علل مقاومت آنتی‌بیوتیکی در درمان عفونت‌هایی از این نوع است. انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی از جنس‌ها و گونه‌های مختلف باکتریایی به یکدیگر و جهش‌های بوجود آمده در باکتری‌ها به واسطه مکانیسم‌های مختلف، باکتری را بیشتر مقاوم ساخته است. همچنین انتقال ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک از فلور میکروبی دام به پاتوژن‌های انسانی و یا از طریق زنجیره غذایی به انسان نیز می‌تواند صورت گیرد (۷ ،۶). در بررسی که در کشور ترکیه انجام شد، میزان آلودگی بستنی‌های سنتی حدود ۷۸ درصد اعلام شد (۸). در تحقیقی دیگر که در ایران انجام شد، میزان آلودگی بستنی‌های سنتی مصرفی آلوده به باکتری اشریشیا *کلی* ۳۳/۳۱ درصد گزارش شد (۹). همچنین در یکی دیگر از مطالعات انجام شده در ایران، ۵۳/۳ درصد از نمونه‌های بستنی، آلودگی به باکتری‌ها را نشان دادند. آلودگی به انتروباکتریاسه‌ها سطح بالایی را به خود اختصاص داد (۶۶/۷ درصد) (۱۰). در تحقیقی که در کشور نیجریه انجام شد، گونه‌های *سالمونلا*، سودوموناس، یرسینیا، و *استافیلوکوکوس* از نمونه‌های بستنی جدا شدند. باکتری‌های جدا شده طیف‌های

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-11-19]

مختلف از حساس، متوسط تا مقاوم را به آنتی‌بیوتیک-های مورد استفاده داشتند (۱۱). در ایران تولید بستنی غیر پاستوریزه تحت عنوان بستنی سنتی رایج است. چنانچه در تهیه و توزیع این فرآورده، شرایط پاستوریزاسیون و بهداشت فردی بطور کامل رعایت نگردد، بستنی تولید شده توسط باکتری‌های مختلف آلوده خواهد شد و به دنبال آن مشکلات متعدد اقتصادی و بهداشتی را در سطح جامعه ایجاد می‌نماید. این مشکل سالانه با صرف هزینه‌های زیاد، ابتلای میلیون‌ها نفر از جمعیت جهان به این نوع از عفونت‌ها، که می‌تواند سبب بستری یا حتی مرگ آنها شود، همراه است. با توجه به میزان بالای مصرف بستنی و خطر آلودگی باکتریایی در این ماده غذایی و همچنین خطرات بوجود آمده حاصل از ابتلای به آلودگی، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی آلودگی بستنی‌های سنتی به استافیلوکوکوس اورئوس، جنس سالمونلا، و کلی‌فرم‌ها انجام شد.

مواد و روش کار

این مطالعه مقطعی، توصیفی- تحلیلی در سال ۱۳۹۹ زیر نظر دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل (کد اخلاق: IR.IAU.BABOL.REC.1399.058) انجام شد. نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیق بستنی‌هایی بودند که به روش سنتی و غیر صنعتی در شهرهای گرگان ، بندرترکمن، و کردکوی عرضه شده بودند. در هر شهر بیست مرکز تهیه و توزیع بستنی به طور تصادفی در نظر گرفته شد (بیست مرکز در گرگان ، بیست مرکز در بندر ترکمن و بیست مرکز در کردکوی)، از هر یک از مراکز تهیه و توزیع بستنی با رعایت اصول بهداشتی یک نمونه اخذ شد. بنابراین، از هر شهر ۲۰ نمونه مجزا دریافت شد؛ ۲۰ نمونه از گرگان، ۲۰ نمونه از بندر ترکمن و ۲۰ نمونه از کردکوی؛ در نهایت حجم کلی نمونه‌ها ۶۰ نمونه بود (قابل ذکر است با توجه به محدودیت‌های مالی و هزینه‌های در نظر گرفته شده، فقط ۶۰ نمونه در این مطالعه بررسی شد). نمونه‌ها داخل ظروف استریل قرار داده شدند تا از بروز آلودگی ثانویه در آن جلوگیری شود. پس از رسیدن نمونه‌ها به آزمایشگاه، کل نمونه‌ها به همراه ظرف استریل داخل حمام آب ولرم (۴۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت و ذوب شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه بستنی ذوب شده در ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل مخلوط (سرم فیزیولوژی حاوی الکترولیت، آب، و نیازهای سلولی است و باعث رشد میکروب ها می‌شود) و سوسپانسیون میکروبی مورد مطالعه، آماده شد (۱۲).

استافیلوکوکوس اورئوس: از سوسپانسون میکروبی آماده شده، ۰/۱ میلی‌لیتر بر روی محیط کشت بردپارکر آگار کشت داده شد (در این محیط کشت پیروات سدیم به عنوان یک محرک رشد انتخابی و امولسیون زرده تخم مرغ به عنوان یک عامل تمایز در این محیط وجود دارند. این محیط، رشد استافیلوکوکوس اورئوس را امکانپذیر می‌کند و به‌طور انتخابی، رشد اکثر باکتری‌های دیگر را مهار می‌کند. مهار انتخابی در اثر ترکیب عوامل انتخابی تلوریت و لیتیم ایجاد می‌شود. گلایسین و پیروات به منظور افزایش رشد *استافیلوکوک* ها به این محیط اضافه شده-اند). پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند (استافیلوکوکوس اورئوس به-صورت کلنی سیاه ظاهر می‌شوند). برای تایید جنس و گونه از کلنی‌های مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس، آزمون رنگ‌آمیزی گرم (کوکسی‌های خوشه‌ای گرم مثبت)،آزمایش تخمیر مانیتول (این باکتری، کلنی‌های زرد رنگی تولید می‌کند که به دلیل تخمیر مانتیول و کاهش PH محیط کشت ایجاد

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-11-19]

می‌شود)، DNase (آنزیم DNAse را تولید و هاله-هایی را اطراف کلونی ایجاد می‌کند)، همولیز در محیط بلاد آگار (بتا همولیز دارند)، رشد در نمک ۶/۵ درصد (نمک را تحمل و رشد می‌کند)، تست‌های کاتالاز (تست کاتالاز مثبت هستند)، اکسیداز (تست اکسیداز منفی هستند، و کواگولاز (ایجاد لخته خون مثبت است) (تمام محیط‌ها و تست‌ها تهیه شده از مرک، آلمان بودند) و آزمایش آنتی‌بیوتیکی نووبیوسین (۵ میکروگرم) (در اطراف دیسک باسیتراسین رشد می‌کنند)، فورازولیدون (۱۰۰ میکروگرم) (در اطراف دیسک فورازولیدون رشد می‌کنند)، ونکومایسین (۳۰ میکروگرم) (در اطراف دیسک ونکومایسین رشد می‌کنند) (تمام آنتی‌بیوتیک‌ها تهیه شده از پاتن طب، ایران بودند)، جهت شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس استفاده شدند (۱۳).

جنس *سالمونلا*: در نمونه‌های بستنی در دو مرحله آزمون شناسایی گونه‌های *سالمونلا* انجام شد. در مرحله اول یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده داخل محیط سلنیت‌اف ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد تا باکتری‌های احتمالی پیش غنی‌سازی شوند. سپس از محیط سلنیت‌اف به محیط لایزین دکربوکسیلاز و *سالمونلا-شیگلا* آگار منتقل شد. *سالمونلا* در هر دو محیط به ترتیب کلنی‌هایی سیاه رنگ و کلنی‌هایی با مرکز سیاه ایجاد کرد (تمام محیط‌ها تهیه شده از مرک آلمان بودند) (۴).

کلی فرم: از سوسپانسیون تهیه شده کشت پورپلیت (به این طریق که یک میلی‌لیتر از نمونه داخل پلیت ریخته شد، سپس ۱۰ میلی‌لیتر از محیطی که جوشانده و سپس تا دمای ۴۵ الی ۵۰ درجه خنک شد بود به پلیت اضافه شد) در محیط کشت ویولت رد بایل آگار (این محیط برای شناسایی و شمارش کلیفرم‌ها در آب، مواد غذایی و لبنی استفاده می‌شود و حاوی لاکتوز است. کلی فرم‌ها لاکتوز را با تشکیل گاز و اسید تخمیر می-کنند) (مرک، آلمان) استفاده شد. به این شکل که ابتدا یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون داخل پلیت خالی استریل ریخته و سپس محیط کشت مذاب با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به آن اضافه شد. پس از انعقاد محیط کشت، پلیت‌ها به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند. کلنی‌های قرمز یا صورتی نشان دهنده وجود باکتری‌های کلی فرم در نمونه‌های مورد مطالعه بود (۱۳).

حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها با روش انتشار از دیسک و طبق دستورالعمل مؤسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی Clinical and Laboratory Standards Institute ۲۰۱۸ مورد بررسی قرار گرفت. دیسک‌های آنتی بیوتیکی مورد مطالعه در این تحقیق بر حسب نوع باکتری گرم مثبت یا منفی مورد مطالعه متفاوت بود. آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده برای سالمونلا شامل؛ سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کلرآمفنیکل (۳۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۱/۲۵ میکروگرم)، اسید نالدیکسیک (۳۰ میکروگرم)، داکسی‌سیلین (۳۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، سفازولین (۳۰ میکروگرم)، و آنتی-بیوتیک‌های استفاده شده برای *استافیلوکوکوس اورئوس* شامل؛ سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، ونکومایسین (۳۰ میکروگرم)، تری متوپریم-سولفومتوکسازول (۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، و اریترومایسین (۱۵ میکروگرم) بودند (تمام آنتی‌بیوتیک‌ها تهیه شده از پاتن طب، ایران بودند). جهت آزمایش مقاومت آنتی بیوتیکی، در ابتدا سوسپانسیون باکتری کدورت معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند آماده و ۱۰ میکرولیتر توسط سوآب استریل

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-11-19]

به‌صورت چمنی روی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) کشت داده شد؛ سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیک در فواصل معین ۲ سانتی‌متر بر روی محیط کشت قرار گرفتند و با پنس استریل در محل خود ثابت شدند. هاله ممانعت از رشد اطراف دیسک آنتی‌بیوتیک به‌وسیله خط‌کش اندازه‌گیری و با استاندارد CLSI مقایسه و خوانده شد. به این ترتیب که اعداد بدست آمده با اعداد داخل کتاب CLSI مقایسه شد و اعدادی که در محدوده مقاوم، حساس و نیمه حساس بودند طبق جدول CLSI و مطابق با باکتری مربوطه خوانش شدند (۱۴).

روش آماری

با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۶، شاخص‌های آمار توصیفی و رسم جدول فراوانی جهت به دست آوردن درصد مقاومت در باکتری‌ها، نتایج به دست آمده از آزمون‌های میکروبی و آنتی بیوگرام مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. آزمون مجذورکای دو (X2) جهت تعیین ارتباط بین نمونه‌های گرفته شده از شهرها (با در نظر گرفتن این رابطه که شهرهایی که بیشترین آلودگی را دارند مشخص خواهند شد) و مقاومت آنتی‌بیوتیکی استفاده شد ($p\leq ۰/۰۵$).

یافته‌ها

نتایج آلودگی بستنی شهر بندر ترکمن نشان داد که بستنی‌های سنتی این شهر به جنس *سالمونلا* (۱۲ نمونه (۶۰ درصد))، کلی فرم‌ها (۱۲نمونه (۶۰ درصد)) و استافیلوکوکوس اورئوس (شش نمونه (۳۰ درصد)) آلوده بودند. شیوع آلودگی باکتریایی بستنی‌های سنتی در شهر گرگان نیز به ترتیب مرتبط با جنس *سالمونلا* (۱۴ نمونه (۷۰ درصد))، کلی فرم‌ها (۱۸ نمونه (۹۰ درصد)) و استافیلوکوکوس اورئوس (شش نمونه (۳۰ درصد)) بودند. آلودگی در نمونه‌های گرفته شده بستنی سنتی از شهر کردکوی نیز به جنس *سالمونلا* (دو نمونه (ده درصد))، کلی فرم‌ها (۱۶ نمونه (۸۰ درصد)) و استافیلوکوکوس اورئوس (شش نمونه (۳۰ درصد)) دیده شد. همچنین دو نمونه (۱۰ درصد) از هرکدام از شهرهای بندر ترکمن، گرگان، و کردکوی به طور جداگانه به هر سه مورد باکتری آلودگی بودند.

۱۰۰ درصد از گونه‌های سالمونلا جدا شده از بستنی سنتی در هر سه شهر به داکسی‌سیلین مقاوم بودند. میزان مقاومت (۶۶/۶۶ درصد) به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها در سالمونلا برای تمامی آنتی‌بیوتیک ها در بندر ترکمن یکسان بود. در گرگان بعد از داکسی‌سیکلین بیشترین میزان مقاومت به تتراسایکلین (۸۳/۳۳ درصد) بود. در کردکوی نیز دو نمونه جدا شده (۱۰۰ درصد) سالمونلا به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، کلرآمفنیکل، کوتریموکسازول، و اسید نالدیکسیک حساس و به داکسی سیلین، تتراسایکلین، و سفازولین مقاوم بودند (جدول ۱).

جدول۱: درصد مقاومت و حساسیت *سالمونلا* جدا شده از بستنی سنتی

شهر	الگوی آنتی‌بیوتیک	سیپروفلوکساسین تعداد (درصد)	کلرآمفنیکل تعداد (درصد)	کوتریموکسازول تعداد (درصد)	اسید نالدیکسیک تعداد (درصد)	داکسی سیلین تعداد (درصد)	تتراسایکلین تعداد (درصد)	سفازولین تعداد (درصد)
بندر ترکمن	مقاوم	۸ (۶۶/۶۶)	۸ (۶۶/۶۶)	۸ (۶۶/۶۶)	۸ (۶۶/۶۶)	۱۲ (۱۰۰)	۸ (۶۶/۶۶)	۸ (۶۶/۶۶)
	حساس	۴ (۳۳/۳۳)	۴ (۳۳/۳۳)	۴ (۳۳/۳۳)	۴ (۳۳/۳۳)	۰	۴ (۳۳/۳۳)	۴ (۳۳/۳۳)
گرگان	مقاوم	۷ (۵۰)	۷ (۵۰)	۷ (۵۰)	۷ (۵۰)	۱۴ (۱۰۰)	۱۰ (۸۳/۳۳)	۷ (۵۰)

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-11-19]

	حساس	۷ (۵۰)	۷ (۵۰)	۷ (۵۰)	۷ (۵۰)	۴ (۲۸/۵۷)	۷ (۵۰)
کردکوی	مقاوم	۰	۰	۰	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)
	حساس	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۰	۰	۰

۱۰۰ درصد از گونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بستنی سنتی در هر سه شهر به ونکومایسین حساس بودند. میزان مقاومت به پنی‌سیلین (۵۰ درصد) و جنتامایسین (۵۰ درصد) در سالمونلا جدا شده از نمونه‌های بندرترکمن از سایر آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر بود. در گرگان و کردکوی بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (هر کدام ۸۳/۳۳ درصد) بود (جدول ۲).

جدول۲: درصد مقاومت و حساسیت *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از بستنی سنتی

شهر	الگوی آنتی‌بیوتیک	سیپروفلوکساسین تعداد (درصد)	پنی‌سیلین تعداد (درصد)	ونکومایسین تعداد (درصد)	تتراسایکلین تعداد (درصد)	جنتامایسین تعداد (درصد)	تری متوپریم- سولفومتوکسازول تعداد (درصد)	اریترومایسین تعداد (درصد)
بندرترکمن	مقاوم	۲ (۳۳/۳۳)	۳ (۵۰)	۰	۱ (۶۶/۶۶)	۳ (۵۰)	۲ (۳۳/۳۳)	۰
	حساس	۴ (۶۶/۶۶)	۳ (۵۰)	۶ (۱۰۰)	۵ (۳۳/۳۳)	۳ (۵۰)	۴ (۶۶/۶۶)	۶ (۱۰۰)
گرگان	مقاوم	۳ (۵۰)	۲ (۳۳/۳۳)	۰	۴ (۶۶/۶۶)	۵ (۸۳/۳۳)	۲ (۳۳/۳۳)	۴ (۶۶/۶۶)
	حساس	۳ (۵۰)	۴ (۶۶/۶۶)	۶ (۱۰۰)	۲ (۳۳/۳۳)	۱ (۱۶/۶۶)	۴ (۶۶/۶۶)	۱ (۱۶/۶۶)
کردکوی	مقاوم	۳ (۵۰)	۴ (۶۶/۶۶)	۰	۳ (۵۰)	۵ (۸۳/۳۳)	۰	.
	حساس	۳ (۵۰)	۲ (۳۳/۳۳)	۶ (۱۰۰)	۳ (۵۰)	۱ (۱۶/۶۶)	۶ (۱۰۰)	۶ (۱۰۰)

بین نوع و میزان آلودگی بستنی سنتی در شهرهای گرگان، بندر ترکمن، و کردکوی به گونه‌های سالمونلا، استافیلوکوکوس اورئوس و کلی فرم‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p\geq۰/۰۵$). بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های بستنی گرفته شده از کردکوی و بندر ترکمن و همچنین گرگان تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($p\leq۰/۰۵$).

بحث و نتیجه گیری

آلودگی بستنی ممکن است در یکی از مراحل مختلف تولید به‌وجود آید. در تولید بستنی به روش صنعتی، امکان آلودگی پس از پاستوریزاسیون به میکروارگانیسم‌ها، در اثر آلودگی ناشی از ظروف، مراحل انجماد، قوام‌دهی و اضافه مواد افزودنی وجود دارد (۱۵). در حالیکه احتمال آلودگی بستنی‌های سنتی که عمدتاً به دلیل استفاده از ماده اولیه نامناسب از جمله شیر نامرغوب و غیرپاستوریزه، تهیه و نگهداری نامناسب شیر در ظروف و مکان آلوده تا زمان فرآوری، عدم رعایت بهداشت محیط، عدم رعایت اصول بهداشتی در شستشو و ضد عفونی ظروف، وسایل‌کار، مخزن دستگاه بستنی‌ساز، فریزر و غیره در این واحدها می‌باشد، بیشتر است (۱۶). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آلودگی بستنی به باکتری‌ها در هر سه شهر شهر بندر ترکمن، گرگان و کردکوی مشاهده شد.

بستنی‌های سنتی بندر ترکمن به جنس *سالمونلا* (۶۰ درصد)، کلی فرم ها (۶۰ درصد) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (۳۰ درصد) آلوده بودند. همچنین، آلودگی باکتریایی بستنی‌های سنتی در شهر گرگان به *سالمونلا* (۷۰ درصد)، کلی فرم‌ها (۹۰ درصد) و استافیلوکوکوس اورئوس (۳۰ درصد) مشاهده شد. در

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-11-19]

شهر کردکوی نیز آلودگی به *سالمونلا* (۱۰ درصد)، کلی فرم ها (۸۰ درصد) و استافیلوکوکوس اورئوس (۳۰ درصد) دیده شد. وجود آلودگی باکتریایی در مواد غذای طی تحقیقات مختلف به اثبات رسیده است (۱۷). در تحقیقی که در برزیل انجام شد، از ۱۲۰ نمونه ماده غذایی شامل شیر خام و پاستوریزه، فرآورده‌های گوشتی، پنیر و سبزیجات؛ مورد آزمون میکروبی قرار گرفتند، که ۵۲/۵ درصد موارد آلوده به انتروکوکوس بودند (۱۸).

در بررسی که در کشور عراق با هدف بررسی کیفیت باکتریولوژیکی بستنی محلی انجام شد، از ۹۵ نمونه مورد بررسی، همه نمونه‌ها عاری از سالمونلا و شیگلا بودند. اما ۳۴ درصد از نمونه‌ها آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بودند (۱۹). در مطالعه ما نیز آلودگی به سالمونلا و استافیلوکوکوس اورئوس وجود داشت. کیفیت میکروبیولوژیکی نمونه‌های بستنی با مقدار استاندارد در بسیاری از مواقع مطابقت ندارد. عوامل بیماری‌زای باکتریایی مسئول شیوع بیماری‌های ناشی از غذا با عامل انتقال یا منبع مرتبط می‌باشند. نتایج این مطالعات ضرورت ایجاد شرایط بهداشتی در فرآیند تهیه، بسته بندی، و بازاریابی را برای به حداقل رساندن آلودگی چنین لبنیات پرمصرفی پیش‌بینی می‌کند (۲۰، ۱۹). در بررسی که در آمریکا انجام شد، گزارش شد که گونه‌های لیستریا مونوسیتوژنز جدا شده از نمونه‌های بستنی دارای قرابت ژنتیکی و به سرعت قابل انتقال می‌باشند (۲۰). در تحقیقی که در کشور هند انجام شد، در مجموع ۱۰ نمونه بستنی از نظر وجود آلودگی میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی، از نمونه‌های بستنی، یک ایزوله باسیلوس سوبتیلیس، دو ایزوله اشریشیا کلی، و سه ایزوله از جنس استافیلوکوکوس جدا شدند (۲۱). کیفیت میکروبیولوژیکی بستنی به نوع بازاریابی و خرده فروشی، حمل و نقل محصول و شرایط بهداشتی در هنگام نگهداری آن بستگی دارد و در حین کار می‌بایست شرایط نگهداری و اصول استاندارد جهت جلوگیری از آلودگی رعایت گردد. آموزش بهداشت فروشندگان و اجرای دقیق استانداردهای بهداشتی ممکن است به کاهش میزان آلودگی کمک کند. نتایج حاکی از سهل انگاری مانند بهداشت نامناسب هنگام تهیه یا نگهداری بستنی است که می‌تواند شامل محوطه‌های کثیف، ظروف دست دوم، و استفاده از دست برهنه در تهیه محصولات باشد (۲۱، ۱۹). در تحقیقی در ایران، بین ۱۴۴ نمونه بستنی سنتی که از نظر میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند، ۵۲/۲ درصد کل نمونه‌ها به اشریشیا کلی و ۲/۸ درصد نمونه‌ها به استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت آلوده بودند. آلودگی به *سالمونلا* در هیچ یک از نمونه‌ها مشاهده نشد (۲۲). در تحقیقات دیگری که در ایران روی آلودگی باکتریایی بستنی‌های سنتی انجام شد، ۵۷/۱۴ درصد نمونه‌ها (۲۳) و ۹۲/۶ درصد از نمونه‌ها (۲۴) آلودگی باکتریایی داشتند. آلودگی آب و اعمال نادرست حرارت پاستوریزاسیون بر مخلوط بستنی نیز در این نوع آلودگی‌های باکتریایی نقش بسزایی دارند و با توجه به میزان رعایت اصول استاندارد تهیه بستنی و موارد بهداشتی ذکر شده در مکان مختلف متفاوت است (۲۵). در تحقیق انجام شده در ایران، بین تعداد ۳۹ نمونه بستنی سنتی ۲۸/۸ درصد از نظر آلودگی به سالمونلا مثبت بود. آلودگی به سالمونلا در بستنی‌های شهرهای بسیاری از نقاط ایران شایع است. منبع اصلی آلودگی میکروبی در مراکز تهیه و توزیع بستنی سنتی، استفاده از شیرهای غیر پاستوریزه، عدم رعایت بهداشت شامل؛ بهداشت فردی و عدم شستشو صحیح ظروف، و آلودگی بستنی و مواد اولیه تشکیل دهنده آن با مدفوع حیوان و یا انسان طی مراحل مختلف تولید و نگهداری

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-11-19]

است. بنابراین، نظارت بهداشتی دقیق بر مراکز تهیه و توزیع بستنی در شهرهای مختلف الزامی است (۱۵). در بررسی حاضر ۱۰۰ درصد از گونه‌های *سالمونلا* جدا شده از بستنی سنتی در هر سه شهر به داکسی سیلین مقاوم بودند. میزان مقاومت (۶۶/۶۶ درصد) به سایر آنتی بیوتیک‌ها در سالمونلا برای تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها در بندر ترکمن مشاهده شد. در گرگان بعد از داکسی-سیکلین بیشترین میزان مقاومت به آنتی بیوتیک نسبت به تتراسایکلین (۸۳/۳۳ درصد) بود. در کردکوی نیز دو نمونه جدا شده (۱۰۰ درصد) *سالمونلا* به آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، کلرآمفنیکل، کوتریموکسازول و اسید نالدیکسیک حساس و به داکسی‌سیلین، تتراسایکلین، و سفازولین مقاوم بودند. در تحقیقی که در کشور ترکیه انجام شد، نمونه‌های کیک خامه‌ای و بستنی از نظر وجود لیستریا منوسایتوژنز مورد بررسی قرار گرفتند و با استفاده از روش انتشار دیسک آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی انجام شد. در مجموع از ۱۲۸ نمونه، ۱۲/۵۰ درصد از نمونه‌های کیک خامه‌ای و ۱۲/۹۶ درصد از نمونه‌های بستنی آلوده به این باکتری بودند. همه جدایه‌های لیستریا منوسایتوژنز به سولفامتوکسازول/تریمتوپریم، تتراسایکلین، استرپتومایسین، جنتامایسین، مروپنم و اریترومایسین حساس بودند. تعداد جدا شده‌های مقاوم به سولباکتام/آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین G، کلرامفنیکل و آمپی‌سیلین به ترتیب ۱۶، ۲، ۱ و ۱ جدایه بودند (۲۶). در مطالعه‌ای که در ایران انجام شد، از ۱۲۲ نمونه بستنی یخی، ۲۱/۳ درصد آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بودند. همچنین، روش انتشار از دیسک نشان داد که الگوی آنتی‌بیوتیکی با حساسیت بالا نسبت به اریترومایسین و پنی‌سیلین و مقاومت بالا به ریفامپین و جنتامایسین مشاهده شد (۱۲). مطالعه انجام شده روی بستنی در کشور نیجریه نشان داد که بستنی‌های مورد بررسی به باکتری‌های جنس سالمونلا، سودوموناس، یرسینیا، استافیلوکوکوس، و میکروکوکوس آلوده بودند و همچنین مقاومت دارویی چندگانه در باکتری‌ها مشاهده شد. همچنین ۱۰۰ درصد نمونه‌ها به آگمنتین مقاوم و ۱۰۰ درصد تمام نمونه‌های به افلوکساسین حساس بودند (۲۷). میزان مقاومت‌های داروئی نسبت به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها در مناطق مختلف جهان به دلیل تغییرات ژنتیکی در سویه‌های ایجادکننده مقاومت، تفاوت در میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، میزان مصرف خودسرانه آنتی‌بیوتیک و اختلاف در میزان دسترسی به آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌طیف و جدید، شرایط زمانی، مکانی، وضعیت فرهنگی و بهداشتی جوامع مورد مطالعه متفاوت است. عوامل باکتریایی موجود در مواد غذایی می‌تواند مسبب بیماری‌های گوارشی، اسهال، و مسمومیت‌هایی باشند که از طریق خوردن غذای آلوده منتقل می‌شوند. شیر و بستنی به دلیل ارزش غذایی بالا و محیط مغذی جهت رشد میکروب‌ها مناسب هستند (۷ ،۴). آلودگی شیر و فرآورده‌های آن به میکروب‌های بیماری‌زا از طریق حیوان و یا از طریق تماس با وسایل آلوده انجام می-گیرد. همچنین اغلب آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در دامپزشکی که جهت درمان بیماری‌های دام و یا به عنوان افزودنی در مواد خوراکی حیوانات استفاده می-شود، متعلق به گروهی هستند که در پزشکی استفاده می‌گردند. بنابراین، انتقال مقاومت‌های میکروبی از طریق فرآورده‌های حیوانی نیز امکان‌پذیر است. همچنین میکروب‌های بیماری‌زا از طریق حضور در فرآورده‌های شیر ممکن است باعث انتقال فاکتور مقاومت به فلور میکروبی دستگاه گوارش شوند. آنتی-بیوتیک‌ها در حیوانات به منظور پیشگیری، درمان، و محرک رشد استفاده می‌شوند. با توجه به کاهش کارایی آنتی‌بیوتیک‌ها در پزشکی و دامپزشکی،

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-11-19]

شـواهد روز افزونی وجود دارد که نشان می‌دهد بروز مقاومت‌های میکروبی در انسان، مرتبط با استفاده از ترکیبات ضد میکروبی در حیوان است (۲۹، ۲۸ ، ۴). نتایج این مطالعه نشان داد که نمونه‌های بستنی‌های جمع‌آوری شده از شهرهای مورد مطالعه به باکتری‌های بیماری‌زا آلوده بودند. باکتری‌های جدا شده به آنتی-بیوتیک‌های مورد بررسی در بسیاری از موارد مقاوم بودند. همچنین مقاومت ۱۰۰ درصد به تعدادی از آنتی-بیوتیک‌ها در این بررسی مشاهده شد. از آنجایی که آلودگی فرآورده‌های شیری به باکتری‌ها مشکل جدی برای سلامتی انسان‌ها به شمار می‌رود، و علاوه بر آن باکتری‌های عامل آلودگی می‌توانند مقاوم به آنتی-بیوتیک‌هایی باشند که برای انسان نیز کاربرد دارند، رعایت نکات و موارد بهداشتی در حین مراقبت از دام و در کارخانه‌های تولیدکننده فرآورده‌های شیری جهت جلوگیری از این مشکل بسیار حائز اهمیت است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاران محترم در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل که در انجام این پروژه به ما یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Khoramrooz SS, Sarikhani M, Khosravani SA, Farhang Falah M, Mahmoudi Y, Sharifi A. Microbial contamination determination of cream suit, traditional ice cream and olovia in Yasuj city in 2014. Armaghane-danesh. 2015;20(6):526-37.
2. Moeenfard M, Purazarang H, Tehrani MM. Effects of milk solids-non-fat content on physical, chemical and sensory properties of frozen yogurt. Iranian J Nutr Sci Food Technol. 2012; 6(4):33-40.
3. Seo KH, Valentin-Bon IE, Brackett RE. Detection and enumeration of Salmonella Enteritidis in homemade ice cream associated with an outbreak: Comparison of conventional and real-time PCR methods. J Food Protect. 2006;69(3):639-43.
4. Alsagher MR. Evaluation of bacteriological quality of packed ice creams sold in retail stores in tripoli city, Libya. Sch Acad J Pharm 2021;10(1):19-23.
5. Tajbakhsh E, Moumeni M. Detection of staphylococcus areus and salmonella typimurium in traditional and industrial olivie salads in shahrekord city. J Food Microbiol. 2015;2(1):39-48.
6. Lorenzo JM, Munekata PE, Dominguez R, Pateiro M, Saraiva JA, Franco D. Main groups of microorganisms of relevance for food safety and stability: general aspects and overall description. Innov Food Sci Emerg Technol. 2018:2018 (2018):53–107.
7. Ramazanzadeh R, Moradi G, Zandi S, Mohammadi S, Rouhi S, Pourzare M et al. A survey of contamination rate and antibiotic resistant of gram-negative bacteria isolated from patients in various wards of Toohid and Besat Hospitals of Sanandaj city during 2013-2014 years. Pajouhan Scientific Journal. 2016;14(3):11-19.
8. Yaman H, Elmali M, Ulukanli Z, Tuzcu M, Genctav K. Microbial quality of ice cream sold openly by retail outlets in Turkey. Rev Med Vet. 2006;157(10):457-62.
9. Molaabaszadeh H, Molaazadeh M, Hajizadeh N, Mohammadzadeh GN. Prevalence and antibiotic profile of Escherichia coli in traditionally made ice cream in retails of Khoy. Food Hyg. 2012;2(6):31-8.
10. Shahryari A, Tabarsaa H, Ghasemi S, Shahinei A, Ghodes Mofidi E. Evaluation of traditional ice cream contamination to Escherichia coli and Enterobacteriaceae in Gorgan ice cream enterprises in 2010. J Health. 2010;1(2):7-14.
11. Nwinyi OC, Obehi E, Tomilola A, Oniha MI, Olopade BK. Antibiotic susceptibility patterns of bacteria species isolated from ice-cream vended in Ota and Lagos Metropolis. Res J Microbiol. 2017;12(1):50-7.
12. Abri R, lotfipour F, Asghari R, Ahangarzadeh Rezaee M. High occurrence and antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus isolates from unpacked ice creams. Infect Epidemiol Microbiol. 2019;5(2):25-31.
13. Tille P. Bailey & Scott's diagnostic microbiology-E-Book. Elsevier Health Sciences; 2015.
14. Park JM, Kim JM, Hong JW, You YH. Microbial control measures for soft ice cream in franchise brands: A comparative analysis of microbial analysis and manufacturing practices. Food Sci Nutr. 2020;8(3):1583-95.

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-11-19]

15. Clinical and laboratory standards institute (CLSI). M100, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28nd ed. Wayne: clinical and laboratory standards institute. 2018; 30-40, 54-61, 77-80.
16. Khammar F, Alipour Askndany M, Saadati D. Study of Salmonella contamination of traditional ice creams in Zabol City, Iran. Iran J Med Microbiol. 2017; 11 (1): 83-89.
17. Inuwa A, Lunt A, Czuprynski C, Miller G, Rankin SA. Hygienic shortcomings of frozen dessert freezing equipment and fate of Listeria monocytogenes on ice cream-soiled stainless steel. J Food Prot. 2017;80(11):1897-902.
18. Alegbeleye OO, Singleton I, Sant'Ana AS. Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: a review. Food Microbiol. 2018;73:177–208.
19. Gomes BC, Esteves CT, Palazzo ICV, Darini ALC, Felis GE, Sechi LA, Franco BD, De Martinis EC. Prevalence and characterization of Enterococcus spp. isolated from Brazilian foods. Food Microbiol. 2008;25(5):668-75.
20. Fadihl J, Mohammad SQ, Al-qrtani YM. Microbiological evaluation of locally produced ice cream in Baquba city, Iraq. J Phys. 2019;1294(6):062057.
21. Ottesen A, Ramachandran P, Chen Y, Brown E, Reed E, Strain E. Quasimetagenomic source tracking of Listeria monocytogenes from naturally contaminated ice cream. BMC infectious disease. BMC Infect Dis. 2020;20(1):1-6.
22. Suganya SG, Kiruthikadevi B, Ramesh M. Isolation and identification of bacteria in ice-cream samples marketed in Tiruchirappalli city, Tamilnadu, India. Uttar Pradesh J Zool. 2021;42(7): 33-41.
23. Hassanzadazar H, Abdollahi R, Haj Gholizadeh G, Dalir Rad M, Mehdizadeh T. Investigating of the bacteriological contamination in traditionally manufactured ice creams in Urmia city. Food Hyg. 2012;2(5): 1-9.
24. Rezaei M, Parviz M, Javanmard MR. The Survey on the Bacterial Contamination of Traditional & Pasteurized ice Cream Produced in Arak City (summer and fall 2011). Tolooebehdasht. 2014;13(3):21-30.
25. Shekarforoush SH, Jafarpour B. Comparation microbial and chemical specification of traditional ice cream produced in Shiraz with ISIR standards. Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal. 2006;3(2):11-16.
26. Metz M, Sheehan J, Feng PC. Use of indicator bacteria for monitoring sanitary quality of raw milk cheeses–a literature review. Food Microbial. 2020;85(2020):103283.
27. Babacan O. Antibiotic susceptibility and phylogenetic analyses for the origins and serotypes of Listeria monocytogenes strains isolated from ice cream and cream cakes. Turk J Vet Anim Sci. 2020;44(5):1100-9.
28. Nwinyi CO, Obehi E, Tomilola A, Oniha IM, Bunmi O. Antibiotic susceptibility patterns of bacteria species isolated from ice-cream vended in Ota and Lagos metropolis. Res J Microbiol. 2017;12(1):50-7.
29. GadAllah AH, Abou Zied AH, Fahim KM. Risk profile of some food safety hazards associated with ice-cream sold in Egyp. Int Dairy J. 2020;15(3):123-33.
30. Mahmoudi R, Golchin., Farhoodi A. A review on antibiotic residues in animal-derived foods in Iran over the last thirty years. J Mazandaran Univ Med Sci. 2014;24 (119):213-22.

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-11-19]

Original paper

Evaluation of infection of traditional ice creams with Salmonella, Staphylococcus aureus and coliforms and determination of their antibiotic resistance

Mehdi Sharifi Soltani[1], Atefeh Bozorgi [2*]
1. Assistant Professor of Microbiology, Department of Veterinary, Chalus Branch, Islamic Azad University, Chalus, Iran.
2. Assistant Professor of Microbiology, Department of Veterinary, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.
Corresponding Author: Atefeh Bozorgi, Tel: +989353929575 Email: atefeh.bozorgi@yahoo.com

Abstract

Background and Aim: Consumption of ice cream contaminated with microbes causes various diseases. The survey and screening of this product is important for the presence of various microbes, so this study was performed to investigate the contamination of traditional ice cream.

Materials and Methods: From three cities of Bandar Torkaman, Gorgan and Kordkuy, 20 separate samples and a total of 60 samples of traditional ice cream were collected. Detection of Staphylococcus aureus, Salmonella and coliforms was performed by microbiological phenotypic tests including culture on culture media of each bacterium and catalase, oxidase and coagulase tests. Antibiotic susceptibility was determined by disk diffusion method and according to the instructions of the Clinical and Laboratory Standards Institute 2018, the statistical method was performed with SPSS 16 software and Chi-square test (X2) ($p \leq 0.05$).

Results: The highest contamination of samples in Bandar Torkaman was to *Salmonella* and coliforms (60% each), in Gorgan and also in Kordkuy was to coliforms (90% and 80%, respectively). 100% of isolated *Salmonella* species in all three cities were resistant to doxycycline. There was a significant difference between antibiotic resistances of bacteria isolated from ice cream samples taken from cities ($p \leq 0.05$).

Conclusion: Bacterial contamination and antibiotic resistance were present in traditional ice cream samples received from the studied cities. Careful control and treatment of contaminants in traditional ice cream factories is essential.

Keywords: Salmonella, Staphylococcus aureus, Drug resistance, Microbial, Iran

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-11-19]