

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

دکتر محمد مهدی سلطان دلال^۱، دکتر عباس رحیمی فروشانی^۲،
پدرام نیک منش^۳، اکرم طباطبایی بفروی^۴، نوشین عقیلی^۵

چکیده

زمینه و هدف: سالمونلوزیس یک گاستروانتریت ناشی از آلدگی به سروتاپیهای سالمونلا و یکی از شایع‌ترین عقوبات‌های 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 مدفعه تهیه گردید. سپس از ۳ روش غنی سازی راپاپورت و اسیلیادیس 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 سالمونولا (CHROMagar Salmonella)، رامباخ آگار (RA)، گریلوز- 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٪) با SC براث و ۳ نمونه (۲۳٪) با TT براث مثبت شدند. بالاترین میزان جداسازی از ترکیب محیط غنی کننده RV براث و محیط کشت انتخابی RA آگار با نسبت ۱۰۰٪ بدست آمد و پایین‌ترین میزان جداسازی از ترکیب محیط غنی کننده TT براث و محیط کشت انتخابی BG آگار با نسبت ۱۵/۴٪ بدست آمد.

نتیجه‌گیری: مقایسه ۳ محیط غنی کننده و ۶ محیط کشت انتخابی نشان داد که ترکیب RV 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

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، بریلیانت گرین و مالاشیت گرین برای جداسازی سالمونلا توصیه می‌شوند. همچنین اخیراً آبگوشت راپاپورت و اسیلیادیس (RV) برای جداسازی سالمونلا برای مواد غذایی با بار میکروبی کم و یا زیاد تهیه شده، در حالیکه آبگوشت تتراتیونات (TT) انکوبه

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

^۱ استاد گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۲ دانشیار گروه آمار و ایدئولوژی 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 بیماری‌های واگیر وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

واکنش‌های تشخیصی که معمولاً به وسیله عدم توانایی اغلب سالمونلاها جهت تخمیر قند لاکتوز و یا تولید سولفید هیدروژن فراهم می‌شود از قبیل (SS) – Shigella agar (SS) – Hekton Enetric agar (HE) (۴-۶).

از سال ۱۹۹۰ چندین محیط کشت حاوی سوبسترای کروموزنیک که با آنزیم‌های موجود در سالمونلا واکنش می‌دهد، ساخته شده و بتدريج تكميل شده است. اين سوبسترای کروموزنیک (X-Gal) داخل محیط و متصل به پروپیلن گلیکول است که پس از واکنش با آنزیم بتا-لاکتوزیداز، اسید تولید کرده و تغيير رنگ حاصل می‌شود (۷-۱۱).

هدف از اين مطالعه ارزیابی ۳ محیط غنی کننده و ۶ 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 متقل و طبق پروسه زیر اعمال گردید (۱۰-۱۲).

روز اول: به ۱۰ cc از هر یک از محیط‌های TT براث و SC براث، ۵ گرم نمونه مدفوع یا یک سوآب اضافه و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و زمان ۱۸-۲۴ ساعت نگهداری شد (برای RV براث دمای ۴۲ درجه سانتیگراد استفاده می‌شود).

روز دوم: یک لوب از محیط فوق را داخل ۶ نوع از محیط‌های (کروموزنیک آگار – Rambach Agar – XLD – S.S – HE – BG) تلقیح نموده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸-۲۴ ساعت نگهداری شد.

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

در ۳۵ درجه سانتی گراد برای مواد غذایی با بار آلوودگی کم و در ۴۵ درجه سانتی گراد با بار آلوودگی بالا توصیه می‌شود (۲-۳). 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. گستره‌های متحیط‌های مورد استفاده در کلینیک عبارتند از سلنتی سیستین براث، که حاوی سیستین جهت تسريع رشد سالمونلاها می‌باشد. مولر کافمن تتراتیونات براث که حاوی تتراتیونات، بریلیانت گرین و نمک‌های صفراء می‌باشد، راپاپورت – واسلیلادیس (RV) براث که حاوی مالاشیت گرین، کلرید منزیم و کاہش جزئی pH به عنوان فاکتورهای انتخابی می‌باشند. به دلیل این که این محیط‌ها از نظر انتخابی بودن متفاوت می‌باشند، معمولاً این دو محیط مایع به صورت موازی مورد استفاده قرار می‌گیرند، معمولاً ترکیبی از محیط کمتر انتخابی سلنتی- سیستین براث و یکی از محیط‌های دیگر جهت این منظور مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱-۴).

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 متقل می‌شوند. عوامل انتخابی مورد استفاده عبارتند از نمک‌های صفراء یا دزوکسی کولات همچون (XLD) Lysine Deoxycolate agar یا Xylose Lysine Deoxycolate agar (Brilliant Green agar (BG) یا تولید بریلیانت گرین (BG).

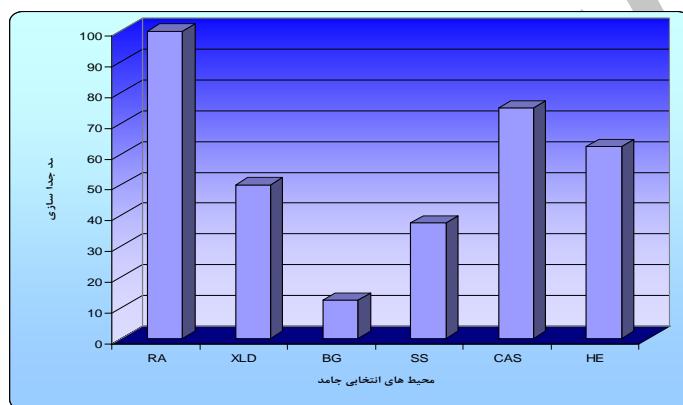
۸ نمونه(۶۱/۵٪) با استفاده از SC برات و ۳ نمونه(۲۳٪) با استفاده از TT برات جدا شوند. بالاترین میزان جداسازی توسط محیط کشت RA از محیط غنی کننده RV برات با نسبت ۱۰۰٪ بدست آمد و پایین ترین میزان جداسازی توسط محیط کشت BG از محیط غنی کننده TT برات با نسبت ۱۵/۴٪ بدست آمد(نمودار ۱ الی ۳). بر اساس آزمون مک نمار نتایج غنی کننده محیط RV با SC و TT اختلاف معنادار دارد($P < 0.05$).

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

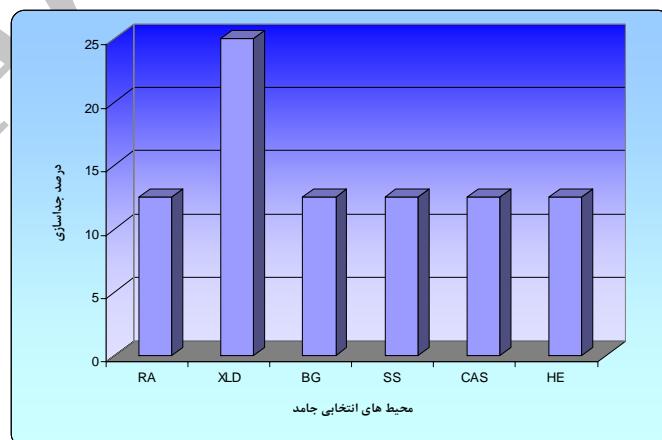
روز چهارم: با استفاده از کیت ۲۰E API (بیومریو) و تستهای سرولوژی، پرگنه‌ها شناسایی و تایید شدند.

یافته‌ها

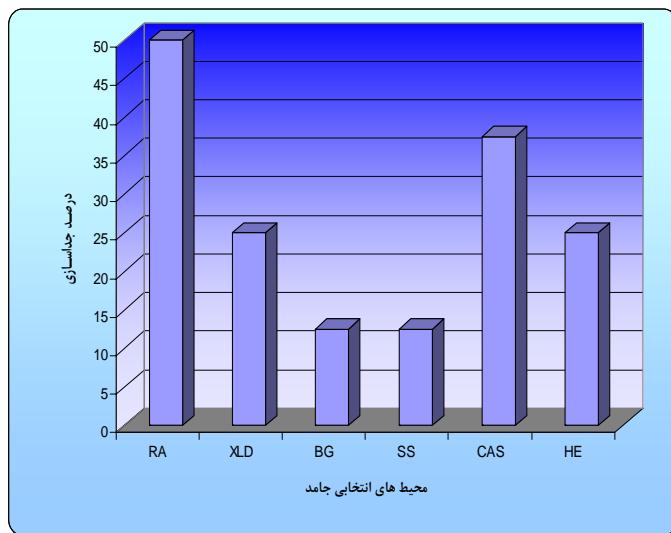
پس از انجام آزمایشات فوق در مجموع ۱۳٪ نمونه‌ها آلوده به سالمونلا بود. بکارگیری محیط‌های غنی کننده سبب شد تا ۱۳ نمونه(۱۰۰٪) با استفاده از RV برات،



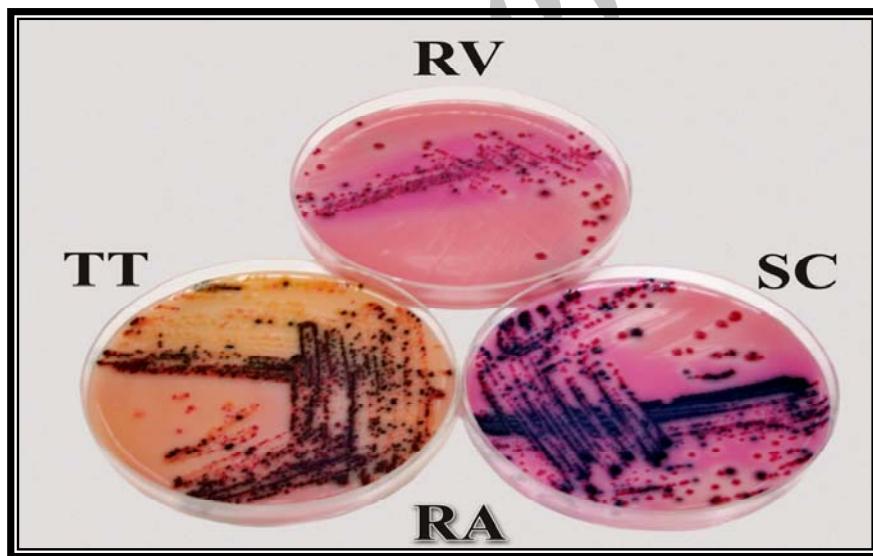
نمودار ۱: نمودار درصد جداسازی نمونه‌های مثبت مورد پژوهش (۹۰٪ محیط‌های انتخابی چامد با استفاده از محیط غنی کننده RV



نمودار ۲: نمودار درصد جداسازی نمونه‌های مثبت مورد پژوهش (۹۰٪ محیط‌های انتخابی چامد با استفاده از محیط غنی کننده TT



نمودار ۳: نمودار درصد جداسازی نمونه های مثبت مورد پژوهش (وی ممیط های انتخابی
جامد با استفاده از ممیط غنی کننده SC



شکل ۱: کشت و جداسازی سالمونلا به همراه باکتری های چانبی در ممیط کشت
انتخابی (امباغ آگار (RA) با استفاده از سه ممیط غنی کننده RV ، TT و SC

بحث

غنى کننده قابل اعتمادی برای جداسازی سالمونولا می باشد(۱۹).

June و همکاران و Hammack و همکاران همچنین دریافتند که TT و RV در 42°C نتایج بهتری از SC و TT در 35°C در جداسازی سالمونولا از گوشت تازه و محصولات بالا آلدگی دهد.

همچنین June و همکاران در ارزیابی و مقایسه محیط‌های غنى کننده برای جداسازی سالمونولا، روش غنى کننده RV در 42°C ، TT در 35°C و SC در 35°C و 42°C را روی ۱۱۲۵ نمونه ماده غذایی از قبیل صدف خوراکی، دست و پای قورباغه، قارچ، میگو و گوشت مرغ مورد آزمایش قرار دادند که 38% از نمونه‌ها با RV و $27/5\%$ و $32/7\%$ با TT به ترتیب در 35°C و 42°C ، آن‌ها با SC به عنوان غنى کننده مثبت شد(۲۰ و ۳). از طرفی Blivet و همکارانش مشاهده کردند که برای بازیافت و بهبود رشد سالمونولا، محیط غنى کننده RV بسیار کارآمدتر از SC می باشد، وی برای انجام آزمایشات خود از نمونه‌های تخم مرغ، جوجه و ... استفاده کرد که پس از انجام آزمایشات به این نتیجه رسید که $97/6\%$ از نمونه‌های مثبت با استفاده از RV و فقط $42/2\%$ از آن‌ها با استفاده از SC به عنوان غنى کننده جدا شدند. اگر چه آن‌ها اشاره کردند که SC توانایی شناسایی تعداد کمی($10-50\text{ CFU/ml}$) از سروتیپ‌های سالمونولا، 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 MSRV بهترین محیط برای غنى سازی و XLD برای محیط انتخابی جامد، محیط Diagnostic Semisolid Salmonella agar و درصد خاصی از نیتروفورانتوئین بود را برای

اسهال‌های ناشی از سالمونولا بویژه در کودکان از طیف گسترده‌ای برخوردار است. وجود فلورهای مختلف در نمونه مدفع غالباً سبب مشکلاتی در امر جداسازی و شناسایی صحیح و بموقع سالمونولا می‌گردد. لذا هدف از این مطالعه معرفی روشی برای افزایش توان جداسازی سالمونولا از نمونه‌های مدفع در موارد گاستروانتریت بوده است. این یافته‌ها نشان داد که 13% نمونه‌ها آلدوده به سالمونولا بوده و تمامی موارد مثبت با استفاده از محیط غنى کننده RV براث و محیط کشت RA آگار بدست آمد.

محققان زیادی موثر بودن محیط کشت غنى کننده RV را برای بازیافت و بهبود رشد سالمونولا گزارش داده‌اند(۱۶-۱۳ و ۳ و ۵). در مطالعه قبلی ما و همکاران در سال ۲۰۰۴، ۳۱۰ نمونه اسهالی مربوط به کودکان زیر ۵ سال در بیمارستان مرکز طبی کودکان مورد مطالعه قرار گرفت و میزان آلدگی به پاتوژنهای باکتریایی مختلف سالمونولا $30/3\%$ و میزان آلدگی به سرووارهای مختلف سالمونولا $2/6\%$ گزارش شده است. همچنین در این مطالعه شایع ترین سرووار سالمونولا پاراتیفی B گزارش شده است. اخیراً در مطالعه‌ای دیگر در همین بیمارستان 54% سالمونولا‌های جدا شده متعلق به سروتاپ انتریتیدیس و تنها 8% به سروتاپ پارا تیفی B تعلق داشته است. با مقایسه نتایج بدست آمده از ۲ مطالعه ما که در یک بیمارستان طی فاصله ۵ سال بر روی نمونه‌های مدفع بیماران مراجعه کننده صورت گرفته، شاهد تغییرات در سروتاپ ایزوله های سالمونولا 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 می باشد(۱۷-۱۸).

Busse و همکارانش در سال ۱۹۹۵ طی مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که محیط غنى کننده RV محیط

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

Gaillot به همراه همکارانش در سال ۱۹۹۹ در مقایسه بین (CAS) Salmonella (CHROM agar و Hektone Enteric agar (HE) به نتایج زیر رسیدند: حساسیت ۹۵٪ قبل از غنی‌سازی و ۱۰۰٪ بعد از غنی‌سازی برای CAS و حساسیت ۸۰٪ قبل از غنی‌سازی و ۱۰۰٪ بعد از غنی‌سازی 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 سالمونولا پیشنهاد دادند(۸).

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

Rall و همکاران طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۵ روی محیط‌های کشت انتخابی و غنی کننده موجود برای جداسازی سالمونولا و ارزیابی این محیط‌ها به این نتیجه رسیدند که محیط کشت RV محیط غنی کننده مناسبی برای غنی‌سازی و بهبود رشد سالمونولا 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

جداسازی سالمونولا 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 سالمونولا گزارش شد در ضمن طبق این گزارش محیط فوق زمان لازم برای جداسازی این میکرووارگانیسم 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) محیط‌های انتخابی غنی کننده مناسبی برای جداسازی سالمونولا می‌باشد(۱).

در سال ۱۹۷۶ Fagerberg و همکاران پس از انجام آزمایشات خود به این نتیجه رسیدند که SC برای جداسازی سروتیپ‌های خاصی از سالمونولا محیط مناسبی می‌باشد و TT برای سروتیپ‌های دیگر سالمونولا کارآمد می‌باشد(۲۳). همچنین Cox و Mercuri مشاهده کردند که TT زمانی که غاظت میکروارگانیسم کم باشد بسیار توکسیک می‌باشد و SC محیط غنی کننده موثری برای انواع خاصی از غذاهاست که تعداد سالمونولا کم باشد(۲۴).

در محیط‌های کلاسیک، سالمونولا، سیتروباکتر و پروتئوس پرگنه‌های 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 کروموزنیک نسبت به محیط‌های کلاسیک بالا می‌باشد.

سالمونلاها را دارد ولی ویژگی اش به اندازه RA نمی باشد(۲۷).

نتیجه گیری

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

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره فرادرداد ۸۷۰۹ مورخ ۱۳۸۸/۸/۲۷ می باشد.

انتخابی مناسبی برای جداسازی سالمونلا از مواد غذایی می باشد(۲۶).

نتایج ما نشان می دهد که رامباخ آگار(RA) محیط جامد مورد اطمینانی برای جداسازی سالمونلا مطابق با پژوهش های گذشته می باشد(۲۷-۲۸). طبق یک تحقیق در سال ۱۹۹۴ 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(۱۶). در مطالعه ای دیگر در سال ۲۰۰۵ برای مقایسه و ارزیابی محیط کشت انتخابی جامد کلاسیک SS و HE با محیط های کروموزنیک RA و SMID به این نتیجه رسیدند که محیط های کروموزنیک از حساسیت و ویژگی بالای نسبت به محیط های کلاسیک برخوردار می باشد. در ضمن وی اشاره نمود با این که SMID توانایی شناسایی همه

منابع

1. Baron EJ, Finegold 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, Tetrathionate 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, Altweig 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, Simonetti 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.

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, Gilles 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-Desoxycholate agar and *Salmonella-Shigella* agar, for isolation of *Salmonella* strains from stool samples. *J Clin Microbiol* 2002; 40(8): 2999-3003.
11. Dusch H, Altwege 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, Zahraei 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, Amaguna RM, Andrews WH. Relative effectiveness of selenite cystine broth , tetrathionate 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.

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 specimens. *Eur J Clin Microbiol Dis* 2001; 20(8): 558-65.