بررسی قدرت تمایز سروتیپ‌های سالمونلا با تکنیک PCR-Ribotyping در سویه‌های جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال زیر ۱۵ سال

*نرجس مهرور I

دکتر عباس اخوان سپهی II

دکتر عظیم مهرور III

معصومه عظیمی‌راد IV

رزیتا عدالت V

فرشته جعفری VI

مریم صناعی VII

کیانا میرسعیدی VIII

دکتر محمدرضا زالی IX

چکیده

زمینه و هدف: سالمونلا، از مهم‌ترین پاتوژن‌های ایجاد کننده اسهال و بیماری‌های ناشی از غذا در انسان می‌باشد. از علایم آن، اسهال، تب، استفراغ و در برخی موارد، اسهال خونی است. به دلیل اهمیت این ارگانیسم به عنوان یکی از پاتوژن‌های بیماریزا، شناسایی و تشخیص سریع این پاتوژن و همچنین تمایز سروتیپ‌های آن از هم توسط روشهای مولکولی، لازم می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی تکنیک PCR-Ribotyping (Polymerase chain reaction-Ribotyping) در سروتیپ‌های سالمونلای جدا شده از نمونه‌های اسهالی می‌باشد.

روش بررسی: نمونه‌های مورد مطالعه در این تحقیق شامل سویه‌های سالمونلای جدا شده از ۱۱۵ کودک مبتلا به اسهال بود که پس از تعیین نوع سروتیپ آنها، DNA با روش فنل/کلرفرم استخراج شد و تکنیک PCR-Ribotyping توسط پرایمرهای P2 و P1 مربوط به ژن 16S-23SrRNA انجام گرفت. در نهایت محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۸٪ الکتروفورز شدند و بعد از رنگ‌آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید، آنالیز صورت گرفت. داده‌های بدست آمده با برنامه(SPSS(version 11.5 و آزمون آماری Chi-square و برنامه آماری NTSYS2 آنالیز شدند.

یافته‌ها: ۱۱۵ نمونه سالمونلا، شامل سروتیپ‌های Paratyphi A، Paratyphi B، Paratyphi C، Paratyphi D و Typhi بودند. در ارتباط با ژن 16S-23SrRNA، تمامی سروتیپ‌ها دارای ۵ باند مشابه در حد فاصل ۲۵۰۰-۷۰۰ جفت‌باز بودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج بدست آمده، می‌توان گفت تکنیک PCR-Ribotyping دارای توانایی کافی جهت شناسایی سویه‌های سالمونلا در حد جنس می‌باشد ولی برای تعیین نوع سروتیپ، از قدرت تمایز زیادی برخوردار نمی‌باشد.

کلیدواژه‌ها: ۱- روشهای مولکولی ۲- قدرت تمایز ۳- سالمونلا ۴- سروتیپ

تاریخ دریافت: ۸۵/۹/۵، تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۱/۱٤

I) کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، میدان قدس، خیابان دربند، کوچه پرتوی، تهران، ایران(*مؤلف مسؤول).

II) استادیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران.

III) استادیار و فوق تخصص خون و سرطان اطفال، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران.

IV) کاردان علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.

V) کارشناس ارشد ویروس‌شناسی، انستیتو پاستور، تهران، ایران.

VI) کارشناس میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.

VII) کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.

VIII) کارشناس میکروبیولوژی، بیمارستان حضرت علی اصغر(ع)، خیابان ظفر، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران، ایران.

IX) استاد و فوق تخصص بیماری‌های دستگاه گوارش، کبد و مجاری صفراوی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-23]

مقدمه

باکتری سالمونلا، یکی از اعضاء خانواده انتروباکتریاسه است[۱] که به صورت باسیل‌های گرم منفی تاژه‌دار هستند[۱] و اکثر سروتیپ‌های آن، بجز دو سروتیپ سالمونلا گالیناروم(Salmonella Gallinarum) و سالمونلا پلوروم (Salmonella Pullorum)، توانایی حرکت را دارند.[۲] این جنس به صورت هوازی و یا بی‌هوازی اختیاری است و اپتیمم شرایط رشد آن، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با PH=۶-۸ می‌باشد.[۱و ۲] طبقه‌بندی این جنس براساس روش Kauffman-White صورت می‌گیرد که بیش از ۲۳۰۰ سروتیپ براساس ساختار آنتی‌ژنی لیپوپلی‌ساکاریدی سطح سلول(AgO) و پروتئین‌های تاژه‌ای(AgH) بدست می‌آید.[۳]

جنس سالمونلا اغلب در مواد غذایی گوشت، مرغ و محصولات لبنی که تحت تیمار حرارتی قرار نگرفته‌اند، یافت می شود همانند سس مایونز، کرم، خامه و بستنی.[٤] در فصل تابستان، به دلیل فاسد شدن گوشت و مرغ، احتمال فعالیت جنس سالمونلا در آنها زیاد می‌شود که در نتیجه با مصرف این نوع مواد غذایی، سالمونلا از راه دهان وارد روده انسان می‌گردد و به سلولهای اپیتلیوم روده کوچک متصل شده و مسمومیت غذایی(Food born disease=FBD) ایجاد می‌کند.[٥] مسمومیت غذایی ایجاد شده توسط سالمونلا اغلب با اسهال، استفراغ، تب و گاهی وجود خون در مدفوع همراه می‌باشد.[٦] در سال ۱۹۸٦ در اروپای شرقی، سالمونلا به میزان ۸٤/۹٪ از عوامل ایجاد کننده FBD بود ولی در سال ۱۹۹۱، این میزان به ۹۵٪ رسید.[۷]

روشهای شناسایی سالمونلا به طور مستقیم از نمونه‌های اسهالی شامل دو نوع سنتی و مولکولی می‌باشد که روشهای جداسازی سنتی اغلب بر پایه کشت بر روی محیطهای اختصاصی و تشخیص کلونی‌های مشکوک توسط تستهای بیوشیمیایی و سرولوژی می‌باشند.[۸] این روشها بطور کلی وقت‌گیر هستند، بنابراین نیازمند یک روش سریع برای تشخیص جنس و انواع سروتیپ‌های سالمونلا از نمونه‌های کلینیکی و مواد غذایی می‌باشیم.[۹] روشهای مولکولی جداسازی این جنس براساس خصوصیات ژنوتیپی می‌باشند و به نظر می‌آید که بیش‌تر این روشها برای مطالعات ژنتیکی و تکاملی مناسب هستند.[۱۰] از تکنیک‌های مولکولی، انواع PCR (Polymerase chain reaction) را می‌توان نام برد که از این میان، ساده‌ترین تکنیک با سرعت بالا و هزینه کم، تکنیک PCR-Ribotyping است که براساس تکثیر قسمتی از توالی ژن 16S-23SrRNA می‌باشد.[۱۰] تکنیک PCR-Ribotyping جهت شناسایی سویه‌های سالمونلا کاربرد دارد.[۱۰] از تکنیک‌های مولکولی دیگر می‌توان PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-Restriction fragment length polymorphysm) و PCR-SSCP (Polymerase chain reaction-Single strand conformation polymorphysm) را نام برد که جهت بررسی موتاسیون‌ها از آنها استفاده می‌کنند.[۳]

به دلیل وقت‌گیر و پرهزینه‌بودن تکنیک‌های کشت و سروتیپ کردن، باید به دنبال روشی با هزینه کم و سرعت زیاد جهت شناسایی سویه‌های مورد نظر بود.[۹] هدف از این مطالعه، بررسی قدرت تکنیک PRC-Ribotyping در تمایز سروتیپ‌های سالمونلا است.

روش بررسی

مطالعه حاضر یک نوع مطالعه توصیفی می‌باشد که در آن به بررسی حساسیت، سرعت، قدرت تشخیص و سهل‌الوصول بودن تکنیک PCR-Ribotyping پرداخته شد. جهت آنالیز داده‌ها از آزمون آماری Chi-square و برنامه آماری NTSYS2 استفاده گردید.

نمونه‌های مورد استفاده در این مطالعه، سویه‌هایی می‌باشند که طی سالهای ۸۳-۱۳۸۰ از نمونه‌های اسهالی مناطق ورامین و کرج ارجاع شده به بخش نمونه‌گیری رفرانس مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، جدا شده بودند.

جداسازی سویه‌ها، طبق روشهای استاندارد شامل

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-23]

غنی‌سازی و سپس کشت بر روی محیطهای اختصاصی و شناسایی سروتیپ‌ها از طریق خصوصیات بیوشیمیایی و سرولوژی، انجام شده بود و سپس تمامی سویه‌ها در محیط TSB(Triptychase Soy Broth) با گلیسرول ۱۵٪ در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شده بودند.

برای انجام این مطالعه، ابتدا سویه‌های نگهداری شده در TSB، بر روی محیط کشت اختصاصی XLD(Xylose lysine desoxy colat) کشت داده شدند و سپس تمامی کلونی‌ها در ٤٠٠ ماکرولیتر بافر TE(Tris Etilen) (۱۰ میلی‌مولار تریس و یک میلی‌مولار اتیلن) با PH=۸ شستشو داده شدند و با ۳۰ ماکرولیتر لیزوزیم مخلوط گردیدند که در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت انکوبه شدند.

بعد از افزودن گلیسرول ۱۵٪ و یا ۱۵۰ ماکرولیتر سدیم دو دسیل سولفات (Sodium dodecyl sulfate=SDS) و ۱۵۰ ماکرولیتر پروتئیناز K، نمونه‌ها دوباره در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد تا زمانی که محلول شفاف شد، انکوبه شدند. DNA توسط ۷۵۰ ماکرولیتر محلول فنل ـ کلرفرم ـ ایزوآمیل الکل(۲۵:۲٤:۱) استخراج شد و توسط اتانول، ته‌نشین و جمع گردید؛ در نهایت DNA دوباره توسط محلول ۰/۵ ماکرولیتر TE شستشو داده شد و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا مورد استفاده واقع شود.[۱۱]

پرایمرهای اولیگونوکلئوتیدی P2 و P1 مورد استفاده در این مطالعه بر اساس قطعه‌ای از ژن 16S-23SrRNA(جدول شماره ۱) بود. توالی پرایمرها توسط Lagatolla و همکاران در سال ۱۹۹٦ طراحی شده بودند.[۱۰]

جدول شماره ۱- پرایمرهای مورد استفاده مربوط به ژن 16S-23SrRNA

نوع پرایمر	توالی('3 ⟵ '5)
P1	5'-CAA-GGC-ATC-CAC-CGT-GT-3'
P2	5'-GTG-AAG-TCG-TAA-CAA-GG-3'

P1، پرایمر رفت و P2، پرایمر برگشت می‌باشد.

PCR در حجم ۱۰۰ ماکرولیتر شامل ۵۰ میلی‌مولار کلرید پتاسیم، ۱۰ میلی‌مولار تریس اسید کلریدریک، ۲/۵ واحد آنزیم تک پلی‌مراز، ۰/۵ ماکرومولار از هر پرایمر، ۲۰۰ ماکرومولار دزوکسی نوکلئوتید تری فسفات و در حدود ۱۰۰ نانوگرم از DNA انجام شد. برنامه PCR براساس ۳۵ سیکل به مدت ۱ دقیقه در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام گردید.

نمونه کنترل منفی در این برنامه شامل تمامی مواد PCR بجز DNA باکتری بود. محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۸٪ با ولتاژ ۱۲۰ به مدت ۹۰ دقیقه، الکتروفورز و در نهایت با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند و عکس از ژل تهیه گردید. داده‌های بدست آمده با برنامه(SPSS(version 11.5 و آزمون آماری Chi-square و برنامه آماری NTSYS2 آنالیز شدند.

یافته‌ها

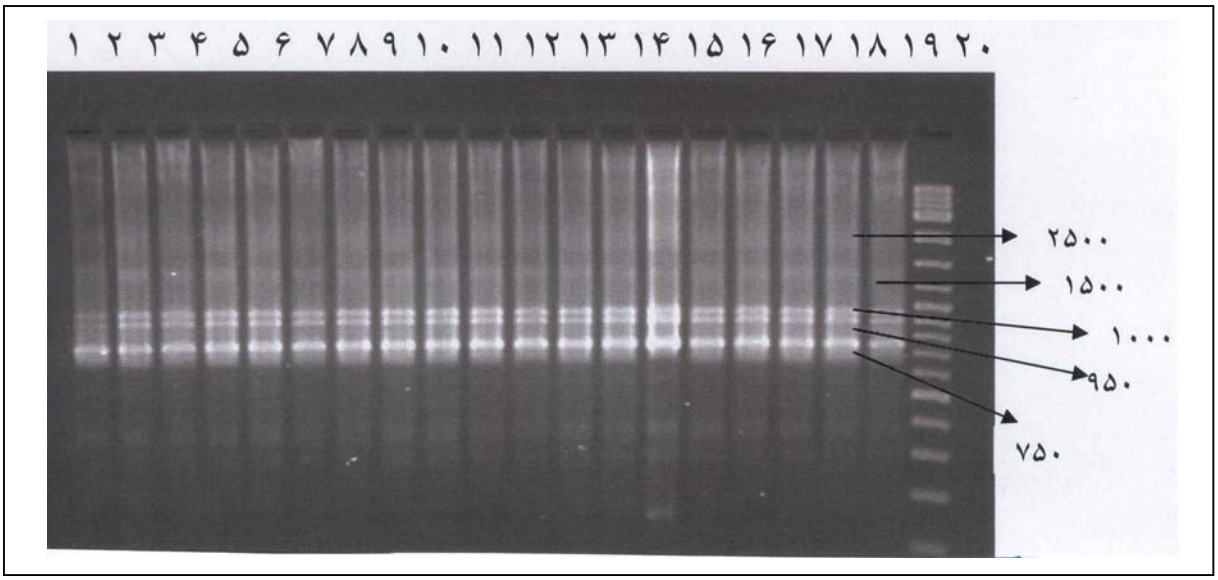
در این مطالعه ۱۱۵ سویه سالمونلا با ۵ نوع سروتیپ مختلف(جدول شماره ۲) توسط روش PCR-Ribotyping در رابطه با ژن 16S-23SrRNA مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول شماره ۲- سروتیپ‌های سالمونلا

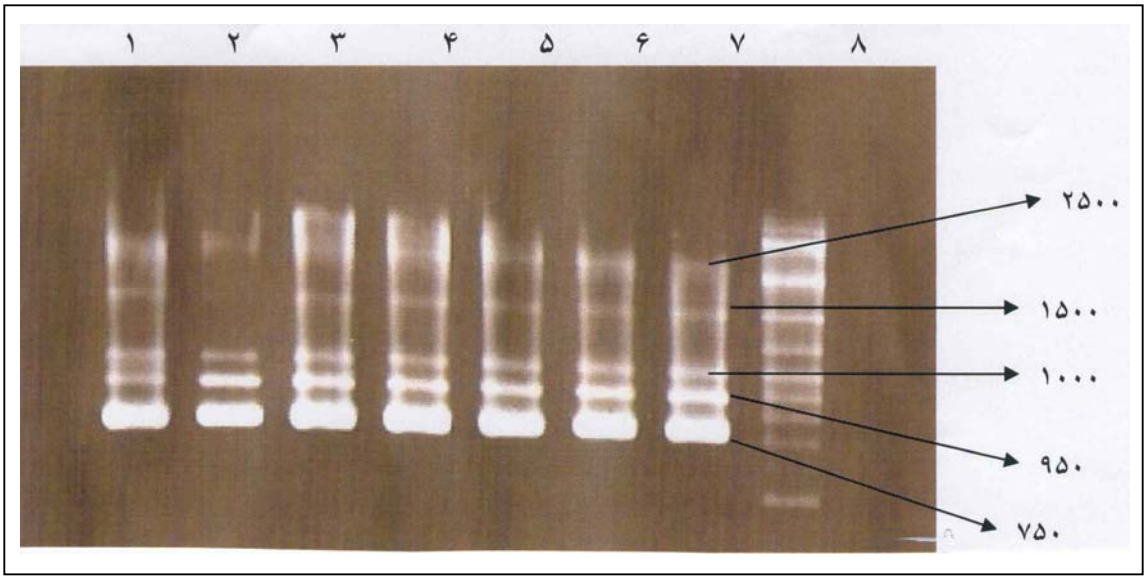
نوع سروتیپ	تعداد
سالمونلا پاراتیفی A	۱۰
سالمونلا پاراتیفی B	۹
سالمونلا پاراتیفی C	۱٦
سالمونلا پاراتیفی D	۵٦
سالمونلا تیفی	۲٤

آنالیز الکتروفورز محصولات PCR نشان داد که ۱۱۵ نمونه ۵ باند در محدوده ۲۵۰۰-۷۰۰ جفت باز(bp) داشتند (شکل شماره ۱و ۲). برخی از باندها ضعیف و برخی قوی بودند.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-23]



شکل شماره ۱- باندها شامل مناطق ۷۵۰bp، ۹۵۰bp، ۱۰۰۰bp، ۱۵۰۰bp و ۲۵۰۰bp. ۱: سالمونلا پاراتیفی A، ۲: سالمونلا پاراتیفی B، ۳: سالمونلا پاراتیفی C، ٤: سالمونلا تیفی، ٥: سالمونلا پاراتیفی D، ٦: سالمونلا پاراتیفی C، ۷: سالمونلا پاراتیفی B، ۸: سالمونلا پاراتیفی A، ۹-۱۹: سالمونلا تیفی، ۲۰: مارکر Ladder Mix



شکل شماره ۲- باندها شامل مناطق ۷۵۰bp، ۹۵۰bp، ۱۰۰۰bp، ۱۵۰۰bp و ۲۵۰۰bp. ۱: سالمونلا تیفی، ۲: سالمونلا پاراتیفی C، ۳: سالمونلا پاراتیفی A، ٤: سالمونلا پاراتیفی B، ٥: سالمونلا پاراتیفی D، ٦: سالمونلا پاراتیفی A، ۷: سالمونلا پاراتیفی C، ۸: مارکر Ladder Mix

باندهای ایجاد شده در ٥ نوع سروتیپ همگی مشابه هم بودند و در ماطق ۷۵۰، ۹۵۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۵۰۰ جفت‌باز قرار داشتند. همان گونه که در شکل شماره ۱و ۲ مشخص می‌باشد، باندهای ۷۵۰، ۹۵۰ و ۱۰۰۰، از نوع باندهای قوی و ۱۵۰۰ و ۲۵۰۰، از نوع باندهای ضعیف می‌باشند که ممکن است به علت ایجاد محصولات ثانویه در هنگام انجام PCR باشند.

آزمون Chi-square نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-23]

نوع سروتیپ و باندهای ایجاد شده در PCR-Ribotyping، در رابطه با نمونه‌های انسانی وجود ندارد(P=۰/۹۳).

بحث

دو ناحیه در توالی ژن 16S-23SrRNA قابل تشخیص است:

۱- ناحیه محافظت شده

۲- توالی نواحی داخلی به نام ISR(Intergenic spacer regions)[۱۰]

ژن 16S-23SrRNAبه میزان ۱۱-۲ کپی در کروموزوم اکثر باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به صورت محافظت شده وجود دارد.[۱۰] براساس اتصال پرایمر به توالی‌های این ژن و تکثیر آن و در نهایت بررسی باندهای ایجاد شده از روی عکس ژل الکتروفورز، می‌توان جنس‌های باکتری را طبقه‌بندی نمود.

تکنیک PCR-Ribotyping در شناسایی توالی‌های ژن 16S-23SrRNA، تعیین ارتباط بین جنس‌ها، تحقیقات اپیدمیولوژی و بررسی پلی‌مورفیسم یک ژن خاص، از سرعت و حساسیت زیادی برخوردار است.[۸] در مطالعات قبلی نشان داده شده است که این روش از قدرت تمایز بالایی در جهت تعیین سروتیپ برخوردار می‌باشد.[۸-۱۰]

در سال ۱۹۹۶ در کشور ایتالیا، Lagatolla و همکاران بر روی ۲۱۸ سویه سالمونلا با ۱۰ نوع سروتیپ مختلف، تکنیک PCR-Ribotyping را با پرایمرهای P2 و P1 انجام دادند که نتایج به صورت ۸-٤ باند در محدوده ۱۱۰۰-۷۰۰ جفت‌باز بود. نکته قابل توجه این بود که هر سروتیپ، باند مخصوص به خود را داشت و سروتیپ‌های مختلف، باندهای متفاوتی داشتند. با توجه به اینکه سروتیپ‌های مختلف سالمونلا، باندهای متفاوتی داشتند و یک نوع باند بخصوص در تمامی سروتیپ‌ها دیده نشد، آنها اعلام کردند که تکنیک PCR-Ribotyping، توانایی شناسایی سویه‌های سالمونلا را در حد سروتیپ کردن نیز خواهد داشت.[۱۰]

در سال ۲۰۰۰ در کشور فرانسه Baudart و همکاران توسط تکنیک PCR-Ribotyping بر روی ٥٧٤ سویه سالمونلا با سروتیپ‌های متفاوت نشان دادند که ۱٦-۲ باند در مناطق ۲۰۰۰-۳۷۰ جفت‌باز دیده می‌شود و سروتیپ‌های مختلف، شباهت بسیار کمی در نوع باندها با هم داشتند.[۸]

در سال ۲۰۰۵ در کشور کره با انجام تکنیک PCR-Ribotyping بر روی ٥٧ سویه سالمونلا متوجه شدند که تمامی سویه‌ها دارای ٤ باند مشابه در منطقه ۲۰۰۰-٦۰۰ جفت‌باز بودند و سروتیپ‌های متفاوت، باندهای دقیقاً مشابه و یکسانی را داشتند.[۹] با توجه به شیوع سالمونلا در فصل تابستان به دلیل فاسد شدن مواد غذایی، تنها محدودیت مطالعه حاضر، مشکلات موجود در جداسازی سویه‌های سالمونلا از نمونه‌های انسانی بود.

نتیجه‌گیری

با توجه به مطالعات انجام شده و نتایج بدست آمده در این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که باندهای ایجاد شده در ۷٥۰، ۹٥۰، ۱۰۰۰، ۱٥۰۰ و ۲٥۰۰ در تمامی سویه‌های سالمونلای جدا شده از مناطق مختلف و با منشاءهای متفاوت، یکسان می‌باشد و در همه وجود دارد. لذا با توجه به نتایج بدست آمده و مطالعات پیشینیان، در مقایسه با روشهای سنتی کشت، تکنیک PCR-Ribotyping، از حساسیت و سرعت بالا و هزینه کم جهت شناسایی و جداسازی سویه‌های سالمونلا برخوردار است، ولی در جهت افتراق سروتیپ‌ها از هم، قدرت تمایز کافی و لازم را ندارد. در صورت نیاز به افتراق سروتیپ‌ها از هم، باید از تکنیک دیگر(با قدرت تمایز بالاتر) استفاده نمود. زیرا هیچ نوع اختلافی در بین باندها در سروتیپ‌های مختلف وجود نداشت تا بتوان نتیجه گرفت که هر سروتیپ، باند مخصوص به خود را دارد. به دلیل وقت‌گیر و پرهزینه بودن روشهای کشت و سروتیپ‌کردن، باید به دنبال تکنیکی با حساسیت بالا جهت جایگزین کردن این روشها بود که البته تکنیک PCR-Ribotyping فقط توانایی جایگزین شدن روش کشت را دارد؛ توسط این تکنیک و با پرایمرهای P2 و P1 فقط می‌توان جنس سالمونلا را به طور مستقیم جدا کرد ولی نوع سروتیپ را نمی‌توان تعیین نمود.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-23]

تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی در قالب طرح تحقیقاتی(شماره ثبت: ۳۵۰) انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولین آن مرکز ابراز می‌دارند.

فهرست منابع

1- Ryan K. Sherris medical microbiology. 4th ed. McGraw-Hill: New York: 2006. p. 343-73.

2- Gupte S. The short textbook of medical microbiology. 9th ed. Jaypee: India; 2006. p. 218-32.

3- Alverez J, Sota M, Vivanco A, Perales I, Cisterna R, Rementeria A. Development of a Multiplex PCR technique for detection and epidemiological typing of salmonella in human clinical samples. Journal of clinical microbiology 2004; 42: 1738-42.

4- Radkowski M. Occurrence of Salmonella spp. In consumption eggs in Poland. Int J F 2000; 64: 18.

5- Liebana E, Garcia-Migura L, Clouting C, Cassar A, Clifton-Hadley F, Lindsay E. Investigation of the genetic diversity among isolates of salmonella enterica serovar Dublin from animals and humans from England. Journal of Applied Microbiology 2002; 93: 732-44.

6- Molla B, Alemayehu D, Salah W. Sources and distribution of salmonella serotypes isolated from food animals, slaughterhouse personnel and retail meat products in Ethiopia. Ethip J Health Dev 2002; 17: 63-70.

7- Telo A, Bijo B, Sulaj K, Beli E. Occurrence of salmonella spp. In imported eggs into Albani. International Int J F 1999; 49: 169-71.

8- Baudart J, Lemarchand K, Brisabois A, Lebarone P. Diversity of salmonella strains isolated from the aquatic environment as determined by serotyping and amplification of the ribosomal DNA spacer regions. Applied and Environmental Microbiology 2000; 66: 1544-52.

9- Hynugkun L, Lebarone P, Salah W. Comparison of four molecular typing methods for the differentiation of salmonella spp. International Journal of Food Microbiology 2005; 29: 5320-6.

10- Lagatolla C, Dolzani L, Tonin E, Lavenia A, Di Michele M, Tommasini T. PCR Ribotyping for characterizing salmonella isolates of different serotypes. Journal of Clinical Microbiology 1996; 34: 2440-3.

11- Dubey R. Practical Microbiology. 3rd ed. New York: S.Chand & Company LTD; 2005. p. 203-9.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-23]

Discrimination of Salmonella Serotypes Isolated from Children Aged Less than 15yr. with Diarrhea by PCR-Ribotyping

***N. Mehrvar, MSc** [I] **A. Akhavan Sepehi, PhD** [II] **A. Mehrvar, MD** [III]
M. Azimi Rad, LT [IV] **R. Edalat, MSc** [V] **F. Jaffari, BSc** [VI] **M. Sanaee, MSc** [VII]
K. Mirsaeedi, BSc [VIII] **M.R. Zali, MD** [IX]

Abstract

Background & Aim: Salmonella is the most important pathogenic microorganism causing food borne disease and diarrhea in humans. It could present as diarrhea, fever, vomiting and sometimes bloody diarrhea. Because of its' importance as one of the pathogens, it is essential to identify and characterize its serotypes by molecular methods. The aim of this study was to characterize PCR-Ribotyping technique for identification of salmonella serotypes in stool samples.

Material and Methods: In this study our samples were salmonella strains isolated from 115 stools of children with diarrhea. After serotyping, their DNA was extracted with phenol/chloroform method. We performed the PCR-Ribotyping method with P1, P2 primers for 16S-23SrRNA gene. Finally PCR-products were electrophoresed on 1.8% agarose gel. After Ethidium Bromide staining we analysed it. Data were analyzed by SPSS 11.5, Chi-Square test and NTSYS2.

Results: One hundred and fifteen strains contained paratyphi A, B, C, D and serotype typhi. All of the serotypes had similar 5 bands ranging 700 to 2500bp.

Conclusion: According to the results we conclude that PCR-Ribotyping method has the highest sensitivity for identification of genus salmonella but it does not have enough power to discriminate between various salmonella serotypes.

Key Words: **1) Molecular Methods** **2) Discrimination Power** **3) Salmonella** **4) Serotype**

***I*)** *MSc in Microbiology, Partovi Alley, Darband St., Qods Sq., Azad Islamic University(North Tehran branch) Tehran, Iran.(*Corresponding Author)*
***II*)** *Assistant Professor of Microbiology, Azad Islamic University, North Tehran branch, Tehran, Iran.*
***III*)** *Assistant Professor of Pediatric Hematology and Oncology, Army University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*
***IV*)** *Laboratory technician, Research center for gastroenterology and liver diseases, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.*
***V*)** *MSc in Virology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.*
***VI*)** *BSc in Microbiology, Research center for gastroenterology and liver diseases, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.*
***VII*)** *MSc in Microbiology, Research center for gastroenterology and liver diseases, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.*
***VIII*)** *BSc in Microbiology, Zafar st., Hazrat Ali Asghar Hospital, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.*
***IX*)** *Professor of Gastroenterology and Hepatology, Research center for gastroenterology and liver disease, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-23]