

**دارای رتبه علمی - پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور**

مقایسه شش روش کشت باکتریایی برای جداسازی سالمونلا از نمونه های مدفعع طیور

چکیده

زمینه و هدف: سالمونلوزیمی یکی از مهمترین بیماری های مشترک دام و انسان با منشا غذایی در جهان به شمار می رود و طیور و فرآورده های آن مهمترین منبع عفونت سالمونلایی در انسان هستند. شناسایی طیور آلوده نیاز به کشت مدفعع در محیط های کشت غنی کننده و انتخابی دارد که در این مطالعه کارایی محیط های مختلف در جداسازی سالمونلا از مدفعع طیور با هم مقایسه شده است.

روش بررسی: بعد از مشخص کردن سالن های آلوده به سالمونلا در آمل، آزمایشات بر روی ۴۵ نمونه مثبت مدفععی از سالن های آلوده و ۴۵ نمونه منفی از سالن های غیرآلوده صورت پذیرفت. نمونه ها به منظور جداسازی سالمونلا در محیط های کشت غنی کننده آبگوشت تتراتیونات، سلنتیت سیستین و راپاپورت و اسیلیادیس غنی سازی شدند و سپس در محیط های کشت انتخابی گرمخانه گذاری شدند. رشد باکتری ها بعد از ۲۴ ساعت با روش استاندارد مقایسه گردید.

یافته ها: اختصاصیت این روش ها برای جداسازی سالمونلا ۱۰۰ درصد بوده و از ۴۵ نمونه سالم سالمونلا جدا نگردید. بالاترین حساسیت مربوط به روشی بود که در آن نمونه مدفعع ابتدا در آبگوشت سلنتیت و سپس در راپاپورت و اسیلیادیس غنی سازی شد. غنی سازی مدفعع در محیط آبگوشت راپاپورت نیز حساسیت ۹۱ درصدی نشان داد یعنی در ۴۱ مورد سالمونلا جدا گردید. غنی سازی در حضور تتراتیونات میزان موقیت در کشت سالمونلا را به ۶ مورد (۱۳٪) کاهش داد.

نتیجه گیری: غنی سازی نمونه مدفععی در محیط سلنتیت و به دنبال آن در محیط راپاپورت و اسیلیادیس مناسب ترین روش برای افزایش احتمال جداسازی سالمونلا از نمونه مدفعع طیور می باشد.

واژه های کلیدی: سالمونلا، کشت باکتریولوژیک، تشخیص، جداسازی، غنی سازی، طیور

ریما مرشد

استادیار پژوهشی بنیاد دانشنامه نگاری ایران،
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

نویسنده مسئول: ریما مرشد

morshed@iecf.ir

تلفن: ۰۲۱۲۲۱۲۹۸۴۳

آدرس: تهران، سعادت آباد، میدان فرهنگ، خ معارف،
بن بست داشن، بنیاد دانشنامه نگاری ایران

دریافت: ۹۲/۷/۷۲

ویرایش پایانی: ۹۲/۶/۲۴

پذیرش: ۹۲/۶/۲۶

آدرس مقاله:

مرشد ر " مقایسه شش روش کشت باکتریایی برای جداسازی سالمونلا از نمونه های مدفعع طیور " مجله علوم آزمایشگاهی، بهار ۱۳۹۳، دوره هشتم(شماره ۱): ۴۸-۵۳

کولات یا بریلیانت گرین دارند (۴,۳). مطالعات زیادی برای مقایسه حساسیت روش های گوناگون کشت باکتریایی سالمونلا صورت گرفته است (۵-۱۰) که برخی روش ها برای برخی سروتیپ ها یا برخی نمونه ها مناسب تر بوده اند. هیچ روش کشتی برای جداسازی همه سروتیپ های سالمونلا از همه نمونه ها مطلوب نیستند. جداسازی و شناسایی سالمونلاها از نمونه های مدفوع به دلیل بار میکروبی بالا نیازمند بررسی بیشتر و دقیق تر نسبت به نمونه های دیگر است. هدف از این مطالعه تعیین و مقایسه حساسیت تشخیصی روش های کشت رایج برای جداسازی سالمونلا از مدفوع مرغ های گوشتی بود تا به تدوین برآمدهای غربالگری سالمونلا در گله های طیور کشور و انتخاب روش کشت مناسب برای دستیابی به مطمئن ترین نتایج کمک شود.

روش بررسی

در این تحقیق از نمونه های مدفوعی ۱۶ مرغداری گوشتی شهرستان آمل در سینه مختلف که دارای ۳۳ سالن بوده اند استفاده شد و حداقل ۶۰ نمونه مدفوع تازه (یک گرم) از هر سالن ۵۰۰۰ تایی گرفته شد و هر ۱۰ نمونه با هم مخلوط شد سپس در داخل لوله حاوی محیط کشت سلنتی سیستین قرار داده شد تا سالن های دارای آلدگی سالمونلایی مشخص شود. بنابراین ابتدا نمونه های مخلوط شده مدفوع با روش استاندارد کشت سالمونلا ارزیابی شد و پس از تعیین سالن های آلدگی مجدداً نمونه گیری برای انجام آزمایش های باکتریولوژیکی صورت گرفت و ۴۵ نمونه مدفوع مثبت از سالن های آلدگی و ۴۵ نمونه مدفوع منفی از سالن های فاقد آلدگی به سالمونلا انتخاب شد. ده گرم از نمونه های مدفوعی مثبت و منفی با ۶ روش مختلف رایج در کنار روش استاندارد، به منظور جداسازی سالمونلا کشت شدند: روش اول: ۱۰ گرم مدفوع در ۱۰۰ میلی لیتر محیط غنی سازی انتخابی آبگوشت سلنتی سیستین در ۳۷ درجه سانتیگراد کشت داده شد، سپس ۱۰ میلی لیتر از آب پیتونه بافری در ۱۰۰ میلی متر محیط غنی سازی انتخابی

پاتوژن های میکروبی به ویژه سالمونلا انتریکا در مواد غذایی انسان در سال های اخیر افزایش یافته است. سالمونلا انتریکا عامل اصلی گاستروانتریت در انسان با نشانه های خود محدود شونده تب، شکم درد، تهوع و استفراغ به شمار می رود. انسان ها معمولاً بعد از مصرف محصولات حیوانی همچون تخم مرغ، گوشت مرغ و گوشت خوک آلدگی و کاهی گوشت گاو آلدگی مبتلا می شوند. طیور و محصولات حاصل از آن بین فرآورده های حیوانی به عنوان مهمترین منبع سالمونلا برای انسان مطرح هستند (۱,۲). از این رو تدوین برنامه های پایش سالمونلا در گله های طیور کشور اهمیت زیادی دارد و یکی از ارکان این برنامه ها، توانمندسازی کشت باکتریولوژیک برای جداسازی و شناسایی سالمونلا از نمونه های با بار میکروبی بالا مثل مدفوع طیور است. روش های مختلفی برای کشت سالمونلا وجود دارد. طیف وسیعی از محیط های کشت اختصاصی برای سالمونلا تولید شده است اما هیچ کدام از آنها کامل نیستند و به محیط های غنی سازی و انتخابی نیاز دارند. محیط های آبگوشت انتخابی با فراهم آوردن مواد غذایی و نیز ماده مهار کننده رشدی که رشد تمام ارگانیسم ها بجز ارگانیسم مورد نظر را مهار می کند سبب افزایش رشد سالمونلا و مانع رشد باکتری های غیرسالمونلا می شوند. رایج ترین محیط های غنی کننده انتخابی عبارتند از: آبگوشت سلنتی سیستین حاوی سیستین جهت تسريع رشد سالمونلاها، آبگوشت تتراتیونات حاوی تتراتیونات، بریلیانت گرین و نمک های صفراء و آبگوشت راپاپورت واسیلیادیس حاوی مالاشیت گرین، کلرید منیزیم و کاهش جزئی PH به عنوان فاکتورهای انتخابی. نمونه ها پس از غنی سازی، به محیط های اختصاصی مثل سالمونلا- شیگلا آگار (SS) و بریلیانت گرین آگار (BG) و محیط های افتراقی مثل مک کانکی آگار (MC) و گزیلوز لیزین دزوکسی کولات آگار (XLD) منتقل می شوند که یا بر اساس عدم توانایی سالمونلاها در تخمیر قند لاکتوز عمل می کنند یا عوامل انتخابی نظیر نمک های صفراء یا

آبگوشت راپاپورت و اسیلیادیس در ۳۷ درجه سانتیگراد منتقل شد. سپس ۱۰ میکرولیتر آبگوشت راپاپورت XLD و اسیلیادیس در محیط‌های انتخابی و اختصاصی (Xylose Lysine Deoxycolate Agar) و سالمونلا-شیگلا آگار در ۳۷ درجه سانتیگراد کشت داده شد و از تست های افتراقي برای تشخیص پرگنه های مشکوک استفاده گردید. روش ششم: ۱۰ گرم مدفوع در ۱۰۰ میلی لیتر محیط غنى سازی سازی غير انتخابي آب پپتونه بافری در ۳۷ درجه سانتیگراد و سپس ۱۰ میلی لیتر آب پپتونه در محیط جامد راپاپورت و اسیلیادیس در ۴۲ درجه سانتیگراد کشت داده شد و از تست های افتراقي استفاده گردید. روش استاندارد: کشت ۱۰ گرم مدفوع در ۱۰۰ میلی لیتر محیط غنى سازی انتخابي آبگوشت سلنيت سيسٽين در ۳۷ درجه سانتیگراد و کشت ۱۰ میکرولیتر از آن بعد از ۲۴ ساعت در محیط های انتخابي و اختصاصي مك كانكى آگار و سالمونلا-شیگلا آگار در ۳۷ درجه سانتیگراد و استفاده از تست های افتراقي برای شناسايي پرگنه های مشکوک به سالمونلا و آزمایش آگلوبتیناسيون با آنتى سرم های پلی والان O سالمونلا جهت تاييد تشخيص، مراحل انجام کشت باكتريولوزيك استاندارد در مطالعه کنونى بود. آناليز دادهها شامل مقایسه روش ها با کمک آزمون آماري غير پارامتری کوکران، تعين ميزان توافق بين روش ها با استفاده از آمار كاپا، و محاسبه حساسيت تشخيصي هر کدام از روش ها بود. در صورتى که ميزان $P < 0.05$ بود اختلاف آماري مورد نظر معنى دار تلقى گردید. از نرم افزار SPSS ver21 برای بررسى و آناليز نتایج استفاده شد.

یافته ها

همه نمونه های منفي سالمونلا با هر ۶ روش کشت منفي شدند و ويژگي های ۶ روش معرفی شده در اين مطالعه ۱۰۰ درصد بود. درخصوص نمونه های مثبت، روش پنجم توانست همه ۴۵ نمونه مثبت سالمونلا را شناسايي کند. بالاترین حساسيت به ترتيب متعلق به روش ۵ با (۱۰۰٪)، روش ۴ با (۹۱٪) روش ۱ با (۸۸٪) بود. روش های ۲ و ۳ که شامل محیط غنى كننده تتراتيونات روش ۶ که فاقد

آبگوشت سلنيت سيسٍٽين در دماي ۳۷ درجه سانتيگراد کشت داد و ۱۰ ميكرو لیتر از آن در محیط های انتخابي و اختصاصي مك كانكى آگار و سالمونلا-شیگلا آگار کشت داده و در دماي ۳۷ درجه سانتي گراد قرار داده شد، از تست های افتراقي برای شناسايي سالمونلا استفاده گردید. روش دوم: ۱۰ گرم مدفوع در ۱۰۰ ميلى لیتر محیط غنى سازی انتخابي آبگوشت تتراتيونات در ۴۲ درجه سانتيگراد و پس از گذشت ۲۴ ساعت، ۱۰ ميكرو لیتر از آبگوشت در XLD (Xylose Lysine Deoxycolate Agar) و BG (Brilliant Green Agar) در ۳۷ درجه سانتيگراد کشت داده شد و از تست های افتراقي برای تاييد نهايى استفاده گردید. روش سوم: ۱۰ گرم مدفوع در ۱۰۰ ميلى لیتر محیط غنى سازی غير انتخابي آب پپتونه بافری در ۳۷ درجه سانتيگراد و سپس ۱۰ ميلى لیتر از آن در ۱۰۰ ميلى لیتر محیط غنى سازی انتخابي آبگوشت تتراتيونات در ۴۲ درجه سانتيگراد کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت ۱۰ ميكرو لیتر آبگوشت تتراتيونات به روی محیط های انتخابي و اختصاصي XLD (Xylose Lysine Deoxycolate Agar) و BG (Brilliant Green Agar) در ۳۷ درجه سانتيگراد برده شد و از تست های افتراقي برای شناسايي سالمونلا استفاده گردید. روش چهارم: ۱۰ گرم مدفوع در ۱۰۰ ميلى لیتر محیط غنى سازی غير انتخابي آب پپتونه بافری در ۳۷ درجه سانتيگراد کشت داده شد. سپس ۱۰ ميلى لیتر آب پپتونه به ۱۰۰ ميلى لیتر محیط غنى سازی انتخابي آبگوشت راپاپورت و اسیلیادیس در ۴۲ درجه سانتيگراد منتقل شد و پس از ۲۴ ساعت ۱۰ ميكرو لیتر آبگوشت راپاپورت و اسیلیادیس به روی محیط های انتخابي و اختصاصي XLD (Xylose Lysine Deoxycolate Agar) و سالمونلا-شیگلا آگار در ۳۷ درجه سانتيگراد برده شد و در نهايى از تست های افتراقي استفاده گردید. روش پنجم: ۱۰ گرم مدفوع در ۱۰۰ ميلى لیتر محیط غنى سازی انتخابي آبگوشت سلنيت سيسٍٽين در ۴۲ درجه سانتيگراد کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت، از آن ۱۰ ميلى لیتر به ۱۰۰ ميلى لیتر محیط غنى سازی انتخابي

طیوری که آلوده به اشکال تحت بالینی سالمونلا هستند با وجود آلودگی بافت‌های داخلی بدن، میزان کمی از سالمونلا را در مدفوع دفع می‌کنند، بنابراین تتراتیونات محیط خوبی برای جداسازی سالمونلا در نمونه‌های مدفوعی طیور محسوب نمی‌شود. روش پنجم در این مطالعه کاملاً شبیه روش استاندارد عمل کرد و توانست تمامی نمونه‌های مثبت را جدا کند. در مطالعه Pangloli و همکاران در سال ۲۰۰۳ بر روی مقایسه روش‌های جداسازی سالمونلا در نمونه‌های جدها شده از سالن‌های نگهداری گاو، خوک و طیور دریافتند مرحله غنی‌سازی اولیه قبل از غنی‌سازی اصلی سبب افزایش معنادار جداسازی سالمونلا از نمونه‌های مدفوعی طیور می‌شود (۱۶). در این آزمایش اختلاف معنی داری بین استفاده و عدم استفاده از محیط غنی‌سازی اولیه غیر انتخابی (مثل محیط آب پیتونه بافری) وجود نداشت ($P > 0.05$) و در مواردی در کشت‌های همراه با غنی‌سازی اولیه در محیط غیر انتخابی، سالمونلاهای کمتری جدا گردید. استفاده از محیط‌های غنی‌سازی اولیه مثل آب پیتونه که انتخابی عمل نمی‌کند برای نمونه‌های مدفوعی گاه معکوس عمل نموده و به سایر باکتری‌هایی که سریع‌تر از سالمونلا رشد می‌کنند اجازه رشد زیادتر می‌دهد (۱۷). در نمونه‌های مدفوعی به علت بار میکروبی بالا، استفاده از محیط‌های انتخابی و افزودن آنتی‌بیوتیک به محیط‌ها به منظور جلوگیری از رشد باکتری‌های رقیب در کشت، اهمیت بسزایی دارد. نتایج بررسی‌های انجام شده در خصوص تعیین حساسیت روش‌های متفاوت کشت بر روی نمونه‌های مختلف نشان داد که برخی از روش‌های کشت برای جداسازی سالمونلا از نمونه‌های خاصی مناسب تر هستند و روش کشته‌ی که برای جداسازی سالمونلا از غذای انسان، دان طیور و یا نمونه‌های محیطی مناسب است برای شناسایی سالمونلای موجود در مدفوع مناسب نیست (۱۸). بعلاوه میزان رشد سروتیپ‌های مختلف سالمونلا در یک نمونه در روش‌های گوناگون کشت، متفاوت است. در بررسی‌های Fagerberg & Avens گزارش شد که محیط سلنتی برای

مرحله غنی‌سازی در آبگوشت‌های غنی‌کننده انتخابی بود در جداسازی سالمونلاها، از حساسیت کمتری نسبت به سایر روش‌ها برخوردار بودند و این اختلاف معنی دار بود ($P = 0.000$). اختلاف بین روش‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶ معنی دار بود. بالاترین میزان جداسازی سالمونلا مربوط به روش ۵ و کمترین میزان جداسازی مربوط به روش ۶ بود ($P = 0.000$). روش‌ها با بالاترین حساسیت، از نظر آماری بسیار نزدیک به هم بودند و اختلاف معنی داری با هم نداشتند ($P > 0.05$) بیشترین میزان توافق در جداسازی سالمونلا در ترکیب روش‌های ۴ و ۵ (۹۱/۱٪)، ۱ و ۵ (۸۶/۶٪)، ۱ و ۴ (۸۸/۸٪) مشاهده شد در حالیکه توافق بین بقیه روش‌ها زیر ۲۰ درصد بود.

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که اختلاف معنی داری در قابلیت جداسازی سالمونلا از نمونه‌های مدفوعی طیور با روش‌های متفاوت کشت وجود دارد. اگرچه نمونه‌های منفی سالمونلا در هیچ کدام از روش‌های مورداستفاده مثبت نشدند و نشان دهنده ویژگی بالای این روش‌ها بسیار جداسازی سالمونلا دارد اما حساسیت این روش‌ها بسیار متنوع بود. محیط غنی‌شده با تتراتیونات نتایج رضایت‌بخشی در جداسازی نداشت و بهترین نتایج از محیط غنی‌سازی راپاپورت و اسیلیادس به ویژه همراه با تغییراتی در روش اجرای آن به دست آمد. نتایج بررسی‌های دیگر نیز حاکی از تاثیر مثبت محیط راپاپورت در بهبود جداسازی سالمونلا هستند (۱۰، ۱۲، ۱۳-۱۵). در تحقیق سلطان دلال و همکاران روی نمونه‌های مدفوع انسانی در ایران در سال ۱۳۹۰ بهترین نتایج از ترکیب محیط راپاپورت و رامباخ آگار به دست آمد (۱۲) و در بررسی Love و همکاران در سال ۲۰۰۸ در امریکا روی نمونه‌های مدفوع خوک، ترکیب تتراتیونات و راپاپورت بالاترین میزان سالمونلا جداسازی گردید (۱۴). Cox و همکاران در بررسی در ۱۹۷۸ گزارش دادند در صورتی که غلظت میکروارگانیسم در نمونه کم باشد محیط تتراتیونات بسیار توکسیک است و برای این نوع نمونه‌ها سلنتی محیط غنی‌کننده موثرتری است (۱۵).

درجه به مدت ۲۴ ساعت و سپس تلقیح ۱۰ میکرولیتر راپاپورت واسیلیادیس در محیط های جامد XLD و مک کانکی است. ذکر این نکته ضروری است که استفاده از چندین روش کشت به صورت موازی و در کنارهم قطعاً نتایج قبل اطمینان تری را فراهم می کند، اگرچه هزینه آزمایش هر نمونه را افزایش می دهد.

تشکر و قدردانی

لازم به ذکر است که هزینه این طرح از محل پژوهانه مرکز پژوهشی بنیاد دانشنامه نگاری ایران تأمین شده است.

References

- 1.D'Aoust JY. *Salmonella species*. In: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ: *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*. Washington DC, ASM Press. 1997; 129-158.
- 2.Tauxe RV. *Salmonella: A postmodern pathogen*. Journal of Food Protection 1991; 54: 563-568.
- 3.Rall VLM, 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.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.
- 5.Hammack TS, Amaguana RM, June GA, Sherrod PS, Andrews WH. *Relative effectiveness of selenite cystine broth, tetrathionate broth, and Rappaport-Vassiliadis medium for the recovery of Salmonella spp. from foods with a low microbial load*. J Food Prot. 1999; 1: 3-90.
- 6.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.
- 7.Read SC, Irwin RJ, Poppe C, Harris JA. *Comparison of two methods for isolation of salmonella from poultry litter samples*. Poult Sci. 1994; 73(10): 1617-1621.
- 8.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.
- 9.Soltan Dalall MM, Rahimi Forushani A, Nikmanesh B, Tabatabaei Bafroei A, Aghili N. *Evaluation of Enrichment, Selective and Differential Media in Isolation and Identification of Salmonella Among Children with Diarrhea*. TUMS electeronic journal 2011; 5(2): 33-41.[Persian]
- 10.Soltan Dallal MM, Vahedi S, Ebrahimi A, Noroz Babaei H, Sadat Fazeli Fard P, Saberpoor F, et al. *Evaluation of three enrichment broths and six plating media for isolation and detection of salmonella in food stuffs*. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences 2008; 13(3): 28-34.[Persian]
- 11.Waltman WD, Gast RK, Mallinson ET. *Salmonellosis*. In: DE Swayne, JR Glisson, MM Jackwood, JE Pearson, WM Read: *A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens*. 4th ed. Pennsylvania, USA, American association of avian Pathologists. 1998; 4-13.
- 12.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.
- 13.Rybolt ML, Wills RW, Bailey RH. *Use of secondary enrichment for isolation of Salmonella from naturally contaminated environmental samples*. Poult Sci. 2005; 84(7): 992-997.
- 14.Love BC, Rostagno MH. *Comparison of five methods for salmonella isolation from swine fecal samples of known infection status*. Vet Diagn Invest. 2008; 20(5): 620-624.
- 15.Cox NA, Mercuri AJ. *Recovery of Salmonella from broiler carcasses by direct enrichment*. J Food Protect. 1978; 41(1): 521-4.
- 16.Pangloli P, Dje Y, Oliver SP, Mathew A, Golden DA, Taylor WJ, et al. *Evaluation of methods for recovery of Salmonella from dairy cattle, poultry, and swine farms*. J Food Prot. 2003; 66(11): 1987-1995.
- 17.Rostagno MH, Gailey JK, Hurd HS, McKean JD, Leite RC. *Culture methods differ on the isolation of Salmonella enterica serotypes from naturally contaminated swine fecal samples*. J Vet Diagn Invest. 2005; 17(1): 80-83.
- 18.Fagerberg DJ, Avens JS. *Enrichment and plating methodology for Salmonella detection in food, a review*. J Milk Food Technol. 1976; 39(1): 628-46.

برخی از سروتیپ های سالمونلا و محیط ترااتیونات برای سروتیپ های دیگر سالمونلا کارآمدتر است(۱۸).

نتیجه گیری

روش کشت قابل توصیه برای شناسایی سالمونلا در نمونه های مدفعوعی طیور، کشت ۱۰ گرم مدفعع مخلوط شده از نقاط مختلف سالن، در محیط آبگوشت سلینت سیستئین و انکوباسیون آن در ۴۲ درجه به مدت ۲۴ ساعت و سپس کشت ۱۰ میلی لیتر از این محیط در ۱۰۰ میلی لیتر آبگوشت راپاپورت واسیلیادیس و انکوباسیون آن در ۳۷

Comparison of Six Culture Methods for *Salmonella* Isolation from Poultry Fecal Samples

Morshed, R. (PhD)

Assistant Professor, Iranian Institute for Encyclopedia Research, Ministry of Science, Research and Technology, Tehran, Iran

Corresponding Author: Morshed, R.

Email: morshed@iecf.ir

Received: 12 May 2013

Revised: 15 Sep 2013

Accepted: 17 Sep 2013

Abstract

Background and Objective: Salmonellosis is one of the most important food-borne bacterial zoonotic diseases worldwide, and poultry and its products are the major sources for *salmonella* transmission to human. Isolation of *Salmonella enterica* from poultry needs bacteriologic enrichment and selected cultures of fecal samples. In this study, different culture methods for the isolation of *salmonella* from fecal samples were compared.

Material and Methods: Forty- five positive samples from infected farms and 45 negative samples from normal farms were processed using enrichment media including tetrathionate broth, selenite cistine and Rappaport-Vassiliadis. Then the samples were incubated in selective cultures, and after 24 h, their results were compared with standard method.

Results: Specificity of all methods for *salmonella* isolation was 100%, and *salmonella* was not isolated from the negative samples. The highest susceptibility was related to the method in which the sample first in Selenite cistine and later in Rappaport-Vassiliadis was enriched (100%). Enrichment in Rappaport-Vassiliadis could isolate 41 *salmonella* from 45 positive samples (91%) while the result of enrichment in tetrathionate was 6 isolates (13.3%).

Conclusion: This study shows that enrichment in selenite cistine and then in Rappaport-Vassiliadis is currently the best method for isolating salmonella from fecal samples of poultry.

Key words: *Salmonella*; Bacteriologic Culture; Diagnosis; Isolation; Enrichment; Poultry