مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

شناسایی مولکولی گونه های *کمپیلوباکتر* و *سالمونلا* در نمونه های شیر خام گاو در استان مازندران

راحم خوشبخت[۱]، حمیدرضا کاظمینی[۲]، زهرا پناهی[۳]*

۱- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.

۲- استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.

۳- دانشجوی دکتری بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۷

کلمات کلیدی:

شیر خام،

کمپیلوباکتر ژژونی،

کمپیلوباکتر کلی،

سالمونلا،

PCR.

DOI: 10.22034/FSCT.19.125.101

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.10.9

* مسئول مکاتبات:

za.panahi@mail.um.ac.ir

چکیده

باکتری های *سالمونلا* و *کمپیلوباکتر* می توانند از طریق شیر خام به انسان منتقل شده و باعث بیماری های غذازاد شوند. این مطالعه با هدف بررسی میزان شیوع گونه های *کمپیلوباکتر* و گونه های بیماریزای *سالمونلا* در شیر خام گاو با استفاده از روش های مولکولی در استان مازندران انجام شد. تعداد ۱۰۰ نمونه شیر خام به صورت تصادفی از مراکز جمع آوری و خرده فروشی های شیر و لبنیات سنتی در استان مازندران در سال ۱۳۹۸ جمع آوری گردید. تمامی نمونه ها در ظروف استریل و در شرایط مناسب زنجیره سرد، در اسرع وقت به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل منتقل شدند. استخراج DNA تام از نمونه های شیر با استفاده از کیت تجاری انجام شد و سپس واکنش زنجیره ای پلی مراز با استفاده از آغازگرهای مناسب جهت شناسایی *کمپیلوباکتر ژژونی*، *کمپیلوباکتر کولی* و سالمونلا صورت گرفت. از ۱۰۰ نمونه مورد مطالعه، ۷ نمونه (۷ ٪) آلوده به باکتری *کمپیلوباکتر ژژونی* بودند، نمونه مثبتی از باکتری *کمپیلوباکترکلی* مشاهده نشد و ۲ نمونه (۲ ٪) آلوده به باکتری *سالمونلا* بودند. با توجه به نتایج میزان شیوع گونه *کمپیلوباکتر ژژونی* در شیر خام گاو بالاتر از گونه *کمپیلوباکترکلی* بود. باتوجه به نتایج مطالعه حاضر و حضور باکتری های نامبرده در شیر، رعایت اصول بهداشتی در صنایع لبنی ، فرآوری و استفاده از حرارت کافی جهت از بین بردن باکتری های نامبرده در شیر خام و همچنین استفاده از روش های سریع و دقیق جهت شناسایی این باکتری ها امری ضروری می باشد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-10]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.10.9]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.101]

۱-مقدمه

بیماری های منتقله از مواد غذایی، یکی از بزرگترین مشکلات جوامع بشری است [۱]. یکی از مهمترین عوامل موثر در انتقال و ایجاد بیماری های منتقله از غذا، روش تهیه، توزیع و نگهداری مواد غذایی می باشد که باید به صورت کاملاً بهداشتی تولید گردند و با بالاترین کیفیت به دست مصرف کننده برسند [۲].

شیر و فرآورده های لبنی یکی از محصولات غذایی پرطرفدار می باشند. شیر دارای مواد مغذی بالایی بوده و شامل ترکیباتی از جمله پروتئین، چربی، کلسیم، قند، فسفر و دیگر مواد مغذی ضروری می باشد. به واسطه ترکیبات مغذی بالا و همچنین میزان مصرف بالای روزانه در سبد غذایی، تولید شیر با کیفیت، بهداشتی و ایمن امری ضروری است [۳].

شیر می تواند توسط عوامل باکتریایی زیادی آلوده شود. از جمله این باکتری ها می توان به *لیستریا مونوسیتوژنز*، *کوکسیلا بورنتی*، *اشریشیاکلی*، *مایکوباکتریوم بویس*، *سالمونلا تایفی موریوم* و *کمپیلوباکتر ژژونی* اشاره کرد [٤].

سالمونلوزیس یکی از بیماری های مهم منتقله از غذا است. این بیماری توسط باکتری *سالمونلا* ایجاد می گردد [۵]. طبق مطالعات انجام شده، یکی از مهمترین عوامل بروز سالمونلوزیس، عدم استفاده از حرارت کافی در فرآوری شیر و محصولات لبنی است [٦]. علائم سالمونلوزیس شامل تب، اسهال، استفراغ ، گرفتگی و درد های شکمی[1] می باشد [۷]. باکتری *سالمونلا* گرم منفی، میله ای و هوازی می باشد. سروتیپ *سالمونلا انتریتیدیس* و *سالمونلا تایفی موریوم* عامل بیشترین عفونت های سالمونلایی در انسان هستند. باکتری *سالمونلا* از مواد غذایی مختلفی از جمله شیر و فرآورده های لبنی، گوشت و فرآورده های گوشتی منتقل می شود [٦].

باکتری *کمپیلوباکتر* نیز یکی دیگر از عوامل آلوده کننده شیر است [۸]. به بیماری ناشی از *کمپیلوباکتر*، کمپیلوباکتریوزیس گفته می شود. *کمپیلوباکتر* میتواند بیماری های دیگری از جمله مننژیت و سندرم گیلن باره[2] را ایجاد کند [۹]. *کمپیلوباکتر*، گرم منفی بوده و در شرایط میکروآئروفیلیک به خوبی رشد می کند. باکتری *کمپیلوباکتر* علل عمده گاستروانتریت در کشورهای رو به توسعه و توسعه نیافته می باشد. از آنجا که افراد با سنین پایین تر از جمله کودکان و افراد با ایمنی ضعیف گروه های حساس تری به اکثر بیماری های غذایی می باشند، باکتری *کمپیلوباکتر* نیز موجب مرگ کودکان حتی در کشورهای توسعه یافته ای نظیر آمریکا می شود [۱۰]. مهمترین گونه های بیماریزای *کمپیلوباکتر*، گونه های گرمادوست *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر کلی* است. امروزه شیوع بیماری های ناشی از *کمپیلوباکتر* بسیار بالا بوده و این باکتری از اهمیت زیادی در حیطه بیماری های منتقله از غذا برخوردار می باشد [۱۱].

امروزه استفاده از روش های تشخیصی از جمله روش های مولوکولی بر پایه واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) روش تشخیصی بسیار خوبی جهت شناسایی و ردیابی باکتری ها و عوامل بیماریزا در مواد غذایی است. روش PCR دارای دقت و حساسیت بالایی است. روش M-PCR[3] یا PCR چندگانه نیز یکی از روش های مولکولی است که می تواند بطور همزمان جهت شناسایی چندین عامل باکتریایی مورد استفاده قرار گیرد [۱۲].

بنابراین مطالب عنوان شده، کیفیت بهداشتی و ایمنی شیرخام دارای اهمیت زیادی بوده و تایید سلامت و ایمنی این محصول و همچنین عاری بودن شیر خام از هرگونه باکتری های پاتوژن امری ضروری است. از طرفی به دلیل وجود باکتری های پاتوژن از جمله *سالمونلا* و *کمپیلوباکتر* در شیرخام، شناسایی عوامل بیماریزا در شیر و اطمینان از ایمن بودن آن، ضروری می باشد. لذا این تحقیق با هدف بررسی میزان شیوع و ردیابی گونه های *کمپیلوباکتر ژژونی*، *کمپیلوباکتر کلی* و *سالمونلا* در شیرخام گاو به روش مولکولی در استان مازندران انجام گردید.

۲-مواد و روش ها

۲-۱-نمونه گیری

در طول سال ۱۳۹۸، از چندین مرکز جمع آوری شیر و مغازه خرده فروشی لبنیات محلی در استان مازندران به صورت تصادفی ۱۰۰ نمونه شیر خام جمع آوری شد. جهت نمونه برداری، در

1 Cramp
2 Guillain barre
3 Multiplex-Polymerase chain reaction

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-10]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.10.9]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.101]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-10]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.10.9]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.101]

اسرع وقت و به محض ورود شیرخام به سکوی جمع آوری یا ظروف حمل شیر، نمونه گیری انجام گرفت. در ابتدا کل مخزن با همزن یکنواخت شد و سپس به صورت استریل به میزان کافی نمونه شیر برداشته شد. تمامی نمونه ها در ظروف حاوی یخ نگهداری و به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تخصص فناوری های نوین آمل منتقل گردید.

۲-۲-استخراج DNA

جهت استخراج DNA از کیت سیناکلون با شماره کاتالوگ EX6001 استفاده گردید (شرکت سیناکلون، ایران). ۱/۵ ml پلی پروپیلن به ۱۰۰ µl از نمونه شیر خام اضافه شد. سپس ۴۰۰ µl Lysis buffer نیز اضافه گردید و بمدت ۲۰ ثانیه ورتکس انجام گرفت. ۳۰۰ µl Percipiation solution نیز اضافه گردید و به مدت ۵ ثانیه ورتکس انجام شد. سپس محلول به ستون استخراج انتقال داده شد. سپس سانتریفیوژ (دور rpm ۱۲۰۰۰، بمدت ۱ دقیقه) انجام شد. پس از آن محلول عبوری دور ریخته شد. ستون را با ۴۰۰ µl Wash buffer دو مرتبه شستشو داده و به مدت ۱ دقیقه سانترفیوژ با دور rpm ۱۳۰۰۰ انجام گرفت. سپس ستون را به یک میکروتیوب ۲ میلی لیتری منتقل و ۳۰ µl Ellution buffer به آن اضافه گردید و به مدت ۵-۳ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. سپس جهت بدست آوردن DNA به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ با دور rpm ۱۳۰۰۰ انجام گرفت. سپس DNA استخراج شده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد جهت آزمون های مولکولی نگهداری شد.

۲-۳-تشخیص مولکولی

پس از استخراج DNA ، واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد (جدول ۱). مخلوط واکنش PCR شامل ۱۰۰ ng از DNA استخراج شده، ۲/۵ µl از محلول PCR buffer با غلظت ۱۰ برابر (۷۵ mM تریس هیدروکلراید، ۲ mM کلرید منیزیم، ۵۰ mM کلرید پتاسیم، ۲۰ mM آمونیوم سولفات)، ۰/۲ mM dNTPs (شرکت بایونیر، کره جنوبی)، ۱/۵ U AmpliTaq polymerase (Bioneer, South Korea) و ۱۰ pmol از هر پرایمر (Takapouzist, Iran) و در نهایت حجم مخلوط واکنش با آب مقطر استریل دیونیزه به ۲۵µl رسانیده شد. دستگاه ترموسایکلر (MJ mini, BioRad, USA) در شرایط مطلوب تنظیم گردید. برنامه حرارتی نیز شامل: واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴ دقیقه، سپس ۳۵ سیکل واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصالرایمر به مدت ۱ دقیقه مطابق با دمای ذکر شده در جدول ۱، مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد ۱ دقیقه و در آخر ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه. در نهایت محصول مورد نظر بر روی ژل آگارز ۱/۵ ٪ (شرکت سیناکلون، ایران) ردیابی گردید.

Table 1 The primer pairs used in this study for detection of *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* and *Salmonella spp*.

Primer sequence (5' to 3')	Target gene	Annealing temperature (°C)	Product size (bp)	Reference
F:AAT-TGA-AAA-TTG-CTC-CAA-CTA-TG R: TGA-TTT-TAT-TAT-TTG-TAG-CAG-CG	16S rRNA (*Campylobacter coli*)	59	462	[13]
F:CTA-TTT-TAT-TTT-TGA-GTG-CTT-GTG R:GCT-TTA-TTT-GCC-ATT-TGT-TTT-ATT-A	16S rRNA (*Campylobacter jejuni*)	59	589	[13]
F:GTGAAATTATCGCCGCCACGTTCGAA R:TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	invA (*Salmonella spp.*)	58	284	[14]

۳- نتایج و بحث

در این مطالعه از مجموع ۱۰۰ نمونه شیر خام گاو جمع آوری شده از سکوهای جمع آوری شیر در استان مازندران، ۷ نمونه (۷ ٪) آلوده به باکتری *کمپیلوباکتر ژژونی* بودند (شکل ۱)، نمونه مثبتی از باکتری *کمپیلوباکترکلی* مشاهده نشد و ۲ نمونه (۲ ٪) آلوده به باکتری *سالمونلا* بودند (شکل ۲). براساس نتایج، میزان شیوع *کمپیلوباکتر ژژونی* بالاتر از دیگر باکتری های مورد مطالعه بود (شکل ۳).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-10]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.10.9]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.101]

براساس مطالعات انجام شده، باکتری *سالمونلا* و *کمپیلوباکتر* می توانند موجب آلودگی شیر خام گردند [٦ و ٨]. از آنجا که این دوباکتری پاتوژن های غذایی بوده و از طریق محصولات غذایی می توانند باعث به خطر افتادن سلامتی انسان شوند، کنترل و شناسایی این دسته از باکتری ها امری ضروری در محصولات غذایی می باشد. شیرخام هنگام دوشش می تواند توسط وسایل و تجهیزات، خاک، فضولات چسبیده به پستان به باکتری های مختلفی از جمله *استافیلوکوکوس* ها، *کلیفرم* ها، *سودوموناس* ها و انواع دیگری از پاتوژن ها آلوده گردد[١٥].

مطالعات زیادی در رابطه با شیوع باکتری های *سالمونلا* و *کمپیلوباکتر* در شیر و محصولات لبنی انجام گرفته است که اکثریت مطالعات نشان دهنده آلودگی بالای شیر خام به باکتری های سالمونلا و کمپیلوباکتر می باشد. در مطالعه حاضر میزان شیوع *کمپیلوباکتر ژژونی* ٧ ٪ بود و نمونه مثبتی از باکتری *کمپیلوباکتر کلی* مشاهده نشد. نتایج دیگر محققین نیز با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد و نشان دهنده حضور باکتری کمپیوباباکتر در شیر خام می باشد. در مطالعه دبیری و همکاران(١٣٩٤)، ٧٢ نمونه شیر خام در تابستان از سکوهای شیر خام در شهرستان آمل جمع آوری شدند. شناسایی فنوتیپی جنس *کمپیلوباکتر* وگونه *کمپیلوباکتر ژژونی* به وسیله روش های آزمایشگاهی میکروبی و شناسایی مولکولی این باکتری به وسیله واکنش زنجیرهای پلی مراز چندگانه M-PCR انجام شد. نتایج نشان داد که از٧٢ نمونه، ١٣/٨٨٪ نمونه ها آلوده به *کمپیلوباکتر ژژونی* و ٢/٧٧٪ آنها آلوده به جنس *کمپیلوباکتر* بودند [٨]. توکلی واسکس و همکاران (١٣٩١)، تعداد ١٣٨ نمونه شیر از مراکز جمع آوری شیر شهرستان آمل در هر فصل سال ١٣٨٩ جمع آوری کردند و میزان شیوع فصلی *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر کلی* را با روش M-PCR بررسی کردند. نتایج نشان داد از مجموع ١٣٨ نمونه در هر فصل در فصل بهـار، *کمپیلوباکتر ژژونی* ٦/٦٪ و *کمپیلوباکتر کلی* ١/٥٪، در فصل تابستان، *کمپیلوباکتر ژژونی* ١١/٦٪ درصد و *کمپیلوباکتر کلی* ٣/٧٪، در فصـل پـاییز، *کمپیلوباکتر ژژونی* ٥/١٪ و *کمپیلوباکتر کلی* ٢/٢ ٪، در فصل زمستان *کمپیلوباکتر ژژونی* ٢/٩٪ و *کمپیلوباکتر کلی* ٠/٨٪ درصـد تشخیص داده شدند [١٦]. الزمکان و همکاران (٢٠١٦)، میزان شیوع *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر کلی* را در

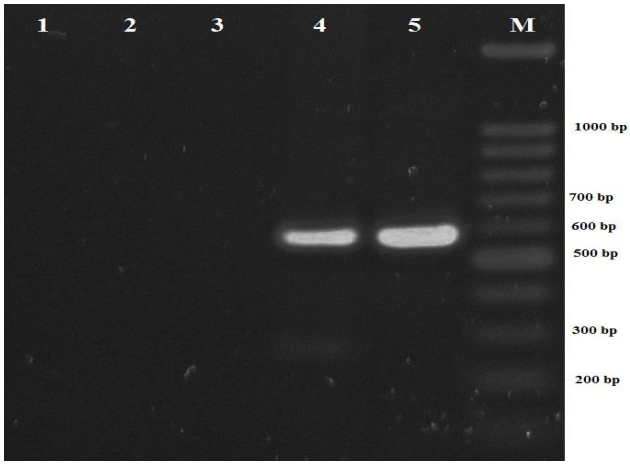

Fig 1 Ethidium bromide-stained agarose PCR gel. M = DNA ladder; lane 1-3 = negative amplification of Campylobacter jejuni, 4 and 5 = positive amplification of Campylobacter jejuni.

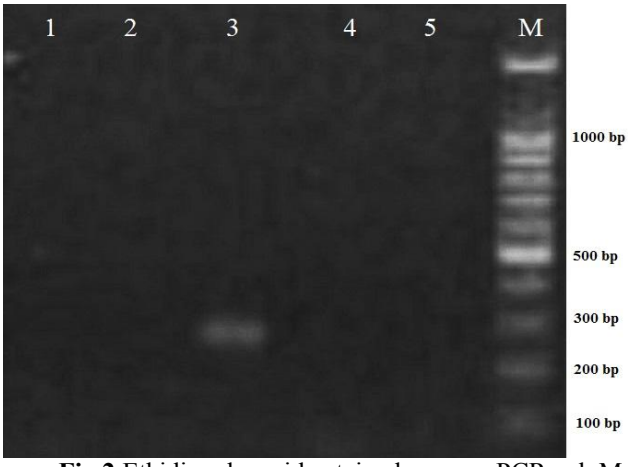

Fig 2 Ethidium bromide-stained agarose PCR gel. M = DNA ladder; lane 1, 2, 4, 5 = negative amplification of *Salmonella* spp., 3 = positive amplification of *Salmonella* spp.

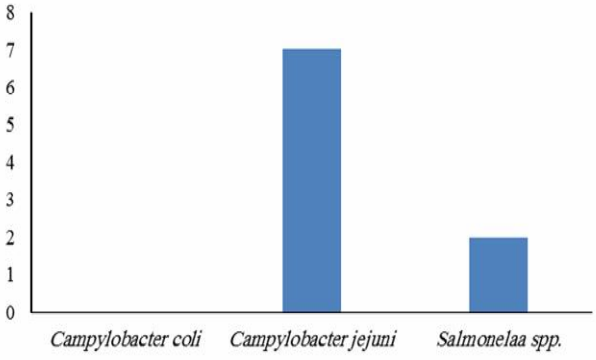

Fig 3 prevalence of *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejoni* and *Salmonella* spp. in row milk.

شیرخام و محصولات لبنی از جمله پنیر و ماست را بااستفاده از روش مولکولی مورد بررسی قراردادند. نتایج نشان داد از ۱۵۰ نمونه شیرخام، پنیر و ماست (از هر محصول ۵۰ نمونه)، ۳۷ نمونه (۲۴/۶ ٪) آلوده به *کمپیلوباکتر* بودند که میزان آلودگی *کمپیلوباکتر ژژونی* در شیر ۲۰٪، در پنیر ۱۴٪ و در ماست ۸٪ گزارش گردید و نمونه مثبتی از *کمپیلوباکتر* کلی گزارش نشد [۱۷]. مودی و همکاران (۲۰۱۵)، میزان شیوع باکتری *کمپیلوباکتر* را در شیر خام و محصولات لبنی با استفاده از روش مولکولی مورد بررسی قراردادند. از مجموع ۲۸۰ نمونه (۸۵ نمونه شیر بوفالو، ۶۵ نمونه شیر گاو، ۳۰ نمونه بستنی، ۳۰ نمونه پنیر و ۳۰ نمونه از نوعی پنیر کاتیج هندی)، گونه های *کمپیلوباکتر* در ۷ نمونه شیر (۲/۹۱٪)خام مثبت اعلام شد که تمام جدایه های شناسایی شده *کمپیلوباکتر ژژونی* بودند و نمونه مثبتی از *کمپیلوباکتر کلی* مشاهده نگردید [۱۸].

در مطالعه حاضر، میزان شیوع گونه های بیماریزای سالمونلا در شیر خام با استفاده از روش مولکولی، بررسی گردید. از ۱۰۰ نمونه شیر خام که بصورت تصادفی از مراکز جمع آوری و خرده فروشی ها تهیه شده بود، ۲ نمونه (۲٪) آلوده به باکتری سالمونلا بودند و نتایج نشان دهنده حضور باکتری *سالمونلا* در شیر خام بود. نتایج دیگر محققین نیز بر حضور باکتری *سالمونلا* در شیر خام دلالت دارد.این باکتری می تواند از راه های مختلفی نظیر وسایل آلوده، شیردوشی با دستگاه یا دست های آلوده، آلودگی ظروف جمع آوری شیر و غیره به شیر وارد شود. حرارت دهی و پاستوریزاسیون شیر موجب از بین رفتن این باکتری می گردد [۱۹]. بنیادیان و همکاران (۱۳۹۳)، میزان شیوع باکتری *سالمونلا* بااستفاده از آزمایش واکنش زنجیره ای پلیمراز بررسی شد. از ۱۵۰ مخزن حمل شیر خام، ۳ نمونه (۲٪)، آلوده به باکتری *سالمونلا* بودند[۲۰]. تاج بخش و همکاران (۱۳۹۳)، میزان شیوع *سالمونلا تایفی موریوم* در شیر خام دام های مختلف در استان چهارمحال و بختیاری را مورد بررسی قرار دادند. برای این منظور تعداد ۵۵۵ نمونه شیر خام (۲۰۰ نمونه شیر گاو، ۱۷۵ نمونه شیر بز و ۱۷۵ نمونه شیر گوسفند) در سال ۱۳۹۵ از دامداری ها جمع آوری گردید. از ۵۵۵ نمونه مورد بررسی، ۲۰ نمونه (۳/۶۳٪) آلوده به *سالمونلا* تشخیص داده شدند. از ۲۰ جدایه *سالمونلا* به روش کشت، ۹ جدایه (۱/۶۳٪) در PCR به عنوان *سالمونلا تایفی موریوم* مورد تایید قرار گرفت [۲۱]. در مطالعه انجام شده توسط شایگان نیا و همکاران (۱۳۹۳)،۳۶۰ نمونه شیر و فراورده لبنی به صورت تصادفی از استان اصفهان جمع آوری گردید که مجموعا ٦ نمونه (۱/٦٦٪) از نمونه ها از نظر *سالمونلا* مثبت بودند. میزان شیوع *سالمونلا انتریتیدیس* و *سالمونلا تایفی موریوم* به ترتیب ۰/۲۷٪ و ۰/۸۳٪ بود [۲۲]. در مطالعه کاوشیک و همکاران (۲۰۱۳)، میزان شیوع باکتری *سالمونلا* را در شیر مورد بررسی قرار دادند. از ۱۴۲ نمونه شیر، ۱۱ نمونه (۷/۷٪) آلوده به *سالمونلا* بودند که میزان شیوع سروتیپ *سالمونلا تایفی موریوم* ۲/۶٪ بود [۲۳]. لوبوت و همکاران (۲۰۱۴)، در بررسی ۷۵ نمونه شیر خام، بیان کردند که تعداد ۲۸ نمونه (۳۷/۳۳٪) آلوده به *سالمونلا* بودند [۲۴]. سینگ و همکاران (۲۰۱۵)، میزان شیوع *سالمونلا* را در شیر خام و محصولات لبنی مورد بررسی قرار داند. از تعداد ۲۱۰ نمونه، شیوع *سالمونلا* ۷/۶۱٪ بود که بیشترین میزان آلودگی مربوط به شیر خام بود [۲۵].

٤-نتیجه گیری

آلودگی های میکروبی از راه های مختلفی به مواد غذایی انتقال پیدا میکند از جمله این موارد می توان به آلودگی ظروف، دمای نامناسب نگهداری، عدم رعایت اصول بهداشتی توسط کارکنان بخش های غذایی و آلودگی های محیطی اشاره کرد. *کمپیلوباکتر ژژونی* نیز میتواند از این راه ها باعث آلودگی مواد غذایی از جمله شیر شود. باکتری *کمپیلوباکتر* نیز یک پاتوژن غذایی بوده و میتواند باعث عفونت های غذایی شود. باکتری *سالمونلا* نیز یک پاتوژن مشترک بین انسان و دام می باشد که میتواند باعث عفونت غذایی شود. جهت جلوگیری از عفونت های غذایی سالمونلایی حرارت دهی کافی شیر و همچنین تهیه و تولید بهداشتی شیر امری مهم در صنایع غذایی است. لذا شناسایی و بررسی میزان شیوع و همچنین مطالعه در رابطه با راه های جلوگیری و کاهش پاتوژن های غذایی امری بسیار مهم تلقی شده و مطالعه حاضر نیز با هدف بررسی شناسایی و شیوع پاتوژن های غذایی از جمله کمپیلوباکتر و سالمونلا در شیر خام انجام گردیده است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-10]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.10.9]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.101]

۵-منابع

[1] Van Kessel JS, Karns JS, Perdue ML. 2003. Using a portable real-time PCR assay to detect Salmonella in raw milk. Journal of food protection. 66(10):1762-7.

[2] World Health Organization. 2015. World Health Day Kit 2015-From farm to plate, make food safe. WHO Regional Office for South-East Asia.

[3] Rostrosa NK. 1973. Technology of milk and dairy products. Technology of milk and dairy products.

[4] Oliver SP, Jayarao BM, Almeida RA. 2005. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. Foodbourne Pathogens & Disease. 2(2):115-29.

[5] de Freitas CG, Santana ÂP, da Silva PH, Gonçalves VS, Barros MD, Torres FA, Murata LS, Perecmanis S. 2010. PCR multiplex for detection of Salmonella Enteritidis, Typhi and Typhimurium and occurrence in poultry meat. International journal of food microbiology. 139(1-2):15-22.

[6] Espi E, Vaillant V. 2005. International outbreak of Salmonella Stourbridge infection results of epidemiological food and veterinary investigations in France. Euro Surveill. 10(8):1-3.

[7] Jones MA, Hulme SD, Barrow PA, Wigley P. 2007. The Salmonella pathogenicity island 1 and Salmonella pathogenicity island 2 type III secretion systems play a major role in pathogenesis of systemic disease and gastrointestinal tract colonization of Salmonella enterica serovar Typhimurium in the chicken. Avian Pathology. 36(3):199-203.

[8] Dabiri A, Rouhi S, Nouri B, Zaboli F. 2016. The Prevalance of campylobacter genus and campylobacter jejuni species in raw milk collected from amol by Multiplex-Polymerase chain reaction. Journal of Fasa University of Medical Sciences . 5(4):516-525.

[9] Adedayo O, Kirkpatrick BD. 2008. Campylobacter jejuni infections: update on presentation, diagnosis, and management. Hospital Physician. 44(7):9.

[10] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2002. Preliminary FoodNet data on the incidence of foodborne illnesses-selected sites, United States, 2002. MMWR. Morbidity and mortality weekly report. 52(15):340-3.

[11] Jay, J.M. 1996. Modern Food Microbiology, International Thomson Publishing. 556-559.

[12] Strålin K, Bäckman A, Holmberg H, Fredlund H, Olcén P. 2005. Design of a multiplex PCR for Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Mycoplasma pneumoniae and Chlamydophila pneumoniae to be used on sputum samples. Apmis. 113(2):99-111.

[13] Rahimi E, Momtaz H, Ameri M, Ghasemian-Safaei H, Ali-Kasemi M. 2010. Prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter species isolated from chicken carcasses during processing in Iran. Poultry science. 89(5):1015-20.

[14] Rahn K, De Grandis SA, Clarke RC, McEwen SA, Galan JE, Ginocchio C, Curtiss Iii R, Gyles CL. 1992. Amplification of an invA gene sequence of Salmonella typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of Salmonella. Molecular and cellular probes. 1992;6(4):271-9.

[15] Perkins NR, Kelton DF, Hand KJ, MacNaughton G, Berke O, Leslie KE. 2009. An analysis of the relationship between bulk tank milk quality and wash water quality on dairy farms in Ontario, Canada. Journal of dairy science. 92(8):3714-22.

[16] Tavakoli Vasks A, Karim G, Sharifi Soltani M, Nasiri D, Pourjafar H. 2012. Investigation of seasonal prevalence of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in raw milk of Amol by Multiplex-Polymerase chain reaction. 4(4): 82-86.

[17] El-Zamkan MA, Hameed KG. 2016. Prevalence of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in raw milk and some dairy products. Veterinary world. 9(10):1147.

[18] Modi S, Brahmbhatt MN, Chatur YA, Nayak JB. 2015. Prevalence of Campylobacter species in milk and milk products, their virulence gene profile and anti-bio gram. Veterinary world. 8(1):1.

[19] Jassim AA, Al-Gburi NM. 2020. Virulance genes and antimicrobial resistance of salmonella isolated from milk in Wasit

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-10]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.10.9]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.101]

Province, Iraq. Plant Archives. 20(1):2033-9.

[20] Bonyadian M, Zahraei Salehi T, Mehrabani A. 2015. Comparison of polymerase chain reaction and standard culture methods for the detection of Salmonella in raw milk. Comparative Pathobiology. 1(48): 1509-16.

[21] Tajbakhsh F, Rahimi E, Tajbakhsh E. 2014. Isolation and identification of salmonella typhimorium from raw cow, sheep and goat milk in Chahamaha Va Bakhteyari Province . Journal of Food Hygiene. 4(13): 47-55.

[22] Nia SS, Rostami F, Dehkordi FS, Rahimi E, Yahaghi E, Darian EK, Moghadam MB. 2014. Isolation and evaluation virulence factors of Salmonella typhimurium and Salmonella enteritidis in milk and dairy products. Iran J Med Microbiol: Volume. 8(1).

[23] Kaushik P, Kumari S, Bharti SK, Dayal S. 2014. Isolation and prevalence of Salmonella from chicken meat and cattle milk collected from local markets of Patna, India. Veterinary World. 7(2):62.

[24] Lubote R, Shahada F, Matemu A. 2014. Prevalence of Salmonella spp. and Escherichia coli in raw milk value chain in Arusha, Tanzania. American Journal of Research Communication. 2(9):1-3.

[25] Singh P, Singh RV, Gupta B, Tripathi SS, Tomar KS, Jain S, Sahni YP. 2018. Prevalence study of Salmonella spp. in milk and milk products. Asian Journal of Dairy & Food Research. 37(1).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-10]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.10.9]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.101]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-10]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.10.9]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.101]

Molecular detection of *Campylobacter* species and *Salmonella* spp. In cattle raw milk specimens in Mazandaran province

Khoshbakht, R. [1], Kazemeini, H. [2], Panahi, Z. [3]*

1. Assistant Professor, Department of Pathobiology, Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.
3. PhD student, Department of Food Hygiene, Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 11/ 12
Accepted 2022/ 04/ 16

Keywords:

Row milk,
Campylobacter jejuni,
Campylobacter coli,
Salmonella spp.,
PCR.

DOI: 10.22034/FSCT.19.125.101
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.10.9

*Corresponding Author E-Mail:
za.panahi@mail.um.ac.ir

ABSTRACT

Salmonella spp. and *Campylobacter* can be transmitted through raw milk and cause foodborne illness. The aim of this study was to investigate the prevalence of *Campylobacter* and pathogenic species of *Salmonella* spp. species in raw cow's milk using molecular method in Mazandaran province. 100 samples of raw milk were randomly collected from traditional milk collection and retail centers in Mazandaran province in 2019. All samples were transferred as soon as possible to the microbiology laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, in sterile containers and in suitable cold chain conditions. DNA was extracted from milk samples using a commercial kit and then the polymerase chain reaction was performed using appropriate primers to identify *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Salmonella*. Out of 100 samples, 7 samples (7%) were infected with *Campylobacter jejuni*, no positive sample of *Campylobacter* coli was observed and 2 samples (2%) were infected with *Salmonella*. According to the results of the present study and the presence of the mentioned bacteria in milk, it is necessary to observe the hygienic principles in the dairy industry, processing and use of sufficient heat to eliminate the mentioned bacteria in raw milk and also use fast and accurate methods to identify These bacteria.