مجله دنیای میکروب‌ها
سال دهم شماره سوم (پیاپی ۳۲) پاییز ۱۳۹۶
صفحات ۲۶۲-۲۵۶

Short Communication

شناسایی و آنالیز ژن های بیماری زای *یرسینیا انتروکولیتیکا* جداسازی شده از شیر گوسفند و بز در شهرکرد

سید محمد علوی[۱]، ابراهیم رحیمی*[۲]، الهه تاجبخش[۳]

[۱]دکتری، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، [۲]استاد، گروه بهداشت و مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، [۳]دانشیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد.

چکیده

یرسینیا انتروکولیتیکا یک باکتری گرم منفی و پاتوژن روده ای است که از طریق آب و مواد غذایی به انسان منتقل می شود. شیر از منابع عمده انتقال عفونت به انسان بوده و آلودگی آن با باکتری مانند *یرسینیا انتروکولیتیکا* می تواند برای انسان عوارض زیان باری داشته باشد. این مطالعه با هدف جداسازی *یرسینیا انتروکولیتیکا* و ارزیابی ژن های بیماری زایی آن از شیر نشخوارکنندگان کوچک در شهرستان شهرکرد به روش کشت میکروبی و PCR انجام شد. در این مطالعه مقطعی-توصیفی تعداد ۱۰۰ نمونه شیر گوسفند و بز به تفکیک و به شکل تصادفی در سطح شهرستان شهرکرد جمع آوری گردید و به روش کشت در محیط CIN مورد بررسی قرار گرفت. به منظور شناسایی سروتیپ O:3 *یرسینیا انتروکولیتیکا* و نیز بررسی حضور ژن های بیماری زا، نمونه های مثبت به روش PCR در حضور پرایمرهای اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند. از مجموع نمونه های شیر گوسفند و بز مورد ارزیابی با روش کشت در ۹ نمونه (۹ درصد) حامل *یرسینیا انتروکولیتیکا* بود. تمامی نمونه های آلوده از شیر گوسفند بودند. از این میان، ۵ مورد از نظر سروتیپ O:3 با روش PCR مثبت گزارش گردید. همچنین ٤ مورد حامل ژن *ail*، ۳ مورد حامل ژن *yadA* و دو نمونه حامل ژن های *virF* و *ystA* بودند. با توجه به نتایج حاصله شیر گوسفند می تواند به عنوان منبع بالقوه ای برای آلودگی انسان به *یرسینیا انتروکولیتیکا* مطرح باشد.

واژگان کلیدی: *یرسینیا انتروکولیتیکا*، واکنش زنجیره ای پلی مراز، شیر گوسفند، شیر بز.

دریافت مقاله: آبان ماه ۹۵ پذیرش برای چاپ: دی ماه ۹۵

مقدمه

یرسینیا انتروکولیتیکا (*Yersinia enterocolitica*) یک باکتری گرم منفی، فاقد اسپور، سرماگرا و متحرک می باشد (۱). این باکتری در دامنه حرارتی ۲ تا ٤٥ درجه سلسیوس رشد می کند. میزان عفونت های ناشی از *یرسینیا* در سال های اخیر رو به افزایش است و این باکتری از نیمه دوم دهه هفتاد، به دفعات از اختلالات گوارشی انسان جدا شده است (۲).

عفونت یرسینیوزیس اغلب به صورت گاستروآنتریت بروز کرده و شدت عفونت وابسته به سویه، مقدار میکروب، عوامل ژنتیکی، سن و سلامت میزبان می باشد. *یرسینیا* از شیر شکلاتی، شیر پاستوریزه، شیر خام، گوشت مرغ و همچنین تخم مرغ جدا شده است (۳ و ٤). برای غنی سازی انتخابی، محیط های فراوانی مانند محیط آبگوشت غنی کننده *یرسینیا* (Yersinia Enrichment Broth) به منظور جداسازی *یرسینیا انتروکولیتیکا* در دماهای بالاتر همراه با عوامل ضد باکتریایی مختلف (به عنوان مواد افزودنی) ساخته شده اند (۵).

یرسینیا انتروکولیتیکا بر اساس تنوع آنتی ژنی در دیواره سلولی لیپوپلی ساکاریدی خود به بیش از ۵۰ سروتیپ مختلف تقسیم می شود. سویه هایی با سروتیپ O:5، O:27، O:3 و O:9

* آدرس برای مکاتبه: شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه بهداشت و مواد غذایی.
تلفن: ۰۳۸۱۳۳۶۱۰۶۰ پست الکترونیک: rahimi@iaushk.ac.ir

عوامل عمده بیماریزای انسان ها در اروپا، ژاپن، آفریقای جنوبی و کانادا می باشند (٦). ژن *rFbc* مسئول القای عملکرد بیگانه خواری در جریان عفونت می باشد. ژن *ail* در مقاومت باکتری نسبت به دفاع سلول های ایمنی در سرم میزبان نقش دارد. ژن *yadA* در اتصال گونه های *یرسینیا* به فیبرونکتین نقش ایفا می کند. همچنین ژن *ystA* تولید انتروتوکسین را در سویه های *یرسینیا انتروکولیتیکا* کد می کند و ژن *virF* به عنوان کلیدی برای رونویسی ژن *yadA* و نیز برای بیان برخی از ژن های پلاسمیدی در *یرسینیا انتروکولیتیکا* لازم می باشد (۳ و ۷). جمالی (Jamali) و همکاران در سال ۲۰۱۵ شیوع گونه های *یرسینیا انتروکولیتیکا* را در نمونه های شیر خام گوسفند و بز بررسی کردند. آنها فراوانی این باکتری را ۲/٤ درصد اعلام کردند (۷).

ممتاز (Momtaz) و همکاران در سال ۲۰۱۰ تعداد ٤۰۰ نمونه شیر و فرآورده لبنی را در سه استان چهارمحال و بختیاری، خوزستان و فارس به منظور ارزیابی فراوانی سروتیپ O:3 در *یرسینیا انتروکولیتیکا* مورد بررسی قرار داد. در این مطالعه در هیچ یک از نمونه های شیر بز و گوسفند این سروتیپ جداسازی نگردید (۸). وجود *یرسینیا انتروکولیتیکا* در شیر امکان انتقال این میکروارگانیسم به محیط را نشان می دهد و مشخص می کند که نشخوارکنندگان یکی از منابع مهم این باکتری و یک منبع بالقوه عفونت برای انسان هستند. با این حال مطالعات محدود شده ای با توجه به شیوع و خصوصیات *یرسینیا انتروکولیتیکا* وجود دارد (۱).

این یافته ها این فرضیه را حمایت می کند که شیر یک منبع مهم عفونت های دستگاه گوارش ناشی از *یرسینیا انتروکولیتیکا* است و شاید یک مخزن عفونت در ایران باشد.هدف از این مطالعه بررسی شیوع و ژن های حدت *یرسینیا انتروکولیتیکای* جدا شده از شیر گوسفند و بز در شهرکرد بود.

مواد و روش ها

الف) جمع آوری نمونه: از آنجایی که در مطالعات گذشته مجموعاً بین ۱۵۰-۵۰ نمونه شیر خام گوسفند و بز (۳ و ۷) برای جداسازی *یرسینیا انتروکولیتیکا* جمع آوری شده بود، به منظور بررسی شیوع این باکتری در تحقیق حاضر تعداد ۱۰۰ نمونه شیر خام گوسفند و بز با روش خوشه ای-تصادفی به تفکیک (٨٤ نمونه شیر گوسفند و ١٦ نمونه شیر بز) جمع آوری گردید. مطالعه حاضر در فاصله زمانی مهر تا آبان ٩٤ در سطح گله های پرورش گوسفند و بز در شهرستان شهرکرد انجام گرفت.

ب) غنی سازی و جداسازی باکتری: به منظور جداسازی *یرسینیا انتروکولیتیکا* از نمونه های مورد مطالعه، هر نمونه شیر در محیط آبگوشت غنی کننده *یرسینیا* (Yersinia Enrichment Broth) (مرک، آلمان) کشت داده شد و به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۲۹ درجه سلیسیوس گرم خانه گذاری شد. در ادامه، نمونه های شیر به صورت خطی بر روی محیط جامد انتخابی *یرسینیا* (Yersinia Selective Agar) (مرک، آلمان) کشت داده شدند و به مدت ٢٤ ساعت در ٣٧ درجه سلیسیوس گرم خانه گذاری شدند. پرگنه های مشکوک به *یرسینیا* انتخاب و پس از رنگ آمیزی گرم و مشاهده باسیل های کوچک گرم منفی، به منظور تایید *یرسینیا انتروکولیتیکا* از آزمون های حرکت، کربوکسیلاز، MR-VP، اوره، سیترات، تخمیر قندها استفاده گردید (۱).

ج) استخراج DNA باکتری های جدا شده در مرحله قبل در محیط مایع لوریا برتانی (Luria berthani broth) به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه مجدداً کشت داده شدند. DNA ژنومی باکتری با استفاده از کیت استخراج DNA (DNA genomic purification kit) (سیناژن، ایران) و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید.

د) آزمون واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR): به منظور ردیابی سروتیپ O:3 (ژن *rFbc*) و نیز ژن های حدت در *یرسینیا انتروکولیتیکا* از پرایمرهای ذکر شده در جدول ۱ استفاده گردید. جهت تشخیص *یرسینیا*، واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer 10X، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs mix، یک میکرولیتر $MgCl_2$، یک میکرولیتر از هر پرایمر، یک میکرولیتر آنزیم Taq DNA پلی مراز، یک میکرولیتر از DNA و

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه (۹).

ژن	توالی پرایمر	اندازه محصول (bp)
rFbc	CGCATCTGGGACACTAATTCG ACGAATTCCATCAAAACCACC	٤٠٥
yadA	CTTCAGATACTGGTGTCGCTGT ATGCCTGACTAGAGCGATATCC	٨٤٩
ail	GAACTGCTTGAATCCCTGAAAACCG ACTCGATGATAACTGGGGAG	١٧٠
ystA	CCCCCAGTAATCCATAAAGG AATGCTGTCTTCATTTGGAGCA	١٤٥
virF	TCATGGCAGAACAGCAGTCAG ACTCATCTTACCATTAAGAAG	٥٩٠

۱۷ میکرولیتر آب مقطر انجام شد. برنامه حرارتی به صورت ۹۵ درجه سلیسیوس به مدت ٦ دقیقه، ۳۰ سیکل تکراری ۹٤ درجه سلیسیوس به مدت ٦۰ ثانیه، ۵۹ درجه سلیسیوس به مدت ۷۰ ثانیه، ۷۲ درجه سلیسیوس به مدت ۸۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه سلیسیوس ۷ دقیقه تنظیم شد (۹).

به منظور ردیابی حضور ژن های بیماری زا واکنش multiplex-PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer 10X، یک میکرولیتر $MgCl_2$، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs، یک میکرولیتر Taq DNA پلی مراز، یک میکرولیتر DNA الگو، یک میکرولیتر از هر پرایمر و ۱۷ میکرولیتر آب مقطر انجام گرفت. برنامه حرارتی به صورت ۹۵ درجه سلیسیوس به مدت ٤ دقیقه، ۳۳ سیکل تکراری ۹٤ درجه سلیسیوس به مدت ۵۰ ثانیه، ٥٦ درجه سلیسیوس به مدت یک دقیقه و ۷۲ درجه سلیسیوس به مدت ۷۰ ثانیه تنظیم شد. در نهایت محصولات PCR بر روی ژل ۱/۵ درصد آگاروز حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردیدند توسط دستگاه ژل داک (Uvitech، انگلستان) تصویربرداری شدند.

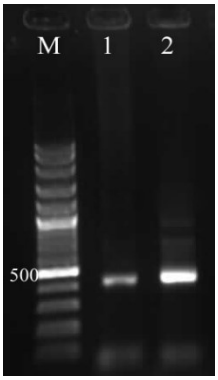
یافته ها

در مطالعه حاضر از مجموع ۱۰۰ نمونه شیر گوسفند و بز مورد بررسی، ۹ نمونه (۹ درصد) با روش کشت آلوده به *یرسینیا انتروکولیتیکا* تشخیص داده شد. تمامی موارد آلوده مربوط به شیر گوسفند بودند. به منظور تعیین سروتیپ O:3 در نمونه هایی که با روش کشت مثبت گزارش شدند، از پرایمر های اختصاصی ژن *rfbC* و روش PCR استفاده گردید.

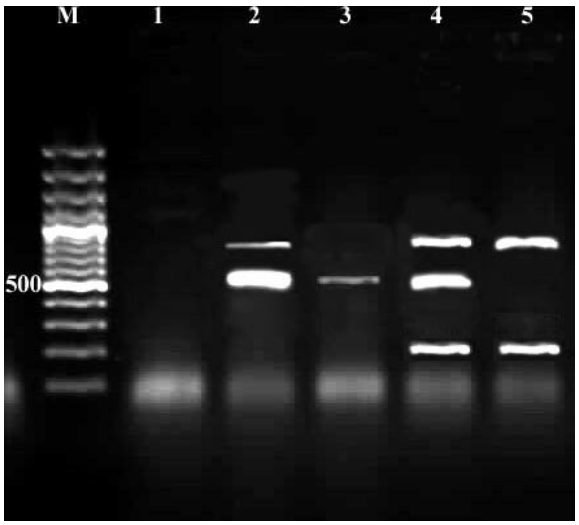
نتایج نشان داد که در مجموع ۵ مورد (۵ درصد) از نظر آلودگی به سروتیپ O3 مثبت گزارش شدند. از این میان حضور ژن های بیماری زای *ail*، *yadA*، *virF* و *ystA* به ترتیب در ٤ (٤٪)، ۳ (۳٪)، ۲ (۲٪) و ۲ (۲٪) نمونه گزارش شد (شکل ۱ و ۲).

بحث

عادت های غذایی در ایران نسبت به کشورهای توسعه یافته



شکل ۱: الکتروفورز حاصل از تکثیر ژن *rfbC*. M) مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون های ۱ و ۲: نمونه های مثبت حاوی ژن *rfbC* (٤۰۵ جفت باز).



شکل ۲: الکتروفورز حاصل از تکثیر به ژن های حدت در *یرسینیا انتروکولیتیکا*. M) مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱ کنترل منفی، ستون های ۲ تا ۵) نمونه های مورد مطالعه دارای ژن های مختلف بیماریزایی (قطعه ۱٤۵ جفت بازی مربوط به ژن *ystA*، قطعه ۱۷۰ جفت بازی مربوط به ژن *ail*، قطعه ۵۹۰ جفت بازی مربوط به ژن *virF*، قطعه ۸٤۹ جفت بازی مربوط به *yadA*).

متفاوت است. در واقع عموماً ایرانیان تمایل دارند غذاهای سنتی و خانگی را بیشتر از محصولات تولید شده به روش صنعتی مصرف نمایند. این مساله به ویژه در رابطه با مصرف شیر خام، پنیر، کره و خامه محلی مصداق دارد. بنابراین تحقیقات مرتبط با پایش *یرسینیا انتروکولیتیکا* بیماری زا در فرآورده های لبنی از نظر اهمیت، ارزنده به نظر می رسند (۱۰). روزانه میلیون ها نفر از مردم از شیر و محصولات لبنی بهره مند می گردند. بنابراین کیفیت بهداشتی شیر و فرآورده های آن بسیار مهم است، چرا که در صورت کاهش سطح بهداشت شیر و محصولات لبنی، عفونت ها و بیماری های متنوعی پدید می آیند (۱۱).

یرسینیا انتروکولیتیکا از شیر خام گوسفند و بز جدا شده است (۱۲). رعایت نکردن بهداشت در مراکز پرورشی مخصوص تولید شیر به ویژه هنگام دوشش، می تواند از دلایل آلودگی شیر خام به گونه های *یرسینیا* باشد (۱۳). با توجه به اهمیت موضوع در ایران و کشورهای مختلف تحقیقات گسترده ای بر روی فرآورده های لبنی صورت گرفته است (۱٤). بر اساس نتایج مطالعه حاضر، از مجموع ۱۰۰ نمونه شیر خام گوسفند و بز، ۹ نمونه شیر گوسفند پس از انجام multiplex-PCR از نظر سروتیپ O3، مثبت بودند. در سال ۲۰۱٤ مطالعه ای در چین بر روی شیوع *یرسینیا انتروکولیتیکا* در فرآورده های لبنی منجمد با روش duplex PCR انجام شد. در این پژوهش از ۸۸ نمونه فرآورده لبنی صنعتی منجمد، ۱۲ مورد مثبت گزارش گردید (۱۵). این میزان از نظر فراوانی بیشتر از مطالعه حاضر می باشد.

در سال ۲۰۱٤ در ورامین فراوانی ژن های حدت *یرسینیا انتروکولیتیکا* در ٤٤٦ نمونه شیر از دام های مختلف از جمله گوسفند و بز مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق ژن *ystA* در تمام نمونه های مثبت از نظر سروتیپ O:3 و O:8 مشاهده گردید. اما ژن های *ail* و *ystB* تنها در جدایه های سروتیپ O:3 گزارش شد (۷). بر اساس نتایج تحقیق حاضر، ٤ نمونه حامل ژن *ail*، ۳ مورد حامل ژن *yadA* و دو نمونه حامل ژن *ystA* بودند. تحقیقی در فرانسه به منظور جداسازی *یرسینیا انتروکولیتیکا* از ۷۵ نمونه شیر خام عرضه شده در فروشگاه ها به سه روش غنی سازی در محیط راپاپورت اصلاح شده و غنی سازی در محیط سنتتیک حاوی ساکاروز، آمینومتان، سدیم آزاید و آمپی سیلین انجام گرفت. در این مطالعه ٦۱ نمونه از نمونه های آزمایش شده آلوده به *یرسینیا انتروکولیتیکا* بودند. در روش PCR ٤۰ سروتیپ O:5 و ۲۰ سروتیپ O:3 در باکتری های جدا شده شناسایی شد (۱٦).

همچنین یافته های ما نشان داد که، ۹ نمونه با روش کشت، آلوده به باکتری *یرسینیا انتروکولیتیکا* بود. پس از انجام روش PCR همگی تایید شدند و ۵ نمونه سروتیپ O3 مثبت را داشتند که با نتیجه تحقیق یاد شده از نظر نوع سروتیپ جدا شده مطابقت دارد. اگرچه میزان شیوع آلودگی در مطالعه حاضر پایین تر بوده است.

جمالی (Jamali) و همکاران در سال ۲۰۱۵ در ورامین شیوع گونه های *یرسینیا* در نمونه های شیر خام گوسفند و بز را بررسی نمودند. در این تحقیق از میان ۱٦۵ نمونه شیر خام گوسفند، ۵ مورد (۳ درصد) آلوده به گونه های *یرسینیا* بودند که از این تعداد، ٤ نمونه (۲/٤ درصد) آلوده به *یرسینیا انتروکولیتیکا* گزارش شد. همچنین در این مطالعه، تعداد ٤۱ نمونه شیر بز بررسی شد و در نهایت ۱ مورد (۲/٤ درصد) آلودگی به *یرسینیا انتروکولیتیکا* گزارش گردید (۷).

در مطالعه حاضر نیز از مجموع نمونه های شیر خام گوسفند و بز، ۹ نمونه (۹ درصد) واجد *یرسینیا انتروکولیتیکا* بودند، که از ۵ مورد سروتیپ O3 جدا شد. بنابراین شیر گوسفند می تواند به عنوان یک منبع بالقوه برای آلودگی انسان به *یرسینیا انتروکولیتیکا* مطرح باشد. در مجموع این یافته ها این فرضیه را حمایت می کند که شیر یک منبع مهم عفونت های دستگاه گوارش ناشی از *یرسینیا انتروکولیتیکا* است و شاید گوسفند یک مخزن عامل عفونت در ایران باشد.

بنابراین به نظر می رسد که کنترل *یرسینیا انتروکولیتیکا* در شیر برای مدیریت عفونت های دستگاه گوارش مهم باشد. با توجه به نتایج به دست آمده که حاکی از حضور *یرسینیا انتروکولیتیکا* در شیر به ویژه شیر گوسفند می باشد و نیز از آنجایی که این

باکتری به راحتی از طریق غذا قابل انتقال بوده و به راحتی در دمای ٤ درجه سلیسیوس یخچال رشد می کند، توصیه می شود که مسئولین بهداشتی کشور توجه خاصی به این مساله داشته باشند تا از خطـرات بهداشتـی و اقتصـادی آن جلوگیـری به عمـل آیـد.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شیر گوسفند می تواند آلوده به *یرسینیا انتروکولیتیکای* بیماریزا باشد. در مطالعه حاضر از روش PCR به منظور شناسایی سروتیپ O:3 و عوامل حدت *یرسینیا انتروکولیتیکا* استفاده شد که دارای حساسیت و دقت زیادی در تشخیص اجرام عفونی می باشد. پیشنهاد می گردد تحقیقات بیشتری درباره سایر سروتیپ ها، فاکتورهای حدت و همچنین مقاومت آنتی بیوتیکی *یرسینیا انتروکولیتیکا* انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از پرسنل دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند. مقاله حاضر مستخرج از پایان نامه به شماره «۱۳۳۱۰۵۰۱۹٤۲۰۰۸» می باشد.

References

1. Hanifian S, Khani S. Prevalence of virulent *Yersinia enterocolitica* in bulk raw milk and retail cheese in northern-west of Iran. Int J Food Microbiol. 2012; 155: 85-92.
2. Bonardi S, Bassi L, Brindani F, D'Incau M, Barco L, Carra E, Pongolini S. Prevalence, characterization and antimicrobial susceptibility of *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica* in pigs at slaughter in Italy. Int J Food Microbiol. 2013; 163: 248-257.
3. Rahimi E, Sepehri S, Safarpoor F, Shaygan S, Momtaz H. Prevalence of *Yersinia* species in traditional and commercial dairy products in Isfahan province, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2014; 7(4): e9249.
4. Zdolec N, Dobranić V, Filipović I. Prevalence of *Salmonella spp*. and *Yersinia enterocolitica* in/on tonsils and mandibular lymph nodes of slaughtered pigs. Folia Microbiol. 2015; 60: 131-135.
5. Tan LK, Ooi PT, Thong KL. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* from food and pigs in selected states of Malaysia. Food Control. 2014; 35: 94-100.
6. Bancerz-Kisiel A, Szczerba-Turek A, Platt-Samoraj A, Socha P, Szweda W. Bioserotypes and virulence markers of *Y. enterocolitica* strains isolated from roe deer (*Capreolus capreolus*) and red deer (*Cervus elaphus*). Pol J Vet Sci. 2014; 17: 315-319.
7. Jamali H, Paydar M, Radmehr B, Ismaili S. Prevalence, characterization, and antimicrobial resistance of *Yersinia* species and *Yersinia enterocolitica* isolated from raw milk in farm bulk tanks. J Dairy Sci. 2015; 98: 798-803.
8. Momtaz H, Ebrahimi N, Akbari F. Detection of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 isolated of milk and dairy products. J Zoonoses Res. 2013; 1: 27-32. [In Persian]
9. Saberianpour S, Tajbakhsh E, Khamesipour F. Prevalence of virulence genes and biotyping of *Yersinia enterocolitica* isolated from chicken meat in Shahrekord, Iran. Vidyabharati Int Interdisciplin Res J. 2014; 3(2): 71-76.
10. Lambertz ST, Nilsson C, Hallanvuo S, Lindblad M. Real-time PCR method for detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food. Appl Environ Microb. 2008; 74(19): 6060-6067.

11. Myers KM, Gaba J, Al-Khaldi SF. Molecular identification of *Yersinia enterocolitica* isolated from pasteurized whole milk using DNA microarray chip hybridization. Mol Cell Probe. 2006; 20(2): 71-80.

12. Platt-Samoraj AM, Ugorski W, Szweda A, Szczerba-Turek K, Wojciech, Procajło Z. Analysis of the presence of *ail*, *ystA* and *ystB* genes in *Yersinia enterocolitica* strains isolated from aborting sows and aborted fetuses. J Vet Med B. 2006; 53: 341-346.

13. Thisted Lambertz S, Danielsson-Tham NL. Identification and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica isolates* by PCR and pulsed-field gel electrophoresis. Appl Environ Microb. 2005; 71: 3674-3681.

14. Jamali HB, Radmehr KL, Thong. Prevalence, characterisation, and antimicrobial resistance of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolates from raw milk in farm bulk tanks. Food Control. 2013; 34: 121-125.

15. Ye YW, Ling N, Han YJ, Wu QP. Detection and prevalence of pathologic *Yersinia enterocolitica* in refrigerated and frozen dairy products by duplex PCR and dot hybridization targeting the *virF* and *ail* genes. J Dairy Sci. 2014; 97: 6785-6791.

16. Elisa H, Leila S, Mikko V, Kaisa H, Markku K. Symptoms and sources of *Yersinia enterocolitica*-infection: a case–control study. BMC Infect Dis. 2010; 10: 122-130.

Journal of Microbial World
Volume 10, No. 3, September 2017

Short Communication

Identification and characterization of the virulence genes in *Yersinia enterocolitica* strains isolated from sheep and goat milk in Shahrekord

Syed Mohammad Alavi[1], Ebrahim Rahimi[2], Elahe Tajbakhsh[3]

[1]Ph.D., Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
[2] Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
[3]Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Abstract

Yersinia enterocolitica is a Gram-negative intestinal pathogen that is transmitted to humans through water and food. Milk is one of the main sources of the infection transmission to humans and its contamination with bacteria such as *Y. enterocolitica* can cause serious damages. The present study aimed to isolate *Y. enterocolitica* and its virulence genes from small ruminant milk in Shahrekord, Iran using microbial culture and PCR method. In this cross-sectional descriptive study, 100 raw milk samples were collected randomly from different parts of Shahrekord, and cultured on a CIN agar medium. In order to detect *Y. enterocolitica* O:3 serotype and to investigate the presence of virulence genes, positive- culture samples were further assessed by PCR method using specific primers. According to the results, 9% of total sheep and goat milk samples were positive after microbial culture. Notably, all positive samples were sheep milk samples. Five percent of the positive samples were confirmed as O:3-positive serotypes using PCR method. The *ail* gene was found in four isolates, the *yadA* gene was reported in three isolates, and the *virF* and *ystA* genes were identified in two isolates. Isolation of *Y. enterocolitica* from raw milk was indicated high risks of yersiniosis associated with raw sheep milk. Based on our results, sheep's milk can be considered as a potential cause of human infection to *Y. enterocolitica.*

Keywords: *Yersinia enterocolitica*, PCR, Sheep milk, Goat milk.

Correspondence to: Ebrahim Rahimi

Tel: +98 3813361060

E-mail: rahimi@iaushk.ac.ir

Journal of Microbial World 2017, 10(3): 256-262.