Iranian Journal of Military Medicine
Vol. 14, No. 2, Summer 2012
Pages: 143-147

مجله طب نظامی
دوره ۱۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۱
صفحات: ۱۴۷-۱۴۳

گوناگونی ژنتیکی ایزوله‌های بالینی *سالمونلا انتریکا* سرووار *تیفی‌موریوم*

رضا رنجبر* *PhD*، میثم سرشار[۱] *MSc*

*مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران
[۱]مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران

چکیده

اهداف: باکتری‌های سالمونلا از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده گاستروانتریت در انسان هستند. *سالمونلا تیفی‌موریوم* علاوه‌بر انسان، میزبان‌های زیادی داشته و امکان شیوع آن در جامعه بالاست. این مطالعه با هدف ارزیابی گوناگونی ریبوتایپی ایزوله‌های بالینی *سالمونلا انتریکا*، سرووار *تیفی‌موریوم* جداشده از برخی بیمارستان‌های تهران انجام شد.

روش‌ها: این پژوهش توصیفی در یک دوره زمانی سه‌ساله از سال ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۹ انجام شد. نمونه‌های بالینی بیماران مشکوک به عفونت با سالمونلا مراجعه‌کننده به تعدادی از بیمارستان‌های تهران بررسی شدند. پس از تشخیص در محیط‌های کشت انتخابی و استفاده از روش‌های استاندارد سرولوژیک و باکتریولوژیک، DNA سویه‌ها به‌روش فنل- کلروفرم استخراج شد و گوناگونی ژنتیکی ایزوله‌های بالینی *سالمونلا انتریکا* سرووار *تیفی‌موریوم* به کمک روش ریبوتایپینگ ارزیابی شد.

یافته‌ها: الگوی باندی در تمامی ایزوله‌ها دارای اندازه‌ای بین ۱/۴ و ۱۶/۸ کیلوباز بود. بر پایه گوناگونی نواحی ژنومی ریبوزومی، ایزوله‌های سروتایپ *تیفی‌موریوم* در ۷ دسته تقسیم شدند. بیشترین تعداد سویه‌ها (۵ مورد) در دسته 2b قرار داشت. سه ایزوله این سروتایپ در دسته 6b، و مابقی هرکدام به تعداد ۱ ایزوله در سایر دسته‌ها قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری: سویه‌های در گردش *سالمونلا انتریکا* سروتایپ *تیفی‌موریوم* در بیمارستان‌های مورد مطالعه در تهران، صرفاً متعلق به یک ریبوتایپ خاص نیستند و از گوناگونی ریبوتایپی برخوردارند، ولی برای قضاوت دقیق‌تر در مورد وجود کلون‌های محدود یا گسترده و ارتباط میان سویه‌های این سروتایپ لازم است سایر روش‌های تایپینگ مولکولی مورد استفاده قرارگیرند.

کلیدواژه‌ها: *سالمونلا تیفی‌موریوم*، گاستروانتریت، تایپینگ مولکولی

Genetic diversity of clinical strains of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*

Ranjbar R.* ***PhD*, Sarshar M.[1]** ***MSc***

*Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[1]Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Aims: *Salmonella spp.* is one of the most common pathogenic bacteria responsible for gastroenteritis in human. Among *Salmonella spp.*, *S. typhimurium* has many hosts other than humans and its prevalence rate is high in society. The aim of this study was to determine the ribotype diversity of *S. typhimurium* stains isolated in some hospitals of Tehran, Iran.

Methods: In this descriptive study, clinical samples were collected from different hospitals in Tehran were investigated. Bacterial isolation was carried out by standard procedures in selective culture media and identification was achieved through biochemical and serological methods. DNA extraction was performed by phenol-cholorophorm methods. Ribotyping was used for molecular typing of *S. typhimurium* clinical isolates.

Results: The sizes of the ribotyping bands ranged from 1.4 to 16.8 kb in all ribotypes. The *S. typhimurium* isolates were divided into 7 clusters based on the diversity of ribosomal genome areas. Most isolates (5 strains) belonged to the cluster 2b. Three isolates belonged to the 6b cluster and for the rest of isolates, each belhonged to one of other clusters.

Conclusion: *S. typhimurium* strains circulating in the studied hospitals of Tehran, do not belong to a specific ribotype and have ribotype diversity, but other molecular typing methods should be implemented in order to make a more precise judjement about the presence of whether limited or widespread clones and the relationship among the different strains of this serotype.

Keywords: *Salmonella typhimurium*, Gastroenteritis, Molecular Typing

نویسنده مسئول: رضا رنجبر. تمام درخواست‌ها باید به نشانی ranjbar@bmsu.ac.ir فرستاده شوند.

دریافت مقاله: ۹۰/۸/۱ پذیرش مقاله: ۹۰/۱۲/۲۰

[Downloaded from militarymedj.ir on 2022-01-23]

مقدمه

طبقه‌بندی باکتری‌های سالمونلا بسیار پیچیده است. براساس آخرین طبقه‌بندی، اعضای جنس سالمونلا به دو گونه *سالمونلا انتریکا* و *سالمونلا بونگوری* تقسیم‌بندی می‌شوند. *سالمونلا انتریکا*، براساس ویژگی‌های بیوشیمیایی و همولوژی DNA، خود شامل ۷ زیرگونه است که هر یک شامل سروتایپ‌های مختلفی هستند. این جنس براساس آنتی‌ژن‌های فلاژل و سوماتیک به بیش از ۲۶۰۰ سرووار تقسیم می‌شود که بیشتر آنها برای انسان و حیوان بیماری‌زا هستند و عموماً انتقال بیماری از طریق آب و غذا صورت می‌گیرد [۱، ۲، ۳]. در میان باکتری‌های منتقله از طریق غذا، سالمونلا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [۴، ۵]. گاستروانتریت، شایع‌ترین و متداول‌ترین عفونت سالمونلایی در انسان است که توسط سروتایپ‌های سالمونلا به‌ویژه *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *انتریتیدیس* ایجاد می‌شود. به‌طوری‌که هرساله حدود ۱/۴ میلیون نمونه از سالمونلوزیس غیرتیفوئیدی در ایالات متحده گزارش می‌شود [۶، ۷].

گاستروانتریت حاد، تب روده‌ای تیفوئید یا پاراتیفوئید و عفونت‌های سیستمیک، از جمله موارد ایجادشده توسط سروتایپ‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *انتریتیدیس* هستند. آلودگی‌های انسانی معمولاً از طریق مصرف غذاهای خام مانند گوشت، تخم مرغ و غذاهای روزانه حاصل می‌شود. بنابراین منبع اصلی تمامی این بیماری‌ها در انسان، ناشی از آلودگی مواد غذایی و حیوانی است [۸، ۹]. این دو سروتایپ، مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای روده‌ای در حیوانات و انسان‌ها محسوب می‌شوند که از طریق آب و غذای آلوده انتقال می‌یابند و به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی در سراسر دنیا مطرح هستند [۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴].

سالمونلا تیفی‌موریوم از جمله گونه‌هایی است که علاوه بر انسان، میزبان‌های زیادی داشته و امکان شیوع آن بالا است [۱۳، ۱۵، ۱۶]. از ویژگی‌های مهم این گونه، توانایی آن در باقی‌ماندن به‌شکل قابل تکثیر و زنده به‌مدت طولانی در محیط و نمونه‌های غذایی است. این باکتری یکی از عوامل مهم بیولوژیک است که در خرابکاری‌های عمدی در آلوده‌سازی آب و غذا در تاریخ، از آن استفاده شده است [۱۶].

اگرچه اعضای جنس سالمونلا از لحاظ قرابت ژنتیکی بسیار مشابه یکدیگر هستند، اما تغییرات گسترده‌ای در بروز بیماری، حدت و بیماری‌زایی وجود دارد. کسب یا ازدست‌دادن برخی از ژن‌ها، نقش مهمی در تکامل سروتایپ‌های مختلف سالمونلا ایفا می‌کند. روش‌های مبتنی بر تجزیه و تحلیل DNA، بسیاری از محدودیت‌های روش‌های فنوتیپی را برطرف می‌نماید و دانش ما را در مورد روابط اپیدمیولوژیکی و ژنتیکی دخیل در عفونت‌های انسانی بهبود می‌بخشد [۱۷، ۱۸، ۱۹].

ریبوتایپینگ، روش مناسبی است که می‌تواند به شناسایی و طبقه‌بندی باکتری‌ها براساس تفاوت در ژن‌های *rRNA* بپردازد. این روش با تکرارپذیری و دقت بالایی که دارد قادر به طبقه‌بندی باکتری تا حد گونه و سروتایپ است. ریبوتایپینگ قادر است سروتایپ‌های مختلف سالمونلا را با توجه به منبع عفونت، صرف نظر از میزبان یا محل جغرافیایی افتراق دهد [۱۷، ۲۰، ۲۱].

هدف این مطالعه، بررسی اپیدمیولوژی مولکولی سویه‌های *سالمونلا انتریکا* سروتایپ *تیفی‌موریوم* جداشده از برخی بیمارستان‌های تهران با استفاده از روش ریبوتایپینگ و بررسی ارتباط ژنتیکی میان این سروتایپ بود.

روش‌ها

در مجموع، ۶۸ سویه *سالمونلا انتریکا* از نمونه‌های مدفوع، خون و ادرار بیماران مشکوک به عفونت با سالمونلا از دو بیمارستان در تهران جمع‌آوری شد که شامل ۴۴ سویه جداشده از بیمارستان شماره ۱، مربوط به سال‌های ۱۳۸۶ الی ۱۳۸۹ و ۲۴ سویه جداشده از بیمارستان شماره ۲، مربوط به سال‌های ۱۳۸۷ الی ۱۳۸۹ بود (لازم به ذکر است که نام بیمارستان‌های مورد نظر در دفتر مجله محفوظ است). از این تعداد، ۱۳ ایزوله متعلق به سروگروه B سالمونلا وارد مطالعه شد.

نمونه‌های بیماران بلافاصله بعد از نمونه‌گیری در شرایط استریل به محیط آزمایشگاه منتقل شد و آزمون‌های تشخیصی اولیه طبق استاندارد سرولوژیکی و باکتریولوژیکی صورت پذیرفت. DNA سویه‌ها به‌روش فنل- کلروفرم استخراج شد [۱۱]. عمل هضم آنزیمی ژنوم ایزوله‌های به‌دست‌آمده با استفاده از آنزیم *Pst1* (Roche؛ آلمان) در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ ساعت انجام شد. الکتروفورز ژنوم هضم‌شده ایزوله‌ها در ژل آگارز ۱٪ صورت پذیرفت و به محلول حاوی TE منتقل شد. ریبوتایپینگ مطابق استانداردهای لازم صورت پذیرفت [۲۲]. در جدول ۱، مشخصات پروب‌های الیگونوکلئوتیدی نشان داده شده است. مواد مورد نیاز برای انجام ریبوتایپینگ از شرکت Roche؛ آلمان تهیه شد. مراحل انجام کار به‌طور خلاصه به شرح زیر بود:

ابتدا عمل انتقال ژل به غشای نایلونی در دستگاه خلا صورت گرفت. تثبیت ژنوم منتقل‌شده روی غشای نایلونی در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس با استفاده از فور انجام شد. از پروب‌های مورد استفاده که انتهای $5'$ آنها با مولکول دیگوکسی‌ژنین نشاندار شده بود، غلظت‌های مختلف، تهیه و به محلول هیبریدیزاسیون انتقال داده شد و به‌مدت ۱۲ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه هیبریدیزاسیون انکوبه شد. در مرحله بعد، آنتی‌بادی نشاندارشده با رنگ دیگوکسی‌ژنین و واجد آنزیم آلکالین‌فسفاتاز به محلول حاوی غشاهای مورد نظر اضافه شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. در انتها، محلول رنگ‌زای NBT-BCIP به ظرف حاوی غشاها اضافه شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در محیطی تاریک قرار داده شد. پس از خشک‌نمودن غشاها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، نتایج هیبریداسیون مشاهده شد.

[Downloaded from militarymedj.ir on 2022-01-23]

جدول ۱) مشخصات پروب‌های الیگونوکلئوتیدی

سکانس هدف	نام پروب	اندازه توالی	جایگاه ژنی
rrs	Ad	۲۰	۰۸–۲۸
rrs	rB	۱۹	۱۴۰۸–۱۳۹۰
rrl	O4c	۲۳	۴۴۲–۴۶۶
rrl	O16	۲۳	۱۶۰۱–۱۶۲۳
rrl	O24c	۲۱	۲۴۹۰–۲۵۱۲

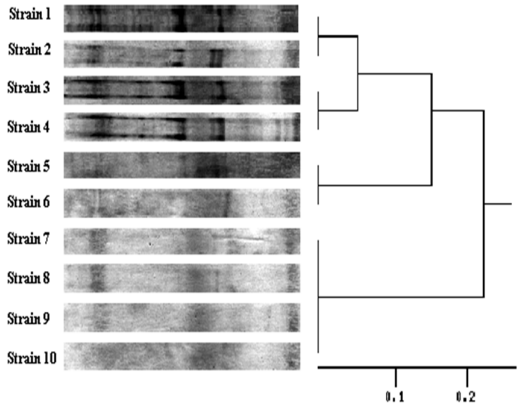
جدول ۲) مشخصات ریبوتایپ‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* جداشده از بیماران

کد ایزوله	محل جداسازی	جنسیت	الگوی ریبوتایپ	نوع نمونه
۱	بیمارستان شماره ۲	مرد	1b	مدفوع
۲	بیمارستان شماره ۲	مرد	2b	مدفوع
۳	بیمارستان شماره ۱	مرد	2b	ادرار
۴	بیمارستان شماره ۱	مرد	3b	ادرار
۵	بیمارستان شماره ۱	مرد	6b	مدفوع
۶	بیمارستان شماره ۲	زن	2b	خون
۷	بیمارستان شماره ۲	مرد	5b	مدفوع
۸	بیمارستان شماره ۱	زن	6b	مدفوع
۹	بیمارستان شماره ۲	مرد	6b	مدفوع
۱۰	بیمارستان شماره ۲	مرد	7b	مدفوع
۱۱	بیمارستان شماره ۲	مرد	4b	خون
۱۲	بیمارستان شماره ۱	زن	2b	مدفوع
۱۳	بیمارستان شماره ۲	مرد	2b	خون

نتایج

در جدول ۲، اطلاعات مربوط به نوع نمونه، محل جداسازی و مشخصات ریبوتایپ‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* جداشده از بیماران نشان داده شده است. نتایج حاصل از سروتایپینگ سویه‌ها نشان داد که از ۱۳ ایزوله مربوط به سروگروه B سالمونلا، ۱۰ ایزوله متعلق به سروتایپ *تیفی‌موریوم* و مابقی متعلق به سروتایپ‌های *پاراتیفی B*، *هیفا* و *ریدینگ* بودند. سروتایپ *تیفی‌موریوم* برای مطالعه بیشتر، مورد بررسی قرار گرفت. الگوی باندی حاصل از برش توسط آنزیم *PstI* در تمامی ایزوله‌ها دارای اندازه‌ای مابین ۱/۴ و ۱۶/۸ کیلوباز بود. ریبوتایپینگ توانست مجموع ۱۳ ایزوله متعلق به سروتایپ *تیفی‌موریوم* را به ۷ دسته تقسیم نماید. بیشترین تعداد سویه‌ها (۵ مورد) در دسته 2b قرار داشت. ۳ ایزوله دیگر این سروتایپ در دسته 6b و در هر یک از دسته‌های 1b، 3b، 4b، 5b و 7b نیز یک ایزوله قرار گرفت.

نتایج حاصل از دندروگرام و الگوی ریبوتایپینگ سویه‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* جداشده از بیماران در شکل ۱ نشان داده شده است. در میان نمونه‌های اخذشده از بیماران بیمارستان‌های مورد بررسی، با توجه به الگوی ریبوتایپی به‌دست‌آمده، نتایج نشان‌دهنده ریبوتایپ‌های مختلف میان بیماران این دو بیمارستان بود.



شکل ۱) دندروگرام و الگوی ریبوتایپینگ سویه‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* جداشده از بیماران تحت بررسی

بحث

به‌دلیل افزایش تعداد و طیف پاتوژن‌های بیمارستانی، شناسایی ارتباط ایزوله‌های میکروبی اهمیت ویژه‌ای دارد. شناسایی شیوع بیماری، نحوه اکتساب ژن‌های بیماری‌زا در پاتوژن‌ها و اخذ تدابیر درمانی و پیشگیری موثر، امری حیاتی است. استفاده از روش‌های فنوتیپی برای تمایز سویه‌ها به‌میزان زیادی محدودیت دارد، چون بیان مارکرهای فنوتیپی تحت شرایط محیطی تغییر می‌کند. لذا مطالعه پراکنش پاتوژن‌ها و ارتباط آن برای بررسی اپیدمیولوژی عفونت‌های بیمارستانی و طراحی روش‌های صحیح کنترل پاتوژن‌ها بسیار ضروری است [۲۳، ۲۴].

روش‌های سنتی فنوتیپی از قبیل بیوتایپینگ، سروتایپینگ، باکتریوفاژتایپینگ، باکتریوسین‌تایپینگ و پروفایل حساسیت آنتی‌میکروبی به‌دلیل داشتن مشکلاتی چون زمان‌بر و پرهزینه‌بودن، روش‌های مناسبی نبوده و همچنین از نظر اپیدمیولوژیک دارای ارزش محدودی هستند. از طرفی بسیاری از این روش‌ها، قدرت افتراق‌دهی بین سویه‌های دارای ارتباط ژنتیکی نزدیک را ندارند [۲۵]. در این میان، ریبوتایپینگ که روشی مبتنی بر ساترن‌بلاتینگ است، به‌دلیل توانایی بررسی ارتباط ژنتیکی میان ایزوله‌های تحت بررسی و قدرت تکرارپذیری بالا از روش‌های کارآمد مولکولی است. قدرت تمایز این روش وابسته به تعداد کپی عناصر ژنتیکی هدف در ژنوم باکتری و پراکندگی آنها در میان قطعات محدودکننده است. انتخاب دقیق و بهینه‌سازی پروب، نوع و تعداد آنزیم‌های محدودکننده، شرایط الکتروفورز و هیبریداسیون نیز در قدرت تمایز این روش موثر است [۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰].

عفونت‌های ناشی از انواع سروتایپ‌های غیرتیفوئیدی *سالمونلا انتریکا* مانند سروتایپ *تیفی‌موریوم*، در اکثر نقاط جهان به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند؛ به‌طوری‌که سالانه

[Downloaded from militarymedj.ir on 2022-01-23]

بیش از ۵۰هزار مورد بیماری ناشی از سالمونلا در ایالات متحده گزارش می‌شود که در اثر مصرف آب و غذای آلوده به سروتایپ‌های سالمونلا است [۳، ۴، ۵]. نتایج بررسی *لینگ* و همکاران در هنگ‌کنگ نشان داد که سروتایپ‌های *انتریتیدیس*، *تیفی‌موریوم* و *دربی*، شایع‌ترین سروتایپ‌های سالمونلا در میان ایزوله‌های جداشده از بیماران طی سال‌های ۱۹۹۰ الی ۲۰۰۴ در این کشور هستند [۲۶]. در اکثر مطالعات صورت‌گرفته، نتایج به‌دست‌آمده حاکی از کارآمدبودن ریبوتایپینگ و قدرت بالای افتراق‌دهی این روش میان ایزوله‌های سالمونلا سروتایپ *تیفی‌موریوم* است. به‌طور مثال، *گووارا* و همکاران با استفاده از ریبوتایپینگ به‌کمک آنزیم‌های محدودالاثر *HincII*، *SalI* و *PvuII* توانستند ۸۴ ایزوله متعلق به سروتایپ *تیفی‌موریوم* را به ۱۹ریبوتایپ مختلف تفکیک نمایند و نتیجه گرفتند این تکنیک، قدرت افتراق‌دهی و تایپ‌بندی و حساسیت بالاتری نسبت به سایر روش‌ها از جمله فاژتایپینگ دارد [۲۷]. *میله‌مان* و همکاران در فرانسه با استفاده از روش‌های مختلف تایپینگ، از جمله آنالیز الگوی پلاسمیدی و ریبوتایپینگ، طی بررسی که روی ۵۶ ایزوله *سالمونلا تیفی‌موریوم* جداشده از بیماران انجام دادند، توانستند ۹ الگوی ریبوتایپ مختلف را شناسایی کنند. این گروه، از آنزیم‌های برش‌دهنده *BglII*، *PvuII* و *SmaI* استفاده نمودند. نتایج به‌دست‌آمده در بررسی این گروه با استفاده از آنزیم برش‌دهنده *SmaI* نشان داد که ریبوتایپ‌های ۱ تا ۷ ایزوله‌های به‌دست‌آمده ارتباط نزدیکی با یکدیگر دارند و همگی متعلق به یک ریبوتایپ هستند. به‌علاوه ریبوتایپ‌های با الگوی ۸ و ۹ نیز با یکدیگر ارتباط داشته و از ریبوتایپ‌های ۱ تا ۷ متفاوت هستند. *سالمونلا تیفی‌موریوم*های جداشده دارای ریبوتایپ ۸، از دو منشا حیوانی و مواد غذایی جداسازی شده بودند. همچنین ایزوله‌هایی که دارای ریبوتایپ ۹ بودند، از دو منشا حیوانی مختلف، اما هر دو از یک منطقه جغرافیایی جدا شدند [۲۸].

در مطالعه حاضر، ریبوتایپینگ توانست مجموع ۱۳ ایزوله متعلق به سروتایپ *تیفی‌موریوم* را به ۷ دسته تقسیم نماید. این الگوها در دسته‌های 1b تا 7b طبقه‌بندی شدند. دسته 2b، الگوی غالب در هر دو بیمارستانِ تحت بررسی بود. لذا این الگوهای بسیار شبیه به هم حکایت از آن دارد که به‌احتمال زیاد سویه‌های موجود در این گروه از یک کلون مشترک منشا گرفته باشند. *کی‌سار* و همکاران، مطالعه‌ای روی ۷۱ ایزوله *سالمونلا انتریتیدیس* و ۴۱ ایزوله *سالمونلا تیفی‌موریوم* با استفاده از ریبوتایپینگ انجام دادند. نتایج به‌دست‌آمده در این بررسی حاکی از شیوع بالای سروتایپ‌های *سالمونلا انتریتیدیس* و *تیفی‌موریوم* از سایر سروتایپ‌های سالمونلا بود. این گروه نشان دادند با استفاده از ژن‌های *rRNA* و آنزیم‌های برش‌دهنده، ایزوله‌های *سالمونلا انتریتیدیس* دارای الگوی ریبوتایپ واحدی هستند. اما الگوی ریبوتایپی به‌دست‌آمده میان ایزوله‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* از گوناگونی ژنتیکی بسیاری برخوردار بودند و نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که منشا ایزوله‌های *تیفی‌موریوم* متعلق به یک ریبوتایپ نبوده و ایزوله‌های به‌دست‌آمده مربوط به یک کلون واحد نیستند [۲۵].

نتیجه‌گیری

سویه‌های در گردش *سالمونلا انتریکا* سروتایپ *تیفی‌موریوم* در بیمارستان‌های مورد بررسی در تهران، صرفاً متعلق به یک ریبوتایپ خاص نبوده و از گوناگونی ریبوتایپی یا به‌عبارت کلی‌تر از گوناگونی ژنتیکی برخوردار هستند. اما برای قضاوت دقیق‌تر در مورد وجود کلون‌های محدود یا گسترده و ارتباط میان سویه‌های این سروتایپ، استفاده از سایر روش‌های تایپینگ مولکولی پیشنهاد می‌شود.

منابع

1- Lopez FE, Mercedes Pescaretti ML, Morero R, Delgado MA. Salmonella typhimurium general virulence factors: A battle of David against Goliath? Food Res Int. 2011;8(9):4-8.

2- Hendriksen SW, Orsel K, Wagenaar JA, Miko A, van Duijkeren E. Animal-to-human transmission of Salmonella typhimurium DT104A variant. Emerg Infect Dis. 2004;10(12):2225-7.

3- Oesterom J. Epidemiological studies and proposed preventive measures in the fight against human Salmonellosis. Int J Food Microbiol. 1991;12(1):41-52.

4- Gracias SK, McKillip LJ. A review of conventional detection and enumeration methods for pathogenic bacteria in food. Can J Microbiol. 2004;50(11):883-90.

5- Slutsker L, Altekruse SF, Swerdlow DL. Foodborne diseases: Emerging pathogens and trends. Infect Dis Clin North Am. 1998;12(1):199-216.

6- Soumet C, Ermel G, Rose V, Rose N, Drouin P, Salvat G, et al. Identification by multiplex PCR based assay of Salmonella typhimurium and Salmonella enteritidis strains from environmental swabs of poultry houses. Lett Appl Microbiol. 1999;29(1):1-6.

7- Ranjbar R, Giammanco GM, Farshad S, Owlia P, Aleo A, Mammina C. Serotypes, antibiotic resistance and class 1 integrons in Salmonella isolates from pediatric cases of enteritis in Tehran, Iran. Foodborne Pathog Dis. 2011;8(4):547-53.

8- Tsen HY, Lin JS, Hsih HY. Pulsed field gel electrophoresis for animal Salmonella enterica serovar Typhimurium isolates in Taiwan. Vet Microbiol. 2002;87(1):73-80.

9- Herikstad H, Motarjemi Y, Tauxe RV. Salmonella surveillance: A global survey of public health serotyping. Epidemiol Infect. 2002;129(1):1-8.

10- Ranjbar R, Giammanco GM, Aleo A, Plano MR, Naghoni A, Owlia P, et al. Characterization of the first extended-spectrum b-lactamase producing nontyphoidal Salmonella strains isolated in Tehran, Iran. Foodborne Pathog Dis. 2010;7(1):91-5.

11- Ranjbar R, Salimkhani E, Sadeghifard N, Zaeimi Yazdi J, Morovvati S, Jonaidi N, et al. An outbreak of gastroenteritis of unknown origin in Tehran, July 2003. Pak J Biol Sci. 2007;10(7):1138-40.

12- de Jong B, Ekdahl K. The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associated and candidate countries. BMC Public Health. 2006;6(4):13-8.

[Downloaded from militarymedj.ir on 2022-01-23]

13- Karami A, Ranjbar R, Ahmadi Z, Safiri Z. Rapid detection of different serovares of Salmonella entrica by multiplex PCR. Iran J Pub Health. 2007;36(2):38-42.
14- Naghoni A, Ranjbar R, Tabaraie B, Farshad S, Owlia P, Safiri Z, et al. High prevalence of integron-mediated resistance in clinical isolates of Salmonella enteric. Jpn J Infect Dis. 2010;63(6):417-21.
15- Zahraei Salehi T, Tadjbakhsh H, Atashparvar N, Mahzounieh MR. Detection and identification of Salmonella typhimurium in bovine diarrhoeic fecal samples by immunomagnetic separation and multiplex PCR assay. Zoonos Pub Health. 2007;54(6-7):231-6.
16- Skjolaas KA, Burkey TE, Dritz SS, Minton JE. Effects of Salmonella enterica Serovars Typhimurium (ST) and Choleraesuis (SC) on chemokine and cytokine expression in swine ileum and jejunal epithelial cells. Vet Immunol Immunopathol. 2006;111(3-4):199-209.
17- Ranjbar R, Soltan dalal MM, Talebi M, Pourshafie MR. Increased isolation and characterization of Shigella sonnei obtained from hospitalized children in Tehran, Iran. J Health Popul Nutr. 2008;26(4):426-30.
18- Pourshafie MR, Bakhshi B, Ranjbar R, Sedaghat M, Sadeghifard N, Zaemi Yazdi J, et al. Dissemination of a single Vibrio cholerae clone in cholera outbreaks during 2005 in Iran. J Med Microbiol. 2007;56(12):1615-9.
19- Landeras E, Gonzalez-hevia MA, Alzugaray R, Mendoza MC. Epidemiological differentiation of pathogenic strains of Salmonella enteritidis by ribotyping. J Clin Microbiol. 1996;9(34):2294-6.
20- Grimont F, Grimont PAD. Ribosomal ribonucleic acid gene restriction pattern as potential taxonomic tools. Ann Microbiol. 1986;137(2):165-75.
21- Martins CHG, Santos WR, Castro FA, Fernandes SA, Martinez R. Ribotyping of Salmonella enteritidis strains reveals the spread of a single genotype in the Brazilian city of Ribeirao Preto. J Bras Patol Med Lab. 2006;1(42):19-23.
22- Ranjbar R, Mammina C, Pourshafie MR, Soltan-Dallal MM. Characterization of endemic Shigella boydii strains isolated in Iran by serotyping, antimicrobial resistance, plasmid profile, ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. BMC Res Note. 2008;1(74):65-9.
23- Greenwood D, Slack RCB, Peutherer JF. Medical Microbiology. 16th ed. New York: Churchill Livingstone Press; 2003.
24- Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R. Burn wound infections. Clin Microbiol Rev. 2006;19(2):403-34.
25- De Cesare A, Manfreda G, Dambaugh TR, Guerzoni ME, Franchini A. Automated ribotyping and random amplified polymorphic DNA analysis for molecular typing of Salmonella enteritidis and Salmonella typhimurium strains isolated in Italy. J Appl Microbiol. 2001;91(5):780-5.
26- Ling JML. Rapid molecular methods for epidemiological investigation of foodborne outbreaks. Hong Kong Med J. 2011;17(1):18-20.
27- Guerra B, Landeras E, Gonzalez-Hevia MA, Mendoza MC. A three-way ribotyping scheme for Salmonella serotype Typhimurium and its usefulness for phylogenetic and epidemiological purposes. J Med Microbiol. 1997;46(4):307-13.
28- Millemann Y, Lesage MC, Chaslus-Dancla E, Lafont JP. Value of plasmid profiling, ribotyping and detection of IS200 for tracing avian isolates of Salmonella typhimurium and S. enteritidis. J Clin Microbiol. 1995;33(1):173-9.

[Downloaded from militarymedj.ir on 2022-01-23]