

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

ساناز علیزاده^۱، حسن ممتاز^۱، ابراهیم رحیمی^{۲*}

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 پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۲۰

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 فرآورده‌های شیری گاومیش و گوشت گاومیش در استان خوزستان، شهرستان ملاتانی بود. در مجموع ۲۱۰ نمونه از گوشت، شیر و فرآورده‌های شیری در اسفند ۹۴ و فروردین ۹۵ از شهرستان ملاتانی 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 آمد. شیوع آلودگی نمونه‌ها به سالمونلا/انتریتیدیس ۶۶/۶ درصد و سالمونلا تیفی موریوم ۳۳/۳ درصد بود. بیشترین شیوع آلودگی 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/انتریتیدیس، ژن‌های حدت، PCR، شیر و فرآورده‌های شیر و گوشت.

مقدمه

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 می‌شود 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 می‌گیرند که به خاطر aw بالا و pH اپتیمم یک محیط

شیر و فرآورده‌های آن در بین غذاهای متعدد با منشأ حیوانی و گیاهی از جایگاه خاصی برخوردارند. چربی شیر در میان چربی و روغن‌های مختلف رژیمی دارای بیشترین قابلیت هضم می‌باشد و همچنین پروتئین آن 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 می‌باشد. علاوه بر آن گوشت قرمز، مرغ و تخم مرغ نیز از ارزشمندترین اقلام غذایی و در تغذیه انسان دارای اهمیت زیادی می‌باشد. یکی از عواملی که سلامت فرآورده‌های غذایی با منشأ 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

گوشت، ۱۰ گرم از نمونه هموزن شده به ۹۰ سی سی محیط غنی کننده لاکتوز برات منتقل شد و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم-خانه‌گذاری 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-وژس پروسکوئر (MR-VP) و پیتون 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 برات 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 mgcl₂، 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.

مناسب برای میکروارگانیزم‌های لیپولیتیک 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 میکروارگانیزم‌ها باکتری‌های انعطاف پذیر بوده و به آسانی با شرایط محیطی خود را هماهنگ می‌کنند این جنس از میکروارگانیزم‌ها 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 داده شد. به منظور جداسازی باکتری‌های سالمونلا از

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 می‌کند. 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 می‌شوند. در پایان با تهیه عکس از ژل و پیت آن روی کاغذ حساس به حرارت می‌توان به تفسیر نتایج پرداخت.

برنامه حرارتی مورد نظر بسته به نوع ژن متفاوت و عبارت بد از: در مورد ژن‌های *invA*, *rfbJ*, *fliC*, *fliB* 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 شد برای این منظور ۱ گرم پودر آگارز در ۱۰۰ میلی لیتر بافر TBE 10X و بعد از اضافه کردن ۵ میکرولیتر رنگ اتیدیوم بروماید به آن اضافه کرده در سینی مخصوص الکتروفورز ریخته شد. جهت انجام الکتروفورز ۱۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۳ میکرولیتر رنگ نشانگر Loading Buffer مخلوط و در چاهک ژل منتقل گردید. رنگ نشانگر از ترکیب رنگ بروموفیل بلو و یک ماده غلیظ و

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی ژن‌های مورد مطالعه در *سالمونلا تیفی* موریوم و *سالمونلا انتریتیدیس*

نام ژن	Primer sequence	PCR product
<i>invA</i>	GTGAAATTATCGCCACGTTTCGGGCAA TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	۲۸۴
<i>rfbJ</i>	CCAGCACCAGTTCCAAGTTGATAC GGCTTCCGGCTTTATTGGTAAGCA	۶۶۳
<i>fliC</i>	ATAGCCATCTTACCAGTCCCCC GCTGCAACTGTTACAGGATATGCC	۱۸۳
<i>fliB</i>	ACGAATGGTACGGCTTCTGTAACC TACCGTCGATAGTAACGACTTCCGG	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 استفاده شد. 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 ۲ نمونه

(۲/۵ درصد) و سرشیر ۱ نمونه (۷/۱ درصد) مشاهده شد. در حالی که 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 تیفی* موریوم 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 انتروتیپیدیس درصد	تعداد سالمونلا تیپی موریوم درصد
شیر	۸۰	۲ (۲/۵ درصد)	۲	-
پنیر	۳۰	۳ (۱۰ درصد)	۲	۱
ماست	۲۶	-	-	-
کره	۳	-	-	-
سرشیر	۱۴	۱ (۷/۱ درصد)	۱	۱
شیربرنج	۷	-	-	-
گوشت	۵۰	-	-	-
کل	۲۱۰	۶ (۲/۸۶ درصد)	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 راه‌های انتقال آلودگی به انسان مواد غذایی آلوده هستند. و در این بین گوشت و فرآورده‌های گوشتی و تخم پرندگان خصوصاً گوشت پرندگان مهم‌ترین منبع آلودگی انسان به گونه‌های سالمونلا محسوب می‌شوند. لذا مطالعات فراوانی در خصوص بررسی آلودگی گوشت خصوصاً 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 فرآورده‌های 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 شیر گاومیش ۲ نمونه به

سالمونلا انتروتیپیدیس و سالمونلا تیپی موریوم آلوده بود و ۳ نمونه پنیر به سالمونلا تیپی موریوم و سالمونلا انتروتیپیدیس و ۱ نمونه سرشیر به سالمونلا انتروتیپیدیس آلوده بودند و نمونه‌های گوشت، کره، ماست و شیربرنج هیچ‌گونه آلودگی به سالمونلا انتروتیپیدیس و سالمونلا تیپی 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 تایید می‌کند (Van Kessel et al., 2011). میزان آلودگی شیر خام گاومیش (۲/۵ درصد) و فرآورده‌های آن (۵ درصد) و گوشت گاومیش هیچ آلودگی به گونه‌های سالمونلا در مطالعه حاضر (۲/۸۶ درصد) به دست آمده این میزان در پنیر، شیر و سرشیر به ترتیب ۱۰، ۲/۵ و ۷/۱ درصد بوده‌است. وضعیت آلودگی شیر خام گاومیش در این مطالعه با مطالعات (Chye (2004), Vankessel (2004) هم‌خوانی معنی داری را نشان می‌دهد (Chye et al., 2004; Vankessel et al., 2003) از طرفی میزان آلودگی شیر خام در برخی مطالعات بیشتر از نتایج به دست آمده از مطالعه بوده‌است. USDA در سال ۲۰۰۷ تحقیقاتی را روی ۵۳۸ نمونه شیر خام گاو مزارع که از چهار منطقه شمال، جنوب، شرق و مرکز امریکا جمع آوری شده‌بود با روش RT-PCR انجام دادند که ۵۷

که ۵۱/۴ درصد نمونه‌ها آلوده به سالمونلا اینتریتیدیس بود. ۸۸/۰۶ درصد سالمونلا دارای ژن‌های حدت SPV و همه سالمونلا اینتریتیدیس دارای ژن حدت *invA* بودند (Amini et al., 2010).

نتیجه‌گیری

حد اقل حرارت سالم سازی شیر ۷۲ درجه سلسیوس برای به مدت 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 resistance of *Salmonella* isolated from Lactating cows and in contact humans in dairy farms of Addis Ababa across sectional study. BMC Infect 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* Virulence genes 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. and 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

نمونه (۱۰/۷ درصد) از نظر سالمونلا مثبت گزارش گردید و سروتیپ های غالب S. kentucky, S.cerro, S. muenster, S. newport, S. anatum (USDA, 2007). Vankessel در سال ۲۰۱۱ روی ۵۳۶ نمونه تانک شیر و ۵۱۹ نمونه شیر in-link در ایالت متحده آمریکا 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 نفر از 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 به‌طور کلی از ۶۸ نمونه ۴ نمونه (۵/۹۷ درصد) آلوده به سالمونلا بودند و سروتیپ‌های غالب آن سالمونلا تیپ‌موریوم و اینتریتیدیس گزارش گردید (Helba et al., 2011).

Ozdemir و Tekinsen 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

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, Koprak. 2011. Prevalence of *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia 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., *Escherichia coli*, and *Salmonella* servars in retail chicken, turkey, pork, and beef the Greater Washington, D.c., Area. A E M. 67: 5431-5436.
- 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.

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

Alizadeh S¹, Momtaz H¹, 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 enteritidis* and *Salmonella typhimurium* separated 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. enteritidis* 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. enteritidis* 5% and *S. typhimurium* 2.5%.

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