

مطالعه میزان شیوع آلودگی گوشت‌های گاو تازه عرضه شده در سطح شهرستان سنندج به سالمونلا انتریتیدیس و تایفی موریوم، سال ۹۱

هیوا کریمی دره آبی*^۱، فرزین اسماعیل پور^۲، کیوان ابراهیمی محمدی^۳

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، سنندج، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دامغان، ایران.

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مهاباد، استادیار گروه علوم صنایع غذایی، مهاباد، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: Hiva60iran@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۱/۶/۷ پذیرش نهایی: ۹۲/۴/۴)

چکیده

سالمونلا یکی از مهمترین عوامل عفونت غذایی است که می‌تواند عوارض مختلفی را در دستگاه گوارش ایجاد کند. گوشت به عنوان یکی از مهمترین عوامل انتقال عفونت سالمونلایی در انسان شناخته شده است. در این مطالعه برای بررسی میزان آلودگی سالمونلایی، ۶۰ نمونه گوشت گاو تازه توزیع شده در سطح قصابی‌ها و فروشگاه‌های عرضه گوشت سنندج در شرایط استریل نمونه‌برداری شده و برای جداسازی سالمونلا کشت داده شده و نتایج با استفاده از PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور تشخیص تائیدی کلنی‌های جداسازی شده به عنوان جنس سالمونلا و تفریق گونه‌های تایفی موریوم و انتریتیدیس با استفاده از روش Multiplex-PCR از سه جفت پرایمر شامل S₁₄₁S₁₃₈ اختصاصی ژن *Inva*، پرایمرهای *Tym*، *Fli5* اختصاصی ژن *fliC* و پرایمرهای *Prot6e-6*، *Prot6e-5* اختصاصی ژن *Prot6E* به ترتیب اختصاصی جنس سالمونلا، گونه‌های تایفی موریوم و انتریتیدیس مورد استفاده قرار گرفت. در مجموع نتایج حاصل از کشت میکروبی ۱۲ نمونه (۲۰٪) آلوده به سالمونلا بودند، در حالی که بر اساس آزمایش PCR روی جدایه‌های حاصله در نهایت ۷ مورد (۱۱/۶٪) از نمونه‌ها آلوده به سالمونلا تشخیص داده شدند. ۴ مورد (۶/۶٪) از نمونه‌ها آلوده به سالمونلا تایفی موریوم تشخیص داده شدند و از هیچکدام از نمونه‌ها سالمونلا انتریتیدیس جدا نشد (۰٪). این مطالعه نشان داد که میزان شیوع آلودگی سالمونلایی در گوشت تازه گاو توزیع شده در سطح سنندج بالا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گوشت گاو، سالمونلا تایفی موریوم، سالمونلا انتریتیدیس، Multiplex PCR

مقدمه

سالمونلا یکی از عوامل مهم عفونی در ایجاد عفونت غذایی در دنیا می‌باشد. مواد غذایی با منشاء دامی منبع مناسبی برای رشد سروتیپ‌های مختلف سالمونلا بوده که از این رو غذاهایی از قبیل گوشت گاو، ماکیان و فرآورده‌های گوشتی منشاء ایجاد کننده سالمونلاهای غیرتیفوئیدی در انسان می‌باشند (Ziemer et al., 2003). (2003) سروتیپ‌هایی مانند سالمونلا تایفی و سالمونلا پاراتایفی بیشتر با انسان سازگار بوده و در میزبان‌های غیر انسانی بیماری ایجاد نمی‌کنند (Nosrat et al., 2012) بعضی از سویه‌های سالمونلا به عنوان سویه‌های مشترک نام برده می‌شوند که می‌توانند بهداشت عمومی را تهدید نمایند و احتمال انتقال سالمونلاهای مقاوم و دیگر پاتوژن‌های باکتریایی مشترک بین انسان و دام را باعث شوند (Saroj et al., 2008; Abubakar., 2007). در آمریکا و کشورهای اروپایی سالمونلا انتریتیدیس و تایفی موریوم در مقایسه با سروتیپ‌های مختلف سالمونلا نقش بیشتری را در ایجاد عفونت غذایی دارند. آلودگی سالمونلایی در انسان به صورت گاستروآنتریت، تب تیفوئید و گاهی اوقات سپتی سمی بروز می‌کند (Ahmadi et al., 2009). شناسایی دام‌های آلوده به عفونت‌های سالمونلایی و جدا کردن آنها از سایر دام‌ها، نظارت کامل بر بازرسی قبل از کشتار، مراحل مختلف کشتارگاهی، نحوه توزیع و نگهداری گوشت و جلوگیری از آلودگی تقاطعی از مهمترین روش‌ها می‌باشد که می‌تواند میزان شیوع عفونت غذایی را در مصرف‌کننده کاهش یابد (deFreitaset al., 2010). شناسایی سالمونلا در گوشت و بسیاری از مواد غذایی

به طور معمول از طریق کشت میکروبی انجام می‌گردد، اما این روش‌ها زمان‌بر و دقت و حساسیت کافی را ندارند (Ziemer et al., 2003). امروزه با کشف روش‌های سریع تشخیصی مولکولی این مشکلات تا حد زیادی مرتفع گردیده است. به منظور افزایش ویژگی و کاهش زمان انجام آزمون از روش‌های دیگری مانند جستجوی ژن‌های مربوط به این ارگانیسم‌ها از طریق روش PCR به عنوان روش تائیدی استفاده می‌شود.

هدف از انجام این مطالعه ارزیابی درصد آلودگی گوشت گاو توزیع شده در سطح قصابی‌ها و فروشگاه‌های سنندج با استفاده از روش کشت استاندارد مرسوم و تأیید آن با روش Multiplex-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی جنس سالمونلا و پرایمرهای اختصاصی گونه‌های سالمونلا تایفی موریوم و انتریتیدیس بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۶۰ نمونه گوشت گاو از نقاط سر دست، ران و قلوه‌گاه به صورت تصادفی از قصابی‌ها و فروشگاه‌های عرضه گوشت سطح شهرستان سنندج در شرایط استریل نمونه‌برداری و در مجاورت یخ به آزمایشگاه ارسال گردید. مقدار ۲۵ گرم از نمونه‌های اخذ شده را بعد از یکنواخت کردن به بطری‌های حاوی ۲۲۵ میلی لیتر Lactose Broth (Merck, Germany) انتقال داده و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شدند. بعد از بهم‌زدن بطری‌ها به میزان ۱ میلی لیتر از هر بطری با رعایت

۳ تا ۵ ثانیه مخلوط شد و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس برای ۲۰ دقیقه قرار داده شد. سپس در دور ۱۲۰۰۰ برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و مایع رویی خالی کرده و یک میلی لیتر بافر شستشو به رسوب حاصله اضافه و برای ۳-۵ ثانیه مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد، سپس بافر شستشو را به طور کامل خالی کرده و برای ۵ دقیقه در ۶۵ درجه سلسیوس قرار داده شد تا خشک شود. ماده ته نشین در ۳۰ میکرولیتر از بافر حل کننده به وسیله تکان دادن آرام و قرار دادن در ۶۵ درجه سلسیوس برای مدت ۵ دقیقه به طور کامل حل شد. مواد غیرمحلول با سانتریفیوژ به مدت ۳۰ ثانیه در دور ۱۲۰۰۰ ته نشین شد. ماده شناور رویی حاوی DNA خالص است. غلظت DNA بعد از الکتروفورز در روی ژل الکتروفورز تازه ۱ درصد اندازه گیری شد.

آزمایش مولتی پلکس PCR

تست PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: PCR buffer (۲/۵ μ l)، TaqDNA polymerase (۰/۵ μ l)، (۱/۵ μ l) MgCl_۲، (۱ μ l) dNTPs، هر کدام از پرایمرها با غلظت ۱۰ پیکو مول به میزان (۱ μ l) و DNA استخراج شده از هر نمونه به میزان (۳ μ l)، مخلوط واکنش با افزودن آب یون زدایی شده به حجم ۲۵ میکرولیتر رسید. پرایمرهایی که ژن *invA* را مورد هدف قرار می‌دهد اختصاصی جنس سالمونلا و پرایمرهایی که ژن‌های *fliC* و *Prot6E* را مورد هدف قرار می‌دهند به ترتیب اختصاصی سرووارهای تایفی موریوم و انتریتیدیس می‌باشند (DeFreitaset al., 2010). تکثیر ژن هدف در ترموسایکلر با برنامه

شرایط استریل به لوله‌های محتوی ۱۰ میلی لیتر محیط کشت Selenite Cystine Broth (Merck, Germany) منتقل، سپس لوله‌های حاوی Selenite Cystine Broth را در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند (Jamshidi, 2011). لوله‌های کدر در مرحله دوم به وسیله ورتکس تکان داده شده و با استفاده از لوپ تلقیح در پلیت‌های حاوی محیط کشت جامد انتخابی salmonella shigella agar (Merck, Germany) کشت خطی داده و در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. برای تأیید کلونی‌های با مرکز سیاه حاصله را بر روی محیط کشت‌های افتراقی (LIA، TSI (triple Sugar Iron agar، Lysine Iron agar) و Urea Agar کشت داده شد. نمونه‌های اوره منفی، لاکتوز منفی، H₂S مثبت و لایزین مثبت به عنوان سالمونلا فرض گردیدند (Jamshidi, 2011; Lukinmaa, 2004).

استخراج DNA

هر کدام از کلونی‌های خالص شده را به ۱/۵ میلی لیتر Lactose Broth انتقال داده و ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری کرده و سپس با دور ۷۵۰۰ برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کرده و در مرحله بعد به رسوب حاصله ۱۰۰ میکرولیتر بافر پروتئاز و ۵ میکرولیتر پروتئاز اضافه و به طور کامل به همزده و به مدت ۳۰ دقیقه در ۵۵°C قرار داده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه را با ۴۰۰ میکرولیتر از محلول لیزکننده مخلوط کرده و برای ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس شد. در مرحله بعد ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رسوب‌دهنده را به مخلوط اضافه کرده و به وسیله حرکت دورانی به مدت

سیکل‌های حرارتی شامل مرحله شروع در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل شامل ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه، ۵۶ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله بسط نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. در این بررسی از نشانگر ۱۰۰bp جهت مشخص نمودن اندازه باندها استفاده گردید (Jamshidi, 2011).

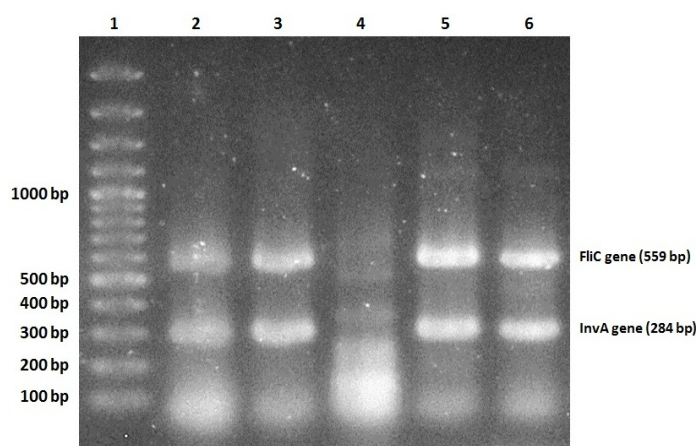
جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت تشخیص جنس سالمونلا و سرووارهای سالمونلا تایفی موریوم و انتریتیدیس (Soumet, 1998)

پرایمر	توالی نوکلئوتیدی	ژن هدف	اندازه محصول (bp)
S139-F	GTGAAATTATCGCCACGTTCCGGGCAA	<i>InvA</i>	۲۸۴
S141-R	TCATCGCACCGTCAAAGGAACC		
Fli 15-F	CGGTGTTGCCAGGTTGGTAAT	<i>fliC</i>	۵۵۹
Tym-R	ACTCTTGCTGGCGGTGCGACTT		
Prot6e-5-F	ATATCGTCGTTGCTGCTTCC	<i>Prot6E</i>	۱۸۵
Prot6e-6-R	CATTGTTCCACCGTCACTTTG		

یافته‌ها

گرفتند. که از این تعداد، ۴ جدایه (۶/۶۶٪) گونه سالمونلا تایفی موریوم بوده و از هیچکدام از نمونه‌ها سالمونلا انتریتیدیس جدا نشد. در ضمن ۳ مورد (۵٪) از نمونه‌ها آلوده به سایر سروتیپ‌های سالمونلا تشخیص داده شدند (شکل ۱).

در این تحقیق، بر اساس روش کشت از مجموع ۶۰ نمونه مورد آزمایش ۱۲ نمونه (۲۰٪) آلوده به سالمونلا تشخیص داده شد. بر اساس آزمایش Multiplex-PCR روی جدایه‌های حاصله در نهایت ۷ مورد (۱۱/۷٪) از نمونه‌ها به عنوان آلوده به سالمونلا مورد تأیید قرار



شکل ۱: نتیجه آزمایش Multiplex PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *InvA* به طول ۲۸۴ جفت باز اختصاصی جنس سالمونلا، ژن *FliC* به طول ۵۵۹ جفت باز اختصاصی گونه سالمونلا تایفی موریوم و ژن *Proi6E* به طول ۱۸۵ جفت باز اختصاصی گونه سالمونلا اتریتیدیس. ستون ۱: نشانگر DNA با اندازه ۱۰۰ جفت باز. ستون ۲، ۳، ۵ و ۶: نمونه های مثبت سالمونلا تایفی موریوم؛ ستون ۴: کنترل منفی.

بحث و نتیجه گیری

۶۶ درصد می باشد. این نتایج نشان دهنده گسترش وسیع این عامل بیماری زا می باشد که می تواند به طور جدی سلامت مصرف کننده را تهدید نماید. Ahmadi و همکاران (۲۰۰۹)، در یک مطالعه برای تشخیص حاملین سالمونلا در گاو و گاو میش از روش های کشت میکروبی و PCR استفاده کردند و بیان کردند که میزان آلودگی در گاو ۱٪ و در گاو میش ۳٪ بوده در صورتی که در کشت میکروبی هیچ مورد مثبتی یافت نشد.

روش های معمول باکتریولوژی که در شناسایی اجرام بیماری زا مانند سالمونلا به کار می روند، وقت گیر و پرهزینه هستند، اگرچه به عنوان روش مناسبی برای شناسایی اجرام مهم بیماری زا در مواد غذایی و دامپزشکی مطرح شده اند. طی مطالعاتی که Chen و همکاران (۱۹۹۶) بر روی نمونه های مواد غذایی برای جداسازی سالمونلا و سایر میکروب های عامل بیماری زا انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که بسیاری از

در مطالعه حاضر، با استفاده از روش PCR، ۷ مورد سالمونلا (۱۱/۶۶٪) در نمونه های گوشت تشخیص داده شد. از سال ۱۹۷۰ آلودگی به باکتری سالمونلا در گوشت گاو، مورد توجه همگان قرار گرفته و فراوانی آلودگی با سالمونلا در گوشت گاو حدود ۲/۶٪ گزارش گردید (Sorensen, 2002).

Sorensen و همکاران (۲۰۰۲)، گزارش کردند که باکتری سالمونلا تایفی موریوم را به عنوان یکی از عوامل مهم عفونت مواد غذایی ناشی از مصرف گوشت گاو می باشد.

Cason و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی خود بر روی ۱۴۰ نمونه گوشت، ۱۲ نمونه (۸/۶٪) را آلوده به سالمونلا گزارش کردند. Baumgartner و همکاران (۱۹۹۲) بیان نمودند که در بیشتر کشورها میزان درصد آلودگی به سالمونلا در گوشت طیور در حدود ۱۳/۷ تا

غذایی آماده مصرف در اثر تماس با مواد غذایی خام آلوده به طور مستقیم و غیر مستقیم آلودگی پیدا می‌کند، از مهمترین عوامل عفونت سالمونلایی هستند (Razavilar, 2002).

با توجه به تغییرات متنوعی که در خصوصیات باکتری‌های پاتوژن به دلیل جهش‌های ژنتیکی صورت می‌گیرد، این مسئله باعث ایجاد اختلال در تشخیص این باکتری‌ها با روش‌های سنتی مرسوم می‌شوند، از این رو با بهره‌گیری از روش‌های تشخیصی مولکولی به عنوان روش جایگزین روش‌های مرسوم فعلی می‌توان انواع عوامل بیماری‌زا را سریعتر و با دقت و حساسیت بالا در انواع مواد غذایی تشخیص داد (Ahmadi, 2012). این مطالعه نشان داد که به علت عدم رعایت موازین بهداشتی میزان شیوع آلودگی سالمونلایی در گوشت گاو توزیع شده در سطح سندج بالا بوده که این می‌تواند باعث بالا رفتن میزان عفونت‌های سالمونلایی در مصرف‌کنندگان شود.

مشکلاتی که در PCR نمونه‌های مواد غذایی وجود دارد، به وسیله اصلاح در روش‌های استخراج DNA و تغییر در برنامه حرارتی ترموسایکلر برطرف شده و مطرح نمودند که برای جداسازی انواع میکروارگانیسم‌ها از نمونه‌های شیر خام، گوشت گاو و طیور روش‌های مولکولی قابل اعتمادتر، سریع‌تر و کارآمدتر از روش‌های کشت مرسوم و بیوشیمیایی می‌باشد.

Nosrati و همکاران (۲۰۱۲) شیوع سروتیپ‌های سالمونلا تایفی موریوم و انتریتیدیس را در مواد غذایی با روش Multiplex-PCR مورد ارزیابی قرار داده و میزان آلودگی گوشت گاو به سالمونلا ۸/۸ درصد را گزارش داد این در حالی است که در میزان آلودگی در گوشت گاو توزیع شده در فروشگاه‌ها و قصابی‌های سطح شهرستان سندج ۱۱/۶۶٪ بوده که این حاکی از وضعیت پایین سطح بهداشتی در این شهرستان می‌باشد. سرد کردن ناقص غذا، پخت ناقص غذا، مصرف ماده غذایی خام آلوده و آلودگی تقاطعی که در آن مواد

منابع

- احمدی، علی، قربانعلی زادگان، مهدی، نجفی، علی، توکلی، حمیدرضا و میرنژاد، رضا (۱۳۹۱). تشخیص سریع مولکولی سالمونلا تایفی به روش PCR با استفاده از ژن *invA* در نمونه‌های مواد غذایی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام. دوره ۲۰، شماره ۱، صفحه ۷-۱.
- جمشیدی، عبدالله و نقدیپور، داوود (۱۳۹۰). تعیین آلودگی آب مورد استفاده در سیستم خنک‌کننده لاشه طیور به باکتری‌های جنس سالمونلا و گونه‌های انتریتیدیس و تایفی موریوم در کشتارگاه صنعتی شهرستان مشهد با استفاده از Multiplex PCR. مجله تحقیقات دامپزشکی، پیاپی ۶۶، صفحه ۱۵۲-۱۴۹.

- نصرتی، شیما، سبکبار، آذر سبکبار، دزفولیان، مهرورز، تیرایی، بهمن و فلاح، فاطمه (۱۳۹۱). بررسی شیوع سروتیپ‌های سالمونلا تایپی و ایتتریتیدیس در مواد غذایی در مرکز درمانی بیمارستان مفید. مجله پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شهید بهشتی، دوره ۳۶، شماره ۱، صفحه ۴۳-۴۸.
- رضوی‌لر، ودود (۱۳۸۷). میکروب‌های بیماری‌زا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت‌های غذایی. چاپ سوم. انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۵۷-۴۷.
- Abubakar, I., Irvine, L., Aldus, C.F., Wyatt, G.M., Fordham, R., Schelenz, S., Shepstone, L., Howe, A., Peck, M. and Hunter, P.R. (2007). A systematic review of the clinical, public health and cost-effectiveness of rapid diagnostic tests for the detection and identification of bacterial intestinal pathogens in faces and food. *Health Technology Assessment*, 11:211-16.
- Ahmadi, M., Dalirnaghadeh, B., ShirzadAski, H. and Khoshbakht, R. (2009). Comparison of polymerase chain reaction (PCR) and conventional cultivation methods for detection of carriers of *Salmonella* spp. in cattle and buffalo. *Comparative Clinical Pathology*, 19 (3): 251-255.
- Ahmadi, A., GhorbanaliZadegan, M., Najafi, A. and Tavakoli H. (2012). Molecular detection of *Salmonella typhi* in food samples by PCR using *invA* Gene. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 20 (1):1-7[in Farsi].
- Baumgartner, A., Heimann, P., Schmid, H., Liniger, M. and Simmel, A. (1992). *Salmonella* contamination of poultry carcasses and human Salmonellosis. *Journal of Food Protection*, 43: 123-12.
- Cason, J., Berrang, M., Buhr, R. and Cox, N. (2004). Effect of pre-chill fecal contamination on numbers of bacteria recovered from broiler chicken carcasses before and after immersion chilling. *Journal of Food Protection*, 67:1829-1833.
- Chen, S., Yee, A., Griffiths, M., Wu, K.Y., Wang, C.N., Rahn, K. and De Grandis, S.A. (1996). A rapid, sensitive and automated method for detection of *Salmonella* species in foods using AG- 9600 AmpliSensor Analyzer. *Journal of applied microbiology*, 83: 314- 321.
- DeFreitas, C.G., Santana, A.P., Da Silva P.H., Gonçalves, V.S., Barros Mde, A., Torres, F.A., Murata, L.S. and Perecmanis, S. (2010). PCR multiplex for detection of *Salmonella enteritidis*, *typhi* and *typhimurium* and occurrence in poultry meat. *International Journal of Food Microbiology*, 139: 15-22.
- Jamshidi, A. and Naghdipour, D. (2011). Contamination of water used for chilling of poultry carcasses to *S.typhimurium* and *S.enteritidis* using Multiplex PCR method. *Journal of Veterinary Research*, 66: 149-152[in Farsi].
- Lukinmaa, S., Nakari, U.M., Eklund, M. and Siitonen, A. (2004). Application of molecular genetics methods in diagnostics and epidemiology of food-borne bacterial pathogens. (APMIS) *Acta Pathological, Microbiological, et Immunological scandinavia*, 112:908-29.
- Nosrati, S., Sabokbar, A., Dezfoolian, M., Tabarraie, B. and Fallah, F. (2012). Prevalence of *Salmonella enteritidis*, *typhi* and *typhimurium* from food products in Mofid hospital. *Journal of the Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University*, 36 (1):43-48[in Farsi].
- Razavilar, V. (2002). Harmful microbial in food and epidemiology food poisoning, Second Edition, Tehran university publication press, pp. 25-85[in Farsi].
- Saroj, S.D., Shashidhar, R., Karani, M. and Bandekar, J.R. (2008). Rapid, sensitive, and validated method for detection of *Salmonella* in food by an enrichment broth culture-nested PCR combination assay. *Molecular and Cellular Probes*, 22: 201-206.
- Sorensen, O., Van Donkersgoed, J., McFall, M., Manninen, K., Gensler, G. and Ollis, G. (2002). *Salmonella* spp. shedding by Alberta beef cattle and the detection of *Salmonella* spp. in ground beef. *Journal of food protection*, 65: 484-91.

- Soumet, C., Ermel, G., Rose, N., Rose, V., Drouin, P., Salvat, G. and Colin, P. (1998). Evaluation of a multiplex PCR assay for simultaneous identification of *Salmonella* sp., *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* from environmental swabs of poultry houses, *Letters in applied microbiology*, 28: 113-117.
- Ziemer, C.J. and Steadham, S.R. (2003). Evaluation of the specificity of *Salmonella* PCR primers using various intestinal bacterial species, *Letters in applied microbiology*, 37(6): 463-469.

Archive of SID