بررسی شیوع و خصوصیات مولکولی گونه‌های *سالمونلا* جدا شده از شیر، گوشت و فرآورده‌های شیر در گاومیش

ساناز علیزاده[1]، حسن ممتاز[1]، ابراهیم رحیمی[2*]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲. گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

***نویسنده مسئول:** *Ebrahimrahimi55@yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۰

چکیده

باکتری سالمونلا به عنوان یک بیماری منتقل شونده از مواد غذایی مطرح بوده و یک معضل بزرگ در بهداشت جامعه در دنیا به حساب می‌آید. هدف از این تحقیق تعیین شیوع *سالمونلا* و بررسی ژن‌های حدت *سالمونلا انتریتیدیس* و *سالمونلا تیفی موریوم* جدا شده از شیر و فراورده‌های شیری گاومیش و گوشت گاومیش در استان خوزستان، شهرستان ملاثانی بود. در مجموع ۲۱۰ نمونه از گوشت، شیر و فراورده‌های شیری در اسفند ۹۴ و فروردین ۹۵ از شهرستان ملاثانی جمع آوری و با هدف بررسی حضور *سالمونلا انتریتیدیس* و *سالمونلا تیفی موریوم* و ژن‌های حدت مورد ارزیابی قرار گرفتند. به‌طور کلی شیوع *سالمونلا* در نمونه‌های مورد مطالعه ۲/۸۶ درصد به‌دست امد. شیوع آلودگی نمونه‌ها به *سالمونلا اینتریتیدیس* ۶۶/۶ درصد و *سالمونلا تیفی موریوم* ۳۳/۳ درصد بود. بیشترین شیوع الودگی *سالمونلا* در نمونه‌های پنیر ۱۰ درصد و سپس در شیر ۲/۵ درصد و در سرشیر ۷/۱۴ درصد. هیچ *سالمونلایی* در نمونه‌های گوشت، ماست، کره و شیربرنج یافت نشد.

واژگان کلیدی: *سالمونلا تیفی موریوم*، *سالمونلا اینتریتیدیس*، ژن های حدت، PCR، شیر و قراورده‌های شیر و گوشت.

مقدمه

شیر و فرآورده‌های ان در بین غذاهای متعدد با منشاء حیوانی و گیاهی از جایگاه خاصی برخوردارند. چربی شیر در میان چربی و روغن‌های مختلف رژیمی دارای بیشترین قابلیت هضم می باشد و همچنین پروتئین ان اسید آمینه‌های ضروری بدن تا حد زیادی مرتفع ساخته و مواد معدنی آن مبین تاثیر شیر در تامین مقدار کلسیم و فسفر مورد احتیاج بدن می باشد. علاوه بر آن گوشت قرمز، مرغ و تخم مرغ نیز از ارزشمندترین اقلام غذایی و در تغذیه انسان دارای اهمیت زیادی می باشد. یکی از عواملی که سلامت فراورده‌های غذائی با منشاء دامی را به مخاطره می‌اندازد باکتری خانواده انتروباکتریاسه به‌ویژه *سالمونلا* می‌باشد. *سالمونلا* و سروتیپ‌های آن منبع مهم آلودگی غذاهای انسانی و عامل بیماریزا در انسان است. *سالمونلا* باکتری گرم منفی، متحرک و باسیلی شکل است که خصوصیات عمومی خانواده انتروباکتریاسه را داراست. امروزه بیش از ۲۵۰۰ سروتیپ *سالمونلا* شناسایی شده‌است که برخی از این سروتیپ‌ها عامل بیماری‌هایی از قبیل تب تیفوئید و انتروکولیک در انسان می‌باشد. از مهم‌ترین علل عفونت با باکتری *سالمونلا* استفاده از تخم مرغ نیم پز، خام،گوشت دام، طیور نیم پخته، شیر خام و فرآورده‌هایی که تحت تیمار حرارتی قرار نمی‌گیرد مانند پنیر، خامه و بستنی از مهم‌ترین منبع آلودگی انسان با *سالمونلا* می‌باشد (Jamshidi et al., 2009; Albufera et al., 2009).

در این میان برای تولید پنیرهای سنتی با طعم بهتر و قوام بیشتر، شیر حیوانات را بدون حرارت یا حرارت کم، با افزودن مایه پنیر تولید می‌کنند که سبب بقا *سالمونلا* احتمالی در پنیر می‌گردد. در پنیرهای نرم مکزیکی که از شیر غیر پاستوریزه حاصل می شود گزارش‌هایی از وجود *سالمونلا* از مصرف این پنیرها بیان شده است. همچنین کره‌های سنتی به‌دلیل بافت و رنگ و طعم خاصی که دارند در ایران بسیار مورد مصرف قرار می-گیرند که به خاطر aw بالا و pH اپتیمم یک محیط

مناسب برای میکروارگانیسم‌های لیپولتیک و سایکروفیلیک است علاوه بر این به دلیل فقدان فرایند حرارتی احتمال بقاء *سالمونلا* در کره وجود دارد (Latorre et al., 2007).

تمامی سروتیپ‌های *سالمونلا* برای انسان پاتوژن محسوب می‌شوند. در میان این سروتیپ‌ها، سروتیپ *تیفی موریوم* و *سالمونلا انتریتیدیس*، متداول ترین عوامل سالمونلوز در انسان می‌باشند (Ishihara et al., 2009). از لحاظ شرایط رشد این میکروارگانیسم‌ها باکتری‌های انعطاف پذیر بوده و به آسانی با شرایط محیطی خود را هماهنگ می‌کنند این جنس از میکروارگانیسم‌ها به حرارت حساس هستند. در درجه حرارت‌های پائین امکان بقاء آن‌ها بیشتر است (Bohra et al, 2006). در سال‌های اخیر توجه زیادی به پرورش گاومیش به‌عنوان حیوانی بومی و عادت یافته در مناطق جنوبی ایران، شده و به دنبال آن تولید و فروش انواع محصولات شیری و گوشتی از آن توسعه یافته‌است. با توجه به این‌که مطالعات بسیار محدودی در خصوص وضعیت کیفی این محصولات وجود دارد هدف از این پژوهش تعیین شیوع *سالمونلا* و بررسی ژن‌های حدت *سالمونلا انتریتیدیس* و *سالمونلا تیفی موریوم* جدا شده از شیر و فرآورده‌های شیری گاومیش و گوشت گاومیش در استان خوزستان، شهرستان ملاثانی بود.

روش کار

در فاصله زمانی اسفند ۱۳۹۴ تا فروردین ۱۳۹۵ از مناطق مختلف شهرستان ملاثانی استان خوزستان بصورت تصادفی ۲۱۰ نمونه شامل گوشت گاومیش ۵۰ نمونه، شیر گاومیش ۸۰ نمونه، فرآورده‌های شیری گاومیش ۸۰ نمونه، کره (۳ نمونه)، شیر برنج(۷ نمونه)، پنیر(۳۰ نمونه)، ماست(۲۶ نمونه)، سرشیر(۱۴ نمونه) جمع‌آوری شد و در اسرع وقت (حداکثر ۶ ساعت) در ظروف سترون و در کنار یخ به آزمایشگاه انتقال داده‌شد. به منظور جداسازی باکتری‌های *سالمونلا* از گوشت، ۱۰ گرم از نمونه هموژن شده به ۹۰ سی سی محیط غنی کننده لاکتوز براث منتقل شد و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شد. پس از خروج از انکوباسیون بر روی محیط کشت جامد سالمونلا شیگلا آگار (SSA) به صورت سطحی کشت گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند و سپس از نظر پرگنه‌های مشکوک به *سالمونلا* بررسی شدند. جهت تأیید پرگنه‌های مشکوک و تأیید وجود این باکتری آزمون تشخیص و افتراق و سایر آزمایش‌های بیوشیمیایی از جمله کشت در آگارهای اوره، سیمون سیترات و محیط متیل رد–وژس‌پروسکوئر (MR-VP) و پپتون واتر بر روی آن‌ها صورت گرفت. بعد از انجام آزمون تشخیصی و افتراقی بر روی پرگنه‌های مشکوک و تأیید وجود این باکتری، نمونه‌های *سالمونلا* مثبت به منظور تشخیص مولکولی DNA آن‌ها استخراج گردید (Monadi et al., 2015). به منظور استخراج DNA از باکتری‌های مورد مطالعه از روش جوشاندن (Boiling) استفاده شد. برای این منظور ۱۰۰ میکرولیتر از کشت ۲۴ ساعته باکتری در محیط مایع نوترینت براث با ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد و به عنوان منبع DNA استفاده شد. جهت ردیابی ژن‌های مورد مطالعه شامل *invA, rfbj, fliC, fljB* از زوج پرایمرهای معرفی شده توسط Emaddi chashni و همکاران (۱۳۹۵) که در جدول ۱ نشان داده شده استفاده گردید.

برای انجام آزمایش PCR از دستگاه (Master cycle gradient Eppendorf) استفاده شد. PCR از نظر حجمی شامل ۵۰ میکرولیتر که تشکیل شده از: ۵ میکرولیتر PCR buffer 10X ، ۳ میکرولیتر 50 mm $mgcl_2$، ۲/۵ میکرولیتر dNTP mix 10mm، ۳ میکرولیتر از زوج پرایمرهای R, F و ۵ میکرولیتر از DNA مربوط به هر نمونه و ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase.

برنامه حرارتی مورد نظر بسته به نوع ژن متفاوت و عبارت بد از: در مورد ژن‌های *invA, rfbj,fliC ,flJB* یک سیکل ۹۴ درجه سیلسیوس ۶ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۴ درجه ۶۰ ثانیه، ۵۷ درجه ۱ دقیقه، ۷۲ درجه ۶۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۸ دقیقه. در هر مرحله از آزمایش PCR جهت ردیابی محصول مورد نظر از ژل آگارز استفاده سشد برای این منظور ۱ گرم پودر اگارز در ۱۰۰ میلی لیتر بافر TBE 10X و بعد از اضافه کردن ۵ میکرولیتر رنگ اتیدیوم بروماید به ان اضافه کرده در سینی مخصوص الکتروفورز ریخته شد. جهت انجام الکتروفورز ۱۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۳ میکرولیتر رنگ نشانگر Louding Buffer مخلوط و در چاهک ژل منتقل گردید. رنگ نشانگر از ترکیب رنگ بروموفیل بلو و یک ماده غلیظ و چسبنده مثل گلیسرول یا سوکروز تشکیل شده که ویسکوزیته نمونه با این بافر افزایش یافته و انتقال آن به چاهک ژل تسهیل می‌گردد. مولکول DNA به دلیل داشتن فسفات که دارای بار منفی است به سمت قطب مثبت حرکت می کند. به همراه نمونه از مارکر DNA جهت تعیین اندازه باند مورد نظر از الکتروفورز نمونه‌ها در ولتاژ ۹۰ ولت به مدت حدود ۱ ساعت انجام گرفت. پس از انجام الکتروفورز با انتقال ژل به دستگاه قرائت کننده ژن (Gel Documentation) نتیجه مورد بررسی قرار گرفت. اتیدیوم بروماید با اتصال به DNA باعث مشاهده‌ی رنگ فلورسانس در زیر نور UV در محلی که مولکول DNA قرار دارند می شوند. در پایان با تهیه عکس از ژل و پبت ان روی کاغذ حساس به حرارت می‌توان به تفسیر نتایج پرداخت.

جدول۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی ژن‌های مورد مطالعه در *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا انتریتیدیس*

نام ژن	Primer sequence	PCR prodect
invA	GTGAAATTATCGCCACGTTCGGGCAA TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	۲۸۴
rfbj	CCAGCACCAGTTCCAACTTGATAC GGCTTCCGGCTTTATTGGTAAGCA	۶۶۳
flic	ATAGCCATCTTACCAGTTCCCCC GCTGCAACTGTTACAGGATATGCC	۱۸۳
fliB	ACGAATGGTACGGCTTCTGTAACC TACCGTCGATAGTAACGACTTCGG	۵۲۶

نتایج

در مطالعه حاضر از روش کشت و PCR جهت ردیابی گونه‌های *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا انتریتیدیس* و تعیین فراوانی حضور انواع ژن‌های حدت در این سروتیپ در سویه‌های جدا شده از شیر گاومیش و فرآورده‌های آن و گوشت گاومیش استفاده‌شد. برپایه نتایج کشت و تأیید به روش PCR در مطالعه حاضر مجموعه ۶ نمونه از ۲۱۰ نمونه شیر گاومیش و فرآورده‌های آن و گوشت گاومیش از لحاظ گونه‌های *سالمونلا* مثبت بودند. بر پایه این نتایج بیشترین شیوع آلودگی مربوط به نمونه‌های پنیر ۳ نمونه (۱۰ درصد) و به دنبال آن آلودگی در نمونه‌های شیر گاومیش ۲نمونه (۲/۵ درصد) و سرشیر ۱ نمونه (۷/۱ درصد) مشاهده شد. در حالی‌که تمام نمونه‌های گوشت، کره، شیر، و ماست هیچ‌گونه آلودگی را به *سالمونلا* نشان ندادند. از ۶ نمونه گونه *سالمونلا* ۴ نمونه به *سالمونلا انتریتیدیس* و ۲ نمونه به *سالمونلا تیفی‌موریوم* تشخیص داده شد. خلاصه نتایج در جدول ۲ آورده شده است.

در بخش دیگری از مطالعه به بررسی ژن‌های حدت شامل *invA, rfbJ, fliC, fliB* در گونه‌های *سالمونلا انتریتیدیس* و *تیفی موریوم* جدا شده از نمونه‌ها پرداخته نتایج این بخش از مطالعه نشان داده که تمام ۶ سوش جدا شده حامل ژن‌های فوق الذکر بودند.

جدول ۲- شیوع گونه‌های *سالمونلا* در شیر و فرآورده‌های شیر گاومیش و گوشت گاومیش در شهرستان ملاثانی، استان خوزستان

نوع غذا	تعداد نمونه	تعداد گونه‌های *سالمونلا* درصد	تعداد *سالمونلا اینتریتیدیس* درصد	تعداد *سالمونلا تیفی موریوم* درصد
شیر	۸۰	۲ (۲/۵درصد)	۲	-
پنیر	۳۰	۳ (۱۰درصد)	۲	۱
ماست	۲۶	-	-	-
کره	۳	-	-	-
سرشیر	۱۴	۱ (۷/۱درصد)	۱	۱
شیربرنج	۷	-	-	-
گوشت	۵۰	-	-	-
کل	۲۱۰	۶ (۲/۸۶درصد)	۴	۲

بحث

سالمونلا دارای گسترش جغرافیایی وسیعی است و قادر به ایجاد عفونت در طیف وسیعی از موجودات زنده از جمله انسان، حیوان و پرندگان می باشد. یکی از مهم‌ترین راه-های انتقال آلودگی به انسان مواد غذایی آلوده هستند. و در این بین گوشت و فرآورده‌های گوشتی و تخم پرندگان خصوصا گوشت پرندگان مهم‌ترین منبع آلودگی انسان به گونه‌های سالمونلا محسوب می‌شوند. لذا مطالعات فراوانی در خصوص بررسی آلودگی گوشت خصوصا گوشت مرغ و تخم مرغ به این گونه‌های بیماری‌زا در نقاط مختلف ایران و سایر کشورها انجام شده است (Zhao et al, 2001). این گزارش‌ها حاکی از آن است که میزان آلودگی گوشت و فرآورده‌های گوشتی از ۵ تا بیش از ۶۰٪ متغیر است اگرچه گزارش فراوانی در ضمیمه وضعیت آلودگی گوشت به سالمونلا وجود دارد. مطالعات ثبت شده محدودی در خصوص وضعیت آلودگی شیر و فراورده‌های شیری و گوشت به گونه‌های *سالمونلا* موجود است در این مطالعه وضعیت آلودگی انواع فرآورده‌های شیری گاومیش و شیر خام گاومیش و گوشت گاومیش به روش کشت و سپس تایید به روش واکنش زنجیره‌ای پلی مرازی با هدف بررسی اهمیت شیر و فرآورده شیری و گوشت و انتقال سالمونلا به مصرف کنندگان بررسی شده‌است. در مطالعه حاضر که در بین ۸۰ نمونه شیرگاومیش ۲ نمونه به *سالمونلا اینتریتیدیس* و *سالمونلا تیفی موریوم* آلوده بود و ۳ نمونه پنیر به *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا اینتریتیدیس* و ۱ نمونه سرشیر به *سالمونلا اینتریتیدیس* آلوده بودند و نمونه‌های گوشت، کره، ماست و شیربرنج هیچ‌گونه آلودگی به *سالمونلا اینتریتیدیس* و *سالمونلا تیفی موریوم* نداشتند. نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد پنیر دارای بیشترین میزان آلودگی به *سالمونلا* در مقایسه با سایر فرآورده‌های شیری است مطالعات مشابه از ایران و سایر کشورها نیز این نتایج را تائید می‌کند (Van Kessel et al., 2011). میزان آلودگی شیر خام گاومیش (۲/۵درصد) و فرآورده‌های آن (۵ درصد) و گوشت گاومیش هیچ آلودگی به گونه‌های *سالمونلا* در مطالعه حاضر (۲/۸۶ درصد) به‌دست آمده این میزان در پنیر، شیر و سرشیر به ترتیب ۱۰، ۲/۵و ۷/۱ درصد بوده‌است. وضعیت آلودگی شیرخام گاومیش در این مطالعه با مطالعات Chye (2004), Vankessel (2004) هم‌خوانی معنی داری را نشان می‌دهد (chye et al., 2003; Vankessel et al., 2004) از طرفی میزان آلودگی شیرخام در برخی مطالعات بیشتر از نتایج به-دست‌آمده از مطالعه بوده‌است. USDA در سال ۲۰۰۷ تحقیقاتی را روی ۵۳۸ نمونه شیرخام گاو مزارع که از چهار منطقه شمال، جنوب، شرق و مرکز امریکا جمع آوری شده‌بود با روش RT-PCR انجام دادند که ۵۷

نمونه(۱۰/۷درصد) از نظر *سالمونلا* مثبت گزارش گردید و سروتیپ های غالب S. kentuky, S.cerro, S. muenster, S. newport, S. anatum بود(USDA, 2007). Vankessel در سال ۲۰۱۱ روی ۵۳۶ نمونه تانک شیر و ۵۱۹ نمونه شیر in- link در ایالت متحده امریکا جهت حضور گونه‌های *سالمونلا* آزمایش انجام دادند که ۲۸ درصد نمونه‌ها به روش کشت مثبت ارزیابی شد و با روش PCR از ۷۵ نمونه تانک شیر ۳۶ مورد مثبت و در in- link ۱۰۵ نمونه از ۱۷۴ مثبت ارزیابی شد و سروتیپ غالب S. muenster, S. kentucky, S. cerro, S. anatum بود (Van Kessel et al., 2011).

Addis و همکاران در سال ۲۰۱۱ در کشور اتیوپی روی ۱۹۵ نمونه شیرگاو و مدفوع گاو آزمایش انجام دادند که ۲۱ مورد (۱۰/۷۶ درصد) مثبت ارزیابی شد. ۱۵ مورد (۷۱/۴ درصد) مربوط به مدفوع و ۶ نمونه (۲۸/۶ درصد) مربوط به شیرگاو ارزیابی گردید و کارگرانی که در این دامداری‌ها مشغول کار بودند از ۲۲ نفر ۳ نفراز آن‌ها(۱۳/۶ درصد) آلوده به *سالمونلا* بودند (Addis et al., 2011).

Helba و همکاران در سال ۲۰۱۱ در کشور slovakia روی ۶۷ نمونه شامل شیر (۲۱ نمونه) ، پنیر (۲۵ نمونه) سایر محصولات لبنی شامل آب پنیر، پنیر گوسفندی (۲۱ نمونه) آزمایش انجام دادند که از ۲۱ نمونه شیر ۴ نمونه (۱۹/۰۴ درصد) و در بقیه محصولات آلودگی مشاهده نگردید که به‌طورکلی از ۶۸ نمونه ۴ نمونه (۵/۹۷ درصد) آلوده به *سالمونلا* بودند و سروتیپ‌های غالب آن *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *انتریتیدیس* گزارش گردید (Helba et al, 2011).

Tekinsen و Ozdemir در سال ۲۰۰۶ در کشور ترکیه روی ۵۰ نمونه پنیر آزمایش انجام دادند که ۳ نمونه (۶ درصد) آلوده به *سالمونلا* بودند (Ozdemir and Tekinsen, 2006).

امینی و همکاران در سال ۲۰۱۰ در کشور ایران ۱۰۰۱ نمونه مرغ از کشتارگاه‌های استان کرمان جمع آوری کردند که ۶/۷۹ درصد برای سالمونلا مثبت ارزیابی شد که۵۱/۴ درصد نمونه‌ها آلوده به *سالمونلا انتریتیدیس* بود. ۸۸/۰۶ درصد *سالمونلا* دارای ژن‌های حدت SPV و همه *سالمونلا اینتریتیدیس* دارای ژن حدت *invA* بودند (Amini et al., 2010).

نتیجه‌گیری

حداقل حرارت سالم سازی شیر ۷۲ درجه سلسیوس برای به‌مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه کافی است تا این باکتری بیماری‌زا از بین برود. بنابراین سالم سازی شیر قبل از تولید فرآورده‌های شیری، رعایت اصول بهداشتی در طول فرایند تولید، بسته بندی مناسب، نگه‌داری در شرایط یخچال و سالم سازی شیرخام قبل از مصرف را می‌توان از مهم‌ترین عوامل پیشگیری از انتقال این عوامل بیماری‌زا به مصرف کنندگان دانست.

منابع

1. Albufera, V.P Bhugaloo-Vial, M.L. Issak, Y, jaufeerally-Fakim. 2009. Molecular characterization of *Salmonella* by RED-PCR and RADP analysis. MEEGID. (9): 322-327.
2. Addis, Z., Kebede, Z., Sisay, H., Alemayehu, A., Yirsaw, T. Kassa. 2011. Prevalence and antimicrobial resistancr of *Salmonella* isolated from Lactating cows and in contact humans in dairy farms of Addis Ababa across sectional study. BMC Infecti Dis. 11:222.
3. Amini, K.T. Salehi., G.H. Nikbakht., R. Ranjbar., J. Amin. S.H. Ashrafganjooei. 2010. Molecular detection of invA and spV Virulencegenes in *Salmonella enteritidis* isolated from human and animal in Iran. Iran J Med Microbiol. 4(21): 2202-2210.
4. Bohra, A. P. parihar. 2006. Food microbiology. Published by D.r Updesh purohit for agrobios India jodhpur.234-239.
5. Chye, F.Y.A., Abdullah. acd M.K.H., Ayob. 2003. Bacteriological quality and safety of raw Milk in Malaysia. JFM. 21(5): 535-541.
6. Center for Epidemiology and Animal Health. 2007. Prevalence of *Salmonella* and

Listeria in Bulk Tank and Milk and In Line Filters on U.S. Dairies. Aphis info sheet. 1-2.

7. Hleba, L.M., Kacaniova, J., Pochop, J., Lejkova, J., Cubon, S. Kunova. 2011. Resistavce antibiotic of Enterobacterriaceae genera and Salmonella spp., *Salmonella* enterica ser. Typhimurium and Enteritidis isolated from milk, cheese and other dairy Products from conventional farmine Slovakia. J Microbiol Biotechnol Food Sci. 1 (1): 1-20.
8. Ishihara, K.T., Takahashi, A., Moriokal, A., Kojimal, M., Kijimal, T., Asai, Y. Tamura. 2009. National surveillance of *Salmonella enterica* in food-producing animals in Japan. AVS. 51: P.35.
9. Latorre, L.A., Parisi, R., Fraccalvieri, G., Normanno, M.C.N., Nardella La Porta, E., Goffredo, L., Palazzo, G., Ciccarese, Addante, G. Santagada. 2007. Low Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Foods from Italy. J Food Prot. 70(6): 1512-1707.
10. Monadi, M., Kargar, M., Naghiha, A., Najafi, A., Mohammadi, R. 2015. Molecular Detection of *Salmonella* serovar isolated from eggs. Mljgoms. 9(1):17-24.
11. Tekinsen, K.K., Z, Ozdemir. 2006. Prevalence of foodborne pathogens in Turkish Van Otlu (Herb) cheese. Food Control. 17(9): 707-711.
12. Van Kessel, J.A.J.S., Karns, J.E., Lombard C.A, Kopral. 2011. Prevalence of Salmonella enterica, *Listeria monocytogenes*, and *Eschrichia coli* Virulence Factors in Bulk Tank milk and In-Line Filters from U.S. Dairies. J Food Prot.74 (5):759-768.
13. Van Kessel, J.S.,. Karns, M.L. perd. 2004. Using a Portable Real-time PCR assay to detect *Salmonella* in raw milk. J Food Prot. (10): 1762-1767.
14. Zhao, G., J. Sudler, E.Emily yeh, E.Zhao, D. Wagner and J. Jianghong. (2001). Prevalence of *Campylobacter* SPP., *Escherchia coli*, and *Salmonella* servars in retail chicken, turkey, pork, and beef the Greater Washington, D.c., Area. A E M. 67: 5431-5436.

Isolation of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* in bison milk and dairy products and bison meat by cultural and PCR method

Alizadeh S[1], Momtaz H[1], Rahimi E[2*]

1. Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2. Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University of Shahrekord, Iran.

[*]**Corresponding author:** *Ebrahimrahimi55@yahoo.com*

Received: 11 December 2017 Accepted: 9 February 2018

Abstract

This study aims at investigating the outbreak of *Salmonella* and Disease-Agent Genes Pf *Salmonella interitidis* and *Salmonella typhimurium* separted from bison milk and its products and bison meat in Khuzestan province- Mollasani town. On the Whole, 210 samples of meat, milk and its products in Esfand 94 and Farvardin 95 have been collected from Mollasani town. Samples have been analyzed for the presence of *S. interitidis* and *S. typhimurium* and Disease- Agent Genes. The outbreak of Salmonella in the studied sample was 2.8%. Highest out breaks of contamination were respectively in cheese sample 10%, cream 7.14% and 2.5%. No *Salmonella* was detected in meat, yogurt, butter and rice pudding. The separated Salmonella in the sample were *S. interitidis* 5% and *S. typhimurium* 2.5%.

Keywords: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella interitidis*, Disease-Agent Genes, PCR, Meat, Milk and its products.