مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۹، شماره ۲/ خرداد و تیر ۱۳۹۶/ ۹۷-۸۸

مقاله پژوهشی

بررسی شیوع آلودگی *سالمونلا اینترتیدیس* و *سالمونلا تیفی موریوم* در گوشت های عرضه شده در شهرکرد سال ۱۳۹۳

مهشید زاهدی[۱]، ابراهیم رحیمی[۲*]، مریم زاهدی[۳]، حسن ممتاز[۱]، حسن شجاعی[۴]

[۱]گروه زیست شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران؛ [۲]گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران؛ [۳]دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۴]گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۲۹

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:54 +0330 on Saturday March 17th 2018

چکیده:

زمینه و هدف: **سالمونلا در انسان بیماری های مختلف مانند تب روده، حصبه و شبه حصبه، عفونت خون و مسمومیت های غذایی را ایجاد می کند. گوشت و شیرخام از مهم ترین منابع آلودگی انسان به سالمونلا می باشند. از این رو در این تحقیق به بررسی آلودگی *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا اینترتیدیس* گوشت های قرمز و سفید خام در سطح شهرستان شهرکرد پرداخته شد.**

روش بررسی: **در این مطالعه توصیفی- مقطعی، تعداد ۳۶۰ نمونه شامل ۹۸ نمونه گوشت گاو، ۳۶ نمونه گوشت شتر، ۷۵ نمونه گوشت گوسفند، ٦۲ نمونه گوشت بز و ۸۹ نمونه گوشت مرغ، از مراکز عرضه شهرستان شهرکرد جمع آوری و از نظر آلودگی به سالمونلا به روش کشت، آزمون های بیوشیمیایی و آزمون PCR مورد آزمایش قرار گرفتند. در ادامه *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا اینترتیدیس* جدا شده از نظر ژن های حدت invA, rfbj, fliC, fljB, spV, sefA مورد بررسی قرار گرفتند.**

یافته ها: **در این تحقیق در مجموع ٥٤ نمونه از ۳٦۰ نمونه به گونه های سالمونلا آلوده بودند. بیشترین آلودگی در گوشت مرغ (۳۱/٦٤٪) در نمونه گوشت گاو (۱۳/۲٦٪)، گوشت بز (۸/۰٦٪)، گوشت گوسفند (۸٪) و گوشت شتر (٥/٥٪) مشاهده شد. از مجموع ٥٤ جدایه سالمونلا، ۲٤ ایزوله آلوده به *سالمونلا تیفی موریوم* و ۲۰ ایزوله آلوده به *سالمونلا اینترتیدیس* و ۱۰ ایزوله مربوط به سایر سروتیپ های سالمونلا بود. بررسی ژن های حدت ایزوله ها نشان داد تمام آن ها حامل ژن های مورد بررسی بودند.**

نتیجه گیری: **نتایج حاصله بیانگر این است که درصد قابل توجهی از نمونه های گوشت های قرمز و سفید دارای آلودگی سالمونلایی هستند. از این رو لازم است با کنترل‌های بهداشتی و نظارت دقیق در کشتارگاه ها از میزان آلودگی گوشت کاسته شود.**

واژه های کلیدی: ***سالمونلا تیفی موریوم***، ***سالمونلا اینترتیدیس***، **گوشت قرمز، گوشت مرغ.**

مقدمه:

امروزه با پیشرفت تکنولوژی علوم و صنایع غذایی بیماری های ناشی از غذا به عنوان مهم ترین مسأله در جهان می باشد. در سراسر جهان صدها میلیون انسان به بیماری های قابل انتقال از طریق غذا و آب مبتلا هستند (۱). این مشکل در کشورهای در حال توسعه و در میان افرادی که به ضعف سیستم ایمنی و یا سوء تغذیه مبتلا هستند، در حال افزایش است (۲). پیدایش پاتوژن های منتقله از غذا و اثرات آن ها بر روی سلامت عمومی جامعه یکی از مهم ترین چالش های ایجاد شده در سیستم مراقبت بهداشت می باشد. گونه های سالمونلا

*نویسنده مسئول: شهرکرد- دانشگاه آزاد اسلامی- واحد شهرکرد- گروه بهداشت مواد غذایی- تلفن: ۰۹۱۳۳۲۷۸۳۷۷،
E-mail: ebrahimrahimi55@yahoo.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:54 +0330 on Saturday March 17th 2018

از جمله این پاتوژن های نوظهور جهانی می باشد که از طریق انتقال توسط مواد غذایی، بیماری های منتقله از غذا را روز به روز افزایش داده و آن را به یک معضل بهداشتی در جهان تبدیل کرده است. مطالعات اپیدمیولوژی نشان داده که غذاهای با منشاء حیوانی مخزن عمده بیماری هایی هستند که توسط غذا منتقل می‌شود (۳). از بین باکتری های بیماری زا، گونه های سالمونلا، لیستریا ویرسینا در محدوده گوناگونی از مواد غذایی شامل گوشت، فرآورده‌های گوشتی، لبنیات و سبزیجات شایع اند (۴). آلودگی مواد غذایی با این پاتوژن ها ممکن است در مراحل مختلف زنجیره غذایی شامل تولید، فرآوری، توزیع، خرده فروشی ها، یا آماده نمودن ایجاد شود (۵). بیماری سالمونلوزیس که توسط گونه های جنس سالمونلا ایجاد می‌شود در سال ۱۹۸۴ به عنوان عامل تهدید کننده جدید و جدی جهت سلامت عمومی توسط سازمان بهداشت جهانی FAO اعلام گردید (۶). گاستروآنتریت حاد، تب روده ای تیفوئید یا پاراتیفوئید، عفونت های سیستمیک و گاهی سپتی سمی کشنده از جمله موارد ایجاد شده توسط سالمونلا هستند (۷).

سالمونلوزیس یکی از بیماری های عمده ناشی از مواد غذایی است که اخیراً منجر به نگرانی هایی در سطح بهداشت عمومی شده است (۸). اولین گزارش مربوط به شیوع عفونت غذایی ناشی از سالمونلا توسط گارتنر در سال ۱۸۸۸ در آلمان بود (۹). در مطالعات متعدد شیوع سالمونولوزیس در کشورهای مختلف از ۲/۷۴٪ تا ۳/۸٪ گزارش شده است (۸،۱۰). این باکتری تقریباً ۲۵ میلیون عفونت و حدود ۲۰۰۰۰۰ مرگ در سطح جهان ایجاد می نماید (۱۱). با توجه به میزان مرگ و میر بالا این مسأله به عنوان خطر جدی تلقی می‌گردد. نظر به پژوهش ها و اطلاعات آماری موجود محصولاتی از جمله گوشت مرغ، گوشت گاو، تخم مرغ، ماهی و شیر منشاء سالمونلوزیس های ناشی از مواد غذایی گزارش شده اند (۱۲).

سالمونلا از خانواده انتروباکتریاسه است. این باکتری گرم منفی، فاقد اسپور و میله ای شکل است که توسط فلاژل‌های اطرافی حرکت می کند (۱۳).

بر اساس آخرین طبقه بندی اعضای جنس سالمونلا به دو گونه *سالمونلا انتریکا* و *سالمونلا بونگوری* تقسیم می شود. *سالمونلا انتریکا*، بر اساس ویژگی های بیوشیمیایی و همولوژی DNA شامل ۷ زیر گونه است که هر کدام دارای شامل سروتایپ های مختلفی هستند. بیشتر آن ها برای انسان و حیوان بیماری زا هستند و عموماً انتقال بیماری از طریق آب و غذا صورت می گیرد (۱۴،۷). از بین سروتیپ های مختلف سالمونلا سروتیپ های *سالمونلا انتریتیدیس و سالمونلا تیفی موریوم* در مقام اول عفونت های غذایی قرار دارند و دارای شیوع گسترده ای در آسیا (کره، ژاپن و تایلند) می‌باشند (۱۵). *سالمونلا تیفی موریوم* از جمله گونه های است که علاوه بر دارا بودن میزبان های زیاد دارای مقاومت محیطی بالا نیز می باشند، لذا قدرت تکثیر و زنده به مدت طولانی در محیط و نمونه های غذایی را دارند (۱۶،۱۷). با توجه به اینکه سالمونلا به عنوان یک میکروارگانیسم مقاوم در مواد غذایی مطرح می باشد، آزمایش های میکروبیولوژی مواد غذایی برای حضور این پاتوژن الزامی است. روش های تشخیصی مولکولی مانند Multiplex PCR در کنار کشت و سایر روش های باکتری شناسی می تواند در تأیید تشخیص کمک کننده باشد (۱۲).

اگرچه مطالعات محدودی در خصوص بررسی وضعیت برخی مواد غذایی به سالمونلا در تعدادی از استان های کشور طی سالیان گذشته انجام شده، اما گزارش ثبت شده ای محدودی از مقاومت ضد میکروبی و ژن های حدت سالمونلاهای جدا شده از انواع گوشت قرمز و سفید در استان چهارمحال و بختیاری و استان های همجوار وجود دارد، لذا نظر به اهمیت گوشت و فرآورده های آن در رژیم غذایی و نقش گوشت در انتقال باکتری های بیماری زا چون سالمونلا، بر آن شدیم تا شیوع سالمونلا را در گوشت قرمز و مرغ عرضه شده به صورت بسته بندی و غیر بسته بندی را در شهرستان شهرکرد مورد بررسی قرار گیرد. علاوه بر آن عوامل حدت در سروتیپ های سالمونلا

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:54 +0330 on Saturday March 17th 2018

تیفی موریوم و سالموتلا اینترتیدیس به روش واکنش زنجیره ای پلیمراز مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی- مقطعی در فاصله زمانی مهر تا آذر سال ۱۳۹۳ از مناطق مختلف شهرستان شهرکرد ۳۶۰ نمونه گوشت شامل: ۸۹ نمونه گوشت مرغ، ۷۵ نمونه گوشت گوسفند، ۹۸ نمونه گوشت گاو، ۶۲ نمونه گوشت بز و ۳۶ نمونه گوشت شتر، به طور تصادفی ساده از قصابی ها و مراکز عرضه گوشت سفید و قرمز جمع آوری و در اسرع وقت در شرایط سترون به آزمایشگاه کنترل کیفی دانشگاه آزاد اسلامی منتقل شد.

۲۵ گرم از نمونه ها به ۲۲۵ سی سی محیط پیش غنی کننده آب پپتونه منتقل شد و در گرمخانه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. سپس یک سی سی از محیط پیش غنی کننده به محیط سلنیت سیستئن منتقل و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد، در ادامه از محیط سلنیت سیستئین در محیط *سالمونلا- شیگلا* آگار و برلیانت گرین آگار به صورت خطی کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت به ترتیب در دمای در ۳۷ درجه سانتی گراد و ۴۱ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. پرگنه های بی رنگ با مرکز سیاه در محیط *سالمونلا- شیگلا* آگار و پر گنه های زرد رنگ با مرکز سیاه در محیط برلیانت آگار به عنوان پرگنه‌های مشکوک انتخاب و جهت تست های تکمیلی چون تست اوره، TSI و IMVIC مورد آزمایش قرار گرفتند. باکتری هایی که از نظر آزمون های بیوشیمیایی، سالمونلا تشخیص داده شدند، جهت تأیید تشخیص به روش مولکولی مورد آزمایش قرار گرفتند.

جهت استخراج DNA باکتری های مورد نظر از روش جوشاندن استفاده شده است. به این منظور نمونه های تأیید شده آلوده به سالمونلا را در محیط آب پپتونه کشت داده بعد از گذشت ۲۴ ساعت ۱۰۰ میکرولیتر از کشت یک شبه باکتری در محیط مایع آب پپتونه با ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد پس از سانتریفوژ نمونه ها در دور rpm ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه مایع رویی رسوب به عنوان منبع DNA استفاده شد (۱۲).

آزمایش PCR جهت ردیابی ژن های مورد مطالعه شامل invA (جهت تشخیص جنس سالمونلا)، ژن STM4492 (جهت تشخیص گونه *سالمونلا تیفی موریوم*)، ژن sdf (جهت تشخیص گونه *سالمونلا انتریتیدیس*) و ژن های حدت invA، rfbJ، fliC، fliB، spV و sefA، توسط زوج پرایمرهای اختصاصی که به طور خلاصه در جدول شماره ۱ آورده شده انجام گردید (۱۹). برای انجام PCR از دستگاه Master cycle gradient (Ependorf) استفاده شد. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر واجد ۲/۵ میلی لیتر بافر PCR10X، ۱/۵ میلی لیتر کلرید منیزیوم، ۲۰۰ میکرومول dNTP Mix، ۱ میکرومول زوج پرایمر F,R، ۱ واحد آنزیم Tag DNA Polymerase و ۵ میکرولیتر از DNA مربوط به هر ایزوله انجام شد.

برنامه حرارتی مورد نظر با توجه به نوع ژن متفاوت بوده و به شرح زیر انتخاب گردید. برای ژن *invA* یک سیکل ۹۴ درجه به مدت ۶ دقیقه، ۳۴ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۱ دقیقه، ۵۹ درجه ۱ دقیقه و ۱۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۱ دقیقه و ۳۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۸ دقیقه. در مورد ژن های *STM4492* و *Sdf* یک سیکل ۹۴ درجه ۶ دقیقه، ۴۰ سیکل تکراری ۹۴ درجه ۵۰ ثانیه، ۵۶ درجه ۱ دقیقه، ۷۲ درجه ۷۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۸ دقیقه. در مورد ژن های *invA*، *rfbj*، *fliC* و *fljB* یک سیکل ۹۴ درجه 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 مورد ژن های *spV* و *sefA* یک سیکل ۹۴ درجه 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 (۲۰). جهت ردیابی محصول مورد نظر از ژل ۲٪ آگارز استفاده شد. جهت تهیه ژل ۲ گرم پودر آگارز در ۱۰۰ میلی لیتر بافر TBEذوب و بعد از اضافه کردن ۵ میکرولیتر رنگ DNA safe stain (ساخت شرکت سینا ژن- ایران) به آن در قالب مخصوص الکتروفورز ۰۹۶+ ریخته شد. برای

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:54 +0330 on Saturday March 17th 2018

انجام الکتروفورز ۱۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۳ میکرولیتر رنگ نشانگر که ترکیبی از رنگ برومو فنل بلو و یک ماده غلیظ و چسبنده مانند سوکروز یا گلیسرول می باشد. مخلوط و در چاهک ژل منتقل گردید. مولکول های DNA به دلیل دارا بودن گروه فسفات دارای بار منفی بوده و به سمت قطب مثبت حرکت می کنند. جهت تعیین اندازه باند مورد نظر در الکتروفورز از مارکر DNA استفاده گردید. الکتروفورز در ولتاژ ثابت ۹۰ ولت به مدت حدود ۳۰ دقیقه انجام گرفت (تصاویر شماره ۱ و ۲).

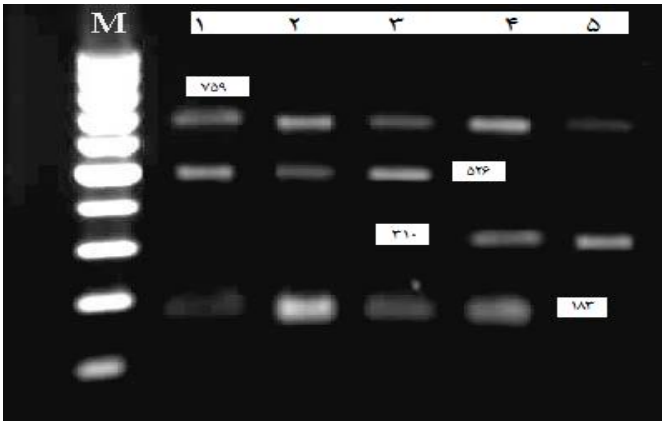
جدول شماره ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی ژن های مورد مطالعه در *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا اینترتیدیس*

نام ژن	نام پرایمر	توالی پرایمر ′۳-′۵	وزن محصول (bp)
InvA *	Styinva-JHO-2Right	AAACGTTGAAAAACTGAGGA	۱۹۹
	Styina-JHO-2left	TCGTCATTCCATTACCTACC	
Sdf	Sdf-F	AAATGTGTTTTATCTGATGCAAGAGG	۲۹۹
	Sdf-R	GTTCGTTCTTCTGGTACTTACGATGAC	
STM ٤٤٩٢	STM4492-F	ACAGCTTGGCCTACGCGAG	۷۵۹
	STM4492-R	AGCAACCGTTCGGCCTGAC	
invA	ST139-s	GTGAAATTATCGCCACGTTCGGGCAA	۲۸٤
	St141-as	TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	
rfbJ	Rfbj-s	CCAGCACCAGTTCCAACTTGATAC	٦٦۳
	Rfbj-as	GGCTTCCGGCTTTATTGGTAAGCA	
fliC	FLic-s	ATAGCCATCTTACCAGTTCCCCC	۱۸۳
	FLic-as	GCTGCAACTGTTACAGGATATGCC	
fljB	FLjb-s	ACGAATGGTACGGCTTCTGTAACC	٥۲٦
	FLjb-as	TACCGTCGATAGTAACGACTTCGC	
Spv	S1	GCCGTACACGAGCTTATAGA	۲٦۰
	S2	ACCTACAGGGGCACAATAAC	
sefA	SEFA2	GCAGCGGTTACTATTGCAGC	۳۱۰
	SEFA4	TGAGACAGGGACATTTAGCG	

*: ژن تعیین جنس سالمونلا.

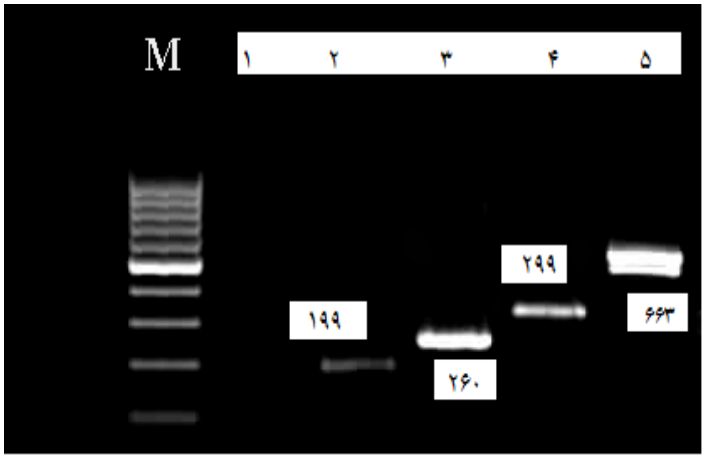
جهت آنالیز آماری نتایج حاصل از ردیابی سروتیپ های *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا اینترتیدیس* در نمونه های گوشت خام مورد مطالعه و بررسی انواع ژن های حدت از نرم افزار آماری SPSS و مدل های آماری مربع کای و دقیق فیشر با سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. در این آزمون ارتباط معنی داری بین دو داده در نظر گرفته شد.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:54 +0330 on Saturday March 17th 2018



تصویر شماره ۱: ژل حاصل از الکتروفورز محصول PCR

این ژل مربوط به ژن های STM4492 (۷۵۹ جفت باز)، sefA (۳۱۰ جفت باز)، fljC (۱۸۳ جفت باز) و fliB (۵۲۶ جفت باز) در سالمونلا تیفی موریوم می باشد. ستون M= مارکر ۱۰۰ جفت بازی DNA (فرمنتاس، لیتوانی).



تصویر شماره ۲: ژل حاصل از الکتروفورز محصول PCR

این ژل مربوط به ژن های invA (۱۹۹ جفت باز)، spv (۲۶۰ جفت باز)، sdf (۲۹۹ جفت باز) و rfbJ (۶۶۳ جفت باز) در سالمونلا اینترتیدیس می باشد. ستون M= مارکر ۱۰۰ جفت بازی DNA (فرمنتاس، لیتوانی).

یافته ها:

در مطالعه حاضر از روش کشت و PCR جهت شناسایی گونه های *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا اینترتیدیس* و تعیین فراوانی حضور انواع ژن های حدت ایزوله های جدا شده از گوشت های قرمز و سفید استفاده شد. جدول شماره ۲ آلودگی گوشت های قرمز و سفید به *سالمونلا تیفی موریوم و سالمونلا اینترتیدیس* را نشان می دهد. بر پایه این نتایج مجموعاً ۵۴ نمونه از ۳۶۰ نمونه گوشت قرمز و سفید به *سالمونلا* آلوده بودند. بیشترین شیوع آلودگی مربوط به نمونه گوشت مرغ (۳۱/۴۶٪) و به دنبال آن گوشت گاو (۱۳/۲۶٪)، گوشت بز (۸/۰۶٪)، گوشت گوسفند (۸٪) و گوشت شتر (۵/۵٪) بود.

با توجه به جدول شماره ۲ از بین ۵۴ ایزوله سالمونلای جدا سازی شده در مرحله کشت، بر پایه آزمون های واکنش زنجیره ای پلیمراز مشخص شد، ۲۴ نمونه آلوده به *سالمونلا تیفی موریوم*، ۲۰ نمونه آلوده به *سالمونلا اینترتیدیس* می باشند. همچنین در بین نمونه‌ها ۸ نمونه همزمان به *سالمونلا تیفی موریوم* و

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:54 +0330 on Saturday March 17th 2018

سالمونلا اینترتیدیس آلودگی وجود داشت، ۱۰ ایزوله مربوط به سایر سروتیپ های سالمونلا بود که تشخیص گونه نشد.

در بخش دیگری از مطالعه به بررسی ژن های حدت *invA, rfbj, fliC, fljB, spV, sefA* در گونه‌های *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا اینترتیدیس* جدا شده از نمونه ها پرداخته شد که نتایج نشان داد، تمام ایزوله ها حامل ژن های حدت *invA, rfbj, fliC, fljB, spV, sefA* بودند.

در تجزیه و تحلیل آماری نتایج اختلاف آماری معنی داری بین میزان آلودگی نمونه های گوشت شتر و گوشت مرغ مشاهده شد. در آزمون دقیق فیشر اختلاف آماری معنی داری بین آلودگی با سروتیپ *های سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا اینترتیدیس* در ایزوله های جدا شده از گوشت مرغ و نیز بین سروتیپ *سالمونلا اینترتیدیس* جدا شده از نمونه گوشت مرغ با گوشت شتر، گوسفند و بز مشاهده شد.

جدول شماره ۲: درصد فراوانی آلودگی نمونه های گوشت به *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا اینترتیدیس* در گوشت خام قرمز و سفید

نوع نمونه	تعداد نمونه	درصد فراوانی نمونه های سالمونلا مثبت	*سالمونلا تیفی موریوم*	*سالمونلا اینتریدیدیس*	آلودگی همزمان	سایر سروتیپ ها
گوشت گاو	۹۸	۱۳/۲۶	۷	٤	۳	۲
گوشت گوسفند	۷۵	۸	۳	۲	۱	۱
گوشت بز	٦۲	۸/۰٦	۳	۱	۱	۱
گوشت شتر	۳٦	۵/۵	۲	–	–	–
گوشت مرغ	۸۹	۳۱/٤٦	۹	۱۳	٤	٦
جمع کل	۳٦۰	۱۵	۲٤	۲۰	۸	۱۰

بحث:

طی سال‌های اخیر وقوع بیماری های میکروبی ناشی از مواد غذایی نه تنها در کشورهای در حال توسعه با فقر بهداشتی بلکه در کشورهای توسعه یافته با استاندارد بالای بهداشتی نیز رو به افزایش بوده است. باکتری سالمونلا از خطرناک ترین عوامل بیماری ناشی از غذا بوده است که دارای گسترش جغرافیایی وسیعی است و قادر به ایجاد عفونت در طیف وسیعی از موجودات زنده از جمله انسان، حیوانات و طیور می باشد (۲۱).

اولین قدم در راه حل مشکل، شناخت دقیق ابعاد و جزییات آن است که بدون ارزیابی دقیق میزان شیوع سالمونلا در گوشت‌های مختلف نمی توان به مشکلات پی برد و برای شناسایی منابع آلودگی روشی سریع، حساس و دقیق لازم است تا با دقت و سرعت بالا وجود سالمونلا را در مواد غذایی نشان دهد. زمان برای پیشگیری از فاجعه در حال وقوع ناشی از همه گیری سالمونلوز فاکتور بسیار مهمی است و می تواند منجر به قطع به موقع چرخه عفونت گردد (۲۲).

نتایج مطالعه حاضر طی کشت میکروبی، آزمون های بیوشیمیایی و تأیید تشخیص به روش واکنش زنجیره ای پلیمراز نشان داد که از میان ۹۸ نمونه گوشت گاو ۱۳/۲۶٪، ۷۵ نمونه گوسفند ۸٪، ۶۲ نمونه بز ۸/۰۶٪، ۳۶ نمونه شتر ۵/۵٪، ۸۹ نمونه مرغ ۳۱/۴۶٪ و در مجموع از ۳۶۰ نمونه ۵۴ نمونه ۱۵٪ آلوده به سالمونلا بودند.

در مطالعه Ejeta وهمکاران که به منظور شیوع سروتیپ های سالمونلا در گوشت گاو، گوسفند و

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:54 +0330 on Saturday March 17th 2018

خوک در اتیوپی انجام شد. ۷/۱۴٪ گوشت گاو، گوسفند و خوک آلوده به سالمونلا بوده‌اند (۲۳). بررسی حکیمی و همکاران در خصوص جدا کردن سالمونلا از وسایل و محل کار گوشت فروشی های تهران نیز نشان داد ۸٪ نمونه ها آلوده به سالمونلا بوده اند.۵/۳۷٪ *سالمونلا اینترتیدیس* از سالمونلاهای جدا شده، ۵۰٪ *سالمونلا تیفی موریوم* و ۵/۱۲٪ *سالمونلا پاراتیفی* B تعیین گردید. ۱۲٪ چرخ گوشت ها، ۸٪ تخته های برش، ۸٪ وسایل کار و ۴٪ یخچال های نمونه برداری شده به سالمونلا آلوده بودند و در مجموع در ۱۲٪ گوشت فروشی ها آلودگی سالمونلایی مشاهده شد که نشان دهنده چرخه روند انتقال آلودگی در طی مراحل فرآوری و توزیع گوشت است (۲۴). نصرتی و همکاران در مرکز درمانی بیمارستان مفید آلودگی گوشت گاو به سالمونلا را ۸/۸٪ اعلام نمودند. در حالی که آلودگی گوشت مرغ به سالمونلا دیده نشد (۲۱). نتایج تحقیقات فوق همگی بیانگر آلودگی سالمونلایی در گوشت قرمز می باشد که در تحقیق حاضر نیز چنین نتایجی حاصل شد. همچنین در مطالعه پورجعفر و همکاران، با بررسی ۳۸۴ نمونه گوشت شتر تک کوهانه کشتار شده در نجف آباد پرداخت که از این تعداد تنها سه مورد مثبت که شامل یک مورد آلودگی به *سالمونلا پارا تیفی* و دو مورد آلودگی به *سالمونلا تیفی موریوم* گزارش گردید که حاکی از آلودگی بسیار پایین گوشت شتر می باشد (۲۵).

در مطالعه ای که تاج بخش و همکاران بر روی گوشت مرغ انجام دادند، نشان داد ۲۸٪ از نمونه های گوشت مرغ آلودگی سالمونلایی داشته که از این تعداد ۵۰٪ آن را *سالمونلا تیفی موریوم* تشکیل داده است (۲۶). نتایج ممتاز و همکاران بر روی ۶۲۰ نمونه مرغ بیانگر آلودگی لاشه های مرغ به *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا اینترتیدیس* (به ترتیب ۴۲/۸٪ و ۳۵/۷٪ لاشه های آلوده به سالمونلا) می باشد (۲۰). در مطالعه ما نیز میزان *سالمونلا تیفی موریوم* از *سالمونلا اینترتیدیس* بیشتر می باشد. همچنین در پژوهش سلطان دلال و همکاران، ۸/۴۷٪ نمونه های گوشت مرغ و ۸/۲۸٪ از گوشت های قرمز به سالمونلا آلوده بودند که در این بین سهم *سالمونلا اینترتیدیس* ۸/۹٪ اعلام گردید (۱۸). در مطالعه ای دیگر Yang و همکاران انجام دادند، میزان آلودگی گوشت های مختلف به گونه های سالمونلا را در چین به شرح زیر گزارش کردند: ۵۴٪ از نمونه های مرغ، ۳۱٪ از نمونه های خوک، ۱۷٪ از نمونه های گاو و ۲۰٪ از نمونه های گوشت بره به سالمونلا آلوده بوده که از این میان *سالمونلا انتریتیدیس* ۵/۳۱٪، تیفی موریوم ۴/۱۳٪، سوبرا ۱۰٪ و ایندیانا ۷/۹٪ بیشترین شیوع را در گونه های یافت شده داشتند (۲۷). این تحقیق نیز بیانگر تعداد بیشتر آلودگی در گوشت مرغ نسبت به سایر گوشت ها می باشد که تأییدکننده نتایج حاضر می باشد.

بررسی ژن های حدت *invA, rfbj, fliC, fljB* از گونه های *سالمونلا تیفی موریوم* و ژن های حدت spv و sefA از *سالمونلا اینترتیدیس* جدا شده از نمونه های مورد مطالعه حاکی از آن است که تمام ایزوله ها حامل ژن های حدت مذکور بودند. به طور مشابهی مطالعه ای از عمادی چاشنی و همکاران در خصوص بررسی خصوصیات گونه های سالمونلا جدا شده از جوجه های کبابی در شمال ایران حاکی از حضور تمام ژن های حدت مورد اشاره در سالمونلای جدا شده از نمونه ها می باشد (۱۹). شایگان و همکاران نیز در بررسی فاکتورهای ویرولانس گونه های *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا اینترتیدیس* در شیر و فرآورده های لبنی نشان دادند که ژن های spv و sefA در تمام ایزوله های *سالمونلا اینترتیدیس* و ژن های *invA, rfbj, fliC, fljB* نیز در تمام ایزوله های *سالمونلا تیفی موریوم* حضور داشتند که نتایج مشابه نتایج تحقیق حاضر می باشد (۲۸). همچنین مطالعه ای از کوچک زاده و همکاران، حاکی از حضور ژن invA در تمام سالمونلاهای جدا شده از ۱۰۳ مدفوع حیوان مورد بررسی بوده است (۲۹).

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:54 +0330 on Saturday March 17th 2018

نتیجه گیری:

در مجموع نتایج مطالعه حاضر و مطالعات قبلی بیانگر آلودگی گوشت مرغ با فراوانی بیشتر و همچنین گوشت قرمز به سالمونلا می باشد و با توجه به اهمیت گوشت در رژیم غذایی و احتمال بروز عفونت از طریق گوشت های آلوده به سالمونلا تشخیص سریع آلودگی سالمونلایی اهمیت بیشتری پیدا می کند که روش واکنش زنجیره ای پلیمراز دارای حساسیت بالایی می باشد.

از این رو برای جلوگیری از آلودگی با سالمونلا بهسازی و تجهیز کشتارگاه های صنعتی، نظارت دقیق بهداشتی در مراحل مختلف کشتار و بسته بندی گوشت، رعایت اصول بهداشتی توسط کارگران، نظارت و کنترل مراحل مختلف نگهداری و انتقال اعم از سردخانه ها، ماشین های منتقل کننده به مراکز فروش برای جلوگیری از آلودگی متقاطع، رعایت موارد بهداشتی در مراکز عرضه گوشت توسط فروشنده ها، رعایت اصول HACCP و شناسایی نقاط بحرانی در پروسه تولید گوشت و ایجاد آگاهی عمومی آموزش روش های جلوگیری و سالم سازی مواد غذایی مشکوک از طریق پختن، انجماد و ... پیشنهاد می گردد.

تشکر و قدردانی:

این مقاله منتج از پایان نامه (کد ۱۳۳۳۰۵۰۷۹۳۱۰۱۱ مورخ ۹۳/۵/۱) در رشته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد می باشد که بدینوسیله از کلیه افرادی که در انجام این پایان نامه همکاری نموده اند، سپاسگزاری می نماییم.

منابع:

1. Egli T, Koster W, Meile L. Pathogenic microbes in water and food: Changes and challenges. FEMS Microbiol Rev. 2002; 26(2): 111-2.
2. Todd E. Epidemiology of foodborne diseases: A worldwide review. World Health Stat Q. 1996; 50(1-2): 30-50.
3. Soltan Dallal MM, Khalilian M, Masoumi Asl H, Bakhtiari R, Davoodabadi A, Rajabi Z. Identification of Salmonella serotypes in foodborne outbreaks by sequencing of ITS region of 16S-23SrRNA. J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 18(1): 73-80.
4. Van Nierop W, Duse A, Marais E, Aithma N, Thothobolo N, Kassel M, et al. Contamination of chicken carcasses in Gauteng, South Africa, by Salmonella, Listeria monocytogenes and Campylobacter. Int J Food Microbiol. 2005; 99(1): 1-6.
5. Petersen KE, James WO. Agents, vehicles, and causal inference in bacterial foodborne disease outbreaks: 82 reports (1986-1995). J Am Vet Med Assoc. 1998; 212(12): 1874-81.
6. Gallegos-Robles MA, Morales-Loredo A, Alvarez-Ojeda G, Osuna-Garcia JA, Martinez IO, Morales-Ramos LH, et al. PCR detection and microbiological isolation of Salmonella spp. from fresh beef and cantaloupes. J Food Sci. 2009; 74(1): M37-40.
7. López FE, de las Mercedes Pescaretti M, Morero R, Delgado MA. *Salmonella Typhimurium* general virulence factors: A battle of David against Goliath? Food Res Int. 2012; 45(2): 842-51.
8. Freitas CG, Santana AP, Silva PH,Goncalves VS, Barros Mde A, Torres FA, et al. PCR multiplex for detection of Salmonella Enteridis, Typhimurium and occurrence in pouitry meat. Int J Food Microbiol. 2010; 139: 15-22.
9. Amirmozaffari N, Rahmani Z, Iesazadeh K. Evaluation of the Level of Contamination with Salmonella spp. in Red Meat, Chicken, and Domestic and Industrial Eggs Produced in Talesh City and Assessment of Their Antibiotic Resistance Pattern, Iran. Qom Univ Med Sci J. 2013; 7(5): 60-6.
10. Jamshidi A, Bassami MR, AfshariNic S. Identification of salmonella SPP and by a multiplex PCR-based assay from poultry carcasses in Mashhad-Iran. Int Vet Res. 2009; 3(1): 43-8.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:54 +0330 on Saturday March 17th 2018

11. Ngan GJ, Ng LM, Lin RT, Teo JW. Development of a novel multiplex PCR for the detection and differentiation of Salmonella enterica serovars Typhi and Paratyphi A. Res Microbiol. 2010; 161(4): 243-8.
12. Saroj SD, Shashidhar R, Karani M, Bandekar JR. Rapid, sensitive, and validated method for detection of Salmonella in food by an enrichment broth culture - nested PCR combination assay. Mol Cell Probes. 2008; 22(3): 201-6.
13. Harvey RA, Champe PC, Fisher BD. Microbiology. 2nd ed. Philadelphia: Mosby; 2007: 115-8.
14. Oosterom J. Epidemiological studies and proposed preventive measures in the fight against human salmonellosis. Int J Food Microbiol. 1991; 12(1): 41-51.
15. Solhan S, Chan PP, Kurupatham L, Foong BH, Ooi PL, James L, et al. An outbreak of gastroenteritis caused by Salmonella enterica serotype Enteritidis traced to cream cakes. Western Pac Surveill Response J. 2011; 2(1): 23-30.
16. Karami A, Ranjbar R, Ahmadi Z, Safiri Z. Rapid detection of different serovares of Salmonella entrica by multiplex PCR. Iran J Publ Health. 2007; 36(2): 38-42.
17. Skjolaas K, Burkey T, Dritz S, Minton J. Effects of Salmonella enterica serovars Typhimurium (ST) and Choleraesuis (SC) on chemokine and cytokine expression in swine ileum and jejunal epithelial cells. Vet Immunol Immun. 2006; 111(3): 199-209.
18. Soltan Dalal MM, Taremi M, Modaesi S, Zolfaghareyan K, Moezardalan S, Zali M. Prevalence of Salmonella serotype in meat and poultry and detection of antibiotic resistance in Tehran. Pajohandeh 2007; 3(57): 245-252.
19. Emaddi Chashni S, Hassanzadeh M, Bozorgmehri Fard M, Mirzaie S. Characterization of the Salmonella isolates from backyard chickens in north of Iran, by serotyping, multiplex PCR and antibiotic resistance analysis. Arch Razi Inst. 2009; 64(7): 77-83.
20. Momtaz H, Ghaedamini M, Momeni M. Detection of virulence factors in Salmonella typhimurium and Salmonella enteritidis serotypes isolated from chicken meat in Chaharmahal va Bakhtiari Province of Iran. J food Microbiol. 2014; 1(1): 17-22.
21. NosratiSh, Sabokbar A, Dezfolian M, Taraei B, Falah F. Prevalence of Salmonella serotype typhimurium, *S.Enteritidis* in food from Mofid Hospital. J Res Med Sci. 2012; 36(1): 43-8.
22. Hoseynpour M, SabokbarAzar, Bakhtiari A, Parsa Sh. Comparison of bacterial culture, elisa and pcr techniques for detection of salmonella in poultry meat samples collected from Tehran. J Microb World. 2013; 6(20: 62-72.
23. Ejeta G, Molla B, Alemayehu D, Muckle A. Salmonella serotypes isolated from minced meat beef, mutton and pork in Addis Ababa, Ethiopia. Rev Med Vet. 2004; 155: 547-51.
24. Hakimi Najafabadi S. Isolation of Salmonella from Tehran butcheries and their utensils and equipments. 7th Iran Congress of Microbiology, Semnan, Iran; 2004.
25. Pourjafar M, Mahzounieh M, Zahraei Salehi T, Habibollahi Khorasgan A. The serological survey of salmonella infection incamels (camelus dromedarius) of Najafabad, Iran. Iran J Vet Clinic Sci. 2010; 3(2): 29-36.
26. Tajbakhsh F, Tajbakhsh E, Khamesipour F. Isolation and identification of serotype from chicken meet in Isfahan city. Iran J Infect Dis Trop Med. 2015; 20(68): 75-9.
27. Yang B, Qu D, Zhang X, Shen J, Cui S, Shi Y, et al. Prevalence and characterization of Salmonella serovars in retail meats of marketplace in Shaanxi, *China*. Int J Food Microbiol. 2010; 141(1): 63-72.
28. Shayegannia S, Rostami F, Safarpouur Dehkordi F, Rahimi E, Yahaghi E, Khodaverdi DE, et al. Isolation and evaluation virulence factors of and salmonella intertidis in milk and dairy products. Iran J Med Microbiol. 2014; 8(1): 54-61.
29. Oskouizadeh K. Detection of Salmonella spp. from some wild captive herbivores in Iran and determination of serogroup, antibiotic susceptibility and presence of invA gene in the isolated strains. Arch Razi Institute. 2015; 70(2): 81-7.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2017; 19(2): 88-97. **Original article**

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:54 +0330 on Saturday March 17th 2018

Prevalence of *Salmonella enteritidis* and *S. typhimurium* in marketed meat in Shahrekord in 2014

Zahedi M[1], Rahimi E[2*], Zahedi M[3], Momtaz H[1], Shojaii H[4]
[1]Biology Dept., Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, I.R. Iran; [2]Food Hygiene Dept., Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, I.R. Iran; [3]Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; [4]Microbiology Dept., Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran.
Received: 30/Apr/2016 Accepted: 19/Sep/2016

Background and aims: Salmonella, which causes different diseases in human, such as typhoid, paratyphoid, septicemia, and salmonellosis (food poisoning). Food products such as meat and raw milk are the most common sources of human salmonella infection. Therefore, in this research, it was studied the *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* contamination of raw red and white meat in Shahrekord.
Methods: This was a cross-sectional study, 360 samples of different types of meat (98 samples of cow, 36 samples of camel, 75 samples of sheep, 62 samples of goat, and 89 samples of chicken) were collected from sale centers in Shahrekrd town, and was tested about contamination by bacterial culture, biochemical, and PCR tests. In the following, *S.typhimurium* and *S.entertidis* isolated on the bases of intensity gens *invA, rfbj, fliC, fljB, spV, sefA* were studied.
Results: In this study, 54 meat samples were contaminated with salmonella. The highest rate of contamination was observed in chicken (31.64%) while the contaminated rate in cow, goat, sheep, and camel was 13.26%, 8.06%, 8%, and 5.5%, respectively. In addition, out of 54 isolated, 24 were contaminated with and 20 with *Salmonella entertidis*. The rest 10 isolated were contaminated with other serotypes. Prevalence of intensity gens of isolations show that all of them included reviewed gens.
Conclusion: The findings show that the red and white meat is contaminated with salmonella. Therefore it is necessary to reduce this contamination in slaughterhouses with hygienic controls and strict supervision.

***Keywords: Salmonella tiphimurium, Salmonella enteritidis*, Red meat, Chicken meat.**

Cite this article as: Zahedi M, Rahimi E, Zahedi M, Momtaz H, Shojaii H4. Prevalence of *Salmonella enteritidis* and *S. typhimurium* in marketed meat in Shahrekord in 2014. J Shahrekord Univ Med Sci. 2017; 19(2): 88-97.

[*]**Corresponding author:**
Food Hygiene Dept., Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, I.R. Iran. Tel: 00989133278377, E-mail: ebrahimrahimi55@yahoo.com