بررسی انواع محیط‌های غنی کننده، انتخابی و افتراقی درجداسازی و شناسایی سالمونلا در مبتلایان به اسهال

دکتر محمد مهدی سلطان دلال[۱]، دکتر عباس رحیمی فروشانی[۲]،
بهرام نیک منش[۳]، اکرم طباطبایی بفرویی[۴]، نوشین عقیلی[۵]

چکیده

زمینه و هدف: سالمونلوزیس یک گاستروانتریت ناشی از آلودگی به سروتایپ‌های سالمونلا و یکی از شایع‌ترین عفونت‌های غذایی در جهان می‌باشد. هدف از این تحقیق بهینه سازی روش‌های متداول در جداسازی سالمونلا از نمونه اسهال کودکان می‌باشد.

روش بررسی: از ۱۰۰ کودک بیمار مبتلا به اسهال مراجعه کننده به مرکز طبی کودکان تهران نمونه مدفوع تهیه گردید. سپس از ۳ روش غنی سازی راپاپورت واسیلیادیس براث(RV) و تتراتیونات براث(TT) در ۴۲ درجه سانتی گراد و سلنیت سیستئین براث(SC) در ۳۷ درجه سانتی گراد جهت غنی سازی سالمونلا استفاده گردید. پس از ۲۴ ساعت از هر روش بر روی ۶ محیط کروم آگار سالمونلا(CHROMagar Salmonella)، رامباخ آگار(RA)، گزیلوز- لیزین- دزوکسی کولات آگار(XLD)، هکتون انتریک آگار(HE)، سالمونلا شیگلا آگار(SS)، بریلیانت گرین آگار(BG) تلقیح نموده شد.

یافته‌ها: در مجموع ۱۳ نمونه(۱۳٪) به عنوان سالمونلا شناسایی شدند. از این تعداد تمامی ۱۳ نمونه(۱۰۰٪) با استفاده از RV براث، ۸ نمونه (۶۱/۵٪) باSC براث و ۳ نمونه (۲۳٪) باTT براث مثبت شدند. بالاترین میزان جداسازی از ترکیب محیط غنی کننده RV براث و محیط کشت انتخابی RA آگار با نسبت۱۰۰٪ بدست آمد و پایین‌ترین میزان جداسازی از ترکیب محیط غنی کننده TT براث و محیط کشت انتخابیBG آگار با نسبت ۱۵/۴٪ بدست آمد.

نتیجه‌گیری: مقایسه ۳ محیط غنی کننده و ۶ محیط کشت انتخابی نشان داد که ترکیبRV براث و RA آگار برای جداسازی سالمونلا بسیار مناسب است.

واژه‌های کلیدی: سالمونلا، گاستروآنتریت، جداسازی، غنی سازی

* نویسنده مسئول :
دکتر محمد مهدی سلطان دلال ؛
دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
Email :
Soltanda@tums.ac.ir

- دریافت مقاله : آذر ۱۳۸۹ - پذیرش مقاله : تیر ۱۳۹۰

مقدمه

بیماری‌های منتقله از غذا از مهمترین معضلات سلامت بهداشت جامعه است. سالمونلاها سالیانه سبب آلودگی حدود ۱/۴ میلیون نفر و چند صد نفر مرگ و میر در آمریکا می‌شوند.

طیف وسیعی از محیط‌های کشت اختصاصی برای جداسازی سالمونلا تولید شده، اما هیچ یک از آن‌ها کامل نیست(۱). محیط‌های آبگوشت‌های انتخابی سبب افزایش رشد سالمونلا و مانع رشد باکتری‌های غیر سالمونلا می‌شوند. در حال حاضر آبگوشت‌های حاوی سلنیت، برلیانت گرین و مالاشیت گرین برای جداسازی سالمونلا توصیه می‌شوند. همچنین اخیراً آبگوشت راپاپورت واسیلیادیس(RV) برای جداسازی سالمونلا برای مواد غذایی با بار میکروبی کم و یا زیاد تهیه شده، در حالیکه آبگوشت تتراتیونات(TT) انکوبه

[۱] استاد گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲] دانشیار گروه آمار و اپیدمیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۳] کارشناس ارشد انگل شناسی آزمایشگاه مرکز طبی کودکان دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۴] کارشناس ارشد میکروب شناسی گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
[۵] کارشناس مرکز مدیریت بیماری های واگیر وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-29]

در ۳۵ درجه سانتی گراد برای مواد غذایی با بار آلودگی کم و در ٤٥ درجه سانتی گراد با بار آلودگی بالا توصیه می‌شود(۳-۲). افزایش مشکلات موجود در جداسازی و شناسایی سالمونلاها در نمونه‌های کلینیکی(مدفوع) با توجه به بار میکروبی بسیار بالا، توجه بیشتری را نسبت به نمونه‌های مواد غذایی جلب نموده است. مرحله غنی سازی انتخابی موجب افزایش نسبت تعداد سلول‌های سالمونلا در کل فلور میکروبی می‌گردد و این عمل با فراهم نمودن امکان تغذیه سالمونلا و محدود نمودن رشد سایر میکرو ارگانیسم‌های موجود صورت می‌گیرد. گسترده‌ترین محیط‌های مورد استفاده در کلینیک عبارتند از سلنیت سیستئین براث، که حاوی سیستئین جهت تسریع رشد سالمونلاها می‌باشد. مولرکافمن تتراتیونات براث که حاوی تتراتیونات، بریلیانت گرین و نمک‌های صفراوی می‌باشد، راپاپورت – واسیلیادیس(RV) براث که حاوی مالاشیت گرین، کلرید منیزیم و کاهش جزئی pH به عنوان فاکتورهای انتخابی می‌باشند. به دلیل این که این محیط ها از نظر انتخابی بودن متفاوت می‌باشند، معمولاً این دو محیط مایع به صورت موازی مورد استفاده قرار می‌گیرند، معمولاً ترکیبی از محیط کمتر انتخابی سلنیت– سیستئین براث و یکی از محیط‌های دیگر جهت این منظور مورد استفاده قرار می‌گیرند(٤-۱).

تلقیح محیط‌های کشت بر مبنای تخمیر قند لاکتوز و تولید هیدروژن سولفوره بصورت سنتی انجام می‌گردد.

نمونه‌های کلینیکی پس ازانکوباسیون در محیط‌های غنی کننده انتخابی مایع به محیط‌های جامد انتخابی و افتراقی منتقل می‌شوند. عوامل انتخابی مورد استفاده عبارتند از نمک‌های صفراوی یا دزوکسی کولات همچون(XLD) Xylose Lysine Deoxycolate agar و یا تولید بریلیانت گرین(BG) Brilliant Green agar، واکنش‌های تشخیصی که معمولاً به وسیله عدم توانایی اغلب سالمونلاها جهت تخمیر قند لاکتوز و یا تولید سولفید هیدروژن فراهم می‌شود از قبیل (SS) Salmonella – Shigella agar, Hekton Enetric agar (HE) (٦-٤).

از سال ۱۹۹۰ چندین محیط کشت حاوی سوبسترای کروموژنیک که با آنزیم‌های موجود در سالمونلا واکنش می‌دهد، ساخته شده و بتدریج تکمیل شده است. این سوبسترای کروموژنیک(X-Gal) داخل محیط و متصل به پروپیلن گلیکول است که پس از واکنش با آنزیم بتاگالاکتوزیداز، اسید تولید کرده و تغییر رنگ حاصل می‌شود(۱۱-۷).

هدف از این مطالعه ارزیابی ۳ محیط غنی کننده و ٦ محیط کشت برای جداسازی سالمونلا از نمونه‌های مدفوع می‌باشد.

روش بررسی

از ۱۰۰ کودک بیمار مبتلا به اسهال مراجعه کننده به مرکز طبی کودکان تهران نمونه مدفوع تهیه و سریع به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده بهداشت منتقل و طبق پروسه زیر اعمال گردید(۱۲-۱۰).

روز اول: به۱۰ cc از هر یک از محیط هایTT براث و SC براث، ۵ گرم نمونه مدفوع یا یک سوآب اضافه و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و زمان ۲٤-۱۸ ساعت نگهداری شد(برای RV براث دمای ٤۲ درجه سانتیگراد استفاده می‌شود).

روز دوم: یک لوپ از محیط فوق را داخل ٦ نوع از محیط‌های(کروموژنیک آگار– Rambach Agar –XLD– BG– S.S– HE) تلقیح نموده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲٤-۱۸ ساعت نگهداری شد.

روز سوم: حداقل ۱ پرگنه خالص از هر کدام از محیطهای فوق را برداشت نموده و تستهای بیوشیمیایی

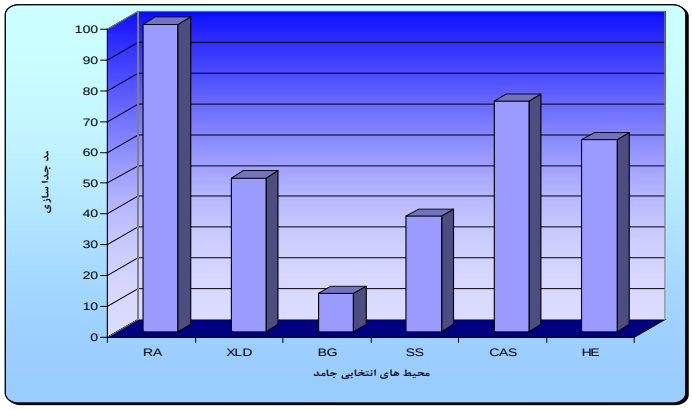
[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-29]

در محیطهای افتراقی Urea -SIM – TSI– LIA -MRVP Simon Citrate– انجام گرفت.

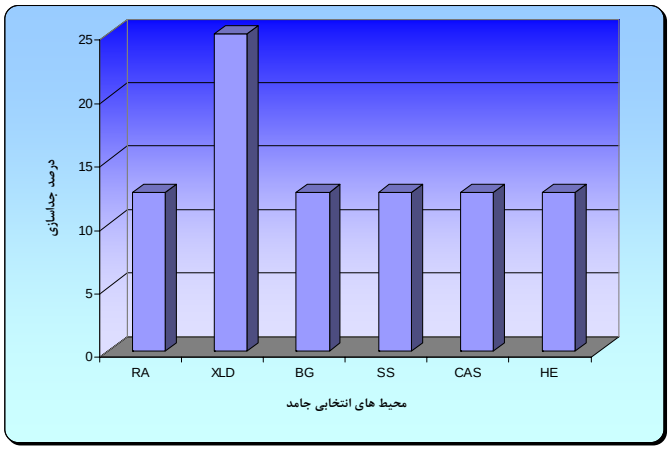
روز چهارم: با استفاده از کیتAPI –20E (بیومریو) و تستهای سرولوژی، پرگنه‌ها شناسایی و تایید شدند.

یافته‌ها

پس از انجام آزمایشات فوق در مجموع ۱۳٪ نمونه‌ها آلوده به سالمونلا بود. بکارگیری محیط‌های غنی کننده سبب شد تا ۱۳ نمونه(۱۰۰٪) با استفاده از RV براث، ۸ نمونه(۶۱/۵٪) با استفاده ازSC براث و ۳ نمونه(۲۳٪) با استفاده ازTT براث جدا شوند. بالاترین میزان جداسازی توسط محیط کشت RA از محیط غنی کنندهRV براث با نسبت۱۰۰٪ بدست آمد و پایین ترین میزان جداسازی توسط محیط کشت BG از محیط غنی کننده TT براث با نسبت ۱۵/٤٪ بدست آمد(نمودار۱ الی۳). بر اساس آزمون مک نمار نتایج غنی کننده محیطRV با SC و TT اختلاف معنادار دارد(P< ۰/۰۵).

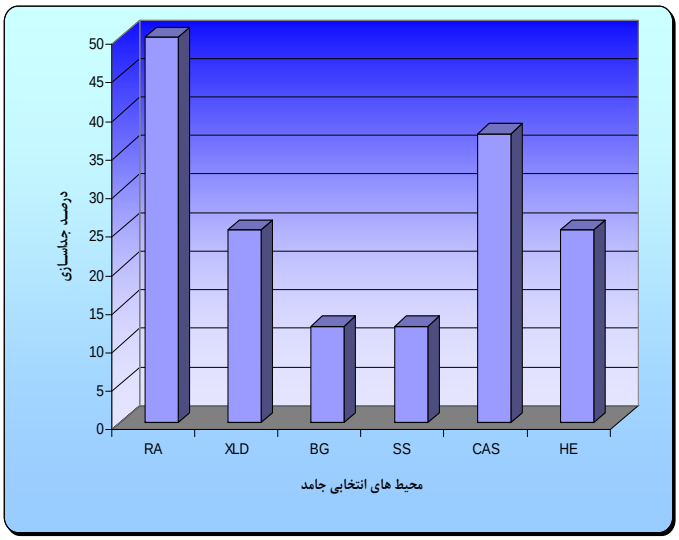


نمودار ۱: نمودار درصد جداسازی نمونه های مثبت مورد پژوهش روی محیط های انتخابی جامد با استفاده از محیط غنی کننده RV

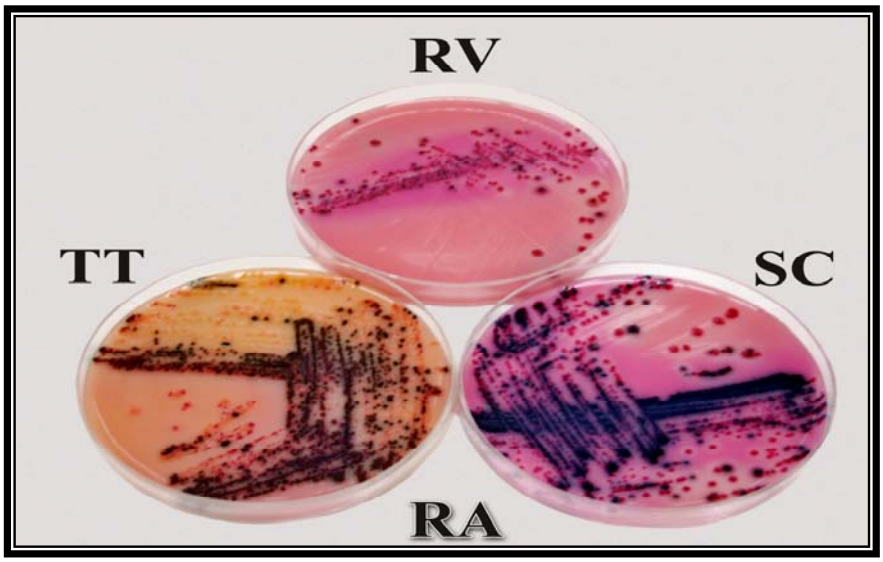


نمودار ۲: نمودار درصد جداسازی نمونه های مثبت مورد پژوهش روی محیط های انتخابی جامد با استفاده از محیط غنی کننده TT

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-29]



نمودار ۳: نمودار درصد جداسازی نمونه های مثبت مورد پژوهش روی محیط های انتخابی جامد با استفاده از محیط غنی کننده SC



شکل ۱ : کشت و جداسازی سالمونلا به همراه باکتری‌های جانبی در محیط کشت انتخابی رامباغ آگار (RA) با استفاده از سه محیط غنی کننده RV ، SC و TT

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-29]

بحث

اسهال‌های ناشی از سالمونلا بویژه در کودکان از طیف گسترده‌ای برخوردار است. وجود فلورهای مختلف در نمونه مدفوع غالباً سبب مشکلاتی در امر جداسازی و شناسایی صحیح و بموقع سالمونلا می‌گردد. لذا هدف از این مطالعه معرفی روشی برای افزایش توان جداسازی سالمونلا از نمونه‌های مدفوع در موارد گاستروانتریت بوده است. این یافته‌ها نشان داد که ۱۳٪ نمونه‌ها آلوده به سالمونلا بوده و تمامی موارد مثبت با استفاده از محیط غنی کننده RV براث و محیط کشت RA آگار بدست آمد.

محققان زیادی موثر بودن محیط کشت غنی کننده RV را برای بازیافت و بهبود رشد سالمونلا گزارش داده‌اند(۱۶-۱۳و۵و۳). در مطالعه قبلی ما و همکاران در سال ۲۰۰٤، ۳۱۰ نمونه اسهالی مربوط به کودکان زیر ۵ سال در بیمارستان مرکز طبی کودکان مورد مطالعه قرار گرفت و میزان آلودگی به پاتوژنهای باکتریایی مختلف ۳۰/۳٪ و میزان آلودگی به سروارهای مختلف سالمونلا ۲/٦٪ گزارش شده است. همچنین در این مطالعه شایع ترین سروار سالمونلا پاراتیفی B گزارش شده است. اخیراً در مطالعه‌ای دیگر در همین بیمارستان ٥٤٪ سالمونلاهای جدا شده متعلق به سروتایپ انتریتیدیس و تنها ۸٪ به سروتایپ پارا تیفی B تعلق داشته است . با مقایسه نتایج بدست آمده از ۲ مطالعهٔ ما که در یک بیمارستان طی فاصله ۵ سال بر روی نمونه‌های مدفوع بیماران مراجعه کننده صورت گرفته، شاهد تغییرات درسروتایپ ایزوله های سالمونلا هستیم. بنظر می‌رسد با توجه به افزایش شیوع سالمونلوز در سرتاسر جهان و اهمیت آن بویژه در کودکان و افراد مستعد این مسئله بشدت نگران کننده می‌باشد(۱۸-۱۷).

Busse و همکارانش در سال ۱۹۹۵ طی مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که محیط غنی کننده RV محیط غنی کننده قابل اعتمادی برای جداسازی سالمونلا می‌باشد(۱۹).

June و همکاران و Hammack و همکاران همچنین دریافتند که RV و TT در ٤۲°c نتایج بهتری از SC و TT در ۳٥°c در جداسازی سالمونلا از گوشت تازه و محصولات با آلودگی بالا می‌دهد.

همچنین June و همکاران در ارزیابی و مقایسه محیط‌های غنی کننده برای جداسازی سالمونلا، ۳ روش غنی کننده RV در ٤۲°c، TT در ۳٥°c و٤۲°c و SC در ۳٥°c را روی ۱۱۲٥ نمونه ماده غذایی از قبیل صدف خوراکی، دست و پای قورباغه، قارچ، میگو و گوشت مرغ مورد آزمایش قرار دادند که ۳۸٪ از نمونه‌ها با RV و ۲۷/٥٪ و ۳۲/۷٪ با TT به ترتیب در ۳٥°c و ٤۲°c، ۲۹/۷ آن ها با SC به عنوان غنی کننده مثبت شد(۲۰و۳). از طرفی Blivet و همکارانش مشاهده کردند که برای بازیافت و بهبود رشد سالمونلا، محیط غنی کننده RV بسیار کارآمدتر از SC می‌باشد، وی برای انجام آزمایشات خود از نمونه های تخم مرغ، جوجه و ... استفاده کرد که پس از انجام آزمایشات به این نتیجه رسید که ۹۷/٦٪ از نمونه‌های مثبت با استفاده از RV و فقط ٤۲/۲٪ از آن‌ها با استفاده از SC به عنوان غنی کننده جدا شدند . اگر چه آن‌ها اشاره کردند که SC توانایی شناسایی تعداد کمی(۱۰-٥۰CFU/ml)ازسروتیپ‌های سالمونلا، همچون سالمونلا گالیناروم، س.پولوروم، س.تیفی، س.پاراتیفی را دارد(۱۳).

در سال ۱۹۹۸ طی تحقیقاتی روی محیط‌های موجود برای جداسازی انتروباکتریاسه از مواد غذایی محیط MSRV بهترین محیط برای غنی سازی و برای محیط انتخابی جامد، محیط XLD و Diagnostic Semisolid Salmonella agar که دارای درصد خاصی از نیتروفورانتوئین بود را برای

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-29]

جداسازی سالمونلا انتریتیدیس از مواد غذایی ارائه داد(۲۱).

طی مطالعه مشابه در برزیل محیط غنی کننده MSRV با حساسیت و ویژگی ۹۵/۵ و ۹۶/۸، محیط قابل اطمینانی برای جداسازی سالمونلا گزارش شد در ضمن طبق این گزارش محیط فوق زمان لازم برای جداسازی این میکروارگانیسم از مواد غذایی را کاهش داد(۲۲).

طی یک مطالعه دیگر Michael و همکارانش پس از انجام آزمایشهایی در سال ۲۰۰۳ به این نتیجه رسیدند که محیط کشت RV و TMK 42(TMK at 42°C) محیط های انتخابی غنی کننده مناسبی برای جداسازی سالمونلا می‌باشد(٦).

در سال ۱۹۷٦ Fagerberg و همکاران پس از انجام آزمایشات خود به این نتیجه رسیدند که SC برای جداسازی سروتیپ‌های خاصی از سالمونلا محیط مناسبی می‌باشد و TT برای سروتیپ‌های دیگر سالمونلا کارآمد می‌باشد(۲۳). همچنین Cox و Mercuri مشاهده کردند که TT زمانی که غلظت میکروارگانیسم کم باشد بسیار توکسیک می‌باشد و SC محیط غنی کننده موثری برای انواع خاصی از غذاهاست که تعداد سالمونلا کم باشد(۲٤).

در محیط‌های کلاسیک، سالمونلا، سیتروباکتر و پروتئوس پرگنه های شبیه به هم ایجاد می‌کند و هر ۳ این باکتریها تولید کننده H_2S بوده و لاکتوز را تخمیر نمی‌کنند، همچنین سیتروباکتر و پروتئوس در مواد غذایی به طور معمول یافت می‌شوند. با توجه به موارد فوق احتمال وجود نتایج مثبت کاذب در محیط‌های کلاسیک بسیار بالا می‌باشد.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که حساسیت و ویژگی محیط‌های کروموژنیک نسبت به محیط‌های کلاسیک بالا می‌باشد .

طی مطالعه‌ای در انگلستان Perry و همکارانش به این نتیجه رسیدند که محیط کروموژنیک ABC با حساسیت ۱۰۰ ٪ و ویژگی ۹۰/۵ ٪ محیط مناسبی برای جداسازی سالمونلا می‌باشد(۲۵).

Gaillot به همراه همکارانش در سال ۱۹۹۹ در مقایسه بین CHROM agar Salmonella (CAS) و Hektone Enteric agar (HE) به نتایج زیر رسیدند: حساسیت ۹۵ ٪ قبل از غنی سازی و ۱۰۰ ٪ بعد از غنی سازی برای CAS و حساسیت ۸۰ ٪ قبل از غنی سازی و ۱۰۰ ٪ بعد از غنی سازی برای HE و همین طور ویژگی ۸۸/۹ ٪ برای CAS و ۷۸/۵ ٪ برای HE گزارش کردند و آنها محیط کشت CAS را برای جداسازی سالمونلا پیشنهاد دادند(۸).

در مقایسه‌ای دیگر در فرانسه میان محیط های کشت Hektoen agar (HE) و٤ محیط کشت کروموژنیک ABC medium, CHROM agar Salmonella (CAS)، COMPASS Salmonella agar (COMPASS), ، Salmonella Detection and Identification medium (SMID) ، برای جداسازی سالمونلا، Perez و همکارانش پس از انجام آزمایشات خود به این نتیجه رسیدند که محیط‌های CAS و COMPASS محیط‌های مناسبی برای جداسازی سالمونلا می‌باشند و دارای ویژگی و حساسیت بالایی نسبت به دیگر محیط‌های کروموژنیک و HE می‌باشند(۹).

Rall و همکاران طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۵ روی محیط‌های کشت انتخابی و غنی کننده موجود برای جداسازی سالمونلا و ارزیابی این محیط‌ها به این نتیجه رسیدند که محیط کشت RV محیط غنی کننده مناسبی برای غنی سازی و بهبود رشد سالمونلا می‌باشد که این موضوع با یافته‌های ما مطابقت دارد و همین طور وی در مورد محیط‌های کشت انتخابی به این نتیجه رسید که CAS و RA به ترتیب محیط‌های انتخابی مناسبی برای جداسازی سالمونلا از مواد غذایی می‌باشد(۲٦).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-29]

نتایج ما نشان می‌دهد که رامباخ آگار(RA) محیط جامد مورد اطمینانی برای جداسازی سالمونلا مطابق با پژوهش‌های گذشته می‌باشد(۲۸-۲۷و۱۶). طبق یک تحقیق در سال ۱۹۹٤ در یک کارخانه شیر خشک در هلند با استفاده از RA به عنوان محیط انتخابی جامد و MSRV به عنوان محیط غنی کننده برای جداسازی سالمونلا استفاده شد که بازدهی این روش ۸۲٪ گزارش شد(۱٦). در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۰۵ برای مقایسه و ارزیابی محیط کشت انتخابی جامد کلاسیک SS و HE با محیط‌های کروموژنیک RA وSMID به این نتیجه رسیدند که محیط‌های کروموژنیک از حساسیت و ویژگی بالایی نسبت به محیط‌های کلاسیک برخوردار می‌باشد. در ضمن وی اشاره نمود با این که SMID توانایی شناسایی همه سالمونلاها را دارد ولی ویژگی‌اش به اندازه RA نمی‌باشد(۲۷).

نتیجه گیری

نتایج ما حاکی از آن است که محیط کشت کروموژنیک RA در مقایسه با پنج محیط کشت انتخابی جامد دیگر، یک محیط با قدرت انتخابی و افتراقی بالا می‌باشد و همچنین محیط غنی کننده RV براث، غنی کننده مناسبی برای احیاء رشد سالمونلا در نمونه مدفوع می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد۸۷۰۹ مورخ ۱۳۸۸/۸/۲۷ می‌باشد.

منابع

1. Baron EJ, Fineglod SM, Peterson LR. Methods for identification of etiologic agents of infectious diseases, Baily and Scott's Diagnostic Microbiology. 8 ed. USA: Mosby Company Pub; 1990: 363-381.

2. Vassiliadis P. The Rappaport - Vassiliadis (RV) enrichment medium for the isolation of Salmonellas: An overview. Journal of Applied Microbiology 1983; 54(1): 69-76.

3. Hammack TS, Amaguana RM, June GA, Sherrod PS, Andrews WH. Relative effectiveness of Selenite cystine broth, Tetrathinate broth and Rappaport – Vassiliadis medium for recovery of Salmonella spp from foods with a low microbial load. J Food Protect 1999; 62(1): 16-21.

4. Dusch H, Altwegg M. Evaluation of five new plating media for isolation of Salmonella species. J Clin Microbiol 1995; 33(4): 802-4.

5. Ruiz J, Nunez ML, Diaz J, Lorente I, Perez J, Gomez J. Comparison of five plating media for isolation of Salmonella species from human stools. J Clin Microbiol 1996; 34(3): 686-8.

6. Michael GB, Simoneti R, Da Costa M, Cardoso M. Comparison of different selective enrichment steps to isolate salmonella sp. From feces of finishing swine. Brazilian J Microbiol 2003; 34(2): 138-142.

7. Rambach A. New plate medium for facilitated differentiation of Salmonella spp. and other enteric bacteria. Jour Appl Environ Microbiol 1990; 56(1): 301-3.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-29]

8. Gaillot O, Camillo PD, Berche P, Courcol R, Savage C. Comparison of CHROMagar Salmonella medium and Hektoen enteric agar for isolation of salmonellae from stool sample. J Clin Microbiol 1999; 37(3): 762-5.

9. Perez JM, Cavalli P, Roure C, Renac R, Gille Y, Freydiere AM. Comparison of four Chromogenic media and Hektoen agar for detection and presumptive identification of Salmonella strains in human stools. J Clin Microbiol 2003; 41(3): 1130-4.

10. Maddocks S, Olma T, Chen S. Comparison of CHROMagar Salmonella medium and Xylose-Lysine-Desoxycholote agar and Salmonella-Shigella agar, for isolation of Salmonella strains from stool samples. J Clin Microbiol 2002; 40(8): 2999-3003.

11. Dusch H, Altwegg M. Comparison of Rambach agar, SM ID medium, and Hektoen enteric agar, for primary isolation of non-typhi salmonellae from stool samples. J Clin Microbiol 1993; 31(2): 410-2.

12. Centers for Disease Control and Prevention(CDC). Multistate outbreak of human Salmonella infections associated with exposure to turtles--United States, 2007-2008. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008 Jan 25; 57(3): 69-72.

13. Blivet D, Salvat G, Humbert F, Colin P. Evaluation of a new enrichment broth for the isolation of Salmonella spp. from poultry products. Intern J Food Microbiol 1997; 38(2-3): 211-6.

14. Beckers HJ, Roberts D, Price O, Beremer RR, Peter R. Evaluation of reference material for the detection of Salmonella. Int J Food Microbiol 1986; 38(3): 287-98.

15. Poupart MC, Mounier M, Denis F, Sirot J, Couturier C, Villeval F. A new chromogenic Ready-to use medium for Salmonella detection. Abstract of the 5th Euro Congress Clin Microbiol and Infect Diseases. 1991.

16. Joosten HM, Van Dijck WG, Van der Velde F. Evaluation of motility enrichment on Modified Semisolid Rappaport-Vassiliadis medium (MSRV) and automated conductance in combination with Rambach agar for Salmonella detection in environmental samples o a milk powder factory. Intern J Food Microbiol 1994; 22(2-3): 201-6.

17. Soltan Dallal MM, Moezardalan K. Aeromonas spp associated with children's diarrhoea in Tehran: a case-control study. Ann Trop Paediatr 2004; 24(1): 45-51.

18. Eshraghi S, Soltan Dalall MM, Fardsanei F, Zahraii Salehi T, Ranjbar R, Nikmanesh B, et al. Salmonella enteritidis and antibiotic resistance patterns: a study on 1950 children with diarrhea. Journal of School of Medicine in Tehran University of Medical Sciences 2010; 67(12): 876-82[Article in Persian].

19. Busse M. Reviews from the Sixth International Symposium of the Working Party for Culture Media. Intern J Food Microbiol 1995; 26(1) :117-31.

20. June GA, Sherrod PS, Hammack TS, Amaguana RM, Andrews WH. Relative effectiveness of selenite cystine broth , tetrathinate broth and Rappaport-Vassiliadis medium for recovery of salmonella spp From raw flesh highly contaminated food and poultry feed: collaborative study. J AOAC Intern 1996; 79(6): 1307-23.

21. De Boer E. Update on media for isolation of Enterobacteriaceae from foods. Intern J Food Microbiol 1998; 45(1): 43-53.

22. Worcman Barninka D, Destro MT, Fernandes SA, Landgraf M. Evaluation of motility enrichment on modified semi-solid Rappaport–Vassiladis medium (MSRV) for the detection of Salmonella in foods. Intern J Food Microbiol 2001; 64(3): 387-93.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-29]

23. Fagerberg DJ, Avens JS. Enrichment and plating methodology for Salmonella detection in food, A review. J Milk Food Technol 1976; 39(1): 628-46.

24. Cox NA, Mercuri AJ. Recovery of Salmonella from broiler carcasses by direct enrichment. J Food Protect 1978; 41(1): 521-4.

25. Perry JD, Ford M, Taylor J, Jones AL, Freeman R, Gould FK. ABC, medium and new Chromogenic agar for the selective isolation of Salmonella spp. J Clin Microbiol 1999; 37(3): 766-8.

26. Rall VLM, Rall R, Aragona LC, Da Silva MG. Evaluation of three enrichment broths and five plating media for salmonella detection in poultry. Brazilian J Microbiol 2005; 36(2): 147-50.

27. Monnery I, Freydiere AM, Baron C, Rousset AM, Tigaud S, Boude Chevalier M. Evaluation of two new Chromogenic media for detection of Salmonella in stools. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13(3): 257-61.

28. Eigner U, Reissbordt R, Hammann R, Fahr AM. Evaluation of a new chromogenic medium for the isolation and presumptive identification of Salmonella Species from stool speciments. Eur J Clin Microbiol Dis 2001; 20(8): 558-65.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-29]

Evaluation of Enrichment, Selective and Differential Media in Isolation and Identification of Salmonella Among Children with Diarrhea

Soltan Dalall Mohammad Mahdi [1](PHD) - Rahimi Forushani Abbas [2](PHD)
Nikmanesh Bahram [3](MSc.) - Tabatabaei Bafroei Akram[4](MSc.)
Aghili Nushin[5](BSc.)

1 Professor, Pathobiology Department, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2 Associate Professor, Epidemiology and Biostatics Department, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3 Master of Sciences in Parasitology, Children's Medical Center Laboratory, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4 Master of Sciences in Microbiology, Biology Department, Islamic Azad University, Science & Research Branch, Tehran, Iran
5 Bachelor of Sciences, Center for Communicable Disease Control, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran

Abstract

Received : Dec 2010
Accepted : Jul 2011

Background and Aim: Salmonellosis is a gastroenteritis caused by different serotypes of Salmonella and is the most common type of food poisoning in the world. The purpose of this research study is to optimize the conventional method for the isolation of Salmonella SPP from the diarrheic specimens of children.

Materials and Methods: Stool specimens were obtained from one hundred patients admitted to Children's Medical Center for diarrhea. The enrichment media were prepared by 3 methods: Rappaport Vassiliadis broth (RV), Tetrathionate broth (TT), and Selenite Cystine broth (SC). Then, for the isolation of Salmonella SPP, the enrichment methods RV and TT were used and incubated at 42° C, and SC at 37° C. After 24 hours of incubation, the enrichment samples were inoculated into the following 6 different media: Hektone Enteric agar (HE), Rambach agar (RA), CHROMagar Salmnella (CHROMagar Salmonella), Brilliant Green agar (BG), Salmonella-Shigella agar (SS), and Xylose–Lysine–Deoxycholate agar (XLD).

Results: In total, 13 out of one hundred samples were identified as Salmonella SPP. All of these 13 Salmonella SPP samples (i. e., 100%) were positive on RV broth; the figures were 8 (61.5%) and 3 (23%) on SC and TT broths, respectively. The highest amount of isolation was found by the combination of RV broth and RA agar (100%). The lowest rate, however, was obtained by the combination of TT agar and BG broth (15.4%).

Conclusion: The comparison results of 3 enrichment media and 6 selective media showed that the mixture of RV broth and RA agar would be very fine for the isolation of Salmonella SPP.

Key words: Salmonella, Gastroenteritis, Isolation, Enrichment

* **Corresponding author:**
Soltandalla MM;
E -mail :
Soltanda@tums.ac.ir

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-29]