مقاله پژوهشی

ارزیابی ارتباط ژنتیکی سالمونلا انتریکا سروار انتریتیدیس جداشده از نمونه ERIC- PCR های انسانی و دامی به روش

فرزانه پورحسن سنگری[۱]، کیومرث امینی[۲]، غلامعلی مرادلی[۳]

تاریخ دریافت ۱۳۹۵/۰۱/۲۳ تاریخ پذیرش ۱۳۹۵/۰۳/۱۹

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سالمونلوزیس از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی مشترک بین انسان و حیوانات است که بیشتر در ارتباط با مصرف گوشت، ماکیان، تخم‌مرغ و شیر است. هدف از مطالعه پیش رو، ارزیابی ارتباط ژنتیکی *سالمونلا انتریکا* سروار *انتریتیدیس* جداشده از نمونه‌های انسانی و دامی به روش ERIC- PCR می‌باشد.

مواد و روش کار: در این مطالعه توصیفی-مقطعی، تعداد ۶۰ جدایه *سالمونلاانتریکا* سروتایپ *انتریتیدیس* از نمونه‌های انسانی و دامی به‌دست آمد. شناسایی سویه‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی و سروتایپینگ بر اساس روش اسلاید آگلوتیناسیون با استفاده از آنتی سرم‌های مونو و پلی والان انجام شد. سپس ERIC-PCR با استفاده از توالی‌های الیگونوکلئوتیدی به‌منظور تعیین ارتباط مولکولی سویه‌ها انجام گردید.

یافته‌ها: نتایج به‌دست‌آمده حاکی از آن بود که تمامی ۶۰ سویه سالمونلا انتریکا تحت مطالعه با استفاده از جفت پرایمرهای ERIC I و ERIC II قابل تایپ بندی بودند. تعداد باندهای به‌دست‌آمده بین ۱۱–۲ عدد با وزن مولکولی 3200-20 bp بود. بر این اساس به‌طورکلی ۱۵ کلاستر مختلف (C1-C15) به‌دست آمد که بیشترین تعداد (۱۳/۳ درصد، ۸ سویه) با داشتن الگوی مشابه در کلاستر ۵ (C5) قرار گرفتند.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که سویه‌های سالمونلا انتریکا *سروار انتریتیدیس* ازنظر ژنتیکی ناهمگون هستند. همچنین روش ERIC PCR روش مناسبی جهت تایپینگ مولکولی سویه‌های سالمونلا و تعیین کانون‌های شیوع عفونت می‌باشد که می‌توان ازآن‌جهت مطالعات اپیدمیولوژیک و تعیین راهبردهای کنترل عفونت استفاده نمود.

کلیدواژه‌ها: *سالمونلا انتریتیدیس*، تایپینگ مولکولی، ERIC- PCR

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هفتم، شماره پنجم، ص ۴۱۸-۴۱۱، مرداد ۱۳۹۵

آدرس مکاتبه: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، گروه میکروبیولوژی، ۰۸۶۴۲۲۴۱۵۱۱

Email: Dr_kumarss_amini@yahoo.com

مقدمه

یکی از اعضای خانواده انتروباکتری آسیه، سالمونلاها هستند که باسیل‌های گرم منفی، متحرک با داشتن تار لرزان (فلاژل) پیرامونی، بی‌هوازی اختیاری و فاقد اسپور می‌باشند (۱). بر طبق آخرین طبقه‌بندی *سالمونل* ا دارای دو گونه مهم *سالمونلا انتریکا* و *سالمونلا بونگوری* است که گونه انتریکا خود دارای شش تحت گونه شامل سالمونلا آریزونا، انتریکا، دیآریزونا، سالامی، هوتناواییندیکا می‌باشد (۲). *سالمونلا انتریکا* زیرگونه انتریکا سروتیپ انتریتیدیس که به‌اختصار به *سالمونلا انتریتیدیس* نیز معروف است، مهم‌ترین عامل در ابتلا به سالمونلوزیس می‌باشد. سالمونلوزی ساز مهم‌ترین بیماری‌های عفونی بین انسان و حیوانات است که بیشتر در ارتباط با مصرف گوشت، ماکیان، تخم‌مرغ و شیر رخ می‌دهد (۳). بنابراین این باکتری یک پاتوژن منتقله از طریق غذا محسوب می‌گردد (۴). گاستروانتریت شایع‌ترین فرم بالینی سالمونلوزیس بوده که اغلب با تب، دردهای ماهیچه‌ای شکمی (کرامپ) و اسهال مرتبط است. شروع این علائم ناگهانی از ۱۲ ساعت تا یک هفته متغیر است. طول دوره بیماری ۷-۴ روز به طول می‌انجامد و بسیاری از افراد بدون نیاز به آنتی‌بیوتیک بهبود می‌یابند (۵). از میان سروتیپ‌های شایع دخیل

[۱] کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

[۲] استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علومپایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاداسلامی، ساوه، ایران (نویسنده مسئول)

[۳] استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

در گاستروانتریت سالمونلایی، *سالمونلا تیفی موریوم و سالمونلا انتریتیدیس* فراوان‌ترین می‌باشند (۶). در دهه اخیر سروتیپ *سالمونلا انتریتیدیس* به‌عنوان رایج‌ترین سروار از سالمونلا در بسیاری از کشورهای توسعه‌یافته و درحال‌توسعه من‌جمله ایران شناخته شده است (۷). وجود عفونت ناشی از سالمونلا در طیور و بررسی انتشار آن به زنجیره غذایی انسانی، شناسایی سریع این پاتوژن را در فرآورده‌های حیوان و بررسی تنوع ژنوتیپی و فنوتیپی در میان جدایه‌های تهیه‌شده را امکان‌پذیر نموده است (۸). بنابراین در بسیاری از کشورهای دنیا بررسی آلودگی به سالمونلا انتریتیدیس و تشخیص به‌موقع آن از آزمایشات مهم در صنعت غذا و مراکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها محسوب می‌شود (۹). باوجود قرابت ژنتیکی بسیار نزدیک در جنس سالمونلا، تغییرات گسترده‌ای در بروز بیماری، ویرولانسو توزیع جغرافیایی وجود دارد (۱۰). کسب یا از دست دادن برخی از ژن‌ها و تاسیون‌ها، نقش مهمی در تکامل سرو تایپ‌های مختلف *سالمونلا* ایفا می‌کند. به‌دلیل وقت‌گیر بودن، هزینه بالا و تفسیر دشوار تست‌های فنوتیپیک از قبیل سرو تایپینگوفاژ تایپینگ، این روش‌ها، روش مناسبی برای ردیابی منبع عفونت ناشی از سالمونلا در موارد مطالعات اپیدمیولوژیک نمی‌باشند. به همین دلیل روش‌های تایپینگ دیگری برای تمایز سویه‌های متعلق به یک سروتایپ و فاژتایپ نیاز است (۱۱). روش‌های مولکولی مانند پلی‌مورفیسم طولی قطعه محدود (RFLP)، ریبوتایپینگ، Plasmid profiling، ژل الکتروفورز در میدان ضربانی (PFGE)، پلی‌مورفیسم DNA تکثیرشده تصادفی (RAPD)، DNA Probe و روش PCR توالی محافظت‌شده تکراری داخلی انتروباکتریال (ERIC-PCR[1]) می‌باشد (۱۲). امروزه PFGE روشی رایج برای ژنوتایپینگ گونه‌های سالمونلا است اما دارای مشکلاتی از قبیل پرهزینه، وقت‌گیر، نیاز به حجم بالایی از ژنوم می‌باشد. PFGE به‌عنوان استاندار طلایی در بررسی منطقه ایی مولکولار اپیدمیولوژیک مانند یک بیمارستان مدنظر می‌باشد (۱۳)؛ اما ERIC-PCR روشی سریع، آسان، تفسیر ساده و دارای قدرت تمایز بالا در هر آزمایشگاهی که توانایی انجام PCR را دارند، می‌باشد. توالی‌های تکراری داخلی ERIC درواقع توالی‌های ۱۲۴-۱۲۷bp هستند که دارای یک ناحیه معکوس تکرارشونده مرکزی حفاظت‌شده بوده که به شکل خارج ژنی در ژنوم باکتری‌های انتریک موجود بوده و پرایمرهای مورداستفاده در ERIC-PCR مکمل این توالی‌ها هستند و برای ژنوتایپینگ باکتری‌های گرم منفی روده‌ای مانند گونه‌های سالمونلا بکار می‌رود (۱۴). بنابراین هدف از مطالعه حاضر؛ تایپینگ مولکولی جدایه‌های *سالمونلاانتریکا* سروار *انتریتیدیس* جداشده از انسان و دام به روش ERIC- PCR می‌باشد.

مواد و روش کار

جداسازی باکتری:

در این مطالعه توصیفی – مقطعی که در طی ۱۰ ماه از ابتدای آذر ۱۳۹۳ لغایت انتهای شهریور ۱۳۹۴ انجام شد درمجموع ۲۳۴ نمونه مختلف بالینی و دامی ازجمله؛ ۱۱۷ نمونه مدفوع بیماران مشکوک به عفونت سالمونلا از بیمارستان حضرت رسول اکرم تهران و ۱۱۷ نمونه کشتارگاهی شامل مدفوع، کبد، طحال، محتویات سکومی و صفرا جمع‌آوری شد. سپس تمامی نمونه‌ها در شرایط استریل به محیط آزمایشگاه منتقل گردید و به‌منظور غنی‌سازی به محیط کشت سلنیت F(مرک، آلمان) منتقل شدند و به مدت ۱۲-۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سیسیوس گرمخانه گذاری انجام گردید. نمونه‌های مدفوع کشت داده‌شده در محیط SF در مرحله بعد بر روی محیط XLD[2] آگار و سالمونلا-شیگلا (SS) آگار (مرک، آلمان) کشت داده و در ۳۷ درجه سلسیوس برای ۲۴ ساعت انکوبه شد. کلنی‌های رشد کرده و مشکوک به با استفاده از تست‌های استاندارد بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی مانند: TSI، اوره، سیمون سیترات آگار و MRVP مورد شناسایی قرار گرفت. آزمون سروتایپینگ برای مشخص نمودن آنتی‌ژن‌های سوماتیک (O)، فلاژله (H) و کپسولی (Vi) با استفاده از آنتی سرم‌های پلی والان و مونووالان به روش Slide agglutination انجام گردید. از سویه استاندارد *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Enteritidis* ATCC13076 استفاده گردید.

تایپینگ مولکولی:

به‌منظور استخراج DNA سلولی، تمامی ایزوله‌ها به مدت یک شبانه‌روز بر روی محیط لوریا برتانی براث (مرک، المان) کشت داده شد. سپس، استخراج DNA ژنوم طبق دستورالعمل شرکت سازنده و با استفاده از کیت AccuPrep Genomic DNA Extraction Kit(Bioneer، کره) انجام گردید. جهت تأیید درجه خلوص DNA استخراج‌شده از دستگاه بیوفتومتر (Bio-Rad, USA) استفاده گردید. به‌منظور انجام تایپینگ مولکولی سویه‌های تحت مطالعه از توالی‌های اختصاصی الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای موجود در جدول ۱ استفاده شد (جدول ۱) (۱۵).

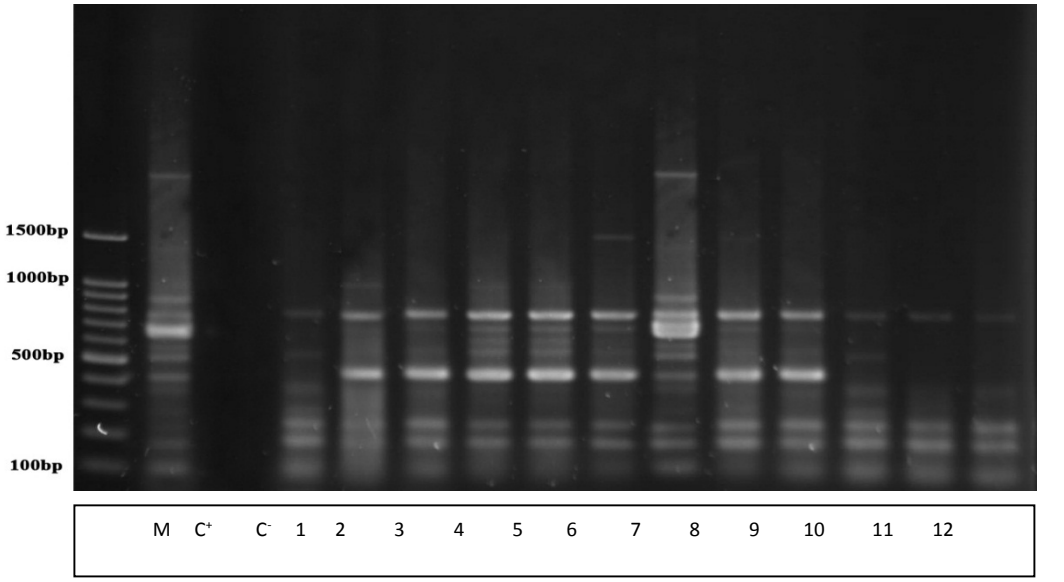
[1] Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus

[2] Xylose Lysine Desoxycholate Agar

جدول (۱): پرایمرهای مورداستفاده در این تحقیق به شرح زیر می‌باشد:

Primer	Oligonucleotide Sequence (5′→ 3′)
ERIC 1	5′ -ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC- 3′
ERIC 2	5′ -AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG- 3′

درنهایت، واکنش PCR به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۷/۵ میکرولیتر PCR master mix 5X (سیناکلون، ایران) حاوی Taq DNA polymerase (0.05 U/µl)، $MgCl_2$ (3 mM) و dNTPs (0.4mM)، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها به غلظت ۰/۸ میکرومولار، ۱ میکرولیتر از DNA الگو (۱۰ نانوگرم) و ۱۴/۵ میکرولیتر آب دو بار تقطیر و دیونیزه استریل با استفاده از گرادیانت ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) برای ۳۰ سیکل به‌صورت زیر انجام گرفت؛ مرحله واسرشتگی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵۵ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها در ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه و مرحله طویل سازی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵۵ ثانیه. در پایان، محصولات واکنش PCR در ژل آگارز ۲ درصد حاوی اتیدیوم بروماید (۰.۵ µg/ml) الکتروفورز گردیده و در عکس‌برداری با استفاده از Gel document دیجیتالی (CCD) انجام شد (شکل ۱).



شکل (۱): نمونه ژل به‌دست‌آمده در این تحقیق. M: DNA size marker (100 bp plus) (سیناژن، ایران). ۲- کنترل مثبت (*سالمونلا انتریتیدیس ATCC* 13076). ۳- کنترل منفی (*Acinetobacterbaumannii* ATCC 19606). ستون‌های ۱ تا ۱۲ محصولات ERIC PCR سویه‌های سالمونلا انتریکا *سروار انتریتیدیس*.

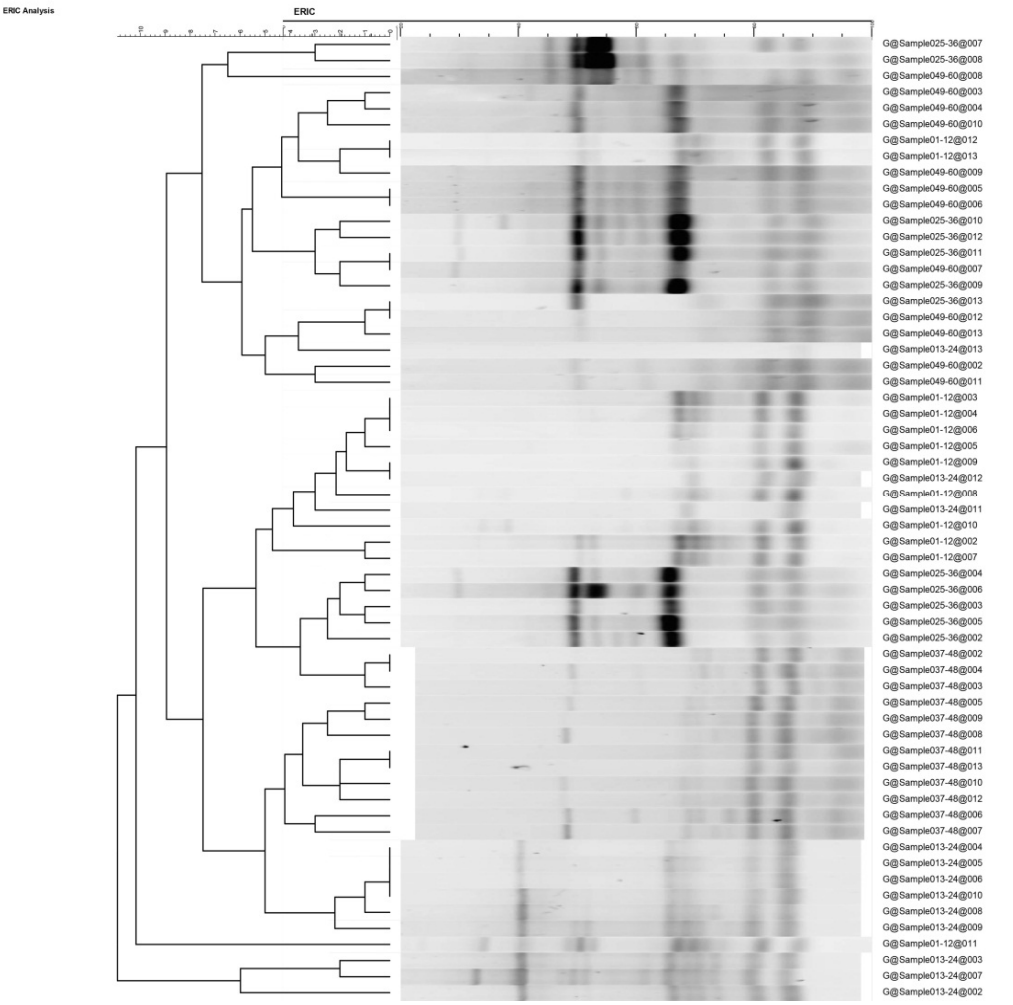
رسم درخت تکاملی:

مقایسه الگوهای ERIC-PCR در پایگاه اینترنتی Insilico.ehu.es انجام گرفت، بدین‌صورت که پس از امتیازدهی به‌صورت صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) برای بررسی دقیق‌تر الگوهای ژنوتایپینگ مورداستفاده قرار گرفتند (شکل ۱). برای ترسیم دندروگرام ابتدا ماتریس تشابه به روش دایس تشکیل و سپس دندروگرام با استفاده از روش خوشه‌بندی مبتنی بر فاصله UPGMA و نرم‌افزار NTSYSpc2.0 انجام شد. قدرت تمایزی ERIC-PCR با استفاده از معادله Simpson's index of diversity محاسبه شد.

یافته‌ها

از مجموع ۲۳۴ نمونه مختلف تحت بررسی تعداد ۶۰ سویه *سالمونلا انتریتیدیس* به‌دست آمد. نتایج آنالیز نمونه‌های دامی نشان داد که بیشترین سویه از محتویات سکوم به‌دست آمد. میانگین سنی افراد تحت مطالعه ۱۲±۵۵ سال که ۳۰ مورد مرد و مابقی زن بودند. ۱۵ کلاستر مختلف به دست آمد به‌طوری‌که ۳ ایزوله با داشتن الگوی مشابه در کلاستر اول (C1)، پنج جدایه در کلاستر ۲ (C2)، دوسویه در کلاستر ۳ (C3)، چهار ایزوله در کلاستر ۴ (C4)، هشت ایزوله در کلاستر ۵ (C5)، دو ایزوله در کلاستر ۶ (C6)، چهار جدایه

در کلاستر ۷ (C7)، دو ایزوله در کلاستر ۸ (C8)، چهار ایزوله در کلاستر ۹ (C9)، سه ایزوله در کلاستر ۱۰ (C10)، پنج ایزوله در کلاستر ۱۱ (C11)، سه ایزوله در کلاستر ۱۲ (C12)، سه ایزوله در کلاستر ۱۳ (C13)، سه ایزوله در کلاستر ۱۴ (C14) و درنهایت دو ایزوله در کلاستر ۱۵ (C15) جای‌گیر شدند. دندروگرام سروتایپ‌های *سالمونلا انتریتیدیس* و نتایج حاصل از ERIC-PCR در شکل ۲ آمده است.



شکل (۲): گروه‌بندی نمونه‌های *سالمونلا انتریتیدیس* جداشده از انسان و دام با روش UPGMA بر اساس توالی ERIC

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌ها نشان داد که ERIC-PCR می‌تواند ایزوله‌های *سالمونلا انتریتیدیس* را به‌خوبی تمایز دهد، چراکه تمامی ایزوله‌ها با این روش قابل تایپ بندی بودند. بر اساس دسته‌بندی دیگر ایزوله‌ها به ۷ گروه مجزا به نام (Sequence type) STکلاستر بندی شد. بر اساس تعریف ST به سویه‌هایی اطلاق می‌شود که الگوی متفاوت داشته و ازنظر ژنتیکی منحصربه‌فرد هستند. ۱۵ کلاستر به‌دست‌آمده در این مطالعه نشان داد که سویه‌هایی که در سرشاخه‌های نزدیک به هم قرار گرفته‌اند شباهت به نسبت بیشتری به یکدیگر دارند. بیشترین تعداد سویه‌ها (۸ سویه، ۱۳/۳ درصد) متعلق به کلاستر ۵ بودند. هرچه سرشاخه‌ها از هم فاصله بیشتری داشته باشند دو نمونه یا نمونه‌های مورد مقایسه خویشاوندی کم‌تری با هم داشته و شباهت توالی در آن‌ها کم‌تر است. رنجبر و همکاران (۱۶) تعداد ۵۷ سویه سالمونلا انتریتیدیس را توسط ERIC PCR موردمطالعه قرار دادند و ۹ الگوی ERIC-PCR به‌دست آوردند. نتایج این محققین نشان داد که روش ERIC PCR می‌تواند ایزوله‌های سالمونلا انتریکا را به‌خوبی تمایز دهد زیرا تمامی ایزوله‌ها با این روش قابل تایپ بندی بودند. نتایج آن تا حد زیادی مشابه نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر علاوه بر اینکه پلی مورف بودن سویه‌های موردمطالعه را نشان می‌دهد به این نکته نیز اشاره دارد که روش ERIC PCR به‌خوبی می‌تواند سویه‌های *سالمونلا* به‌ویژه سویه‌های متعلق به یک گروه سروتایپی را از هم تشخیص داده و متمایز کند.

به‌طوری‌که هر دو پرایمر $ERIC_1$ و $ERIC_2$ در این مطالعه توانستند تمامی نمونه‌ها را مورد آنالیز قرار داده و برای اکثر آن‌ها الگوی مجزایی ایجاد کنند. این نتایج در تأیید مطالعات باغبانی و همکارانش (۱۷) که قدرت بالای ERIC PCR را در تایپینگ *سالمونلا* نشان دادند هم‌خوانی دارد.

در مطالعه صانعی و همکاران (۱۸) با استفاده از پرایمر ERIC اکثر ایزوله‌های انسانی و غذایی در یک گروه بزرگ قرار گرفتند. این نتیجه نشان می‌دهد که گوناگونی ژنتیکی زیادی بین سویه‌های *سالمونلا انتریتیدیس* وجود نداشته و منشأ گرفتن این سویه‌ها از یک کلون واحد یا کلون‌های محدود بسیار محتمل می‌باشد، ولی در مطالعه حاضر با توجه به اینکه ایزوله‌های دامی موردبررسی قرار گرفتند، با استفاده از پرایمرهای ERIC در ۱۵ گروه کلاستربندی شدند و ۳ نمونه به نام ST با الگوی ژنتیکی منحصربه‌فرد شناسایی شد. درنتیجه این کلاستربندی نشان داد وجود کلون‌هایی با شیوع کم‌تر می‌تواند هشداری برای پیدایش سویه‌های جدید و چرخش آن‌ها در محیط باشد. بنابراین شناسایی کلون‌های کم شیوع در مطالعات مولکولار اپیدمیولوژی به لحاظ پیش‌بینی‌های روش‌های کنترل بهداشتی به‌منظور محدود کردن آن‌ها از دیگر رویکردهای مفید این مطالعه است. در مطالعه گوپاو همکاران (۱۹) در هند تعداد ۱۱۳ سویه سالمونلا توسط ERIC PCR روش تایپ بندی شدند. با مقایسه نتایج فوق با نتایج به‌دست‌آمده از بررسی حاضر در مورد به‌کارگیری این روش، به نظر می‌رسد که روش ERIC کارایی مناسبی جهت بررسی تنوع ژنتیکی در سویه‌های سالمونلا دارد. لیم و همکارانش (۲۰) در کره جنوبی تعداد ۵۷ سویه سالمونلا را با روش ERIC PCR تایپینگ مولکولی کردند که تعداد ۱۱-۶ باند مشاهده شد و نشان دادند که این روش برای مطالعات اپیدمیولوژیکی سویه‌ها مفید است. همچنین اولیویرآ و همکارانش (۲۱) در سال ۲۰۰۷ تعداد ۱۰۲ سویه از *سالمونلاانتریتیدیس* را با روش ERIC PCR موردبررسی قرار دادند و نتایج این مطالعه نشان داد که با استفاده از روش تعداد باندها بین ۱۳-۱۲ بود. در مقایسه این دو مطالعه با مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت تعداد باندهای این الگوها شبیه مطالعه حاضر نبود که احتمالاً به‌دلیل فاصله جغرافیایی و اختلاف بهداشت دو منطقه می‌باشد. Cheielewsk و همکارانش (۲۲) در سال ۲۰۰۲، ۳۱ ایزوله سالمونلا را با روش‌های ERIC PCR و Rep PCRو ریبوتایپینگ موردمطالعه قرار دادند و نتیجه گرفتند که در بین این سه روش ERIC PCR و Rep PCR دارای قدرت افتراقی بیشتری از ریبوتایپینگ می‌باشند. به‌طوری‌که با نتیجه مطالعه حاضر تا حدی نزدیک است که اختلاف اندک بین تعداد الگوهای شناسایی‌شده در دو بررسی می‌تواند نشانگر قدرت تمایز بیشتر روش ERIC PCR در مقایسه با Rep-PCR و ریبوتایپینگ باشد. نتایج نشان داد که سویه‌های *سالمونلا انتریکا* سروار *انتریتیدیس* ازنظر ژنتیکی ناهمگون هستند و این موضوع نشان‌دهنده شیوع پلی کلونال سویه‌ها در نمونه‌های دامی می‌باشد. همچنین روش ERIC PCR روش مناسبی جهت تایپینگ مولکولی سویه‌های *سالمونلا* و تعیین کانون‌های شیوع عفونت می‌باشد که می‌توان ازآن‌جهت مطالعات اپیدمیولوژیک و تعیین راهبردهای کنترل عفونت استفاده نمود. لذا لازم است که بررسی‌های مستمر، برنامه‌های نظارتی و غربالگری انجام شود و نوع سالمونلای غالب یا ژنوتایپ غالب آن جامعه مشخص گردد. با توجه به محدود بودن تعداد نمونه‌ها و یکسان بودن منبع جداسازی آن‌ها لازم است بررسی روی سویه‌های بیشتری با منابع غذایی و انسانی نیز صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله بر خود واجب می‌دانند تا از مدیریت و پرسنل محترم آزمایشگاه پاسارگاد و همچنین مدیر گروه و پرسنل دپارتمان میکروبیولوژی دانشگاه آزاد واحد ساوه تقدیر و تشکر نمایند.

References:

1. Nastasi A, Mammina C. Epidemiology of Salmonellaenterica serotype Enteritidis infections in southern Italy during the years 1980-1994. Res Microbiol 1996; 147(5): 393-403.
2. Lopez FE, Mercedes Pescaretti ML, Morero R, Delgado MA. Salmonellatyphimurium general virulence factors: A battle of David against Goliath? Food Res Int 2011; 8(9): 4-8.
3. Hendriksen SW, Orsel K, Wagenaar JA, Miko A, van Duijkeren E. Animal-to-human transmission of Salmonella typhimurium DT104A variant. Emerg Infect Dis 2004; 10(12): 225-7.
4. Bhowmick PB, Srikumar S, Devegowda D, Shekar M, Darshanee-Ruwandeepika HA, et al. Serotyping and molecular characterization for study of genetic diversity among seafood associated non typhoidal Salmonella serovars. Indian J Med Res 2012; 135: 371–81.

5. Akoachere JFTK, Tanih NF, Ndip LM, Ndip RN. Phenotypic Characterization of Salmonella Typhimurium Isolates from Food-animals and Abattoir Drains in Buea, Cameroon. J Health Popul Nutr 2009; 27: 612–8.
6. Bhutta ZA. Current concepts in the diagnosis and treatment of typhoid fever. BMJ 2006; 333(7558): 78-82.
7. Boyed. EF and Hartl. DL. Salmonella virulence plasmid: Modular Acquisition of the spv virulence Region by an F-Plasmid in Salmonella enterica subspecies I and Insertion in to the chromosome of subspecies II, IIIa, IV and VII Isolate. Genetics Society of America 1998; 149: 1183-90.
8. Cortez. AL. Carvalho. AC. Ikuno. AA. Burger. KP. Idal. Marthins. Identification of Salmonella serovars Isolate from chicken abattoirs by PCR. Res Veterinary Sci 2006; 81: 340-4.
9. Cheielewsk R. Wieliczko A. Kuczkowski M. Comparison of profiling Rep and ERIC PCR of Salmonella enteritidis. J Vet Med Sci 2001; 49: 163-8.
10. Stevens A, Kerouanton A, Marault M, Millemann Y, Brisabois A, et al. Epidemiological analysis of Salmonella enterica from beef sampled in the slaughterhouse and retailers in Dakar (Senegal) using pulsed-field gel electrophoresis and antibiotic susceptibility testing. Int J Food Microbiol 2008; 123: 191–7.
11. Tsen HY, Lin JS, Hsih HY. Pulsed field gel electrophoresis for animal Salmonella enterica serovar Typhimurium isolates in Taiwan. Vet Microbiol 2002; 87(1): 73-80.
12.Fendri, Imen, Amal, Ben Hassena, Noel, Grosset, Lamia, Khannous, Genetic Diversity of food-isolated Salmonella Strains through Pulsed field Gel Electrophoresis (PFGE) and Entrobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC PCR). PLOS ONE 2013; 12: 8-12.
13. Ranjbar R, Mammina C, Pourshafie MR, Soltan-Dallal MM. Characterization of endemic Shigellaboydii strains isolated in Iran by serotyping, antimicrobial resistance, plasmid profile, ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. BMC Res Notes 2008; 1: 74.
14. Helali Ra. The Evaluation of Discriminatory power of ERIC PCR for Molecular Typing of Salmonella enteritidis Strains isolated in Tehran-Iran. The 13 Iranian and The 2 International Congress of Microbiology; 2012.P.345.
15. Fendri I, Hassena AB, Grosset N, Barkallah M, Khannous L, Chuat V, Gautier M, Gdoura R. Genetic Diversity of Food-Isolated Salmonella Strains through Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) and Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC-PCR). Plos One 2013; 8(12): e81315-23.
16. Ranjbar R, Sarshar M, Morovvati S. A Study of Ribotype Patterns of Salmonella enterica Serovar enteritidis Strains Isolated in Tehran, Iran. J Isfahan Med School 2012; 30(180): 238-47. (Persian)
17. Baghbani-arani F, Tajbakhsh M, Hashemi SA, Rajai B, Siadat SD, Aghasadeghi MM, Sadat SM. Molecular Typing of Salmonella paratyphi B and Salmonella paratyphi C Isolated from Clinical Samples in Iran. J Fasa Univ Med Sci 2012; 2(5): 19-25. (Persian)
18. Fard Saneii F, Seyfi M, Eshraghi S, Mardani N. Genotyping of Salmonellaenteritidis isolated from human and foods by ERIC-PCR. Tropical and infectious disease 2010; 15(51): 7-13. (Persian)
19. Gopa N. Pushpa P. Anil KG. ERIC PCR and RAPD based fingerprinting of Salmonellatyphi strains isolated over a period of two decades. Infect Genet Evol 2010; 10: 530-6.
20. Lim H, Lee KH, Hong CH, Bahk GJ, Choi WS, Comparison of four molecular typing methods for the differentiation of Salmonella spp. Int J Food Microbial 2005, 105, 411-8.

21. Oliveira SD, Bessa MC, Santos LR, Cardoso MR. Canal CW. Phenotypic and genotypic characterization of Salmonella enteritidis isolates. Brazil J Microbiol 2007; 38: 720-5.

22. Cheielewsk R, Wieliczko A, Kuczkowski M. Comparison of profiling Rep and ERIC PCR of Salmonella enteritidis. J Vet Med Sci 2001; 49: 163-8.

Original Article

EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY OF SALMONELLA ENTERICA SEROVAR ENTERITIDIS ISOLATED FROM HUMAN AND ANIMALS SAMPLES BY ERIC-PCR

Farzaneh Pourhasan Sangari[1], Kumarss Amini[2], Gholamali Moradli[3]*

Received: 12 Apr, 2016; Accepted: 9 June, 2016

Abstract

Background & Aims: Salmonellosis is one of the vital infectious zoonotic diseases in both human and animals that is related with poultry, meat, egg and milk consumption. The aim of this study was evaluation of genetic diversity of Salmonellaenterica serovar enteritidis isolated from human and animals samples by ERIC-PCR method.

Materials & Methods: In this cross-sectional study, 60 Salmonellaenterica serovar enteritidis were obtained from the human and animals. Detection of strains were performed by standard microbiological and biochemical tests and slid agglutination assay were done for serotyping of the strains by mono and polyvalent antisera. Then, ERIC-PCR was achieved for determination of molecular correlation of the strains by specific oligonucleotides primers.

Results: The results showed that, all 60 S. enterica using ERIC 1 and ERIC were type II. And 2-11 bands with 20-3200 bp were obtained. Therefore, 15 different clusters (C1-C15) were attained and that highest number (13.3%, 8 strains) with like pattern were in cluster 5 (C5).

Conclusion: The results showed that Salmonellaenterica serovar enteritidis strains are non-homolog. So, ERIC-PCR method is an appropriate method for molecular typing of Salmonella strains and infection spread source determination used for epidemiologic survey and infection prevention pathway.

Keywords: Salmonellaenterica, Molecular Typing, ERIC-PCR

Address: Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
Tel: +9842241511
Email: Dr_kumarss_amini@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2016: 27(5): 418 ISSN: 1027-3727

[1]*M.S. in Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran*
[2] *Assistant Professor, Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran (Corresponding Author)*
[3]*Assistant Professor, Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran*