مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/ دوره سیزدهم/ پائیز ۱۳۸۷/ ۳۴-۲۸

ارزیابی سه محیط غنی کننده و شش محیط انتخابی جامد برای جداسازی و تشخیص سالمونلا از مواد غذایی

دکتر محمد مهدی سلطان دلال[۱-۲]، دکتر سعید واحدی[۳]، ایوب ابراهیمی[۴]، حمیده نوروز بابایی[۲]، پرستو سادات فاضلی فرد[۲]، فاطمه صابرپور[۲]، فرحناز فخاریان[۲]، اکرم سادات طباطبایی[۲]

۱- استاد، بخش میکروب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تلفن: ۶۶۴۶۲۲۶۸-۰۲۱ (مؤلف مسؤول) soltanda@sina.tums.ac.ir

۲- کارشناس آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و بهداشتی، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- مربی، دکترای داروسازی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، گروه میکروبیولوژی

چکیده

زمینه و هدف: سالمونلا یک پاتوژن روده‌ای مهم در آب و غذا می‌باشد و با توجه به اهمیت سالمونلا در بیماریهای منتقله از غذا، تشخیص دقیق و سریع آن از اهمیت خاصی برخوردار است. این تحقیق با هدف بهینه سازی روشهای متداول در جداسازی سالمونلا از مواد غذایی انجام شد .

روش بررسی: تعداد ۱۰۰ نمونه ماده غذایی مختلف به صورت تصادفی تهیه و جهت غنی سازی اولیه، در Peptone Water به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس از ۳ محیط راپاپورت- واسیلیادیس براث (RV) و تتراتیونات براث (TT) در ۴۲ درجه سانتی‌گراد و سلنیت سیستئین براث (SC) در ۳۷ درجه سانتی‌گراد جهت غنی سازی ثانویه سالمونلا استفاده شد و پس از ۲۴ ساعت از هر روش بر روی ۶ محیط کروم آگار (Chrom Agar)، رامباخ آگار(RA)، گزیلوز- لیزین- دزوکسی کولات آگار(XLD)، هکتون انتریک آگار (HE)، سالمونلا- شیگلا آگار (SS)، بریلیانت گرین آگار (BG) تلقیح نموده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴- ۱۸ ساعت نگهداری شدند . ۵-۳ پرگنه مشکوک از هر یک از محیط‌های فوق جهت انجام تستهای بیو شیمیایی در محیط‌های افتراقی انتخاب شدند.

یافته‌ها: پس از انجام آزمایشات فوق در مجموع ۸٪ نمونه‌ها آلوده به سالمونلا بود که از این نسبت به دست آمده ۵۷/۴٪ نمونه‌های مثبت با استفاده از RV براث،۲۷/۷٪ نمونه‌های مثبت با استفاده از SC براث و ۱۴/۹٪ نمونه‌های مثبت با استفاده از TT براث به عنوان غنی‌کننده جدا شدند. بالاترین میزان جداسازی توسط محیط کشت RA آگار با ۲۷/۷٪ بدست آمد و پائین‌ترین میزان جداسازی توسط محیط کشت BG با ۶/۴٪ بدست آمد.

نتیجه‌گیری: نتایج ما نشان می‌دهد که محیط کشت RA در مقایسه با پنج محیط کشت دیگر یک محیط با قدرت انتخابی و افتراقی بالا می‌باشد. همچنین غنی‌کننده RV براث غنی‌کننده مناسبی برای احیای رشد سالمونلا در مواد غذایی می‌باشد.

کلید واژه‌ها: سالمونلا، بیماریهای منتقله از غذا، جداسازی

وصول مقاله: ۸۷/۳/۲۷ اصلاح نهایی: ۸۷/۴/۲۹ پذیرش مقاله: ۸۷/۵/۱۴

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

بیماری‌های منتقله از غذا یکی از مشکلات شایع در بخش سلامت و بهداشت عمومی و همچنین یکی از عوامل اصلی کاهش باروری اقتصادی علی‌رغم پیشرفت در تکنولوژی و علوم غذایی به شمار می‌رود. در سراسر جهان صدها میلیون نفر از بیماریهای مسری منتقله از آب و غذا رنج می‌برند که این مسئله در کشورهای در حال توسعه با توجه به تعداد زیادی از افراد آسیب پذیر همچون افراد با سیستم ایمنی تضعیف شده و یا سوء تغذیه بسیار حادتر می‌باشد. عفونتهای سالمونلایی در انسان که عامل شیوع قابل توجه بیماری و گاهی مرگ است، دلیل عمده و اصلی بیماریهای منتقله از غذا می‌باشد (۱). که طبق گزارشات اعلام شده از مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری ایالات متحده(CDC)، سالانه حدود ۱/۴ میلیون نفر در ایالات متحده به سالمونلا آلوده می‌شوند و در نتیجه آن، صدها نفر می‌میرند (۲).

طی تحقیقات و پژوهش‌های مراکز مختلف علمی و پژوهشی طیف گسترده‌ای از محیط‌های انتخابی برای جداسازی این میکروارگانیسم تهیه شده که هر کدام اساس جداسازی خاصی دارند، اما هیچ کدام کاملاً مؤثر نبوده‌اند (۳).

محیط‌های مایع غنی‌کننده با ترکیبهای خاصی که دارند، از یک سو منجر به افزایش تعداد سالمونلا شده و از سوی دیگر مانع رشد میکروارگانیسم‌های غیر سالمونلا می‌شود (۲). برای غنی سازی سالمونلا، محیط‌های مختلفی پیشنهاد گردیده‌اند که در آنها عوامل انتخابی نظیر نمکهای صفراوی بریلیانت گرین، مالاشیت گرین، تتراتیونات و سلنیت مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳). گسترده‌ترین محیط‌های مورد استفاده عبارتند از سلنیت - سیستئین برات، که حاوی سیستئین جهت تسریع رشد سالمونلاها می‌باشد (۶-۳)، مولرکافمن تتراتیونات برات که حاوی تتراتیونات، بریلیانت گرین و نمکهای صفراوی می‌باشد (۴)، راپاپورت- واسیلیادیس براث(RV) که حاوی مالاشیت گرین، کلرید منیزیم و کاهش جزئی pH به عنوان فاکتورهای انتخابی می‌باشند (۲,۴,۷). همچنین محیط‌های انتخابی جامد همچون HE، BG، SS، XLD و غیره اغلب بر اساس تخمیر لاکتوز و تولید سولفید- هیدروژن می‌باشند، که بیشتر آنها غیر اختصاصی بوده و البته شناسایی آنها با صرف زمان زیادی همراه می‌باشد.

از سال ۱۹۹۰ چند محیط کروموژنیک همچون Rambach agar (RA) (۸)، SM ID (۷)، ABC Medium ،CHROMagar Salmonella (۹)، Rainbow Salmonella agar (۱۰) و غیره برای جداسازی سالمونلا به وجود آمده‌اند که بر اساس یک خاصیت بیو شیمیایی بنا نهاده شده‌اند و بسیار اختصاصی می‌باشند.

در حال حاضر در آزمایشگاه‌های کنترل مواد غذایی و بهداشتی کشور طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۸۱۰ اقدام به جداسازی سالمونلا می‌شود. از آنجایی که در پروسه جداسازی سالمونلا از مواد غذایی، فلور میکروبی و میکروبهای کمانسال[1] مزاحمتی برای رشد سالمونلا ایجاد می‌کنند، توصیه شده از روشهای غنی سازی و محیط‌های انتخابی‌تر استفاده شود. لذا هدف ما در این تحقیق مقایسه و ارزیابی سه محیط غنی‌کننده انتخابی و شش محیط انتخابی جامد برای شناسایی سالمونلا و بهینه سازی روشهای جدا کردن سالمونلا از مواد غذایی می‌باشد.

1. Commensal

Archive of SID

www.SID.ir

روش بررسی

نوع مطالعه به روش توصیفی و بطور تصادفی طی ۹ ماه برروی ۱۰۰ نمونه ماده غذایی مختلف از قبیل مواد پروتئینی خام و پخته، آب میوه، شیرینی تر و سالاد با همکاری مراکز بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران از اماکن تحت نظارت دانشگاه جمع‌آوری گردید. پس از قرار دادن نمونه‌ها در ظرف حاوی یخ، سریعاً به آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و بهداشتی دانشگاه منتقل و طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۸۱۰ مورد بررسی و آزمایش قرار گرفتند.

۲۵ گرم ماده غذایی مورد آزمایش در شرایط استریل به ۲۲۵ میلی‌لیتر آب پپتونه Peptone Water (Merck) اضافه شد و پس از مخلوط نمودن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷° C اینکوبه گردید (غنی سازی اولیه). در مرحله بعد ۱ میلی‌لیتر از مخلوط فوق را به ۹ میلی‌لیتر به محیط تتراتیونات براث (TT) (HIMEDIA)، ۱ میلی لیتر به۹ میلی‌لیتر محیط راپاپورت - واسیلیادیس براث (RV) (HIMEDIA) اضافه شده و هر دو به مدت ۲۴ ساعت در ۴۲° C اینکوبه گردید، همچنین ۹ میلی‌لیتر از محیط سلنیت سیستئین براث (SC) (HIMEDIA) نیز به ۱ میلی لیتر از مخلوط حاصل از غنی سازی اولیه، اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C اینکوبه گردید (غنی سازی ثانویه). سپس یک لوپ کامل از هر کدام از محیط‌های غنی‌کننده مرحله دوم (RV, SC, TT) به طور جداگانه بر روی هر یک از محیط‌های انتخابی جامد رامباخ آگار (RA) (Merck)، کروم آگار سالمونلا(CAS) (CHROMagar)، هکتون انتریک آگار (HE) (HIMEDIA)، بریلیانت گرین آگار(BG) (HIMEDIA)، سالمونلا- شیگلا آگار (SS) (Biolife) و گزیلوز- لیزین- دزکسی کولات - آگار (XLD) (HIMEDIA) کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C اینکوبه گردید. بعد از اینکوبه کردن در دمای فوق، پرگنه‌های مشکوک (۵-۳ پرگنه از هر محیط) را انتخاب کرده و جهت تائید ابتدا از دیسکهای اکسیداز (HIMEDIA) و ONPG (HIMEDIA) استفاده نموده و سپس روی محیط‌های افتراقی TSI (Biolife)، LDC (Merck)، Urea (Merck)، Simon's Citrate (HIMEDIA)، MR VP (Biolife)، SIM agar (Biolife)، Malonate broth (HIMEDIA) کشت داده و پس از ۲۴-۱۸ ساعت اینکوبه شدن در دمای ۳۷°C واکنشها، بررسی شده و با جدول تشخیصی انتروباکتریاسه مقایسه گردید.

یافته‌ها

در طی این بررسی ۸ نمونه غذایی (۸٪) به سالمونلا آلوده بود که در نتیجه ۴۷ سوش سالمونلا با استفاده از۳ روش غنی سازی و ۶ محیط کشت بدست آمد. ۵۷/۴٪ از نمونه‌های مثبت با استفاده از RV به عنوان غنی‌کننده بدست آمد، در حالیکه ۲۷/۷٪ و ۱۴/۹٪ از نمونه‌های مثبت به هنگامی که از SC و TT به عنوان غنی‌کننده استفاده شده بود، بدست آمد (جدول۱).

در مطالعه ما، محیط‌های کروموژنیک بازدهی بالایی داشته و نتایج مثبت کاذب کمتری از محیط‌های کلاسیک سالمونلا نشان دادند. جدول ۱ نشان می‌دهد که ترکیب RV براث و RA آگار بازدهی بالایی برای جداسازی سالمونلا با ۸ نمونه مثبت (۱۰۰٪) دارد. (نمودار ۱) میزان جداسازی سالمونلا را پس از غنی سازی با RV براث و تلقیح در محیط‌های مختلف کشت نشان می‌دهد. بالاترین جداسازی با محیط کروموژنیک RAآگار با ۸ مورد (۱۰۰٪) و پس از آن محیط‌های

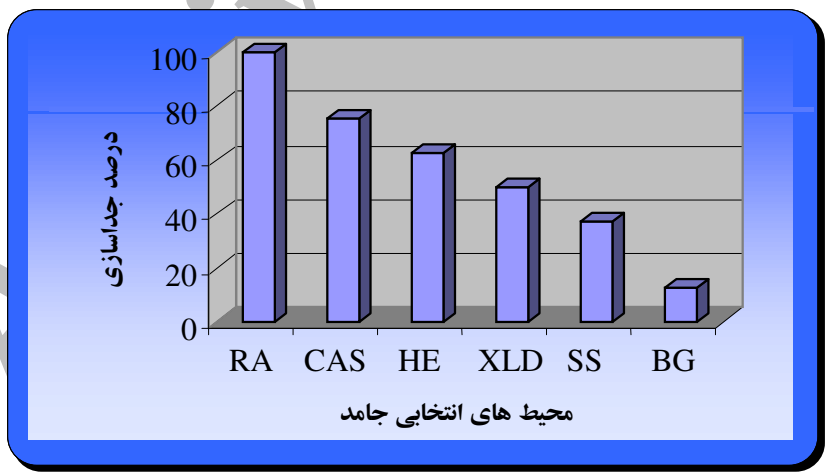
Archive of SID

www.SID.ir

CAS با ۶ مورد از ۸ نمونه مثبت (۷۵٪)، HE (۶۲/۵٪)، XLD (۵۰٪)، SS (۳۷/۵٪) و BG (۱۲/۵٪) به ترتیب در جایگاههای بعدی قرار می‌گیرند.

جدول ۱: فراوانی و درصد فراوانی جداسازی محیط‌های انتخابی جامد و غنی‌کننده

غنی کننده	RV						TT						SC					
انتخابی جامد	RA	XLD	BG	SS	CAS	HE	RA	XLD	BG	SS	CAS	HE	RA	XLD	BG	SS	CAS	HE
نمونه های مثبت جدا شده (تعداد)	۸	۴	۱	۳	۶	۵	۱	۲	۱	۱	۱	۱	۴	۲	۱	۱	۳	۲
در صد جداسازی	۱۰۰/۰	۵۰/۰	۱۲/۵	۳۷/۵	۷۵/۰	۶۲/۵	۱۲/۵	۲۵/۰	۱۲/۵	۱۲/۵	۱۲/۵	۱۲/۵	۵۰/۰	۲۵/۰	۱۲/۵	۱۲/۵	۳۷/۵	۲۵/۰



نمودار ۱: درصد جداسازی سالمونلا توسط محیط‌های انتخابی جامد با استفاده از محیط غنی‌کننده از RV

بحث

نتایج ما نشان می‌دهد که ۸٪ نمونه‌های مواد غذایی مورد مطالعه با استفاده از روش غنی‌کنندهRV براث و محیط رامباخ آگار به سالمونلا آلوده بودند. محققان زیادی (۱۵-۴,۱۱) مؤثر بودن محیط کشت غنی‌کننده RV را برای بازیافت و بهبود رشد سالمونلا گزارش

www.SID.ir

داده‌اند. واسیلیادیس (۱۵)، تعداد ۲۰۰۰ نمونه محصولات گوشتی، مدفوع خوک و فاضلاب را مورد آزمایش قرار داد که درصد جداسازی سالمونلا را برای محیط‌های غنی‌کننده RV و TT به ترتیب ۲۵٪ و ۱۷٪ گزارش کرد. Beckers و همکارانش (۱۱) تعداد ۵۹۰ نمونه ماده غذایی همچون سبزیجات خشک شده، جوجه، تخم مرغ، فلفل و انواع گوشت را مورد بررسی قرار داد و ۶۳٪ جداسازی برای سالمونلا زمانی که از RV به عنوان غنی‌کننده استفاده کرده بودند و ۴۷٪ زمانی که از TT استفاده نموده بودند مشاهده کردند. June و همکارانش (۱۴) و Hammack و همکارانش (۱۲) همچنین یافتند که RV و TT در C ۴۲° نتایج بهتری از SC و TT در C ۳۵° در جداسازی سالمونلا از گوشت تازه و محصولات با آلودگی بالا می‌دهند.

June و همکارانش (۱۴) در ارزیابی و مقایسه محیط‌های غنی‌کننده برای جداسازی سالمونلا، ۳ روش غنی‌کننده RV در C ۴۲° ، TT در C ۳۵° و C ۴۲° و SC در C ۳۵° را روی ۱۱۲۵نمونه ماده غذایی از قبیل صدف خوراکی، دست و پای قورباغه، قارچ و میگو که میکروارگانیسم فوق به طور مصنوعی تلقیح شده بود و گوشت مرغ که به صورت غیر تلقیح شده بود مورد آزمایش قرار دادند که ۳۸٪ از نمونه‌ها با RV و ۲۷/۵٪ و ۳۲/۷٪ با TT به ترتیب در C ۳۵° و C ۴۲° و ۲۹/۷ آنها با SC به عنوان غنی‌کننده مثبت شد. همچنین Blivet و همکارانش (۴) مشاهده کردند که برای بازیافت و بهبود رشد سالمونلا، محیط غنی‌کننده RV بسیار کارآمدتر از SC می‌باشد، آنان برای انجام آزمایشات خود از نمونه‌های تخم مرغ، جوجه و ... استفاده کردند که پس از انجام آزمایشات به این نتیجه رسیدند که ۹۷/۶٪ از نمونه‌های مثبت با استفاده از RV و فقط ۴۲/۲٪ از آنها با استفاده از SC به عنوان غنی‌کننده جدا شدند. اگر چه آنها اشاره کردند که SC توانایی شناسایی تعداد کمی (۱۰-۵۰CFU/ml) از سروتیپهای سالمونلا، همچون سالمونلا گالیناروم، س. پولوروم، س.تیفی، س.پاراتیفی را دارد.

در این مطالعه کمترین بازیافت سالمونلا متعلق به TT بود و با توجه به داده‌های بدست آمده به این نتیجه می‌رسیم که SC بازدهی بهتری نسبت به TT در جداسازی سالمونلا دارد.

در سال ۱۹۷۶ Fagerberg و Avens پس از انجام آزمایشات خود به این نتیجه رسیدند که SC برای جداسازی سروتیپهای خاصی از سالمونلا خوب می‌باشد و TT برای سروتیپهای دیگر آن کارآمد می‌باشد (۱۶). همچنین Cox و Mercuri مشاهده کردند که TT زمانی که غلظت میکروارگانیسم کم باشد بسیار توکسیک می‌باشد و SC محیط غنی‌کننده مؤثری برای انواع خاصی از غذاهاست که تعداد سالمونلا کم باشد (۱۷).

نتایج ما نشان می‌دهد که رامباخ آگار (RA) محیط جامد مورد اطمینانی برای جداسازی سالمونلا مطابق با پژوهشهای گذشته (۱۳,۱۸) می‌باشد، که 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 غنی‌کننده برای جداسازی سالمونلا استفاده شد که بازدهی این روش ۸۲٪ گزارش گردید (۱۳). در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۰۵ برای مقایسه و ارزیابی محیط کشت انتخابی جامد کلاسیک SS و HE با محیط‌های کروموژنیک RA وSM ID به این نتیجه رسیدند که محیط‌های کروموژنیک از حساسیت و ویژگی بالایی نسبت به محیط‌های کلاسیک برخوردار می‌باشند. در ضمن مشخص شده که SMID

Archive of SID

www.SID.ir

توانایی شناسایی همه سالمونلاها را دارد ولی ویژگی‌اش به اندازه RA نمی‌باشد (۱۸).

در محیط‌های کلاسیک، سالمونلا، سیتروباکتر و پروتئوس، پرگنه‌های شبیه به هم ایجاد می‌کنند و هر ۳ این باکتریها تولیدکننده 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.

نتیجه‌گیری

نتایج ما نشان می‌دهد که محیط‌های کروموژنیک دارای قدرت انتخابی و افتراقی بالا نسبت به محیط‌های کلاسیک می‌باشند، که این برتری نیاز به تستهای افتراقی و بیوشیمیایی را کاهش می‌دهد و در صرفه جویی معرفها و زمان لازم برای انجام آزمایش کمک شایانی می‌کند. بنابراین برای تشخیص و شناسایی سالمونلا، استفاده از محیط غنی‌کننده RV براث در دمای $42^{\circ}C$ و یک محیط کروموژنیک جامد پیشنهاد می‌شود.

تقدیر و تشکر

- بدینوسیله از زحمات پرسنل مراکز بهداشت جنوب، شهر ری و اسلامشهر جهت همکاری در نمونه برداری تقدیر و تشکر می‌شود.

- بدینوسیله از معاونت محترم غذا و دارو و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که هزینه‌های طرح را در قالب طرح HSR تقبل نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

1. Bean NH, Goulding JS, Lao C, Angulo FG. Surveillance for food borne disease outbreakes United States, 1988-1992. Morbidity and Mortality Weekly Report CDC Surveillance Summary 1996; 45:1-65.
2. Busse M. Reviews from the Sixth International Symposium of the Working Party for Culture Media, Part II, Media for salmonella**.** Intern J Food Microbiol 1995; 26(1): 117-31.
3. Rall MVL, Rall R, Aragona LC, da Silva MG. Evaluation of three enrichment broths and five plating media for salmonella detection in poultry. Brazil J Microbiol 2005; 36: 147-50.
4. 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.
5. 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: 766-8.
6. 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. Intern J Food Microbiol 2003; 41(3): 1130-4.
7. 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 Dis 1991; Abstr: 1254.
8. Rambach A. New plate medium for facilitated differentiation of salmonella spp and other enteric bacteria. Appl Environ Microbiol 1990; 56: 301-3.
9. Gaillot O, Camillo D, Berche P, Courcol R, Savage C. Comparison of Chro Magar salmonella medium and hektoen enteric agar for isolation of salmonellae from stool samples. J Clin Microbiol 1999; 37(3): 762-5.
10. Manafi M. New developments in chromogenic and fluorogenic culture media. J Intern Food Microbiol 2000; 60: 205-18.

Archive of SID

www.SID.ir

11. Beckers HJ, Robrts D, Price O, Beremer RR, Peter R. Evaluation of new enrichment broth for the isolation of salmonella spp. From Poultry Products. J Food Microbiol 1986; 38: 211-6.
12. 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: 16-21.
13. Joosten HMLG, van Dijek WGFM and 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 of a milk powder factory. Intern J Food Microbiol 1994; 22(2-3): 201-6.
14. 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 1995; 1307-23.
15. Vassiliadis P. The Rappaport-Vassiliadis (RV) enrichment medium for the isolation of salmonellas: An overview. J Appl Bacteriol 1983; 54: 67-76.
16. Fagerberg DJ and Avens JS. Enrichment and plating methodology for salmonella detection in food A review. J Milk Food Technol 1976; 39: 628-46.
17. Cox NA, Mercuri AJ. Recovery of salmonella from broiler carcasses by direct enrichment. J Food Protect 1978; 41: 521-4.
18. Monnery I, Freydiere AM, Baron C, Rousset AM, Tigaud S, Bou de-Chevalier M, and et al. Evaluation of two new Chromogenic media for detection of salmonella in stools. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13: 257-61.
19. The Iran institute of standard and industrial research, microbiology of food, method for Assess salmonella in food materials, standard number 1810, September, 2002.

Archive of SID

www.SID.ir