zoonosis.ir

مجله بیماری های قابل انتقال بین انسان و حیوان

مقاله کوتاه

بررسی میزان شیوع باکتری *بروسلا* در نمونه های شیر خام و پنیر محلی گوسفندی عرضه شده در شهرستان فارسان از توابع استان چهارمحال بختیاری به روش PCR

مائده سجادیان*، مجتبی زنگنه، مهدی بهمن دهکردی، عیسی عباسی بیرگانی، عبدالجلیل ریگی، هلن حنایی اهواز

دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

***نویسنده مسئول:** maedeh.sa5966@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۲۰

چکیده

سلامت شیر و فرآورده های آن به دلیل ارزش بالای غذایی آن‌ها در تغذیه انسان از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشد. این میان وعده مغذی، یکی از مهم‌ترین منابعی است که توسط عوامل میکربی آلوده می‌شود. *بروسلا* یک کوکوباسیل گرم منفی می‌باشد که میزبان‌های آن شامل انسان، گاو، بز و گوسفند می‌باشد. *بروسلا* از طریق شیر و فراورده‌های لبنی انتقال یافته و در انسان سبب ایجاد تب مالت می‌شود. روش‌های سرولوژیک تشخیص *بروسلا* از حساسیت و دقت کافی برخوردار نبوده و دارای نتایج مثبت و منفی کاذب فراوانی می‌باشند.

در این مطالعه ۲۰ نمونه شیر خام و ۲۰ نمونه پنیر محلی از سطح شهرستان فارسان جمع آوری گردید. DNAی نمونه‌ها به وسیله کیت DNP استخراج گردید. پس از بهینه نمودن راند اول و دوم تست، PCR حساسیت و اختصاصیت آن مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس تمامی نمونه‌ها به وسیله تست PCR بهینه شده مورد بررسی قرار گرفتند.

از ۲۰ نمونه شیر خام، یک نمونه (معادل ۵درصد) PCR مثبت و از ۲۰ نمونه پنیر محلی نمونه PCR مثبت مشاهده نشد.

از آنجا که شیر به عنوان یک میان وعده بسیار مغذی و مفید مورد استفاده عموم قرار می گیرد، نتایج بدست آمده نشانگر این مطلب می‌باشدکه علیرغم تلاش‌های صورت گرفته جهت جلوگیری از بیماری بروسلوز، هنوز هم احتمال آلودگی شیرخام، در نواحی مختلف، به باکتری *بروسلا* وجود دارد.

کلمـات کلیدی : *بروسلا*، شیر، پنیر محلی

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-20]

[DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.4.3.4]

مقدمه

سلامت شیر و فرآورده‌های آن به دلیل ارزش بالای غذایی آن‌ها در تغذیه انسان از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشد.این میان وعده مغذی، یکی از مهم‌ترین منابعی است که توسط عوامل میکروبی آلوده می‌شود. بروسلاها باکتری‌های گرم منفی کوچک، داخل سلولی اختیاری، شدیدا هوازی و سخت رشدی هستند که در گاو، گوسفند، بز و انسان ایجاد بروسلوز، بیماری مشترک بین انسان و دام می‌کنند (۱). بروسلاها بر اساس تفاوت در میزبان اصلی و بیماری‌زایی به شش گونه طبقه بندی می‌شوند. *بروسلا آبورتوس*(*B. abortus*) عامل تب مالت گاوی می‌باشد که در انسان ایجاد تب مواج (بروسلوز) می‌نماید، البته این بیماری توسط گونه های *(B.melitensis)*، *بروسلا سویس*(*B. suis*) *و بروسلا کانیس*(*B.canis*) هم ایجاد می‌شود (۲). گونه‌های *بروسلا* می‌توانند در گوشت یخ زده، به مدت سه هفته، در شیر خام به مدت ۱۰ روز، در پنیر تازه تا سه ماه و در بستنی و خامه نیز تا مدتی زنده بمانند. این میکروارگانیسم‌ها در حرارت ۶۰ درجه سانتی گراد یا در اثر مجاورت با فنول یک درصد در عرض ۱۵ دقیقه از بین می روند ولی در طبیعت می توانند تا مدت‌ها زنده باقی بمانند (۳). بروسلوز مشکل بهداشتی در سطح جهان است. این بیماری در تمام نقاط دنیا وجود داشته و فقط ۱۷ کشور جهان به عنوان کشور عاری از بروسلوز شناخته شده‌اند. از طرف دیگر علی رغم کوشش‌های بسیار جهت ریشه کنی بیماری در بسیاری از کشورها تعداد موارد بروسلوز در حیوانات و انسان رو به افزایش است. یکی از راه‌های اصلی انتقال بیماری بروسلوز به انسان از طریق مصرف شیر و فرآورده‌های آن است. در نتیجه این بیماری از نظر بهداشت عمومی بسیار حائز اهمیت است (۴). روش‌های تشخیص بروسلا شامل کشت، روش های سرولوژیک بر مبنای واکنش آنتی‌ژن آنتی‌بادی می‌باشد که شامل تست‌های مختلفی مانند SAT[1]، RBT[2] کومبس ایمونواسی وابسته به آنزیم و تست پوستی می‌باشد. علی رغم توسعه فراوان و دسترسی آسان تست‌های سرولوژیک مشکل مهم این تست‌ها ایجاد نتایج مثبت کاذب به دلیل واکنش متقاطع با، آنتی ژن های سایر میکروارگانیسم‌ها مانند *یرسینیا انتروکولیتا*[3]، *سالمونلا اورینتالیس*[4] *ویبرو کلرا*[5]، *فرانسیلا تورانسیس*[6]*اشریشیاکلی*[7] می‌باشد (۶ و ۵). بنابراین ایمنی در مقابل این عوامل باعث ایجاد نتایج مثبت کاذب می‌شود بعلاوه این روش‌ها قابلیت تشخیص بیماری در هفته‌های اول آلودگی را نداشته، بنابراین استفاده از روش‌های مولکولی به عنوان تست‌های تاییدی ضرورت یافته است. روش‌های مولکولی بسیاری، از جمله PCR و مشتقات آن، تکنیک‌های بر مبنای بر هیبریداسیون، مالتیپلکس PCR[8]، SNP[9]، NASBA[1] مبنای تشخیص اسید نوکلئیک توسعه یافته‌اند (۷). یکی از مشتقات PCR تکنیک PCR Nested می‌باشد که راه حلی برای افزایش حساسیت و دقت PCR است و جداسازی محصول اختصاصی مورد نظر را از بین انبوه محصولات غیر اختصاصی میسر می‌سازد. در این روش از دو جفت پرایمر استفاده می‌شود طوری که جفت دوم در بین جفت اول جای می‌گیرند ابتدا پرایمرهای اول (پرایمر بیرونی) اضافه می‌شوند و باعث تکثیر قطعاتی از DNA می‌شوند که احتمالا تعدادی از آن ها محصولات غیر اختصاصی‌اند. محصول PCR واکنش اول به عنوان DNA الگو برای PCR دوم در حضور پرایمرهای داخلی (پرایمردوم) که مکمل قسمت داخلی تر قطعه DNA مورد نظر است مورد استفاده قرار می‌گیرد. احتمال بسیار ضعیفی وجود دارد که محصولات غیر اختصاصی برای جفت پرایمر داخلی اختصاصی دیگرنیز دارای محل شناسایی باشند نتیجتاً این امر باعث افزایش نسبت محصول واقعی به محصول غیر اختصاصی خواهد شد (۸-۱۰).

[1]Serum Agglutination Test
[2] Rose Bengal Test
[3] Yersina enterocolitica
[4] Salmonella Orientalis
[5] Vibrio cholera
[6] Francisella tularensis
[7] Escherichia coli
[8] Multiplex PCR
[9] Single-nucleotide polymorphism
[1] Nucleic acid sequence based amplification

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-20]
[DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.4.3.4]

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌ها: در این بررسی ۲۰ نمونه شیر خام و ۲۰ نمونه پنیر محلی گوسفندی از سطح شهرستان فارسان جمع آوری گردید. استخراج DNA از سوش *Brucella. spp*: برای بهینه نمودن تست PCR جهت تشخیص بروسلا، DNA از سوش استاندارد این باکتری به روش جوشاندن وDNG cat:DN811530 استخراج گردید.

مواد لازم جهت تست PCR : هر واکنش شامل پنج میکرولیتر الگو (DNA استخراجی از نمونه) ۲/۵ میکرولیتر از 10X PCR Buffer، یک میکرولیتر از هر یک از دو پرایمر (Bru Up Low،Bru) ۱۰ mM ، ۰/۷۵ میکرولیتر از ۵۰ mM MgCl2، ۰/۵ میکرولیتر از ۱۰mM dNTP ، ۰/۴ میکرولیتر Taq DNA Polymerase 5 u/µl در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر می‌باشد. واکنش مرحله دوم با همان مقادیر بهینه گردید. در واکنش مرحله دوم به جای DNA الگو از محصول راند اول استفاده شد. پرایمرهای مورد استفاده در مرحله دوم شامل پرایمرهای Bru Up, Bru In می باشد. توالی پرایمرها به قرار ذیل می‌باشد.

توالی پرایمر	پرایمر
5` GGG CAA GGG TCG GTG TTT3`	Bru Low
5` GGG ACG GGC AGG CGA GAG3`	Bru In
5` GGG CAA GGT GGA AGA TTT 3`	Bru up

چرخه دمایی واکنش PCR: در مرحله اول واکنش به صورت دمای دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت سه دقیقه، دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، چسبیدن در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و پلیمریزاسیون در دمایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه به تعداد ۴۰ سیکل، بهینه گردید. بعلاوه مرحله دوم واکنش به صورت دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و چسبیدن در۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و پلیمریزاسیون در دمایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه به تعداد ۴۰ سیکل، بهینه شد (۱۱).

ارزیابی محصول PCR: برای بررسی محصول تکثیر یافته از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده گردید، رنگ آمیزی ژل با استفاده از سایبر گرین SYBR safe (۰۰۰۱/۰ سیناژن) انجام شد.

بررسی حساسیت تست PCR: برای برآورد میزان *بروسلا* در یک حجم معین، از رقت‌های متوالی کشت بروسلا (از یک میلیون تا ۱۰پارتیکل) DNA استخراج و تست PCR با DNAی با تعداد مشخص انجام شد.

بررسی اختصاصیت تست PCR: جهت تأیید تست اختصاصیت، PCR بهینه شده با DNA استخراج شده و چند میکروارگانیسم از جمله ویروس *هرپس سیمپلکس(HSV)*، *سایتومگالوویروس*(CMV)، *وارسیلا زوستر*(VZV)، *هپاتیتB(HBV)*، *هپاتیتC(HCV)*، *ساکارومیسس سرویزیه (Saccharpmices)*، DNA انسانی، DNA موش به همراه کنترل منفی مورد مطالعه قرار گرفت.

انجام تست PCR برای شناسایی *بروسلا* در نمونه ها: در این مطالعه ۴۰ نمونه DNA محصول لبنی (شامل ۲۰ نمونه شیر خام، ۲۰ نمونه پنیر سنتی) جمع آوری گردید. DNA ی نمونه‌های هر جمعیت به عنوان الگو در تست PCR مورد ارزیابی قرار داده شد.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-20]
[DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.4.3.4]

نتـــایج

نتیجه بهینه سازی راند اول تست PCR: محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد بارگذاری شد. اندازه قطعه بدست آمده با استفاده از پرایمرهای بیرونی (مرحله اول) bp ۴۴۳ می‌باشد.

نتیجه بهینه سازی محصول مرحله دوم تست PCR`: DNA الگوی مورد استفاده در این واکنش، محصول واکنش مرحله اول می‌باشد. محصول تکثیر شده را در کنار نمونه کنترل منفی و سایز مارکر بر روی ژل الکتروفورز مورد ارزیابی قرار داده شد. باند حاصل از محصولPCR، در مرحله دوم واکنش ۲۲۵ جفت باز طول داشت. نتایج مربوط به آزمون‌های PCR انجام شده بر روی نمونه‌های شیرخام : از۲۰ نمونه شیر غیر پاستوریزه (خام) در یک نمونه در دور اول تست PCR مثبت ارزیابی گردید.

نتایج مربوط به آزمون های PCR انجام شده بر روی نمونه‌های پنیر محلی گوسفندی از ۲۰ نمونه پنیر سنتی در هیچکدام تست PCR مثبت ارزیابی نگردید.

نتیجه تعیین اختصاصیت آزمون PCR بهینه شده: برای تعیین اختصاصیت تست PCR بهینه شده تا ۱۰۰پارتیکل محاسبه گردید. تست PCR بهینه شده از اختصاصیت بسیار بالایی برخوردار بود به طوری که به جز DNA بروسلا با هیچ کدام از DNAهای مورد مطالعه واکنشی صورت نگرفت.

شیر و فراورده‌های لبنی به لحاظ دارا بودن ارزش غذایی بالا، در تغذیه انسان دارای نقش به سزایی هستند. از سوی دیگر به علت دارا بودن اکثر عناصر و ترکیبات غذایی، محیط بسیار خوبی جهت رشد و فعالیت بسیاری از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌باشند. بنابراین عدم رعایت اصول بهداشتی در تهیه و نگهداری فراورده‌های لبنی، عوارض و خطرات بهداشتی عدیده‌ای را در مصرف کنندگان این قبیل مواد غذایی به همراه خواهد داشت. بروسلوز یکی از خطرناک‌ترین بیماری‌های عفونی است که از طریق مصرف شیر و فراورده‌های لبنی آلوده به انسان انتقال می‌یابد. پنیرهای تازه به دلیل آن که از شیر غیر پاستوریزه تهیه و نیز فرایند تخمیری در آن به طور کامل صورت نمی‌گیرد. در صورت آلوده بودن، به راحتی عامل تب مالت را در خود حفظ نموده و به مصرف کنندگان آن منتقل می‌نماید. از آنجایی که عامل بیماری بروسلوز (تب مالت) از طریق ترشحات شیر دام‌های آلوده دفع می‌گردد، مصرف فراورده‌های شیری غیر پاستوریزه در مناطق آلوده به بروسلوز یکی از عمده‌ترین راه‌های انتقال بیماری تب مالت به انسان محسوب می‌شود. عامل بیماری بروسلا یک کوکوباسیل کوچک، غیر متحرک، گرم منفی و بدون اسپور می‌باشد که در محیط هوازی رشد می‌نماید. در مقابل خشک شدن نسبتاً مقاوم بوده و مدت طولانی در دمای پایین زنده می‌ماند، مواد ضد عفونی کننده مانند فرمالدئید، هیپوکلریت و فنل میکروارگانیسم را از بین می‌برند. این میکروب با پاستوریزاسیون نیز کشته می‌شود (۱۲-۱۴). مصرف شیر خام و فراورده‌های لبنی آلوده غیر پاستوریزه و یا نجوشیده مانند، خامه، پنیر تازه، بستنی، آغوز، معمول‌ترین و مهم‌ترین راه انتقال بیماری می‌باشد. همچنین مصرف فراورده‌های حیوانی آلوده سبب بروز بیماری در انسان می‌شود. مواد غذایی سنتی، نقش مهمی در انتقال بیماری دارند. با تحقیقات انجام شده توسط محققین، از هفت درصد پنیرهای تازه محلی عرضه شده در مغازه‌های مختلف موادغذایی در ایران، باکتری نوع بزی جداشده است. همچنین امکان جداسازی این باکتری تا ۱۱ هفته پس از تولید پنیر، از این فرآورده وجود داشته است (۱۵). گسترش جهانی بروسلوز، این بیماری را هنوز از معضلات جدی سلامتی در انسان و حیوانات اهلی بشمار می‌آورد. اگرچه آمار انتشار یافته از شیوع این بیماری در کشورهای مختلف متفاوت است، شیوع دقیق بروسلوز انسانی مشخص نیست ،اما آمار انتشار یافته بین ۰/۰۱ تا ۲۰۰ مورد و در ایران ۱۳۲/۴ در ۱۰۰۰۰۰ جمعیت است. لذا کنترل بیماری از اهمیت خاصی برخوردار است (۲و۱۳). روش‌های سرولوژیک تشخیص بروسلوز انسانی شامل آزمایش های رز بنگال، سروآگلوتیناسیون، رایت، ۲- مرکاپتواتانول، ثبوت عناصر مکمل و آنتی‌گلوبولین کومبس

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-20]

[DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.4.3.4]

صورت می‌گیرد. اکثر بیماران مبتلا به بروسلوز حاد در تمامی آزمایش‌ها واکنش مثبت نشان می‌دهند. معمولاً آزمایش‌های رزبنگال و رایت به جهت آن‌که هر دو ایمونوگلوبولین G و M در آن‌ها دخالت دارند زودتر از دیگر آزمایش‌ها واکنش نشان می‌دهند. در آزمایش‌های ۲- مرکاپتواتانول و ثبوت عناصر مکمل IgG مداخله نموده که از نظر تفکیک وضعیت ایمنی یا عفونت مفید می‌باشد. در مواردی که آنتی بادی‌ها وجود داشته باشند آگلوتیناسیون واضح ایجاد نمی‌نمایند آزمایش کومبس از ارزش خاصی برخوردار است. آنتی‌ژن‌های بروسلا، آنتی‌ژن‌های A و M هستند که به لیپو پلی‌ساکارید دیواره سلول باکتری مربوط می‌باشد. ضمناً بروسلا آنتی‌ژن مشترک با ویبره کلرا داشته و واکسیناسیون بر علیه و با تیتر آنتی‌بادی بروسلا را به صورت کاذب با بعضی از آنتی‌ژن‌ها ساخته شده بالا می‌برد(۱۸-۱۶). مهم‌ترین شکل استفاده از روش‌های سرولوژیک نتایج مثبت کاذب ناشی از واکنش متقاطع سایر آنتی‌بادی‌های باکتری‌ها با آنتی‌ژن بروسلا می‌باشد. بنابراین به منظور تشخیص دقیق بروسلوز بکارگیری روش‌های مکمل روش‌های سرولوژیک باید بکار گرفته شود (۲۰-۱۸). اکبر مهر در سال، ۱۳۸۰ میزان آلودگی پنیرهای محلی تازه شهرستان سراب را به *بروسلا* مورد بررسی قرار داد. مطالعات وی نشان داد که ۱۰۰۰ نمونه پنیر محلی مورد مطالعه ۳۲ نمونه به بروسلا آلوده بودند که از این تعداد هفت نمونه به *بروسلا ملی تنسیس* و ۲۰ نمونه به *بروسلا آبورتوس* آلوده بودند. روش مورد استفاده در این مطالعه کشت در محیط آگار اکسپاندا بود (۱۲). حسین دوست و همکاران در ۱۳۸۴ دو روش کشت و PCR را برای تشخیص *بروسلا آبورتوس* مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها ژن ISV11 را هدف قرار دادند. نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد که از ۴۲ نمونه سرولوژیک مثبت، تنها شش نمونه کشت مثبت بودند. به علاوه نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد که حساسیت کشت ۴۰درصد و حساسیت PCR ۶۰ درصد دیده شد (۲۱). پیری دوگاهه و همکاران در سال ۱۳۸۹ از تکنیک PCR برای تشخیص بروسلوز انسانی در نمونه های سرم و خون استفاده نمودند. ژن هدف مورد مطالعه آن ها پروتئین KDa ۳۱ آنتی ژن بروسلا بود و نتایج مطالعه آن ها نشان داد که از ۱۰۲ فرد مشکوک به بروسلوز، ۵۶ نمونه خون و ۶۸ نمونه سرم PCR مثبت بودند. آن ها بیان کردند که حساسیت تست PCR تهیه شده در این مطالعه حساسیت بالاتری بر روی سرم نسبت به خون کامل دارد (۲۲).

در این مطالعه از تکنیک Nested PCR استفاده شد که نسبت به PCR از حساسیت و اختصاصیت بسیار بالاتری برخوردار بود چرا که از سه پرایمر استفاده کرده و احتمال ایجاد نتایج غیراختصاصی به مراتب کاهش می‌یابد. بعلاوه با استفاده از دو مرحله PCR پی در پی حساسیت تست به شدت افزایش یافت. به طوری که در مرحله اول فاقد نتایج مثبت ولی در مرحله دوم نتایج مثبت دیده شد. نمونه‌هایی که در مرحله اول به دلیل مقدار کم DNA و واکنش ضعیف منفی گزارش شده بودند در مرحله دوم واکنش شدت یافته بطوری که در مرحله دوم نتیجه واکنش مثبت شد. با توجه به نتایج می‌توان بیان کرد تکنیک Nested PCR یک روش قابل اطمینان با حساسیت و دقت بالاست به طوری که قادر به شناسایی عامل بیماری‌زا حتی در نمونه‌های پنیر پاستوریزه است.

نتیجه‌گیری کلـــی و پیشنهادها

از آنجا که شیر به عنوان یک میان وعده بسیار مغذی و مفید مورد استفاده عموم قرار می‌گیرد، با توجه به نتایج حاصله از این پژوهش و سایر پژوهش‌های صورت گرفته توسط سایر محققین در ایران و سایر کشورها، لازم است که به جهت جلوگیری از بروز بیماری بروسلوز و همچنین بیماری‌های گوارشی، از مصرف آن به صورت خام خودداری شده و فرآیند پاستوریزاسیون و یا جوشاندن شیر، جهت نابودی و غیر فعال شدن عوامل میکربی آن انجام پذیرد.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-20]
[DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.4.3.4]

تقــدیر و تشــکر

از تمامی کسانی که در جمع‌آوری نمونه همکاری کردند سپاسگزاریم.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تضاد منافعی بین نویسندگان وجود ندارد و این مقاله با اطلاع و هماهنگی آنها ارسال شده است.

فهرست منابع

[1]. Cutler SJ, Whatmore AM, Commander NJ. Brucellosis New Aspects of an Old Disease. Journal of Applied Microbiology, 2005; 98: 1270-1281.
[2]. Kechagia1 M, Mitka S, Papadogiannakis E, Kontos V, Koutis C. Molecular Detection of Brucella spp. DNA in Patients with Manifestations Compatible with Emotional Disorders. Open Forum Infectious Diseases, 2011; 5: 8-12.
[3]. Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-Based Diagnosis of Brucellosis. A Review of the Literature. Part II: Serological Tests for Brucellosis. Clinical Laboratory , 2003; 49(11-12(:577-89.
[4]. Erdenebaatar J. Epidemiological and Serological Survey of Brucellosis in Mongolia by ELISA Using Sarcosine Extracts. Medical Microbiology and Immunology , 2004; 48(8):571-7.
[5]. Wright PF, Tounkara K, Lelenta M, Jeggo MH. International Reference Standards: Antibody Standards for the Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. Revue scientifique et technique, 1997; 3: 824-832.
[6]. Memish ZA, Almuneef M, Mah MW, Qassem LA, Osoba AO. Comparison of the Brucella Standard Agglutination Test with the ELISA IgG and IgM in patients with Brucella Bacteremia. Diagnostic Microbiology Infectious Disease , 2002; 44: 129-132.
[7]. Gopaul KK, Kolass MS, Smith CJ, Whatmore AM. Rapid Identification of Brucella Isolates to the Species Level by Real Time PCR Based Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Analysis. BMC Microbiol, 2008; 8: 86.
[8]. Baily GG, Krahn JB, Drasar BS, Stoker NG. Detection of Brucella Melitensis and Brucella Abortus by DNA AmplificationJournal of Tropical Medicine and Hygiene, 1992; 95:271-275.
[9]. Nielsen K. Diagnosis of Brucellosis by Serology. Vet. Microbiol, 2002; 90: 447-459.
[10]. Shareef JM. A Review of Serological Investigations of Brucellosis among Farm Animals and Humans in Northern Provinces of Iraq (1974– 2004). Journal of Medicine, 2006; 53: 38–40.
[11]. Tantillo G, Di Pinto A, Buonavoglia C. Detection of Brucella Spp. in Soft Cheese by Semi-Nested Polymerase Chain Reaction. Journal of Dairy Research, 2003; 70: 245-247.
[12]. Akbarmehr J. Survery on the Contamination of Fresh White Cheese Produced in Sarab and Rural Area with Brucella Spp. Journal of Faculty Veterinary Med Univ Tehran, 2003; 58:3:203-206.
[13]. Kazemi B, Yousefi Namin SA, Dowlatshahi M, Bandepour M, Kafilzadeh F, Gachkar L, Mahmoudinejad F, Samarghandi A, Mardani M. Detection of Brucella by Peripheral Blood PCR and Comparison with Culture and Serological Methods in Suspected CasesIranian Journal of Public Health, 2008; 37:4:96-102.
[14]. Xavier M, Paixão T, B. den Hartigh A, Tsolis R, Santos R. Pathogenesis of Brucella Spp. open veterinary science journal, 2010; 4: 109-118.
[15]. Akbarmehr J, KhandaghiJ. A Survey on the Prevalence of Salmonella and Coliforms in Unpasteurized Iranian Cheese Using Conventional Culture Method. African Journal of. Microbiology Research, 2012; 6(5): 968-971.
[16]. Gulst ST, Khan A. Epidemiology and Epizootology of Brucellosis: A Review. Pakistan veterinary journal, 2007; 27(3(: 145-151.
[17]. Bricker BJ. PCR As a Diagnostic Tool for Brucellosis. Vet. Microbiol, 2002; 90: 435-446.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-20]

[DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.4.3.4]

[18].Hosseini-Doust SR , Ahmadi A , Ahmadi Z ,Hajia M, Safiri Z, Golmanesh L . Detection of Brucella Abortus by PCR Assay and Comparison with Culture Assay. Journal of Military Medicine, 2005; (3(:239-245.
[19].Al-Mariri A, H aj-Mahmoud N. Detection of Brucella Abortusin Bovine Milk by Polymerase Chain Reaction. ACTA VETERINARIA BRNO, 2010; 79: 277-280.
[20].Mensah G, Kwasi Addo K. Brucella Abortus Antibodies in Raw Cow Milk Collected from Kraals. Journal of Basic and Applied Scientific Research, 2011; 8: 942-947.
[21].Hosseini Doust SR, Ahmadi Z, Ahamdi A, Hajia M, Izadi M, Mohabati Mobarez A. Detection of Brucella Abortus by AlkB and IS711 Based Primers. Journal of Research in Medical Sciences, 2007;12(2(: 62-67.
[22].Peeri Dogaheh H, Valinejad Z, Pourfarzi F. Evaluation of Three DNA Extraction Methods for Detection of Brucella DNA in Human Serum Samples. Arak Medical University Journal ,2012; 14(6(3: 40-48.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-20]

[DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.4.3.4]

"This journal is following of Committee on Publication Ethics (COPE) and complies with the highest ethical standards in accordance with ethical laws".

Short Communication Article

Investigation of *Brucella* bacteria prevalence in samples of raw milk and local sheep cheese supplied in Farsan , Chaharmahal Bakhtiari province by PCR method

Maedeh Sajadian *, Mojtaba Zangeneh, Mehdi Bahmandehkordi, Eisa Abbasibirgani, Abdoljalil Rigi, Helen Hanaieahvaz

Phd student of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

***Corresponding author:** maedeh.sa5966@gmail.com

Received: 2023/02/09 Accepted: 2023/01/20

Abstract

Milk's healthand products are essential in human nutrition due to its high nutritional value. This nutritious snack is one of the most essential sources that microbial agents contaminate. *Brucella* is a Gram-negative coccobacillus whose hosts include humans, cattle, goats, and sheep. *Brucella* is transmitted through milk and dairy products and causes human malt fever. Serological methods for detecting *Brucella* do not have sufficient sensitivity and accuracy and have many false positive and negative results.

This study collected 20 samples of raw milk and 20 samples of local cheese from Farsan City. Became NA of samples extracted by the DNP kit. After optimizing the first and second rounds of the test, PCR sensitivity and specificity were evaluated. Then all the samples were analyzed by optimized PCR test.

Out of 20 raw milk samples, 1 sample (equivalent to 5%) was PCR positive; no PCR-positive sample was observed out of 20 local cheese samples.

Since milk is widely used as a very nutritious and useful snack, the results indicate that despite the efforts made to prevent brucellosis, there is still a possibility of raw milk contamination in the areas Different, there are Brucella bacteria.

Keywords:*Brucella*, milk, local cheese

How to cite this article: Sajadin M, Zangeneh M, Bahmandehkordi M, Abbasibirgani E, Rigim A, Hanaieahvaz H. Investigation of Brucella bacteria prevalence in samples of raw milk and local sheep cheese supplied in Farsan , Chaharmahal Bakhtiari province by PCR method. Journal of Zoonosis. 2023; 2 (4): 34 - 41.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-20]

[DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.4.3.4]