تحقیقی

دارای رتبه علمی-پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

میزان تهاجم سروگروه های سالمونلا به سلول های HEP- 2 در افراد مبتلا به اسهال

محمد مهدی سلطان دلال
استاد میکروب شناسی،مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی،دانشگاه علوم پزشکی تهران،تهران، ایران

عباس رحیمی فروشانی
دانشیار آمار، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی ، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران،تهران،ایران

محمد کاظم شریفی یزدی
استاد میکروب شناسی،مرکز تحقیقات ژنونوز،دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران،ایران

عبدالعزیز رستگارلاری
استاد میکروب شناسی، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی،دانشگاه علوم پزشکی تهران،تهران، ایران

بهرام نیک منش
دانشجوی دکتری انگل شناسی،آزمایشگاه مرکز طبی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران،ایران

فرزانه امین هراتی
کارشناس ارشد قارچ شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران،تهران، ایران

نویسنده مسئول: محمد مهدی سلطان دلال
تلفن: ۸۸۹۹۲۹۷۱-۰۲۱
پست‌الکترونیک: soltanirad34@yahoo.com
آدرس: بخش میکروب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

وصول مقاله : ۹۰/۹/٦
اصلاح نهایی: ۹۱/۹/۷
پذیرش مقاله:۹۱/۹/۷

چکیده

زمینه و هدف: *سالمونلوزیس یک مشکل جهانی بوده و گاستروانتریت شایع ترین شکل بیماری است. خاصیت تهاجم باکتری‌های روده‌ای یکی از مکانیسم‌های بیماریزائی آنهاست که به خوبی با تکنیک کشت سلولی قابل بررسی است. در این مطالعه با استفاده از کشت سلولی HEP-2 ویژگی تهاجمی تعدادی از سروگروه های سالمونلا مورد بررسی قرار گرفت.*

روش بررسی: *سوآپ رکتال های تهیه شده از ۲۸۰ بیمار مبتلا به اسهال (۱۴۰بیماربا اسهال خونی ، ۱۴۰ بیمار با اسهال آبکی به عنوان گروه مقایسه) مراجعه کننده به بیمارستان های امام خمینی و مرکز طبی کودکان را قبل از دریافت آنتی بیوتیک و۱۴۰ نمونه از افراد سالم به عنوان گروه کنترل ، در محیط های افتراقی و انتخابی هکتون و XLD آگار تلقیح نموده و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در۳۷ درجه سانتی گراد آن ها را از نظر ویژگی های ظاهری بررسی و با استفاده ازآزمایش های بیوشیمیایی و سرولوژی شناسایی شدند.با استفاده از روش کشت سلول HEP-2 ویژگی تهاجمی سروگروه های سالمونلا مورد بررسی قرار گرفت. همچنین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آن ها طبق دستورالعمل CLSI تعیین گردید.*

یافته ها: *۳۵ سوش سالمونلا(۸/۳٪) از نمونه های مورد بررسی جدا گردید .فراوانی سالمونلا در افراد مبتلا به اسهال آبکی ۵/۲ درصد، در مبتلایان به اسهال خونی۱/۷ درصد و در گروه کنترل ۱/۴درصد بوده است. بیشترین سروگروه جدا شده و با خاصیت تهاجمی بر روی کشت سلولی HEP-2 سروگروه B به ترتیب با ۲۲(۶۲/۹٪) و۶ (۱۷/۲٪) بود.*

نتیجه گیری: *نتایج بدست آمده نشان می دهد اکثر ایزوله های سالمونلا ، فاقدخاصیت تهاجمی بودند.*

واژه های کلیدی: *سالمونلا ، اسهال، تهاجم سلولی، کشت سلولی*

آدرس‌مقاله:
سلطان دلال م م، رحیمی فروشانی ع، شریفی یزدی ک، رستگار لاری ع ع، نیک منش ب، امین هراتی ف، " میزان تهاجم سروگروه های سالمونلا به سلول های HEP- 2 در افراد مبتلا به اسهال". مجله علوم آزمایشگاهی، ۱۳۹۲ دوره هفتم(شماره۱):۲۱-۱۷

Arc.

www.SID.ir

مقدمه

اسهال،گاستروانتریت و سپتی سمی‌های سالمونلائی از دسته بیماری‌های باکتریائی هستند که هر ساله تعداد زیادی از افراد به ویژه کودکان را مبتلا می‌سازند. سالیانه ۱۷ میلیون گاستروانتریت حاد یا اسهال به دلیل سالمونلوزیس غیر تیفوئیدی گزارش می شود. گاستروانتریت شایع ترین عفونت سالمونلایی در انسان می باشد که توسط سروتیپ های سالمونلا به ویژه سالمونلا تیفی موریوم و انتریتیدیس ایجاد می شود (۱،۲). به جز موارد استثنائی، بیماری‌های باکتریال را می‌توان آسان‌تر از هر گروه دیگر، پیگیری و درمان کرد. حتی در جوامع پیشرفته نیز بیماری‌های باکتریال شناخته شده به طور کلی از بین نرفته‌اند بلکه با استفاده از واکسن‌ها و درمان فوری و مناسب از خطر این بیماری‌ها کاسته شده است(۳،۴). برای دستیابی به چنین نتیجه‌ای، بررسی‌های بسیار دقیق پیرامون بیماریزائی این باکتری‌ها نیاز است. توانایی تهاجم باکتری‌های روده‌ای یکی از مکانیسم-های بیماریزائی آنهاست که به خوبی با تکنیک کشت سلولی قابل بررسی است(۵،۷).عوامل چسبندگی و تهاجم به سلول‌های میزبان و تولید سم از مواردی هستند که در بیماریزائی باکتری‌ها دخیل هستند. همچنین تهاجم میکروارگانیسم‌های پاتوژن روده‌ای،یکی‌از دو مکانیسم مهم ایجاد اسهال می‌باشد(۸). به توانائی ارگانیسم‌های پاتوژن جهت نفوذ در بافت‌های بدن قدرت تهاجم گفته می شود. البته باید توجه داشت که هر تهاجمی، بیماریزائی را به دنبال نخواهد داشت، همان گونه که بیماریزائی فقط از تهاجم حاصل نمی‌شود. اساس تهاجم بیشتر باکتری‌ها بر این پایه است که پذیرنده‌هایی در سطح برخی از سلول‌های حیوانی و سطح باکتری‌ها وجود دارد و این ارگانیسم‌های بیماریزا از طریق همین پذیرنده‌ها به سطح سلول‌های میزبان متصل شده و بیماریزائی خود را ظاهر می‌نمایند (۹،۱۱).در سالمونلوز ،سویه های بیماری زا به سادگی در سلول‌های اپی تلیال مخاط نفوذکرده و به سرعت به لامینا پروپریا و غده‌های لنفاوی آسیب رسانده و شروع به تکثیر در سلول های تک هسته‌ای نموده و باعث تشکیل گرانولوم می شود (۱۲،۱۳) موتان های غیر بیماری زا قادر به ورود وحمله به سلول های M در پلاک پیر(Peyer's patches) نمی باشند (۱۴). از آنجائی که استفاده از روش های سروتایپینگ و تعیین خصوصیات بیوشیمیایی توانایی شناسائی ارگانیسم‌های پاتوژن مهاجم را ندارد، این تشخیص اغلب با روش‌های کشت سلولی امکان پذیر است. Finlay و همکاران واکنش بین سالمونلا سوئیس و سالمونلاتیفی موریوم با سلول‌های HEP-2 را که منجر به چسبندگی، تهاجم و نفوذ آنها به سلول‌های تک لایه اپی تلیال می‌شود را مورد بررسی قرار دادند (۱۵). هدف از این مطالعه بررسی خاصیت تهاجمی سویه ها ی سالمونلا با استفاده از کشت سلولی HEP-2 پاسخ به این سوال که آیا تمامی ایزوله های سالمونلا قابلیت تهاجم به سلول های اپتلیال را دارندیا نه بوده است.

روش بررسی

این مطالعه در سال ۱۳۹۰ برروی نمونه سوآپ رکتال از۲۸۰ بیمار مبتلا به اسهال (۱۴۰بیمار با اسهال خونی، ۱۴۰ بیمار با اسهال آبکی به عنوان گروه مقایسه) مراجعه کننده به بیمارستان های امام خمینی و مرکز طبی کودکان، قبل از دریافت آنتی بیوتیک و۱۴۰ نمونه از افراد سالم به عنوان گروه کنترل انجام شد. نمونه سوآپ رکتال در محیط های افتراقی و انتخابی هکتون و XLD آگار تلقیح شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در^{o}C ۳۷ ، از نظر ویژگی های ظاهری بررسی و سپس کلنی های مشکوک به سالمونلا در محیطXLD و محیط هکتون را انتخاب و برای بررسی نهایی از تست های بیوشیمیایی مانند TSI agar ، Urea ، SIM, Simmons citrate, Lysine agar وMR-VP و آزمایش های سرولوژی استفاده شد(۱۶). پس از تایید سالمونلا به روش اسلاید اگلوتیناسیون طبق دستورالعمل شرکت سازنده (دیفکو)، الگوی مقاومت دارویی را طبق دستورالعمل CLSI بر روی آنتی بیوتیک های nalidixidacid, ciprofloxacin, cefixime , gentamicin, chloramphenicol, amikacin, nitrofourantoin, neomycin , kanamycin, cephalexin, ampicillin, amoxicillin , tetracyclin, co-trimoxazole تهیه شده از

Archive of SID

www.SID.ir

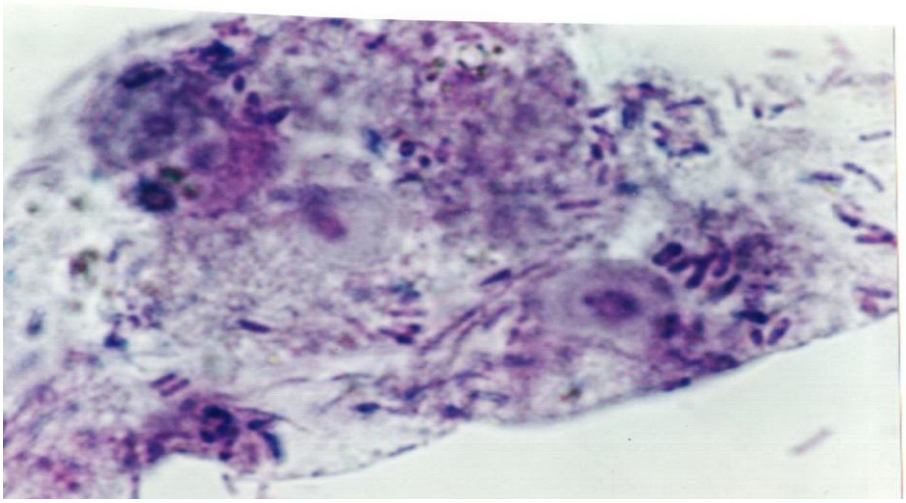
شرکت مست انجام گردید(۱۷). برای کشت سلول‌های HEP-2 از محیط MEM حاوی FCS به میزان ۱۰درصد استفاده گردید. به ازای هر MEM ۹۰ ml ، از FCS ۱۰ ml غیرفعال شـده استفاده شد. سپس ۲ ml بیکربنات سدیم ml ۱۰ ٪ و ۱ml محلول پنی سیلین–استرپتومایسین و ۲ ml گلوتامین اضافه شد. برای تهیه محیط مخصوص رشد داخل سلولی باکتری(Intracellular Growth Medium)به ۸۰ml محیط MEM حاوی FCS ، ۱۰ ml محلول آنتی بیوتیک و ۱۰ ml از مـحلول لیـزوزیـم (۳۰۰ µg/ml) اضـافه شد که قبل از مصرف از نظر استریل بودن کنترل گردید. سلول‌های HEP-2 را می‌توان در فلاسک‌های مخصوص کشت سلولی کشت داد، وقتی که هدف ازدیاد سلول باشد بعد از تشکیل یک لایه سلولی باید سلول‌ها را تریپسینیزه کرده و به منظور نگهداری در فلاسک‌های مخصوص و برای آزمایش نمایش قدرت تهاجمی در Leighton Tubes به تعداد مشخصی کشت داد. که ابتدا محیط کشت را خالی کرده وبـا ۵ml–۴ محلول Dulbecco's PBS سلول‌ها را شسته و ۲ml تریپسین به آن اضافه نموده و بعد از ۳–۲ دقیقه تریپسین را خالی کرده و فلاسک را برای مدت ۱۵ دقیقه در اتو ۳۷^{o}c قرار داده شد تا سلول‌ها از هم جدا شوند. سپس ۵ ml مـحیط کشت MEM کامل به آن اضافه کرده و به کمک پی پت پاستور سلول‌ها را از جدار فلاسک جدا و در محیط شناور شدند. برای نگهداری سلول‌ها و ازدیاد آنها جهت آزمایشات بعدی مقداری از سوسپانسیون سلولی را در فلاسک‌های دیگر ریخته و به آن ۵ ml MEM اضافه نموده و در اتو ۳۷^{o}c قرار داده شد. بعد از ۴۸ ساعت محیط کشت سلولی تعویض می‌شد. سلول‌ها بعد از ۲تا ۳ روز یک لایه سلولی کامل تشکیل دادند. ابتدا محیط کشت سلول‌های HEp-2 موجود در لوله‌های درپیچ دار Leighton را خالی کرده و سلول‌ها را با ۱/۵ ml Earle's Salt شستشو داده و پس از چند دقیقه آن را خالی کرده و به آن ۱/۵ ml محیط MEM بدون آنتی بیوتیک اضافه نموده و سپس لوله‌ها را به صورت افقی به مدت ۳ ساعت در اتو ۳۷^{o}c درجه قرار داده شدند. پس از ۳ ساعت محیط کشت سلولی را که در اثر رشد باکتری‌ها زردرنگ شده دور ریخته و سلول‌ها را چندین بار با Earle's Salt به آرامی شستشو داده شدند. یکبار دیگر سلول‌ها را با ۱/۵ ml محیط رشد داخل سلولی شسته و بعد ۱/۵ml از محیط فوق را به سلول‌های HEP-2 اضافه نموده و لوله‌ها را به صورت افقی به مدت ۴ سـاعـت در۳۷ ^{o}c قرار داده شدند. در طول این مدت بـاکتری‌های مهاجم که در مرحله اول وارد سلول های HEP-2 شده‌اند بطور داخل سلولی شروع به تکثیر نموده و فضای سلولی را پر می‌نمایند. هر ساعت تغییر رنگ محیط کشت را که نشانه رشد باکتری‌های خارج سلولی است کنترل شدند، درصورت تغییر رنگ محیط دوباره سلول‌ها را ۳ بار و هر بار بـوسیله ۱/۵ ml Earle's Salt شستشو داده و سپس بـه سلول‌ها ۱/۵ ml محیط رشد داخل سلولی اضافه می شد. پس از پایان ۴ ساعت محیط کشت سلولی را دور ریخته و سلول ها را ۳ بار با Dulbecco's PBS به آرامی شسته و به این ترتیب لامل حاوی سلول‌های HEP-2 آماده رنگ آمیزی شدند. به سلول‌های مذکور ۱ ml متانول اضافه نموده و به مدت ۵ دقیقه صبرنموده، سپس آهسته لوله Leighton حاوی لامل را تکان داده به گونه ای که لامل از جای خود جدا گردد و در متانول شناور شود و به آرامی لامل را به سمت دهانه لوله هدایت نموده و بوسیله یک پنس کوچک لامل را برداشته و توسط گیمسا رنگ آمیزی شد. با آب مقطر رنگ گیمسا را شسته و پس از ۱۰–۲۰ ثانیه لامل را به ترتیب و سریع در محلول‌های استن – گزیلل (۶۷+۳۳) و گزیلل خالص قرار داده و لامل را روی یک لام حاوی چند قطره ENTELLAN مونته شد. موارد مثبت بر اساس مشاهدات نفوذ باکتری به درون سلول به شرح زیر یادداشت می شوند: + ۳۰–۱۰ ، ++ ۷۰–۳۰ و +++ ۱۰۰–۷۰

یافته‌ها

۳۵ جدایه سالمونلا(۸/۳٪) از نمونه های مورد بررسی ایزوله وجهت بررسی خاصیت تهاجمی استفاده گردید. در بین نمونه‌های مورد آزمایش، سالمونلاهای شماره ۲۴ و ۱۳ که مربوط به سوش های گروه B بود نسبت به سایر سوش‌ها ازقدرت تهاجم بالاتری(+۳) برخوردار بودند(شکل شماره۱).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل شماره۱- سلول های HEP-2 پس از انکوباسیون کامل

در این مطالعه درصد تهاجم سوش‌های سالمونلا سروگروه C نسبت به سایر سروگروه ها از نسبت بالاتری برخوردار بود (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱ - توزیع فراوانی سروگروه های مهاجم سالمونلا های مورد مطالعه

سروگروه های سالمونلا	تعداد کل	مواد مثبت	درصد
سالمونلاسروگروه D	۹	۲	۲/۲۲
سالمونلاسروگروهB	۲۲	۶	۲۷/۲
سالمونلا سروگروه C	٤	۲	۵۰

بحث

امروزه توجه و اهمیت به اسهال و باکتری‌های پاتوژن عامل آن در حال گسترش می‌باشد و در این میان بررسی روش‌های تشخیص خصوصیت تهاجمی در باکتری‌ها در بسیاری از نقاط دنیا در حال مطالعه و تحقیق می‌باشد. سالمونلاها که در خانواده انتروباکتریاسه جای دارد، قادر به ایجاد اسهال‌های تهاجمی در بدن انسان هستند. بنابراین مطالعات بیماری زائی این باکتری، روی مکانیسم‌هائی که باعث تهاجم سالمونلا به سلول‌های اپی تلیال پستانداران می‌گردد متمرکز شده است (۱۶،۱۸،۸،۹). بررسی‌ها بر روی سالمونلا نشان می‌دهد که این باکتری یک انگل داخل سلولی محسوب می‌شود که با عبور از سد اپی تلیال روده وارد سلول میزبان می‌شود. Barnhill و همکاران واکنش بین سالمونلا سوئیس و سالمونلاتیفی موریوم با سلول‌های HEP-2 را که منجر به چسبندگی، تهاجم و نفوذ آنها به سلول‌های مونولایر اپی تلیال می‌شود را مورد بررسی قرار دادند. از طرفی آنها دریافتند که این خواص در صورت تولید تعدادی از پروتئین‌های سالمونلائی ظاهر می‌شوند و در صورت وجود تریپسین و مواد حساس به نورآمینداز القاء می‌گردند(۱۹).Worton و همکارانش قدرت ۶ جدایه سالمونلا تیفی موریوم در اتصال به موکوس ایلئوم خرگوش بصورت in vitro مورد بررسی قرار دادند. ۲ تا از جدایه‌ها ویرولان و ۴ تای دیگر غیر ویرولان بودند. آنها دریافتند که سوش‌های ویرولان قادر به حمله به سلول‌های اپی تلیال هستند در مقابل، تهاجم بوسیله سوش‌های غیر ویرولان به ندرت دیده می‌شود (۲۰). همچنین Finlay و Heffron دریافتند که سالمونلا توانائی ورود به سلول‌های یوکاریوت را دارد و برای چسبندگی و تهاجم سالمونلا کلراسوئیس و سالمونلاتیفی موریوم به سلول‌های اپی تلیال تعدادی پروتئین باکتریائی موردنیاز است. برخی از موتانت‌های سالمونلا کلراسوئیس و سالمونلاتیفی موریوم قادر به سنتز این پروتئین‌ها نیستند و در نتیجه قادر به تهاجم نخواهند بود (۱۵). تاکنون مکانیسم ملکولی این واکنش‌ها به خوبی مشخص نشده است اما در این رابطه در چندین دانشگاه مطالعات جدی و کامل صورت گرفته است (۲۱،۲۲).

Nesse و همکاران در بررسی تهاجم سالمونلاتیفی موریوم برسلول های اپی تلیال HEp-2 در شرایط آزمایشگاهی ، به این نتیجه رسیدند که در صورت افزایش N-acylhomoserine lactones (AHLs) به محیط، قابلیت تهاجم سالمونلا افزایش می یابد. (۲۳).

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده نشان می دهد، گرچه بعضی از ایزوله های سالمونلا قادر به نفوذ به داخل سلول بوده، اما اکثر ایزوله های سالمونلا ، فاقدخاصیت تهاجمی‌هستند.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۱۱۸۲۱مورخ ۸۹/۱۱/۲۴ می باشد .

References

1.Rabsch W, Tschape H, Baumler AJ. *Non – typhoial Salmonellosis: emerging problems*. Microbes and infection. 2001; 3(3): 237 – 247.

2. Voetsch AC, Van Gilder TJ, Angulo FJ, Farley MM, Shallow S, Marcus R, et al. *Food Net estimate of the burden of illness caused by Nontyphoidal Salmonella infections in the United States*. Clin Infect Dis. 2004; 38 (3): 127-134.

3. Yang YJ, Huang MC, Wang SM, Wu JJ, Cheng CP, Liu CC, et al. *Analysis of risk factors for bacteremia in children with non typhoidal Salmonella gastroenteritis*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2002; 21(4): 290 – 293.

4. Shkalim V, Amir A, Samra Z, Amir J. *Characteristics of non-typhi Salmonella gastroenteritis associated with bacteremia in infants and young children*. Infection. 2012; 40(3): 285-289.

5. Galanakis E, Bitsori M, Maraki S, Giannakopoulou C, Samonis G, Tselentis Y. *Invasive non-typhoidal salmonellosis in immunocompetent infants and children*. Inter J Infect Dis. 2007; 11(1): 36-39.

6. Douce GR, Amin II, Stephen J. *Invasion of HEp-2 cells by strains of Salmonella typhimurium of different virulence in relation to Gastroenteritis*. J Med Microbiol. 1991; 35(6): 349-357.

7.Marmorosch K, Hirumi H. *Practical tissue culture Application*. Vertebrate cell culture. 1972; 9-11.

8.SoltanDallalMM.*Bacterial diarrheal infections and me chanisms of their pathogenicity*. Nabz. 1995; 5(4): 48-52.

9.Fleckenstein JM, Hardwidge PR, Munson GP, Rasko DA, Sommerfelt H, Steinsland H. *Molecular mechanisms of enterotoxigenic Escherichia coli infection*. Microbes Infect. 2010; 12(2): 89-98.

10. Joklik WK, Willett HP, Anos DB and wifert CM. *Zinsser Microbiology*. 20 Th ed. Appleton and Longe Newalk. 1992.

11. Bukholm G, Degre M. *Effect of human leukocyte interferon on invasiveness of Salmonella species in HEp-2 cell cultures*. Infection and Immunity.1983; 42(3): 1198-1.

12. Usman A D, Arzai A, Sulaiman SK. *The genetic and molecular basis of bacterial invasion of epithelial cells.A review*. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences. 2008; 1(1): 25 – 28.

13. Vugia DJ, Samuel M, Farley MM, Marcus R, Shiferaw B, Shallow S, et al. *Invasive Salmonella Infections in the United States, FoodNet, 1996–1999: Incidence, Serotype Distribution, and Outcome* . Clin Infect Dis. 2004; 38(3): 149-156.

14. Penheiter KL, Mathur N, Giles D, Fahlen T, Jones BD. *Non-invasive Salmonella typhimurium mutants are avirulent because of an inability to enter and destroy M cells of ileal Peyer's patches*. Mol Microbiol. 1997; 24(4): 697-709.

15. Finlay BB, Heffron F, Falkow S. *Epithelial cell surfaces induce Salmonella proteins required for bacterial adherence and invasion*. Science. 1989; 243(4893): 940–943.

16. Jawetz E, Adelberg. *Medical Microbiology*. 25th ed. McGraw-Hill .2011.

17. Clinical and Laboratory Standard Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*. Fifteen Information Supplement. 2005; 25(1): 15-100.

18.Enwere G, Biney E, Cheung YB, Zamon SM, Okoko B, Oluwalana C, et al. *Epidemiological and clinical characteristics of community acquired invasive infections in children aged 2-29 month in the Gambia*. Pediator Infect Dis. 2006; 25(8): 700-705.

19. Barnhill AE, Novozhilova E, Day TA, Carlson SA. *Schistosoma-associated Salmonella resist antibiotics via specific fimbrial attachments to the flatworm*. Parasites & Vectors. 2011; 4:123.

20. Worton KJ, Candy DC, Wallis TS, Clarke GJ, Osborne MP, Haddon SJ, et al. *Studies on early association of Salmonella typhimurium with intestinal mucosa in vivo and invitro relationship to virulence*. J Med Microbiol. 1989; 29(4): 283-94.

21. Suarez M, Russmann H. *Molecular mechanisms of Salmonella invasion: the type III secretion system of the pathogenicity island 1*. Internatl Microbiol. 1998; 1: 197–204.

22. Nandakumar NS, Pugazhendhi S, Ramakrishna BS. *Effects of enteropathogenic bacteria & lactobacilli on chemokine secretion & Toll like receptor gene expression in two human colonic epithelial cell lines*. Indian J Med Res. 2009; 130(2): 170-178.

23. Nesse LL, Berg K, Vestby LK, Olsaker I, Djønne B. *Salmonella Typhimurium invasion of HEp-2 epithelial cells in vitro is increased by N-acylhomoserine lactone quorum sensing signals*. Acta Vet Scand. 2011; 53: 44.

Archive of SID

www.SID.ir