ژنوتایپینگ سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از شیر خام و فرآورده‌های لبنی

سولماز موسوی[1] ، فرهاد صفرپور دهکردی[*1] ، یوسف ولی زاده[1]

۱. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

[*]نویسنده مسئول: *F.safarpoor@ut.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۰۱

چکیده

تا کنون راه‌های انتقال و جنبه‌های اپیدمیولوژیکی *هلیکوباکتر پیلوری* به خوبی شناسایی نشده است. نقش آب و موادغذایی در انتقال *هلیکوباکتر پیلوری* به انسان محتمل است. مطالعه حاضر به منظور ژنوتایپینگ سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از نمونه‌های شیر خام و فراورده‌های لبنی جمع آوری شده از استان اصفهان انجام پذیرفت. در کل ۲۵۰ نمونه شیر و فراورده‌های لبنی جمع آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شد. استخراج DNA انجام و ردیابی ژن *16S rRNA* *هلیکوباکتر پیلوری* با استفاده از آزمون PCR انجام پذیرفت. نمونه‌های مثبت از نظر حضور ژنوتیپ‌های *VacA* و *CagA* مورد ارزیابی قرار گرفتند. از کل ۲۵۰ نمونه شیر و فراورده‌های لبنی، ۳۷ نمونه (۱۴/۸ درصد) آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* بودند. شیر گوسفند بیشترین (۲۵ درصد) و پنیر سنتی (۲ درصد) کمترین میزان آلودگی را داشتند. اختلاف معنادار آماری (p <0.05) بین نوع نمونه و میزان شیوع *هلیکوباکتر پیلوری* دیده شد. *VacA s1a* (۲۷/۰۲ درصد)، *VacA m1a* (۲۴/۳۲ درصد) و *CagA* (۲۱/۶۲ درصد) فراوان‌ترین ژنوتیپ‌های ردیابی شده بودند. ژنوتیپ‌های *s1am1a* (۱۶/۲۱ درصد) و *s1am2* (۵/۴۰ درصد) بیشترین فراورانی را در بین ژنوتیپ‌های ترکیبی داشتند. تشابه ژنوتیپی سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* نمونه‌های مختلف نشانگر یکسان بودن منبع آلودگی آنهاست. تشابه الگوی ژنوتیپی مطالعه ما و مطالعات انجام پذیرفته روی نمونه‌ها بالینی انسان نشان دهنده انتقال سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* از کارکنان آلوده مراکز شیردوشی و فروش شیر و فراورده‌های لبنی به نمونه هاست.

واژگان کلیدی: *هلیکوباکتر پیلوری*، ژنوتایپینگ، شیر، فراورده‌های لبنی.

مقدمه

امروزه اهمیت تغذیه سالم بر کسی پوشیده نیست و با وجود پیشرفت‌های زیاد تکنولوژی، انسان در قرن حاضر هنوز از بیماری‌های گوارشی ناشی از میکروب‌های منتقله از غذا رنج می‌برد. شیر به عنوان یک منبع سرشار از پروتئین، مواد معدنی و ویتامین‌ها روزانه توسط میلیون‌ها نفر در سراسر جهان مصرف می‌شود و در سبد غذایی اغلب خانواده‌ها قراردارد. مصرف شیر از ابتلا به پوکی استخوان جلوگیری می‌کند و حاوی اکثر مواد مغذی مورد نیاز انسان در طول روز است. بنابراین بهداشت این ماده غذایی بایستی از اهمیت بالایی برخوردار باشد. متأسفانه با وجود کنترل‌های دقیقی که بر روی بهداشت موادغذایی انجام می‌پذیرد، امروز گزارشات فراوانی از وقوع بیماری‌های عفونی ناشی از مصرف موادغذایی، در دسترس است (Scallan et al., 2011; Swartz, 2002; Vaillant et al., 2005). یکی از عوامل باکتریایی که به راحتی می‌تواند از طریق آلودگی‌های -ثانویه به موادغذایی خصوصا موادغذایی با منشا دامی، انتقال پیدا کند، *هلیکوباکتر پیلوری*، است (Kusters et al., 2006; Dunn et al., 1997). *هلیکوباکتر پیلوری* به عنوان عامل مساعد کننده زخم معده، گاستریت مزمن فعال، زخم دئودنوم، سرطان معده و لنفوم معده در انسان، شناخته شده است (Kusters et al., 2006; Dunn et al., 1997). علاوه بر این حضور باکتری در انسان با ایجاد یکسری بیماری خارج معده‌ای مانند کم خونی ناشی از فقر آهن و پورپورای ترومبوسیتوپنی نا شناخته (ITP)، ارتباط مستقیم دارد (Kusters et al., 2006; Dunn et al., 1997). با این که هنوز هم جنبه‌های زئونوز این باکتری، نامشخص است (Kusters et al., 2006; Dunn et al., 1997)، جداسازی و خصوصیت یابی آن از موادغذایی با منشا دامی اهمیت‌های

اپیدمیولوژیکی فراوانی دارد. حضور این باکتری در موادغذایی مختلف از جمله شیر به مراتب گزارش شده است (Esmaeili Goudarzi et al., 2006; Angelides et al., 2011). تاکنون موارد بسیار زیادی از وقوع بیماری‌های ناشی از *هلیکوباکتر پیلوری* در نقاط مختلف جهان (در اثر مصرف موادغذایی آلوده)، گزارش شده است (Herrera, 2004). میزان شیوع *هلیکوباکتر پیلوری* در کشورهای توسعه یافته حدود ۱۰ درصد و در کشورهای در حال توسعه حدود ۸۰ درصد برآورده شده است (Hunt et al., 2011; Niv and Hazazi 2008). تاکنون روش‌های متفاوتی به منظور بررسی ارتباط بین *هلیکوباکتر پیلوری* جداسازی شده از منابع مختلف، تدوین شده است (Alikhani et al., 2014; Cavalcante et al., 2012). ژنوتایپینگ با استفاده از فاکتورهای حدت متفاوتی مانند سایتوتوکسین خاص واکوئله (*VacA*) و ژن آ مرتبط با سایتوتوکسیسیت (*CagA*)، به عنوان یکی از کاربردی‌ترین روش‌ها شناخته شده است (Alikhani et al., 2014; Cavalcante et al., 2012). بررسی‌های متفاوت نشان دهنده حضور بالای ژنوتیپ‌های *VacA* و*CagA* در نمونه‌های بالینی هستند (Alikhani et al., 2014; Cavalcante et al., 2012). ژن *VacA* در تمامی زنجیره‌های *هلیکوباکتر پیلوری* حضور فعال دارد. این ژن چند شکلی بوده و شامل نواحی سیگنالی متفاوت از جمله s1 و s2 و همچنین نواحی بین منطقه‌ای m1 و m2 تقسیم بندی می‌شود. این در حالی است که ناحیه s1 به دو قسمت *slb* و *sla* و ناحیه m باکتری سبب سایتوتوکسیسیته بالاتر و عاملی برای پاتوژنیسیته باکتری، خواهند بود (Alikhani et al., 2014; Cavalcante et al., 2012). با توجه به اهمیت بسیار زیاد *هلیکوباکتر پیلوری* به عنوان یک عامل منتقله از طریق غذا و همچنین با توجه به این که شیر و فرآورده‌های لبنی از پر مصرف‌ترین موادغذایی در سراسر جهان و در بین تمام اقشار و سنین مختلف جامعه هستند مطالعه حاضر به منظور ژنوتایپینگ ژن‌های *CagA* و *VacA* باکتری *هلیکوباکتر پیلوری* جداسازی شده از شیر و فرآورده‌های لبنی تولید شده در شرایط سنتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌ها و جداسازی *هلیکوباکتر پیلوری*

بررسی حاضر یک بررسی تجربی، توصیفی و مقطعی می‌باشد که در تابستان سال ۱۳۹۳ بر روی نمونه‌های شیر خام و فراورده‌های لبنی جمع آوری شده از مراکز فروش استان اصفهان انجام پذیرفت. ابتدا ۲۵۰ نمونه شامل شیر گاو (۵۰ نمونه)، شیر گوسفند (۶۰ نمونه) و شیر بز (۶۰ نمونه) و همچنین بستی (۳۰ نمونه) و پنیر (۵۰ نمونه) جمع آوری شد. نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی از مراکز فروش استان اصفهان جمع آوری شد. فراورده‌های لبنی در شرایط سنتی تولید شده بودند. نمونه‌ها در شرایط کاملا استریل و در لوله‌های آزمایش در روز نمونه گیری در عرض ۲ تا ۴ ساعت در یخچال حاوی یخ و در دمای حدود ۴ درجه سانتی‌گراد به مرکز تحقیقات بهداشت موادغذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انتقال داده شد.

استخراج DNA و تایید حضور *هلیکوباکتر پیلوری*

DNA ژنومی از نمونه‌های شیر خام و فراورده‌های لبنی با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت سیناژن ایران و با توجه به دستورالعمل شرکت مورد نظر، استخراج شد. سپس نمونه‌های DNA در فریزر -۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)، قرار داده شد.آزمون PCR به منظور ردیابی ژن *16S rRNA* *هلیکوباکتر پیلوری* مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام واکنش PCR، ۵ میکرولیتر از DNA الگو، ۵ میکرولیتر DNTP، ۵ میکرولیتر PCR buffer 10X (۱۰ میکرومول تری HCl و ۱۵ میکرومول MgCl2)، ۰.۳ میکرو مول آنزیم Taq DNA Polymerase و ۳ میکرولیتر از هر کدام

از پرایمرها (پرایمر رفتی 5'-CTGGAGAGACTAAGCCCTCC-3' و پرایمر برگشتی 5'-ATTACTGACGCTGATTGTGC-3') (۱۱۰ جفت باز) (Ho et al., 1991) و آب مقطر استریل به محتویات افزوده شد تا حجم واکنش ۵۰ میکرولیتر شود. برنامه دمایی واکنش شامل یک سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۲ دقیقه، سپس ۳۰ سیکل تکراری شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه و یک مرحله تکثیر نهایی شامل ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۸ دقیقه، بود. واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر گرادیانت (اپندورف، آلمان) انجام پذیرفت.

ژنوتایپینگ سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری*

نمونه‌های مثبت از نظر *هلیکوباکتر پیلوری*، برای ژنوتیپ‌های *VacA* و *CagA* مورد بررسی قرار گرفتند. لیست پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ نمایش داده شده است.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده برای تشخیص ژنوتیپ‌ها *VacA* و *CagA* *هلیکوباکتر پیلوری* با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Ben Mansour et al., 2010; Chomvarin et al., 2008).

ناحیه ژنی	توالی پرایمر (5′–3′)	اندازه محصول (bp)
VacA s1a	CTCTCGCTTTAGTAGGAGC CTGCTTGAATGCGCCAAAC	213
VacA s1b	AGCGCCATACCGCAAGAG CTGCTTGAATGCGCC AAAC	187
VacA s1c	CTCTCGCTTTAGTGGGGAT CTGCTTGAATGCGCCAAAC	213
VacA s2	GCTAACACGCCAAATGATCC GCTAACACGCCAAATGATCC	199
VacA m1a	GGTCAAAATGCGGTCATGG CCTTGGTACCTGTAGAAAC	290
VacA m1b	GGCCCCAATGCAGTCATGGAT GCTGTTAGTGCCTAAAGAAGCAT	291
VacA m2	GGAGCCCCAGGAAACATTG CATAACTAGCGCCTTGCAC	352
CagA	TTGACCAACAACCACAAACCGAAG CTTCCCTTAATTGCGAGATTCC	183

واکنش PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر از DNA الگو، ۵ میکرولیتر DNTP، ۵ میکرولیتر PCR buffer 10X (۱۰ میکرو مول تری HCl و ۱۵ میکرو مول MgCl2)، ۰.۳ میکرو مول آنزیم Taq DNA Polymerase و ۳ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها (جدول ۱) انجام پذیرفت. برنامه دمایی واکنش شامل موارد زیر می‌باشد:*VacA* : یک سیکل ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۶۰ ثانیه، سپس ۳۲ سیکل تکراری شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه، ۶۴ درجه سانتی‌گراد ۵۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۷۰ ثانیه و یک مرحله تکثیر نهایی شامل ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۸ دقیقه.*CagA* : یک سیکل ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۴۰ ثانیه، سپس ۳۲ سیکل تکراری شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۶۰ ثانیه، ۵۶ درجه سانتی‌گراد ۶۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۶۰ ثانیه و یک مرحله تکثیر نهایی شامل ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۱۰ دقیقه.

در تمام واکنش‌های PCR، از آب مقطر به عنوان کنترل منفی و از دو یا چند کنترل مثبت (26695, J99, SS1, Tx30, 88-23 و 84-183) (تهیه شده از مرکز

بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان)، استفاده شد.

الکتروفورز محصولات PCR

در این پژوهش از ژل آگارز ۲ درصد استفاده شد. ۰/۲ گرم پودر آگارز توزین و با ۲۰ میلی لیتر محلول TBE 1X مخلوط شد. پس از افزودن ایتیدیوم برماید (۰/۱ میلی‌گرم برای هر میلی‌لیتر)، ۱۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۲ میکرولیتر Loading Buffer مخلوط و به داخل چاهک‌های ژل در الکتروفورز تزریق شد. الکتروفورز با ولتاژ ثابت ۹۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. در پایان به کمک دستگاه عکس برداری مجهز به لامپ UV، از ژل عکس گرفته و وجود یا عدم وجود DNA مورد بررسی قرار گرفت.

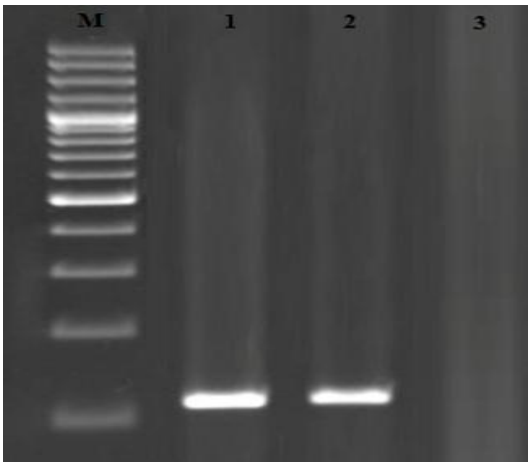
تجزیه و تحلیل آماری داده ها

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده از انجام آزمایش، نتایج حاصل از کلیه آزمایشات جهت آنالیز، به صفحه گسترده Microsoft Excel، منتقل شدند. با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 18.0، تست Chi-Square و آنالیز تست دو جانبه فیشر[1] بررسی‌های آماری انجام پذیرفت و در مقادیر $p < 0.05$ تفاوت‌ها معنادار شناخته شدند.

نتایج

مطالعه حاضر به منظور ژنوتایپینگ سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی انجام شد. نتایج حاصل از آزمون PCR برای ردیابی ژن *16S rRNA* *هلیکوباکتر پیلوری* در شکل ۱ نمایش داده شده است. جدول ۲ فراوانی مولکولی *هلیکوباکتر پیلوری* را در نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی نشان می‌دهد. از کل ۲۵۰ نمونه شیر و فراورده‌های لبنی جمع آوری شده از سطح استان اصفهان، ۳۷ نمونه (۱۴/۸ درصد) آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* بودند. بیشترین میزان آلودگی مربوط به شیر گوسفند (۲۵ درصد) و بستنی (۱۶/۶۶ درصد) و کمترین میزان آلودگی مربوط به پنیر سنتی (۲ درصد) بود. اختلاف معنادار آماری در حد $p < 0.05$ بین نوع نمونه و میزان شیوع *هلیکوباکتر پیلوری* دیده شد. جدول ۳ فراوانی هریک از ژنوتیپ‌های *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی را نمایش می‌دهد. بر طبق نتایج بدست آمده از جدول، ژنوتیپ‌های *VacA s1a* (۲۷/۰۲ درصد)، *VacA m1a* (۲۴/۳۲ درصد) و *CagA* (۲۱/۶۲ درصد) فراوان‌ترین ژنوتیپ‌های ردیابی شده در سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* ردیابی شده در نمونه‌های شیر خام و فراورده‌های لبنی بودند. کمترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ *VacA s1c* (۲/۷۰ درصد) و *VacA m1b* (۵/۴۰ درصد) بود. اختلاف معنادار آماری در حد $p < 0.05$ بین نوع نمونه و میزان شیوع ژنوتیپ‌های *هلیکوباکتر پیلوری* دیده شد. جدول ۴ فراوانی ترکیبی ژنوتیپ‌های مختلف ژن *VacA* و *CagA* *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از شیر و فراورده‌های لبنی جمع آوری شده از سطح استان اصفهان را نشان می‌دهد. ژنوتیپ‌های *s1am1a* (۱۶/۲۱ درصد) و *s1am2* (۵/۴۰ درصد) بیشترین فراورانی را در بین ژنوتیپ‌های ترکیبی ردیابی شده داشتند. هیچ نمونه مثبتی برای ژنوتیپ‌های *s1bm1b*، *s1cm1b* و *s1cm2* ردیابی نشد.

1.Fisher's exact twotaild test



شکل ۱- تصاویر الکتروفورز محصولات PCR برای تشخیص ژن *16S rRNA* *هلیکوباکتر پیلوری* در نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، (۱)- نمونه مثبت از نظر ژن *16S rRNA* *هلیکوباکتر پیلوری* (۱۱۰ جفت باز)، (۲): کنترل مثبت و (۳): کنترل منفی آزمون.

جدول ۲- فراوانی *هلیکوباکتر پیلوری* در نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی تولید شده در استان اصفهان.

نوع نمونه	تعداد نمونه جمع آوری شده	تعداد نمونه‌های ثمبت برای *هلیکوباکتر پیلوری* (٪)
شیر گاو	۵۰	۷ (۱۴)
شیر گوسفند	۶۰	۱۵ (۲۵)
شیر بز	۶۰	۹ (۱۵)
بستنی سنتی	۳۰	۵ (۱۶/۶۶)
پنیر سنتی	۵۰	۱ (۲)
کل	۲۵۰	۳۷ (۱۴/۸)

جدول ۳- فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف در سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* ردیابی شده در شیر و فراورده‌های لبنی استان اصفهان.

نوع نمونه (تعداد *هلیکوباکتر پیلوری*)	فراوانی ژنوتیپ‌ها (٪)							
	s1a	*s1b*	*s1c*	*s2*	*m1a*	*m1b*	*m2*	*CagA*
شیر گاو (۷)	۲ (۲۸/۵۷)	۱ (۱۴/۲۸)	-	۱ (۱۴/۲۸)	۲ (۲۸/۵۷)	-	۱ (۱۴/۲۸)	۲ (۲۸/۵۷)
شیر گوسفند (۱۵)	۳ (۲۰)	۱ (۶/۶۶)	-	۲ (۱۳/۳۳)	۲ (۱۳/۳۳)	۱ (۶/۶۶)	۱ (۶/۶۶)	۲ (۱۳/۳۳)
شیر بز (۹)	۲ (۲۲/۲۲)	۱ (۱۱/۱۱)	-	۱ (۱۱/۱۱)	۲ (۲۲/۲۲)	۱ (۱۱/۱۱)	۱ (۱۱/۱۱)	۲ (۲۲/۲۲)
بستنی سنتی (۵)	۲ (۴۰)	-	۱ (۲۰)	۱ (۲۰)	۲ (۴۰)	-	۱ (۲۰)	۱ (۲۰)
پنیر سنتی (۱)	۱ (۱۰۰)	-	-	-	۱ (۱۰۰)	-	-	۱ (۱۰۰)
کل (۳۷)	۱۰ (۲۷/۰۲)	۳ (۸/۱۰)	۱ (۲/۷۰)	۵ (۱۳/۵۱)	۹ (۲۴/۳۲)	۲ (۵/۴۰)	۴ (۱۰/۸۱)	۸ (۲۱/۶۲)

جدول ۴- فراوانی ترکیبی ژنوتیپ‌های مختلف ژن *VacA* و *CagA* *هلیکوباکتر پیلوری* ردیابی شده در نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی.

ژنوتیپ ها	فراوانی (٪)*
S1aM1a	۶ (۱۶/۲۱)
S1aM1b	۱ (۲/۷۰)
S1aM2	۲ (۵/۴۰)
S1bM1a	۱ (۲/۷۰)
S1bM1b	-
S1bM2	۱ (۲/۷۰)
S1cM1a	۱ (۲/۷۰)
S1cM1b	-
S1cM2	-
CagA+	۸ (۲۱/۶۲)
CagA-	۲۹ (۷۸/۳۷)

*درصدها بر اساس کل نمونه‌های مثبت از نظر باکتری جداسازی شده از شیر و فراورده‌های لبنی (۳۷ نمونه) برآورد شده اند.

بحث

مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران نشان داد که *هلیکوباکتر پیلوری* از شیوع قابل توجهی در نمونه‌های شیر خام و فراورده‌های لبنی سنتی برخوردار است. حضور ژنوتیپ‌های مختلف *VacA* و *CagA* در بین سوش‌های ردیابی شده نشانگر حدت بالای این سوش هاست. با توجه به نامشخص بودن منبع اصلی انتقال *هلیکوباکتر پیلوری* به انسان، مطالعاتی که بر پایه شناخت جنبه‌های بهداشتی و اپیدمیولوژیکی روی این باکتری انجام می‌پذیرند، از ارزش بسیار بالایی برخوردار هستند. از آنجایی که این باکتری به شکل اولیه عامل زخم و سرطان معده در انسان نبوده است یا به عبارت دیگر از آنجایی که انسان از بدو تاریخ منبع آلودگی با این باکتری نبوده است در نتیجه احتمالا منبعی خارجی دلیل اصلی انتقال باکتری به بدن انسان و کلنیزه شدن آن در بخش زیر مخاط معده انسان است. بنابر گزارشات انجام پذیرفته و نحوه انتقال باکتری، آب و موادغذایی آلوده می‌توانند بهترین منابع برای انتقال *هلیکوباکتر پیلوری* باشند. گزارشات فراوانی نیز این موضوع را ثابت کرده‌اند (Brown, 2000; Dubet et al., 2009; Hererra, 2004). در مطالعه حاضر نیز سعی بر اثبات حضور *هلیکوباکتر پیلوری* در شیر و فراورده‌های لبنی و همچنین ارزیابی الگوی ژنوتیپی ژن‌های *vacA* و *cagA*، شد. بررسی حاظر نشان داد که شیر و فراورده‌های لبنی می‌توانند منبع خوبی برای انتقال *هلیکوباکتر پیلوری* باشند. نتایج ما نشان داد که میزان شیوع *هلیکوباکتر پیلوری* در نمونه‌های شیر گاو، گوسفند، بز و بستنی و پنیر سنتی به ترتیب ۱۴، ۲۵، ۱۵، ۱۶/۶۶، ۲ و ۸/۱۴ درصد بود که بسیار قابل توجه است. میزان شیوع بالای *هلیکوباکتر پیلوری* در شیر را می‌توان به آلودگی‌های ثانویه که در اثر دستکاری‌های کارکنان مراکز شیردوشی و پخش شیر انجام می‌شود، نسبت داد. متاسفانه کنترل دقیقی بر روی بهداشت شیر در ایران انجام نمی‌پذیرد و بیدون‌های حمل شیر معمولا به خوبی شست و شو و ضدعفونی نمی‌گردند و

نگهداری شیر در دمای زیر ۴ درجه سانتی‌گراد انجام نمی‌پذیرد. علاوه بر این اکثر مراکز شیردوشی و گاوداری‌ها مجهز به ماشین‌های شیردوشی نیستند و امر شیردوشی به شکل سنتی و دستی انجام می‌پذیرد. شیردوشی در این مراکز معمولا توسط کارگران و خود دامداران که معمولا آلوده هستند، انجام می‌پذیرد. بعلاوه، ضدعفونی کردن نوک پستان‌ها که یکی از اصلی‌ترین کارها برای جلوگیری از انتشار آلودگی‌های اطراف و نوک پستان به شیر است به شکل منظم انجام نمی‌شود. تمامی این مشکلات که در امر شیروشی و انتقال شیر به مراکز توزیع وجود دارد، می‌توانند سبب بروز آلودگی در شیر شوند. در رابطه با فراورده‌های لبنی نیز احتمالا شیوع قابل توجه *هلیکوباکتر پیلوری* در آنها بدلیل شرایط سنتی تولید، استفاده از ظروف غیر بهداشتی و آلوده برای تولید فراورده‌ها و انتقال سوش‌های باکتری از کارکنان مراکز تولید و کارگاه‌های خانگی به شیر و سپس محصولات لبنی بوده است. از آنجایی که *هلیکوباکتر پیلوری* یک باکتری انسانی به شمار می‌رود و هنوز جنبه‌های زئونوز آن هنوز مشخص نشده است بنابراین با توجه به شیوع بالای باکتری در شیر و فراورده‌های لبنی در مطالعه حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که این باکتری از طریق واکنش متقاطع و توسط انسان‌های آلوده که باکتری را از طریق مدفوع و بزاق خود دفع می‌کنند، وارد نمونه‌ها شده است. بنابراین رعایت بهداشت فردی و محیطی در کاهش بار آلودگی میکروبی شیر و فراورده‌های لبنی، از نظر *هلیکوباکتر پیلوری*، موثر است. بررسی‌ها نشان می‌دهند که *هلیکوباکتر پیلوری* حدود ۷۲ ساعت در موادغذایی بهداشتی و ۹۶ ساعت در موادغذایی استریل قابلیت بقا دارد (Hererra, 2004; Brown, 2000; Vale and Vitor, 2010; van Duynhoven and Jonge, 2002). در کل موادغذایی با آب فعال بالاتر از ۰.۹۷ و pH، ۴.۹ تا ۷ (مانند شیر) شرایط مساعدی را برای ماندگاری باکتری *هلیکوباکتر پیلوری*، فراهم می‌کنند (Hererra, 2004; Brown, 2000; Vale and Vitor, 2010; van Duynhoven and Jonge, 2002). همچنین فقدان روش‌های بهینه برای از بین بردن پاتوژن‌ها در شیر و فراورده‌های لبنی، سبب ماندگاری بالاتر آنها خواهد شد (Hererra, 2004; Brown, 2000; Vale and Vitor, 2010; van Duynhoven and Jonge, 2002). احتمال این که *هلیکوباکتر پیلوری* در اکثر موادغذایی رشد کند، بسیار کم است اما واقعیت این است که این باکتری در رطوبت بالا و اسیدیته پایین و خصوصا در یخچال ماندگاری بالایی دارد. احتمال زنده مانی باکتری در شیر حتی پس از ۲۴ ساعت نیز دور از ذهن نیست. احتمالا برخی اصول ایمنی موادغذایی مانند اصول HACCP[۲] نیز در مراکز شیردوشی و فروش و عرضه شیر و فراورده ها، رعایت نمی‌شوند. شیوع پایین *هلیکوباکتر پیلوری* در نمونه‌های پنیر سنتی احتمالا حضور فلور استارتری قوی در پنیر و عدم اجازه به رشد و تکثیر *هلیکوباکتر پیلوری* است. به عبارت دیگر حضور باکتری‌های استارتر پنیر اجازه رشد، تکثر و فعالیت به سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* را نمی‌دهد. *هلیکوباکتر پیلوری* به مراتب از آب آشامیدنی جداسازی شده است (Ranjbar et al., 2016; Horiuchi et al., 2001). بنابراین حضور این باکتری در فراورده‌های لبنی و حتی شیر خام را می‌توان به آلودگی آب‌های مورد استفاده برای شست و شوی بیدون‌ها و وسایل و تجهیزات مورد استفاده برای تولید فراورده‌های لبنی دانست. نتایج بررسی حاضر نشان داد که شیر گوسفند آلوده‌ترین نمونه از نظر وجود *هلیکوباکتر پیلوری* بود. دلیل اصلی این یافته احتمالا سازگاری بیشتر *هلیکوباکتر پیلوری* به محتوی چربی و اسیدیته موجود در شیر گوسفند نسبت به شیر گاو و بز است. شیوع بالاتر *هلیکوباکتر پیلوری*در منابع گوسفندی در بررسی‌های فراوان دیگری نیز به اثبات رسیده است که با نتایج بررسی ما مشابهت دارد (Dore et al., 2001; Momtaz et al., 2014; Rahimi and Kheirabadi,

2. Hazard Analysis Critical Control Point

2012; Turutoglu et al., 2002). تا کنون مطالعات فراوانی در زمینه شیوع *هلیکوباکتر پیلوری* در سایر انواع موادغذایی و همچنین نمونه‌های بالینی در ایران انجام شده است. میزان شیوع *هلیکوباکتر پیلوری* در ایران از ۳۲.۸ تا ۹۸ درصد متغیر بوده است (Khedmat et al., 2013; Hosseini et al., 2012). میزان شیوع متفاوت این باکتری را می‌توان به نوع نمونه‌ها، فصل نمونه گیری، روش نمونه-گیری و روش آزمایش نسبت داد. در بررسی حاضر ژنوتیپ‌های *VacA* و *CagA* از شیوع قابل توجهی در نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی برخوردار بودند. مطالعات پیشین این ژنوتیپ‌ها را عامل آسیب‌های شدید باکتری به ناحیه اپی تلیال گوارشی و خصوصا معده می‌دانند (Herrera, 2004; Cavalcante et al., 2012; Alikhani et al., 2014). میزان شیوع ژنوتیپ‌های *VacA* و *CagA* در بررسی‌های انجام پذیرفته روی موارد *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از موادغذایی، گاستروانتریت، زخم معده، لنفوم معده و سرطان معده رنجی معادل ۳۰ تا ۸۰ درصد داشته است (Dunn et al., 1997; Fujimura et al., 2002; Rahimi and Kheirabadi, 2012). رحیمی و خیرآبادی۲۰۱۲ (Rahimi and Kheirabadi, 2012) میزان شیوع *هلیکوباکتر پیلوری* را در نمونه‌های شیر گاو، گوسفند، بز، شتر و بوفالو به ترتیب ۱۴/۱، ۱۲/۲، ۸/۷، ۳/۶ و ۲۳/۴ درصد گزارش کردند. میزان شیوع باکتری در نمونه‌های شیر گاو در ژاپن ۷۲/۲ درصد (Herrera, 2004) و ایران، ۱۶ درصد (Esmaeili Goudarzi et al., 2016)، گزارش شده است. در بررسی که توسط ممتاز و همکاران در سال ۲۰۱۲ (Momtaz et al., 2012) انجام پذیرفت، از ۳۰ نمونه بایوپسی اخذ شده از معده، ۷۷/۶۶ درصد آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* بوده‌اند که میزان شیوع ژنوتیپ‌های s1a/m1a، s1a/m1b، s1a/m2، s1b/m1a، s1b/m1b، s1b/m2، s1c/m1a، s1c/m1b، s1c/m2، s2/m1a و s2/m2 به ترتیب ۱۵/۴۵، ۳/۸۶، ۲۵/۷۵، ۳، ۲/۱۴، ۵/۵۷، ۷/۲۹، ۲/۱۴، ۱۶/۷۳، ۵/۱۵، ۰ و ۱۲/۸۷، بوده است. بررسی‌های مشابه فراوانی در مورد میزان شیوع بالای ژنوتیپ‌های متفاوت ژن *VacA* از سراسر نقاط جهان شامل مکزیک (López-Vidal et al., 2008)، تایلند (Linpisarn et al., 2007)، آلمان (Rudi et al., 1998) و ترکیه (Saribasak et al., 2004) گزارش شده است. بررسی پیشین که بر روی سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از سبزیجات و سالاد با در نظر گرفتن ژنوتایپینگ آنها در ایران انجام پذیرفت (Yahaghi et al., 2014) نشان داد که ۱۳/۶۸ درصد از نمونه‌های سبزیجات و ۱۴ درصد از نمونه‌های سالاد از نظر باکتری مثبت بودند که از نتایج بررسی ما به مراتب کمتر بوده است. آنها تره فرنگی، کاهو و کلم را آلوده‌ترین نمونه معرفی نمودند و میزان شیوع بالای باکتری را در آنها به استفاده زیاد کودهای حیوانی و حتی انسانی برای رشد این محصولات نسبت دادند. در این بررسی که توسط یاحقی و همکاران در سال ۲۰۱۴ (Yahaghi et al., 2014) انجام پذیرفت، فاکتورهای *OipA* (۸۶/۴۴ درصد) و *CagA* (۵۷/۶۲ درصد) بیشترین میزان شیوع را در سوش‌های جدا شده از سالاد و سبزیجات داشتند. در بررسی آنها ۴۰ الگوی ژنوتیپی متفاوت ردیابی گردید که ژنوتیپ‌های ترکیبی S1a/cagA+/iceA1/oipA+، m1a/cagA+/iceA1/oipA+،s1a/cagA+/iceA2/oipA s2/cagA+/iceA1/oipA،m1a/cagA+/iceA2/oipA+ به ترتیب با فراوانی ۳۳/۸۹، ۳۰/۵۰، ۲۸/۸۱، ۲۵/۴۲ و ۲۵/۴۲ درصد فراوان‌ترین ژنوتیپ‌های ترکیبی بودند. همتی نژاد و همکاران (۲۰۱۶) (Hemmatinezhad et al., 2016) اقدام به مطالعه ژنوتیپ‌های *هلیکوباکتر پیلوری* حدا شده از نمونه‌های موادغذایی آماده مصرف نمودند. نتایج آنها نشان داد که میزان شیوع باکتری در انواع موادغذایی آماده مصرف ۱۳/۴۵ درصد بود که از نتایج ما کمتر بود. آنها نشان

دادند که ژنوتیپ‌های *VacA s1a* (۷۸/۳۷ درصد)، *VacA m2* (۷۵/۶۷ درصد)، *VacA m1a* (۵۱/۳۵ درصد) و *CagA* (۴۱/۸۹ درصد) فراوان‌ترین ژنوتیپ‌های ردیابی شده در سوش‌های هلیکوباکتر *پیلوری* جدا شده از نمونه‌های موادغذایی آماده مصرف بودند که با نتایج ما همخوانی دارد. موسوی و همکاران در سال ۲۰۱۴ (Mousavi et al., 2014) اقدام به مطالعه فراوانی ژن‌های حدت سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از شیر و فراورده‌های لبنی نمودند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که میزان شیوع *هلیکوباکتر پیلوری* در نمونه‌های شیر خام گاو، گوسفند و بز و فراورده‌های لبنی سنتی پنیر، خامه، کره و بستنی به ترتیب ۱۶/۶، ۳۵، ۲۸، ۳۰، ۱۵، ۵ و ۲۷ درصد بود که بسیار قابل توجه است. نام بردگان فراوانی ژن‌های *VacA*، *CagA*، *OipA* و *IceA* را در نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی به ترتیب ۷۵، ۷۶/۶، ۲۵ و ۴۱/۶ درصد برآورد کردند.

نتیجه گیری

در کل این بررسی یکی از مطالعات انجام پذیرفته در زمینه ردیابی و ژنوتایپینگ ژن‌های *VacA* و *CagA* *هلیکوباکتر پیلوری* در نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی می‌باشد. نتایج حاصل از این بررسی بیانگر شیوع نسبتا بالای *هلیکوباکتر پیلوری* در نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی در ایران است. احتمالا اصول بهداشتی در مراکز تهیه و توزیع این محصولات، رعایت نمی‌گردد. از آنجایی که تنوع ژنوتیپی در نمونه‌های مختلف تقریبا یکسان بوده است، می‌توان نتیجه گرفت که منبع باکتری در آنها یکسان بوده است و تشابهت الگوی ژنوتیپی با موارد ثبت شده از سایر مطالعات بالینی نشان می‌دهد که به احتمال زیاد دستکاری‌هایی که توسط افراد ناقل بر روی نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی انجام پذیرفته است منبع اصلی انتقال به نمونه‌ها باکتری بوده است. البته تماس مستقیم نمونه‌ها با منابع آلوده دامی مانند مدفوع را نیز نباید نادیده گرفت. با توجه به شیوع بالای باکتری در نمونه‌های شیر و فراورده‌های لبنی پیشنهاد می‌گردد وضعیت آلودگی سایر موادغذایی به *هلیکوباکتر پیلوری* در مناطق مختلف ایران مورد بررسی قرار گیرد و تمهیداتی اتخاذ گردد تا سبب کاهش درصد و بار آلودگی موادغذایی به این پاتوژن که عامل بالقوه ایجاد زخم معده است، گردد. همچنین لازم است شیوع سایر ژنوتیپ‌های باکتری نیز در انواع موادغذایی مشخص شود.

تشکر و قدر دانی

از زحمات بی‌دریغ پرسنل زحمت کش مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و مرکز تحقیقات بهداشت موادغذایی و بالاخص جناب آقای مهندس منوچهر مومنی قدردانی به عمل می‌آید. همچنین نویسندگان این پایان نامه از پرسنل زحمت‌کش مرکز بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و همچنین دانشگاه علوم پزشکی شیراز جهت در اختیار قرار دادن برخی از امکانات و همچنین سوش‌های کنترل مثبت *هلیکوباکتر پیلوری* کمال تشکر و قدردانی را دارند. نویسندگان مطالعه حاضر همچنین کمال تشکر و قدردانی را از دکتر افشین آخوندزاده بستی دارند. مطالعه حاضر توسط باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان واحد شهرکرد، پشتیبانی و حمایت مالی شد.

منابع

1. Alikhani,M.Y., Arebestani, M.R., Sayedin Khorasani, M., Majlesi, A., and Jaefari, M. 2014. Evaluation of Helicobacter pylori vacA and cagA genotypes and correlation with Clinical Outcome in patients with dyspepsia in Hamadan province, Iran. Iran Red Crescent Med J. 16: e19173.
2. Angelidis, A.S., Tirodimos, I., Bobos, M., Kalamaki,M.S., Papageorgiou,D.K., and Arvanitidou, M. 2011. Detection of Helicobacter pylori in raw bovine milk by fluorescence in situ hybridization (FISH). Int J Food Microbiol. 151: 252-6.

3. Ben Mansour, K., Fendri, C., Zribi, M., Masmoudi, A., Labbene, M., Fillali, A., Ben Mami, N., Najjar, T., Meherzi, A., Sfar, T., and Burucoa, C. 2010. Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA, iceA and oipA genotypes in Tunisian patients. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 9: 10.
4. Blaser, M.J. 2012. Heterogeneity of Helicobacter pylori. Eur J Gastroenterol Hepatol. 9: S6-7.
5. Brown, L.M. 2000. Helicobacter pylori: epidemiology and routes of transmission. Epidemiol Rev. 22: 283-97.
6. Cavalcante, MQ., Silva, C.I., Braga-Neto, M.B., Fialho, A.B., Nunes Fialho, A., Barbosa, A.M., Cruz, F.W., Rocha, G.A., Queiroz, D.M., and Braga, L.L. 2012. Helicobacter pylori vacA and cagA genotypes in patients from northeastern Brazil with upper gastrointestinal diseases. Mem Inst Oswaldo Cruz. 107: 561-3.
7. Chomvarin, C., Namwat ,W., Chaicumpar, K., Mairiang, P., Sangchan, A., Sripa, B., Tor-Udom, S., and Vilaichone, R.K. 2008. Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA, cagE, iceA and babA2 genotypes in Thai dyspeptic patients. Int J Infect Dis. 12: 30-36.
8. Esmaeili Goudarzi, D., Safarnezhad Tameshkel, F., Ajdarkosh, H., Arsalani, M., Sohani, M.H., and Behnod, V. 2016. Prevalence of Helicobacter pylori_in_Iranian milk and dairy products using culture and ureC based-PCR techniques. Biomed Pharm J. 8: 179-183.
9. Dore, M.P., Sepulveda, A.R., El-Zimaity, H., Yamaoka,Y., Osato,M.S., Mototsugu,K., Nieddu,A.M., Realdi,G., andGraham, D.Y. 2001. Isolation of Helicobacter pylori from sheep-implications for transmission to humans. Am J Gastroenterol. 96: 1396-401.
10. Dube, C., Tanih, N.F., and Ndip, R.N. 2009. Helicobacter pylori in water sources: a global environmental health concern. Rev Environ Health. 24: 1-14.
11. Dunn, B.E., Cohen, H., and Blaser, M.J. 1997. Helicobacter pylori. Clin Microbiol Rev. 10: 720-41.
12. Fujimura, S., Kawamura, T., Kato, S., Tateno, H., and Watanabe, A. 2002. Detection of Helicobacter pylori in cow's milk. Lett Appl Microbiol. 35: 504-507.
13. Herrera, A.G. 2004. Helicobacter pylori and food products: a public health problem. Methods Mol Biol. 268: 297-301.
14. Havaei, S.A., Mohajeri, P., Khashei, R., Salehi, R., and Tavakoli, H. 2014. Prevalence of Helicobacter pylori vacA different genotypes in Isfahan, Iran. Adv Biomed Res. 3: 48.
15. .Hemmatinezhad, B., Momtaz, H., and Rahimi, E. 2016. VacA, cagA, iceA and oipA genotypes status and antimicrobial resistance properties of Helicobacter pylori isolated from various types of ready to eat foods. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 15: 2.
16. Ho, S.A., Hoyle, J.A., and Lewis, F.A. 1991. Direct polymerase chain reaction test for detection of *Helicobacter pylori* in humans and animals. J Clin Microbiol. 29: 2543–2549.
17. Horiuchi, T., Ohkusa, T., Watanabe, M., Kobayashi, D., Miwa, H., and Eishi, Y. 2001. Helicobacter pylori DNA in drinking water in Japan. Microbiol Immunol. 45: 515-9.
18. Hosseini, E., Poursina, F., de Wiele, T.V., Safaei, H.G., and Adibi, P. 2012.

pylori genotype status in cows, sheep, goats and human beings. BMC Gastroenterol. 14: 61.

25. Momtaz, H., Souod, N., Dabiri, H., and Sarshar, M. 2012. Study of Helicobacter pylori genotype status in saliva, dental plaques, stool and gastric biopsy samples. World J Gastroenterol. 18: 2105-2111.
26. Mousavi, S., Dehkordi, F.S., and Rahimi, E. 2014. Virulence factors and antibiotic resistance of Helicobacter pylori isolated from raw milk and unpasteurized dairy products in Iran. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 20: 51.
27. Niv, Y., and Hazazi, R. 2008. Helicobacter pylori recurrence in developed and developing countries: meta-analysis of 13C-urea breath test follow-up after eradication. Helicobacter. 13: 56-61.
28. Rahimi, E., and Kheirabadi, E.K. 2012. Detection of Helicobacter pylori in bovine, buffalo, camel, ovine, and caprine milk in Iran. Foodborne Pathog Dis. 9: 453-456.
29. Ranjbar, R., Khamesipour, F., Jonaidi-Jafari, N., and Rahimi, E. 2016. Helicobacter pylori in bottled mineral water: genotyping and antimicrobial resistance properties. BMC Microbiol. 16: 40.
30. Rudi, J., Kolb, C., Maiwald, M., Kuck, D., Sieg, A., Galle, P.R., and Stremmel, W. 1998. Diversity of Helicobacter pylori vacA and cagA genes and relationship to VacA and CagA protein expression, cytotoxin production, and associated diseases. J Clin Microbiol. 36: 944-948.
31. Saribasak, H., Salih, B.A., Yamaoka, Y., and Sander, E. 2004. Analysis of Helicobacter pylori genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. J Clin Microbiol. 42: 1648-1651.

Helicobacter pylori in Iran: A systematic review on the association of genotypes and gastroduodenal diseases. J Res Med Sci. 17: 280-92.

19. Hunt, R.H., Xiao, S.D., Megraud, F., Leon-Barua, R., Bazzoli, F., van der Merwe, S., Vaz Coelho, L.G., Fock, M., Fedail, S., Cohen, H., Malfertheiner, P., Vakil, N., Hamid, S., Goh, K.L., Wong, B.C., Krabshuis, J., andLe Mair, A. 2011. World Gastroenterology Organization. Helicobacter pylori in developing countries. World Gastroenterology Organisation Global Guideline. J Gastrointestin Liver Dis. 20: 299-304.
20. Khedmat, H., Karbasi-Afshar, R., Agah, S., and Taheri, S. 2013. Helicobacter pylori Infection in the general population: A Middle Eastern perspective. Caspian J Intern Med. 4: 745-53.
21. Kusters, J.G., van Vliet, A.H., and Kuipers, E.J. 2006. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. Clin Microbiol Rev. 19: 449-90.
22. Linpisarn, S., Suwan, W., Lertprasertsuk, N., Koosirirat, C., Steger, H.F., Prommuangyong, K., and Phornphutkul, K. 2007. HelicobacterpyloricagA, vacA and iceA genotypes in northern Thai patients with gastric disease. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 38: 356-362.
23. López-Vidal, Y., Ponce-de-León, S., Castillo-Rojas, G., Barreto-Zúñiga, R., and Torre-Delgadillo, A. 2008. High diversity of vacA and cagA Helicobacter pylori genotypes in patients with andwithout gastric cancer. Plos One. 3: e3849.
24. Momtaz, H., Dabiri, H., Souod, N., and Gholami, M. 2014. Study of Helicobacter

32. Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.A., Roy, S.L., Jones, J.L., Griffin, P.M. 2011. Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens. Emerg Infect Dis. 17: 7-15.
33. Swartz, M.N. 2002. Human diseases caused by foodborne pathogens of animal origin. Clin Infect Dis. 34: S111-22.
34. Turutoglu, H., and Mudul, S. 2002. Investigation of Helicobacter pylori in raw sheep milk samples. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 49: 308-9.
35. Vaillant, V., de Valk, H., Baron, E., Ancelle, T., Colin, P., Delmas, M.C., Dufour, B., Pouillot, R., Le Strat, Y., Weinbreck, P., Jougla, E., Desenclos, J.C. 2005. Foodborne infections in France. Foodborne Pathog Dis. 2: 221-32.
36. Vale, F.F., Vítor JM. Transmission pathway of Helicobacter pylori: does food play a role in rural and urban areas? Int J Food Microbiol. 138: 1-12.
37. Van Duynhoven, Y.T., and De Jonge, R. 2001. Transmission of Helicobacter pylori: a role for food? Bull World Health Organ. 79: 455–460.
38. Yahaghi, E., Khamesipour, F., Mashayekhi, F., Safarpoor Dehkordi, F., Sakhaei, M.H., Masoudimanesh, M., and Khameneie, M.K. 2014. Helicobacter pylori in vegetables and salads: genotyping and antimicrobial resistance properties. Biomed Res Int. 2014: 757941.
39. West, A.P., Miller, M.R., and Tompkins, D.S. 1992. Effect of physical environment on survival of Helicobacter pylori. J Clin Pathol. 45: 228–231.

Genotyping of *Helicobacter pylori* strains isolated from raw milk and dairy products

Mousavi S [1] ، Safarpoor Dehkordi F[1*]، Valizadeh Y[1]

1. Young Researchers and Elites Club, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

[*]**Corresponding author:** *F.safarpoor@ut.ac.ir*

Accepted: 23 August 2017 Received: 15 April 2017

Abstract

So far, transmission pathways and epidemiological aspects of *Helicobacter pylori* are not identified well. Role of water and food materials in transmission of *Helicobacter pylori* to human is probable. The present study was carried out to genotyping of *Helicobacter pylori* strains isolated from the samples of raw milk and dairy products collected from Isfahan province. In total, 250 samples of milk and dairy products were collected and transferred to the laboratory. DNA extraction was done and detection of *16S rRNA* gene of the *Helicobacter pylori* was performed using from the PCR test. Positive samples were analyzed for presence of various genotypes of *VacA* and *CagA*. From a total of 250 samples of milk and dairy products, 37 samples (14.8%) were infected with *Helicobacter pylori*. Sheep milk had the highest (25%) and traditional cheese (2%) had the lowest rate of infection. Statistically significant difference was seen between the type of sample and prevalence rate of *Helicobacter pylori*. *VacA s1a* (27.02%), *VacA m1a* (24.32%) and *CagA* (21.62%) were the most frequently detected genotypes. *S1am1a* (16.21%) and *s1am2* (5.40%) genotypes had the highest frequency amont combined genotypes. Genotypic similarity of Helicobacter pylori strains of various samples represented their similar source of infection. Genotypic similarity pattern of our study and conducted studies on clinical samples of human represented transmission of *Helicobacter pylori* strains from infected staffs of milking and saling of milk and dairy products to samples.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Genotyping, Milk, Dairy products.