مطالعه میزان شیوع آلودگی گوشت‌های گاو تازه عرضه شده در سطح شهرستان سنندج به *سالمونلا انتریتیدیس* و *تایفی موریوم*، سال ۹۱

هیوا کریمی دره آبی*[۱]، فرزین اسماعیل پور[۲]، کیوان ابراهیمی محمدی[۳]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، سنندج ، ایران.
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دامغان، ایران.
۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مهاباد، استادیار گروه علوم صنایع غذایی، مهاباد، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: Hiva60iran@yahoo.com
(دریافت مقاله: ۹۱/۶/۷ پذیرش نهایی: ۹۲/۴/۴)

چکیده

سالمونلا یکی از مهمترین عوامل عفونت غذایی است که می‌تواند عوارض مختلفی را در دستگاه گوارش ایجاد کند. گوشت به عنوان یکی از مهمترین عوامل انتقال عفونت سالمونلایی در انسان شناخته شده است. در این مطالعه برای بررسی میزان آلودگی سالمونلایی، ٦٠ نمونه گوشت گاو تازه توزیع شده در سطح قصابی‌ها و فروشگاه‌های عرضه گوشت سنندج در شرایط استریل نمونه‌برداری شده و برای جداسازی سالمونلا کشت داده شده و نتایج با استفاده از PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور تشخیص تائیدی کلنی‌های جداسازی شده به عنوان جنس سالمونلا و تفریق گونه‌های *تایفی موریوم* و *انتریتیدیس* با استفاده از روش Multiplex-PCR از سه جفت پرایمر شامل S_{141}،$S_{۱۳۸}$ اختصاصی ژن *InvA*، پرایمرهای *Flil5*، *Tym* اختصاصی ژن *fliC* و پرایمرهای *Prot6e-5*، *Prot6e-6* اختصاصی ژن *Prot6E* به ترتیب اختصاصی جنس سالمونلا، گونه‌های *تایفی‌موریوم* و *انتریتیدیس* مورد استفاده قرار گرفت. در مجموع نتایج حاصل از کشت میکروبی ۱۲ نمونه (۲۰٪) آلوده به سالمونلا بودند، در حالی که بر اساس آزمایش PCR روی جدایه‌های حاصله در نهایت ۷ مورد (۱۱/٦٪) از نمونه‌ها آلوده به سالمونلا تشخیص داده شدند. ٤ مورد (٦/٦٪) از نمونه‌ها آلوده به *سالمونلا تایفی موریوم* تشخیص داده شدند و از هیچکدام از نمونه‌ها *سالمونلا انتریتیدیس* جدا نشد (۰٪). این مطالعه نشان داد که میزان شیوع آلودگی سالمونلایی در گوشت تازه گاو توزیع شده در سطح سنندج بالا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گوشت گاو، *سالمونلا تایفی موریوم*، *سالمونلا انتریتیدیس*، Multiplex PCR

مقدمه

سالمونلا یکی از عوامل مهم عفونی در ایجاد عفونت غذایی در دنیا می‌باشد. مواد غذایی با منشاء دامی منبع مناسبی برای رشد سروتیپ‌های مختلف سالمونلا بوده که از این رو غذاهایی از قبیل گوشت گاو، ماکیان و فرآورده‌های گوشتی منشاء ایجاد کننده سالمونلاهای غیرتیفوئیدی در انسان می‌باشند (Ziemer et al., 2003). سروتیپ‌هایی مانند *سالمونلاتایفی* و *سالمونلا پاراتایفی* بیشتر با انسان سازگار بوده و در میزبان‌های غیر انسانی بیماری ایجاد نمی‌کنند (Nosrat et al., 2012). بعضی از سویه‌های *سالمونلا* به عنوان سویه‌های مشترک نام برده می‌شوند که می‌توانند بهداشت عمومی را تهدید نمایند و احتمال انتقال *سالمونلا*های مقاوم و دیگر پاتوژن‌های باکتریایی مشترک بین انسان و دام را باعث شوند (Saroj et al., 2008; Abubakar., 2007). در آمریکا و کشورهای اروپایی *سالمونلا انتریتیدیس* و *تایفی موریوم* در مقایسه با سروتیپ‌های مختلف *سالمونلا* نقش بیشتری را در ایجاد عفونت غذایی دارند. آلودگی *سالمونلایی* در انسان به صورت گاستروآنتریت، تب تیفوئید و گاهی اوقات سپتی سمی بروز می‌کند (Ahmadi et al., 2009). شناسایی دام‌های آلوده به عفونت‌های سالمونلایی و جدا کردن آنها از سایر دام‌ها، نظارت کامل بر بازرسی قبل از کشتار، مراحل مختلف کشتارگاهی، نحوه توزیع و نگه‌داری گوشت و جلوگیری از آلودگی تقاطعی از مهمترین روش‌ها می‌باشد که می‌تواند میزان شیوع عفونت غذایی را در مصرف‌کننده کاهش یابد (deFreitaset al., 2010). شناسایی سالمونلا در گوشت و بسیاری از مواد غذایی به طور معمول از طریق کشت میکروبی انجام می‌گردد، اما این روش‌ها زمان‌بر و دقت و حساسیت کافی را ندارند (Ziemer et al., 2003). امروزه با کشف روش‌های سریع تشخیصی مولکولی این مشکلات تا حد زیادی مرتفع گردیده است. به منظور افزایش ویژگی و کاهش زمان انجام آزمون از روش‌های دیگری مانند جستجوی ژن‌های مربوط به این ارگانیسم‌ها از طریق روش PCR به عنوان روش تائیدی استفاده می‌شود.

هدف از انجام این مطالعه ارزیابی درصد آلودگی گوشت گاو توزیع شده در سطح قصابی‌ها و فروشگاه‌های سنندج با استفاده از روش کشت استاندارد مرسوم و تأئید آن با روش Multiplex-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی جنس سالمونلا و پرایمرهای اختصاصی گونه‌های *سالمونلا تایفی موریوم* و *انتریتیدیس* بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ٦٠ نمونه گوشت گاو از نقاط سر دست، ران و قلوه‌گاه به صورت تصادفی از قصابی‌ها و فروشگاه‌های عرضه گوشت سطح شهرستان سنندج در شرایط استریل نمونه‌برداری و در مجاورت یخ به آزمایشگاه ارسال گردید. مقدار ۲۵ گرم از نمونه‌های اخذ شده را بعد از یکنواخت کردن به بطری‌های حاوی ۲۲۵ میلی لیتر Lactose Broth (Merck, Germany) انتقال داده و به مدت ٢٤ تا ٤٨ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شدند. بعد از بهم‌زدن بطری‌ها به میزان ۱ میلی‌لیتر از هر بطری با رعایت

شرایط استریل به لوله‌های محتوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت Selenite Cystine Broth (Merck, Germany) منتقل، سپس لوله‌های حاوی Selenite Cystine Broth را در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند (Jamshidi, 2011). لوله‌های کدر در مرحله دوم به وسیله ورتکس تکان داده شده و با استفاده از لوپ تلقیح در پلیت‌های حاوی محیط کشت جامد انتخابی salmonella shigella agar(Merck, Germany) کشت خطی داده و در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ تا ٤٨ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. برای تأئید کلونی‌های با مرکز سیاه حاصله را بر روی محیط کشت‌های افتراقی(TSI (triple Sugar Iron agar ، LIA (Lysine Iron agar) و Urea Agar کشت داده شد. نمونه‌های اوره منفی، لاکتوز منفی، H2S مثبت و لایزین مثبت به عنوان سالمونلا فرض گردیدند (Jamshidi, 2011; Lukinmaa, 2004).

استخراج DNA

هر کدام از کلونی‌های خالص شده را به ۱/۵ میلی لیتر Lactose Broth انتقال داده و ٢٤ ساعت در۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری کرده و سپس با دور ۷۵۰۰ برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کرده و در مرحله بعد به رسوب حاصله ۱۰۰ میکرولیتر بافر پروتئاز و ۵ میکرولیتر پروتئاز اضافه و به طور کامل به همزده و به مدت ۳۰ دقیقه در ۵۵°C قرار داده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه را با ٤۰۰ میکرولیتر از محلول لیزکننده مخلوط کرده و برای ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس شد. در مرحله بعد ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رسوب‌دهنده را به مخلوط اضافه کرده و به وسیله حرکت دورانی به مدت ۳ تا ۵ ثانیه مخلوط شد و در دمای۲۰- درجه سلسیوس برای ۲۰ دقیقه قرار داده شد. سپس در دور ۱۲۰۰۰ برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و مایع رویی خالی کرده و یک میلی لیتر بافر شستشو به رسوب حاصله اضافه و برای ۵-۳ ثانیه مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد، سپس بافر شستشو را به طور کامل خالی کرده و برای ۵ دقیقه در ٦٥ درجه سلسیوس قرار داده شد تا خشک شود. ماده ته نشین در ۳۰ میکرولیتر از بافر حل کننده به وسیله تکان دادن آرام و قرار دادن در ٦٥ درجه سلسیوس برای مدت ۵ دقیقه به طور کامل حل شد. مواد غیرمحلول با سانتریفیوژ به مدت ۳۰ ثانیه در دور ۱۲۰۰۰ ته نشین شد. ماده شناور رویی حاوی DNA خالص است. غلظت DNA بعد از الکتروفورز در روی ژل الکتروفورز تازه ۱ درصد اندازه گیری شد.

آزمایش مولتی پلکس PCR

تست PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: PCR buffer(۲/۵μl)، TaqDNApolymerase (۰/۵μl) (Fermentase)، $MgCl_2$ (۱/۵μl)، dNTPs (۱μl)، هر کدام از پرایمرها با غلظت ۱۰ پیکو مول به میزان (۱μl) و DNA استخراج شده از هر نمونه به میزان (۳μl)، مخلوط واکنش با افزودن آب یون‌زدایی شده به حجم ۲۵ میکرولیتر رسید. پرایمرهایی که ژن *invA* را مورد هدف قرار می‌دهد اختصاصی جنس سالمونلا و پرایمرهایی که ژن‌های *fliC* و *Prot6E* را مورد هدف قرار می‌دهند به ترتیب اختصاصی سروارهای *تایفی موریوم* و *انتریتیدیس* می‌باشند (DeFreitaset al., 2010). تکثیر ژن هدف در ترموسایکلر با برنامه

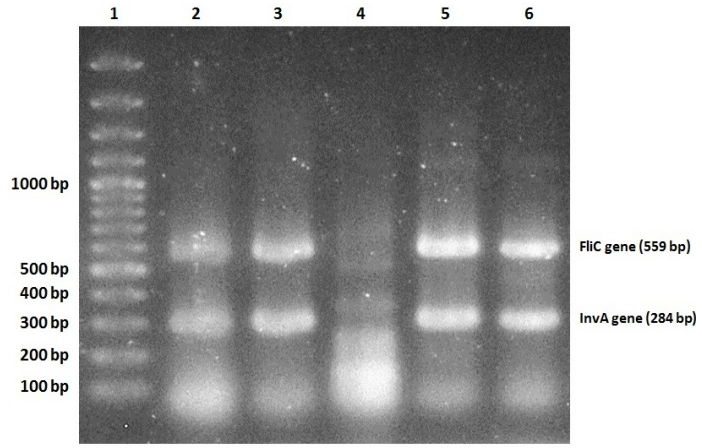
سیکل‌های حرارتی شامل مرحله شروع در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل شامل ۹٤ درجه سلسیوس به مدت ٦۰ ثانیه، ٥٦ درجه سلسیوس به مدت۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله بسط نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. در این بررسی از نشانگر ۱۰۰bp جهت مشخص نمودن اندازه باندها استفاده گردید (Jamshidi, 2011).

جدول۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت تشخیص جنس سالمونلا و سروارهای *سالمونلا تایفی موریوم و انتریتیدیس*(Soumet, 1998)

پرایمر	توالی نوکلئوتیدی	ژن هدف	اندازه محصول (bp)
S139-F	GTGAAATTATCGCCACGTTCGGGCAA	*InvA*	۲۸٤
S141-R	TCATCGCACCGTCAAAGGAACC		
Fli 15-F	CGGTGTTGCCCAGGTTGGTAAT	*fliC*	٥٥۹
Tym-R	ACTCTTGCTGGCGGTGCGACTT		
Prot6e-5-F	ATATCGTCGTTGCTGCTTCC	*Prot6E*	۱۸٥
Prot6e-6-R	CATTGTTCCACCGTCACTTTG		

یافته‌ها

در این تحقیق، بر اساس روش کشت از مجموع ٦۰ نمونه مورد آزمایش۱۲ نمونه (۲۰٪) آلوده به سالمونلا تشخیص داده شد. بر اساس آزمایش Multiplex-PCR روی جدایه‌های حاصله در نهایت ۷ مورد (۱۱/۷٪) از نمونه‌ها به عنوان آلوده به سالمونلا مورد تأیید قرار گرفتند. که از این تعداد، ٤ جدایه (٦/٦٦٪) گونه *سالمونلا تایفی موریوم* بوده و از هیچکدام از نمونه‌ها *سالمونلا انتریتیدیس* جدا نشد. در ضمن۳ مورد (۵ ٪) از نمونه‌ها آلوده به سایر سروتیپ‌های سالمونلا تشخیص داده شدند (شکل ۱).



شکل۱: نتیجه آزمایش Multiplex PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *InvA* به طول ۲۸۴ جفت باز اختصاصی جنس سالمونلا، ژن *FliC* به طول ۵۵۹ جفت باز اختصاصی گونه *سالمونلا تایفی موریوم* و ژن *Prot6E* به طول ۱۸۵ جفت باز اختصاصی گونه *سالمونلا انتریتیدیس*. ستون ۱: نشانگر DNA با اندازه ۱۰۰ جفت باز. ستون۲، ۳، ۵ و ۶ : نمونه های مثبت *سالمونلا تایفی موریوم*؛ ستون ۴: کنترل منفی.

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، با استفاده از روش PCR، ۷ مورد سالمونلا(۱۱/٦٦٪) در نمونه‌های گوشت تشخیص داده شد. ازسال ۱۹۷۰ آلودگی به باکتری سالمونلا در گوشت گاو، مورد توجه همگان قرار گرفته و فراوانی آلودگی با سالمونلا در گوشت گاو حدود ۲/٦٪ گزارش گردید (Sorensen, 2002).

Sorensen و همکاران (۲۰۰۲)، گزارش کردند که باکتری *سالمونلا تایفی موریوم* را به عنوان یکی از عوامل مهم عفونت مواد غذایی ناشی از مصرف گوشت گاو می‌باشد.

Cason و همکاران (۲۰۰٤) در بررسی خود بر روی ۱٤۰ نمونه گوشت، ۱۲ نمونه (۸/٦٪) را آلوده به سالمونلا گزارش کردند. Baumgartner و همکاران (۱۹۹۲) بیان نمودند که در بیشتر کشورها میزان درصد آلودگی به سالمونلا در گوشت طیور در حدود ۱۳/۷ تا ٦٦ درصد می‌باشد. این نتایج نشان‌دهنده گسترش وسیع این عامل بیماری‌زا می‌باشد که می‌تواند به طور جدی سلامت مصرف‌کننده را تهدید نماید. Ahmadi و همکاران (۲۰۰۹)، در یک مطالعه برای تشخیص حاملین سالمونلا در گاو و گاومیش از روش‌های کشت میکروبی و PCR استفاده کردند و بیان کردند که میزان آلودگی در گاو ۱ ٪ و در گاومیش ۳٪ بوده در صورتی که در کشت میکروبی هیچ مورد مثبتی یافت نشد.

روش‌های معمول باکتریولوژی که در شناسایی اجرام بیماری‌زا مانند سالمونلا به کار می‌روند، وقت‌گیر و پرهزینه هستند، اگرچه به عنوان روش مناسبی برای شناسایی اجرام مهم بیماری‌زا در مواد غذایی و دامپزشکی مطرح شده‌اند. طی مطالعاتی که Chen و همکاران (۱۹۹٦) بر روی نمونه‌های مواد غذایی برای جداسازی سالمونلا و سایر میکروب‌های عامل بیماری‌زا انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که بسیاری از

مشکلاتی که در PCR نمونه‌های مواد غذایی وجود دارد، به وسیله اصلاح در روش‌های استخراج DNA و تغییر در برنامه حرارتی ترموسایکلر برطرف شده و مطرح نمودند که برای جداسازی انواع میکروارگانیسم‌ها از نمونه‌های شیر خام، گوشت گاو و طیور روش‌های مولکولی قابل اعتمادتر، سریع‌تر و کارآمدتر از روش‌های کشت مرسوم و بیوشیمیایی می‌باشد.

Nosrati و همکاران (۲۰۱۲) شیوع سروتیپ‌های *سالمونلا تایفی موریوم و انتریتیدیس* را در مواد غذایی با روش Multiplex-PCR مورد ارزیابی قرار داده و میزان آلودگی گوشت گاو به سالمونلا ۸/۸ درصد را گزارش داد این در حالی است که در میزان آلودگی در گوشت گاو توزیع شده در فروشگاه‌ها و قصابی‌های سطح شهرستان سنندج ۱۱/٦٦٪ بوده که این حاکی از وضعیت پایین سطح بهداشتی در این شهرستان می‌باشد. سرد کردن ناقص غذا، پخت ناقص غذا، مصرف ماده غذایی خام آلوده و آلودگی تقاطعی که در آن مواد غذایی آماده مصرف در اثر تماس با مواد غذائی خام آلوده به طور مستقیم و غیر مستقیم آلودگی پیدا می‌کند، از مهمترین عوامل عفونت سالمونلایی هستند (Razavilar, 2002).

با توجه به تغییرات متنوعی که در خصوصیات باکتری‌های پاتوژن به دلیل جهش‌های ژنتیکی صورت می‌گیرد، این مسئله باعث ایجاد اختلال در تشخیص این باکتری‌ها با روش‌های سنتی مرسوم می‌شوند، از این رو با بهره‌گیری از روش‌های تشخیصی مولکولی به عنوان روش جایگزین روش‌های مرسوم فعلی می‌توان انواع عوامل بیماری‌زا را سریعتر و با دقت و حساسیت بالا در انواع مواد غذایی تشخیص داد Ahmadi, (2012). این مطالعه نشان داد که به علت عدم رعایت موازین بهداشتی میزان شیوع آلودگی سالمونلایی در گوشت گاو توزیع شده در سطح سنندج بالا بوده که این می‌تواند باعث بالا رفتن میزان عفونت‌های سالمونلایی در مصرف‌کنندگان شود.

منابع

- احمدی، علی.، قربانعلی‌زادگان، مهدی.، نجفی، علی.، توکلی، حمیدرضا و میرنژاد، رضا (۱۳۹۱) .تشخیص سریع مولکولی سالمونلا تایفی به روش PCR با استفاده از ژن *invA* در نمونه های مواد غذایی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام. دوره ۲۰، شماره ۱، صفحه ۷-۱.
- جمشیدی، عبداله و نقدیپور، داوود (۱۳۹۰). تعیین آلودگی آب مورد استفاده در سیستم خنک‌کننده لاشه طیور به باکتری‌های جنس سالمونلا و گونه‌های *انتریتیدیس* و *تایفی‌موریوم* در کشتارگاه صنعتی شهرستان مشهد با استفاده از Multiplex PCR. مجله تحقیقات دامپزشکی، پیاپی ٦٦، صفحه ۱۵۲-۱٤۹.

- نصرتی، شیما.، سبکبار، آذر سبکبار.، دزفولیان، مهرورز .، تبرایی، بهمن و فلاح، فاطمه (۱۳۹۱). بررسی شیوع سروتیپ‌های *سالمونلا تایفی* و *اینتریتیدیس* در مواد غذایی در مرکز درمانی بیمارستان مفید. مجله پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شهید بهشتی، دوره ۳۶ ، شماره ۱، صفحه ۴۸-۴۳.
- رضویلر، ودود (۱۳۸۷). میکروب‌های بیماری‌زا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت‌های غذایی. چاپ سوم. انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۵۷-۴۷.

- Abubakar, I., Irvine, L., Aldus, C.F., Wyatt, G.M., Fordham, R., Schelenz, S., Shepstone, L., Howe, A., Peck, M.and Hunter, P.R. (2007). A systematic review of the clinical, public health and cost-effectiveness of rapid diagnostic tests for the detection and identification of bacterial intestinal pathogens in faces and food. Health Technology Assessment,11:211-16.
- Ahmadi, M.,Dalirnaghadeh, B.,ShirzadAski, H. and Khoshbakht, R.(2009). Comparison of polymerase chain reaction (PCR) and conventional cultivation methods for detection of carriers of Salmonella spp. in cattle and buffalo. Comparative Clinical Pathology,19 (3): 251-255.
- Ahmadi, A., GhorbanaliZadegan, M., Najafi, A. andTavakoli H. (2012).Molecular detection of *Salmonella typhi* in food samples by PCR using *invA* Gene.Journal of IlamUniversity of Medical Sciences, 20 (1):1-7[in Farsi].
- Baumgartner, A., Heimann, P., Schmid, H., Liniger, M. and Simmel, A. (1992). Salmonella contamination of poultry carcasses and human Salmonellosis. Journal of Food Protection, 43: 123-12.
- Cason, J., Berrang, M., Buhr, R. and Cox, N. (2004). Effect of pre-chill fecal contamination on numbers of bacteria recovered from broiler chicken carcasses before and after immersion chilling. Journal of Food Protection, 67:1829-1833.
- Chen, S., Yee, A., Griffiths, M., Wu, K.Y., Wang, C.N.,Rahn, K. and De Grandis, S.A. (1996). A rapid, sensitive and automated method for detection of Salmonella species in foods using AG- 9600 AmpliSensor Analyzer. Journal of applied microbiology, 83: 314- 321.
- DeFreitas, C.G., Santana, A.P., Da Silva P.H., Gonçalves, V.S., Barros Mde, A., Torres, F.A., Murata, L.S.and Perecmanis, S. (2010).PCR multiplex for detection of *Salmonella enteritidis, typhi* and *typhimurium* and occurrence in poultry meat. International Journal of Food Microbiology,139: 15-22.
- Jamshidi, A. and Naghdipour, D. (2011).Contamination of water used for chilling ofpoultry carcasses to *S.typhimurium* and *S.enteritidis* using Multiplex PCR method. Journal of Veterinary Research,66: 149-152[in Farsi].
- Lukinmaa, S., Nakari, U.M., Eklund, M. andSiitonen, A. (2004).Application of molecular genetics methods in diagnostics and epidemiology of food-borne bacterial pathogens. (APMIS) Acta Pathological, Microbiological, et Immunological scandinavia,112:908-29.
- Nosrati, S., Sabokbar, A., Dezfoolian, M., Tabarraie, B. andFallah, F. (2012).Prevalence of *Salmonella enteritidis, typhi* and *typhimurium* from food products in Mofid hospital. Journal of the Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University, 36 (1):43-48[in Farsi].
- Razavilar, V. (2002). Harmful microbial in food and epidemiology food poisoning, Second Edition, Tehran university publication press, pp. 25-85[in Farsi].
- Saroj, S.D., Shashidhar, R., Karani, M. and Bandekar, J.R. (2008). Rapid, sensitive, and validated method for detection of Salmonella in food by an enrichment broth culture-nested PCR combination assay. Molecular and Cellular Probes, 22: 201-206.
- Sorensen, O., Van Donkersgoed, J., McFall, M., Manninen, K., Gensler, G. and Ollis, G. (2002). Salmonella spp. shedding by Alberta beef cattle and the detection of Salmonella spp. in ground beef. Journal of food protection, 65: 484-91.

- Soumet, C., Ermel, G., Rose, N., Rose, V., Drouin, P., Salvat, G. and Colin, P. (1998). Evaluation of a multiplex PCR assay for simultaneous identification of Salmonella sp., *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* from environmental swabs of poultry houses, Letters in applied microbiology, 28: 113-117.
- Ziemer, C.J. and Steadham, S.R. (2003). Evaluation of the specificity of Salmonella PCR primers using various intestinal bacterial species, Letters in applied microbiology, 37(6): 463-469.

Contamination of Fresh Beef to *Salmonella typhimurium and Salmonella enteritidis* in Sanandaj during 2012

Karimi Darehabi, H.[1*], Esmailneshad, F.[2], Ebrahimi mohammadi, K.[3]

1- Assistant Professor of Food Hygiene Department, Faculty of Veterinary Science, SanandajBranch, Islamic Azad University, Kurdistan, Iran.
2- Member of young Researchers Club, Islamic Azad University, damegan,Iran.
3- Department of food science and technology, Faculty of agriculture, Islamic Azad University, mahabad branch, Iran.
* Corresponding author email: Hiva60iran@yahoo.com
(Received: 2012/8/28 Accepted: 2013/6/25)

Abstract

Salmonella infection is among the main food-borne gastrointestinal disease. Meat has been recognized as a major source of human illness caused by *Salmonella* serovars. The presence of *Salmonella* was detected in 60 samples of fresh beef from retailsof Sanandaj. The presence of *Salmonella* was assessed by conventional culture method and confirmed by PCR assay. To confirm the identification of isolated colonies as *Salmonella spp*. and determining serovars as *typhimurium*and *enteritidis*serovars, a multiplex PCR assay, using three pairs of primers were employed. S141 and S139 for *Inv*Agene, specific for the genus of Salmonella, *Fli15* and Tym for *FliC*gene, specific for *typhimurium* serovar and Prot6e-5 and Prot6e-6 for *Prot6E* gene, specific for *Enteritidis*serovar.12 samples 20% were determined as contaminated with *Salmonella spp*with microbial culture method but with PCR method only seven samples 11.66% were confirmed. 4 samples (6.6%) of isolated colonies were confirmed as *SalmonellaTyphimurium*and any number of isolated colonies were confirmed as *Salmonella Enteritidis* , the other isolated colonis were belong to other salmonella serovars. This study showed a relatively highprevalence of salmonella in fresh beef from Sanandaj.

Key words: Beef, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, Multiplex PCR.