مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/دوره هجدهم /تابستان ۱۳۹۲/۸۵-۷۷

تایپینگ مولکولی سویه های سالمونلا انتریتیدیس جمع آوری شده از چند مرکز آزمایشگاهی شهر تهران با استفاده از روش ERIC-PCR

رضا رنجبر[1]، رضا ترابی[2]، امیر میزرایی[2]

۱. مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران. (مولف مسئول)، ۰۲۱-۸۲۴۸۲۵۵۶، ranjbarre@gmail.com

۲. مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: سالمونلا انتریکا زیرگونه انتریکا سروتایپ انتریتیدیس یکی از رایج ترین سروتایپ هایی است که باعث گاستروانتریت و باکتریمی در انسان می شود. هدف از انجام این مطالعه، تایپینگ مولکولی سویه های سالمونلا انتریتیدیس جمع‌آوری شده از چند مرکز آزمایشگاهی شهر تهران با استفاده از روش ERIC-PCR بود.

روش بررسی: در یک مطالعه توصیفی از سال ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۸، سویه های سالمونلا انتریکا سروتایپ انتریتیدیس از بیمارانی که به چند بیمارستان شهر تهران مراجعه کرده بودند، جداسازی شد. شناسایی سویه‌های سالمونلا با استفاده از روش های استاندارد میکروبیولوژی و اسلاید آگلوتیناسیون با آنتی سرم‌های مونو و پلی والان انجام شد و سرانجام تایپینگ مولکولی سویه‌ها و ارتباطات ژنتیکی آنها با استفاده از روش ERIC-PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج بدست آمده حاکی از آن بود که تمام ایزوله‌های مورد بررسی با روش ERIC-PCR قابل تایپ بندی بودند. تعداد باندهای ایجاد شده در هر سروتایپ بین ۶ تا ۱۷ باند با وزن مولکولی ۲۰۰ تا ۳۲۰۰ جفت باز متفاوت بود. بر این اساس بطور کلی ۹ الگوی مختلف (E1-E9) بدست آمد که بیشترین تعداد (۳۵٪)، با داشتن الگوی مشابه در گروه اول (E1) قرار گرفتند.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که شایع ترین سروتایپ سالمونلا در شهر تهران، انتریتیدیس بوده و سویه‌ها به دستجات مختلف ژنوتایپی مبتنی بر ERIC-PCR تعلق دارند.

واژگان کلیدی: سالمونلا انتریتیدیس، ژنوتایپینگ، ERIC-PCR

وصول مقاله: ۹۰/۱۱/۱۹ اصلاحیه نهایی: ۹۱/۵/۱۱ پذیرش: ۹۱/۱۲/۲۰

مقدمه

باکتری سالمونلا یکی از معمول ترین پاتوژن های منتقله از راه مواد غذایی است که در سرتاسر جهان در انسان و حیوان ایجاد بیماری می‌کند. محصولات گوشتی آلوده، منبع اصلی سالمونلا معرفی شده اند و به گزارش سازمان بهداشت جهانی، سالیانه بالغ بر ۱۶ تا ۳۳ میلیون مورد بیمار و ۵۰۰ تا ۶۰۰ هزار مرگ ناشی از سالمونلا اتفاق می افتد که این مسئله به عنوان یک معضل بزرگ بهداشتی در کشورهای در حال توسعه از جمله کشور ما مطرح می باشد (۳-۱). همچنین بر اساس گزارش این سازمان، از سال ۱۹۹۰ یکی از شایع‌ترین سروتایپ‌هایی از سالمونلا که باعث گاستروانتریت انسانی و باکتریمی می شوند، سالمونلا انتریکا زیرگونه انتریکا سروار انتریتیدیس می باشد (۵و۴). برای کنترل و نظارت اپیدمیولوژیک موثر و به منظور شناسایی منابع بالقوه عفونت سروتایپ‌های سالمونلا، به تایپینگ دقیق سویه‌ها نیاز می‌باشد. بطور معمول روش‌های فنوتیپی مختلفی مانند سروتایپینگ، فاژتایپینگ در مطالعات اپیدمیولوژیک گونه‌های سالمونلا بکار می روند اما به دلیل وقت گیر بودن و هزینه زیاد، سروتایپینگ و فاژتایپینگ روش‌های مناسبی برای ردیابی منبع عفونت ناشی از سالمونلا نمی‌باشند

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-14]

(۶) به همین دلیل روش‌های تایپینگ دیگری برای تمایز سویه های متعلق به یک سروتایپ و فاژ تایپ نیاز است.
امروزه محققان از روش‌های مولکولی مختلفی مانند RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) (۷) و پروب برای توالی الحاقی IS200 (۸) و اپران rrn (۹)، AP PCR (arbitrary primers- PCR) (۱۱و۱۰)، ریبوتایپینگ (۱۲)، تعیین پروفایل پلاسمیدی (۱۳)، RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (۱۵و۱۴)، ERIC PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Sequence PCR) (۱۶)، PFGE (Pulse Field Gel Electerophoresis) (۱۸و۱۷) و غیره برای تایپینگ گونه های باکتریایی بیماریزا استفاده نموده‌اند. همه این روش‌ها برای بررسی اپیدمیولوژیک و تایپینگ مولکولی سروارهای سالمونلا مفید می‌باشند ولی برای انتخاب نوع روش تایپینگ مشخصه‌هایی مانند سرعت روش، آسانی و توانایی تمایز دهندگی آن روش باید در نظر گرفته شود. امروزه روش PFGE بطور رایج برای ژنوتایپینگ گونه‌های سالمونلا انجام می‌گیرد اما به مقادیر زیادی از DNA نیاز دارد و پرهزینه و وقت گیر است (۱۹). اما تایپینگ بر اساس روش ERIC-PCR سریع‌تر بوده و دارای قدرت تمایزی مناسبی است و در هر آزمایشگاهی که دارای قابلیت انجام روش PCR است قابل انجام می باشد (۲۰).
توالی‌های ERIC در واقع توالی‌های 124-127bp و واجد یک ناحیه معکوس تکرار شونده مرکزی حفاظت شده هستند که به شکل خارج ژنی در ژنوم باکتری‌های روده‌ای موجود بوده و پرایمرهای مورد استفاده در ERIC-PCR مکمل این توالی ها هستند و برای ژنوتایپینگ باکتری‌های گرم منفی روده‌ای مانند گونه‌های سالمونلا بکار می رود. هدف از انجام این مطالعه، تایپینگ مولکولی سویه‌های سالمونلا انتریتیدیس جمع آوری شده از چند مرکز آزمایشگاهی شهر تهران با استفاده از روش ERIC-PCR بود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی از سال ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۸، سویه‌های سالمونلا انتریکا سروتایپ انتریتیدیس از ۶۵۰ نمونه بالینی مدفوع و خون بیماران مشکوک به عفونت سالمونلا که به بیمارستان های بقیه الله (عج)، مرکز طبی کودکان و برخی از آزمایشگاهای سطح شهر مراجعه کرده بودند، اخذ شد. نمونه های مدفوع بیماران بلافاصله پس از نمونه گیری به محیط کشت سلنیت F منتقل می‌گردید. نمونه ها به مدت ۶ ساعت در این محیط نگهداری می‌شدند و سپس به محیط‌های کشت انتخابی مانند سالمونلا- شیگلا (SS) آگار انتقال یافته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شدند. نمونه‌های خون نیز ابتدا در محیط‌های دی فازیک کشت داده شده و سپس به محیط‌های انتخابی انتقال داده می شدند. در روز بعد، کلنی‌های مشکوک به سالمونلا جداسازی و توسط تست‌های بیوشیمیایی استاندارد نظیر انتقال بر روی محیط Triple sugar iron (TSI) agar، اوره، سیمون سیترات آگار و MRVP مورد شناسایی قرار می‌گرفتند. پس از انجام آزمون‌های افتراقی، تست سروتایپینگ با استفاده از آنتی سرم O و H بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده (Staten Serum Institut, Copenhagen, Denmark) بر پایه اسلاید آگلوتیناسیون انجام گرفت.

استخراج DNA

استخراج DNA به روش فنل-کلروفرم انجام گرفت (۲۱)، بطور خلاصه، بعد از کشت ۲۴ ساعته نمونه‌های خالص شده سالمونلا بر روی محیط کشت Luria broth، از سوسپانسیون باکتریایی رسوب تهیه شد و به رسوب موجود

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-14]

۶۲۰ میکرولیتر بافر لیز، ۱۳ میکرولیتر SDS 20% و ۳ میکرولیتر پروتئیناز K (20 mg/ml) اضافه شد و این سوسپانسیون در دمای ۶۰ درجه به مدت یک ساعت انکوبه گردید. در مرحله بعد از محلول فنل-کلروفرم-آیزوآمیل الکل با نسبت ۱-۲۴-۲۵ برای جداسازی پروتئین ها استفاده شد و در مرحله پایانی برای خالص سازی DNA، به فاز رویی محلول اتانل سرد ۹۰ و ۷۰ درصد افزوده شد و DNA خالص شده را در ۱۰۰-۵۰ میکرولیتر آب مقطر حل گردید. همچنین برای تعیین غلظت و خلوص DNA، بررسی باند از روی الکتروفورز بر روی ژل و تعیین نسبت جذب OD260/OD280 توسط اسپکتروفتومتر انجام شد.

انجام روش ERIC-PCR

برای انجام این روش، نمونه های DNA متعلق به سویه‌های مختلف با استفاده از پرایمرهای ERIC1R 5′-ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC-3′ and ERIC2 5′-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3′ تکثیر داده شدند (۲۲). آزمایش PCR توسط ترموسایکلر اپندورف و در یک حجم ۲۰ میکرولیتری که شامل ۱۲ میکرولیتر آب دیونیزه، ۲ میکرولیتر از بافر 10x PCR، یک میکرولیتر از 50 mM $MgCl_2$، یک میکرولیتر از 10 mM dNTPs، یک میکرولیتر از هر پرایمر دارای غلظت 20 pmol، یک میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase و یک میکرولیتر DNA مورد نظر انجام شد. اطلاعات کامل در مورد نحوه انجام ERIC-PCR در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: نحوه انجام واکنش **ERIC-PCR**

شرایط / مراحل	دما (سلسیوس)	زمان (دقیقه)	تعداد چرخه
واسرشت سازی اولیه	۹۴	۴	۱
واسرشت سازی	۹۴	۱	۳۵
متصل شدن پرایمرها	۵۲	۱	۳۵
طویل سازی پرایمرها	۶۵	۸	۳۵
طویل سازی نهایی	۶۵	۱۵	۱

محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد با ولتاژ ۷۰ به مدت یک ساعت الکتروفورز شدند و در نهایت از روی ژل عکسبرداری شد. مقایسه الگوهای ERIC-PCR، با رویت و محاسبه نحوه قرارگیری آنها در ژل بر اساس وزن مولکولی آنها و مقایسه با مارکر مولکولی و شمارش باندها جهت هر نمونه صورت گرفت. مقایسه الگوهای ERIC-PCR در پایگاه اینترنتی Insilico.ehu.es انجام گرفت، بدین صورت که یک ماتریکس صفر و یک به منظور وجود یا عدم وجود باند تهیه شد و در پایگاه اینترنتی ثبت شد و اساس محاسبه الگوهای ژنتیکی توسط پایگاه اینترنتی، مشاهده نحوه قرارگیری آنها در ژل بر اساس وزن مولکولی آنها و مقایسه با مارکر مولکولی و شمارش باندها جهت هر نمونه بود. قدرت تمایزی روش ERIC-PCR توسط معادله Simpson's Index of Diversity انجام گرفت که به ترتیب زیر است:

$$D = 1 - \frac{1}{N(N-1)} \sum_{j=1}^{S} n_j(n_j - 1)$$

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-14]

که N تعداد کل سویه های مورد مطالعه جهت روش ERIC-PCR، S تعداد تیپ های ژنتیکی محاسبه شده، n_j تعداد سویه های متعلق به تیپ jاست.

یافته ها

از مجموع کل سروارهای جداشده، ۵۷ ایزوله، مربوط به سالمونلا انتریکا زیرگونه انتریکا سروار انتریتیدیس بود و بدین ترتیب شایع ترین سروتیپ، سالمونلا انتریتیدیس با فراوانی ۴۱/۳٪ بود، لذا سویه های این سروتایپ انتخاب و مورد بررسی بیشتری قرار گرفت. پس از انجام کلیه مراحل ERIC-PCR و تهیه عکس از الگوهای الکتروفورزی این سروتایپ و مقایسه هر کدام از الگوها بصورت تک تک با هم، نتایج بدست آمده حاکی از آن بود که تمام ایزوله ها با این روش قابل تایپ بندی بودند. تعداد باندهای ایجاد شده در ERIC-PCR هر سروتایپ، بین ۶ تا ۱۷ باند با وزن مولکولی ۲۰۰bp تا ۳۲۰۰ bp بود و بیشترین تعداد (۲۰ ایزوله)، با داشتن الگوی مشابه در گروه اول (E1) قرار گرفتند. در گروه دوم (E2) تعداد ۱۶ ایزوله، در گروه سوم (E3) ۱۰ ایزوله، در گروه چهارم (E4) ۴ ایزوله، در گروه پنجم (E5) ۲ ایزوله، درگروه ششم (E6) نیز ۲ ایزوله و در گروه‌های هفتم تا نهم (E7-E9) نیز هر کدام یک ایزوله جای گرفتند. جدول ۲ مشخصات سویه ها و شکل ۱ دستجات (Clusters) ایجاد شده از ERIC-PCR سویه‌های سالمونلا انتریتیدیس را نشان می دهد.

با توجه به اطلاعات مندرج در جدول ۲ و تعداد تیپ‌های ژنتیکی بدست آمده، قدرت تمایزی روش ERIC-PCR، ۰/۷۷ محاسبه شد.

جدول:۲ مشخصات ایزوله های سالمونلا انتریتیدیس.

شماره سویه	محل جداسازی	نوع نمونه	الگوی ERIC-PCR	شماره سویه	محل جداسازی	نوع نمونه	الگوی ERIC-PCR	شماره سویه	محل جداسازی	نوع نمونه	الگوی ERIC-PCR
۲٤	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۸۷	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۱۲۸	B	خون	E2
۲۹	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۸۸	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۱۲۹	B	مدفوع	E2
۳۲	بقیه الله	مدفوع	E1	۸۹	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E8	۱۳۰	بقیه الله	خون	E2
۳۳	بقیه الله	مدفوع	E1	۹۲	بقیه الله	مدفوع	E1	۱۳۱	بقیه الله	خون	E2
٤٦	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۹۳	بقیه الله	مدفوع	E1	۱۳۲	بقیه الله	خون	E2
٤۹	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E5	۹٤	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۱۳۳	بقیه الله	مدفوع	E4
۵۱	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۹۵	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۱۳٤	بقیه الله	خون	E1
۵۳	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۱۰۰	بقیه الله	مدفوع	E1	۱۳٦	مرکز طبی کودکان	خون	E4
۵٤	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E5	۱۰۱	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E2	۱۳۷	مرکز طبی کودکان	خون	E3
۵۵	بقیه الله	خون	E1	۱۰۲	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E2	۱٤٤	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E3
۵۸	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E7	۱۰۹	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E2	۱۵۰	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E3
٦۰	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E6	۱۱۰	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E2	۱۵۲	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E3
٦۱	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۱۱۵	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E2	۱۵۳	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E3
٦۲	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۱۱۸	بقیه الله	مدفوع	E4	۱۵٤	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E3
٦۵	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۱۱۹	بقیه الله	مدفوع	E2	۱۵۵	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E3
٦٦	بقیه الله	مدفوع	E1	۱۲۲	بقیه الله	خون	E2	۱۵٦	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E9
٦۹	مرکز طبی کودکان	خون	E4	۱۲۳	بقیه الله	مفصل	E2	۱۵۷	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E3
۷۵	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E1	۱۲٤	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E2	۱۵۹	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E3
۷٦	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E4	۱۲۵	مرکز طبی کودکان	خون	E4	۱٦۰	مرکز طبی کودکان	مدفوع	E3

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-14]

بحث

در این مطالعه از بین انواع سویه های سالمونلا، فراوانی سروتایپ انتریتیدیس در بین نمونه های بالینی بیماران مراجعه کننده به چند مرکز درمانی، ۴۱/۳٪ گزارش شد که نشان دهنده شیوع بالای این سروتایپ در شهر تهران است. فراوانی بالای سروتایپ انتریتیدیس در مطالعات قبلی نیز در آسیا، اروپا و آمریکای لاتین نیز گزارش شده است (۲۵-۲۳). بطور معمول مطالعات تشخیصی و اپیدمیولوژیک سویه‌های سالمونلا توسط تست های سرولوژیک انجام می‌شوند ولی چون نتایج حاصل از این تست ها اطلاعات محدودی در مورد سویه های باکتریایی می دهد بنابراین به تکنیک های مولکولی در مطالعات اپیدمیولوژیکی نیاز است (۲۶).

در این مطالعه ۵۷ سویه سالمونلا انتریتیدیس توسط روش ERIC-PCR مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که روش ERIC-PCR می تواند ایزوله های سالمونلا انتریکا را بخوبی تمایز دهد، چرا که تمام ایزوله ها با این روش قابل تایپ بندی بودند بطوریکه این روش سویه ها را به ۹ الگوی متفاوت تقسیم بندی نمود. در این مطالعه مشاهده شد که برخی سویه هایی با الگوهای یکسان ERIC-PCR ، در بیمارستان های مختلف یافت شدند که نشان دهنده انتقال گسترده باکتری در بین بیمارستان ها است. انتقال باکتری می‌تواند از طریق وسایل و پرسنل بیمارستانی و اشخاص دیگری که با بیماران در تماس بوده اند صورت پذیرد.

روش ERIC-PCR در مطالعات قبلی برای تایپینگ مولکولی ایزوله‌های سالمونلا مورد استفاده قرار گرفته است، بطوریکه Lim و همکارانش در کره جنوبی، تعداد ۵۷ سویه سالمونلا با روش ERIC-PCR تایپینگ مولکولی شد و ۵۰ الگوی ERIC-PCR یافت شد و تعداد ۱۱-۶ باند با اندازه مولکولی ۲۰۰ تا ۱۲۰۰ جفت باز مشاهده شد و نشان دادند که روش ERIC-PCR برای مطالعات اپیدمیولوژیکی سویه ها مفید است (۲۷). همچنین Oliviera و همکارانش در سال ۲۰۰۷، تعداد ۱۰۲ سویه از سالمونلا انتریتیدیس را با روش ERIC-PCR مورد مطالعه قرار دادند و نتایج این مطالعه نشان داد که با استفاده از روش ERIC-PCR سویه ها دارای ۳ الگوی ژنتیکی هستند و اندازه باندهای ERIC-PCR بین 190bp تا 1430bp بود و تعداد باندها بین ۱۲ تا ۱۳ تا بود (۲۸).

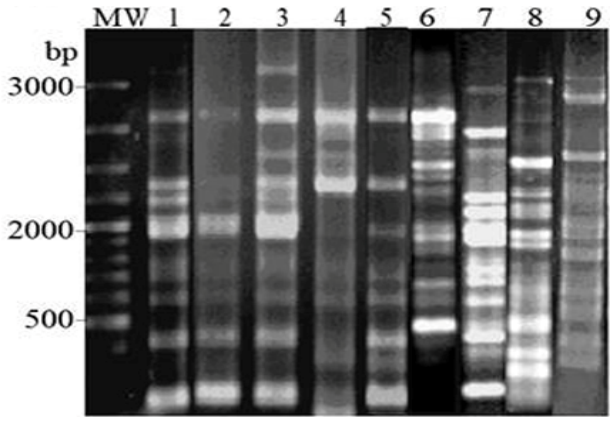
Sexana و همکارانش در هند، ۲۴ ایزوله از سروارهای سالمونلا را با روش ERIC-PCR مورد تمایز قرار دادند و ۲۱ تیپ ژنتیکی بدست آمد و نتایج نشان داد که این روش قادر است واریانت‌های ژنتیکی مختلفی را در سالمونلا تایفی موریوم از هم تمایز دهد (۲۹). در مطالعه دیگر Malalena و هم کارانش در سال ۲۰۰۶ در پرتغال ۶۹ سویه از سالمونلا را با روش ERIC-PCR مورد مطالعه تایپینگ مولکولی قرار دادند و نشان دادند که این روش کاربردی می باشد (۲۰).

همچنین ارزیابی قدرت تمایزی روش ERIC-PCR در مطالعات قبلی نیز مورد محاسبه قرار گرفته است. در مطالعه حاضر قدرت تایپینگ روش ERIC-PCR، ۰/۷۷ محاسبه شد، بطوریکه در مطالعه Gopal و همکارانش در سال ۲۰۱۰ در هند، تعداد ۱۱۳ سویه سالمونلا را مورد مطالعه قرار دادند و از این تعداد، بصورت تصادفی ۸۹ و ۳۳ سویه را به ترتیب با روش ERIC-PCR و RAPD مورد ژنوتایپینگ مولکولی قرار دادند و قدرت تمایزی این روش‌ها را به ترتیب ۰/۷۰ و ۰/۸۹ محاسبه کردند که این اعداد نزدیک به عدد محاسبه شده در این مطالعه می باشد و هر چقدر این عدد به عدد ۱ نزدیک تر باشد، نشان دهنده میزان بالای قدرت تمایزی روش تایپینگ می باشد (۳۰). هم چنین در مطالعه Soria و همکارانش در اسپانیا تعداد ۴۳ سویه از سالمونلا را با روش Ribotyping مورد ژنوتایپینگ مولکولی قرار دادند و قدرت تمایزی این روش را ۰/۴۴ تا ۰/۵۵ گزارش نمودند. بنابراین با توجه به هزینه،

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-14]

وقت و قابلیت دسترس بودن روش، تکرار پذیری و مقایسه قدرت تمایزی، روش ERIC-PCR روش مناسبی جهت ژنوتایپینگ مولکولی سویه های سالمونلا می باشد (۳۱).

همچنین یکی از مهم ترین مزیت های روش ERIC-PCR این است که به راحتی در هر آزمایشگاهی که دارای تجهیزات PCR است، قابل انجام است. سرعت بالا از دیگر ویژگی‌های آن می باشد ولی این روش دید کاملی از ارتباطات ژنتیکی سویه ها را فراهم نمی کند. در مطالعه حاضر با استفاده از پرایمر ERIC، سویه های سالمونلا انتریتیدیس دارای الگوهای ERIC متفاوتی بودند که نشان دهنده این است که سویه های سالمونلا انتریتیدیس در تهران دارای گوناگونی ژنتیکی هستند و این سویه ها از کلون های متفاوتی نشات گرفته اند و وجود کلون های متفاوت امکان پیدایش سویه های جدید و چرخش آنها بین انسان، محیط و حیوانات را فراهم می آورد، بنابراین شناسایی سویه ها و منشا عفونت به لحاظ پیش بینی روش های بهداشتی به منظور کنترل و محدود کردن آنها لازم و ضروری است، در صورتی که در مطالعه ای که توسط صانعی و همکارانش در سال ۱۳۸۷ و در شهر تهران بر روی ۳۰ ایزوله جدا شده سالمونلا اینتریتیدیس صورت گرفت، از دو پرایمر ERIC و 5(GTG) استفاده شد و نتایج ERIC-PCR، ایزوله‌های موجود را در دو گروه بزرگ با درصد تشابه ۹۵ درصدی قرار داد. نتیجه نهایی در آن مطالعه نشان دهنده آن بود که منشا تمام سویه ها از یک کلون واحد یا کلون های محدود بسیار محتمل می باشد (۳۲) و این نشان دهنده افزایش تعداد کلون ها در شهر تهران و هشداری برای پیدایش سویه های جدیدتر در محیط بین انسان و حیوانات می باشد.



شکل۱. الگوهای مختلف حاصل از ERIC-PCR سویه های سالمونلا انتریتیدیس بر روی ژل آگارز ۱٪ و رنگ آمیزی شده با اتیدیوم بروماید. ستون MW مارکر مولکولی 100bp، ستون های ۱ تا ۹ سویه های نماینده ۹ الگوی مختلف بر پایه محصولات ERIC-PCR.

نتیجه گیری

در این مطالعه شایع ترین سروتایپ سالمونلا در شهر تهران، انتریتیدیس بوده و سویه های در گردش این سروتایپ در این شهر به دستجات مختلف ژنوتایپی مبتنی بر ERIC-PCR تعلق دارند. همچنین این مطالعه نشان داد که روش ERIC-PCR برای تمایز سویه های سالمونلا انتریتیدیس ارزشمند بوده و جهت مطالعات اپیدمیولوژیک، کاربردی بوده و بکارگیری آن پیشنهاد می شود.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-14]

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از یکی از طرح های تحقیقاتی انجام شده در مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله می باشد. بدینوسیله نویسندگان این مقاله از همکاران محترم آزمایشگاه بیولوژی مولکولی، جناب آقای دکتر هاشمی مدنی، سرکار خانم سفیری و خانم پورعلی کمال تشکر و قدر دانی را دارند.

Reference

1.Ranjbar R, Giammanco GM, Farshad S, Owlia P, Aleo A, Mammina C. Serotypes, antibiotic resistance, and class 1 integrons in Salmonella isolates from pediatric cases of enteritis in Tehran, Iran. Foodborne Pathog Dis 2011;8: 547-553.

2. Karami A, Ranjbar R, Z Ahmadi, Z Safiri. Rapid detection of different serovares of Salmonella entrica by multiplex PCR. Iranian J Publ Health 2007;36:38-42.

3. Ranjbar R, Salimkhani E, Sadeghifard N, Zaeimi Yazdi J, Morovvati S, Jonaidi N and et al. An outbreak of gastroenteritis of unknown origin in Tehran, July 2003. Pak J Biol Sci 2007;10: 1138-40.

4. Patrick M E, Adcock P M, Gomez T M, Altekruse S F, Holland BH, Tauxe RV Swerdlow,and et al. Salmonella enteritids infection, United States, 1985-1999. Emerg Infect Dis 2004;10: 1-7.

5. Usera M A, Popovic T, Bopp C A and Strockbine N A. Molecular subtyping of Salmonella enteritidis phage type 8 strains from the United States. J Clin Microbiol 1994;32:194-198.

6. Torpdahl M, Skov MN, Sandvang D ta 6 nafar neveshteh shavad baad et al. Genotypic characterization of Salmonella by multilocus sequence typing pulsed field gel electrophoresis and amplification fragment length polymorphism. J Microbiol Methods 2005; 63:173–184

7. Us E, Erdem B, Tekeli A, Gerçeker D, Saran B, Bayramova M, and et al. Investigation of Salmonella serotype enteritidis isolates by plasmid profile analysis and pulsed field gel electrophoresis. Mikrobiol Bul 2011;45:210-27.

8. Tompkins LS, Troup N, Labaigne-Roussel A,Cohen M. Cloned random chromosomal sequences as probes to identify Salmonella species. J Infect Dis 1986; 154:156-162.

9. Ranjbar R, Sadeghifard N, Ahmadi A, Izadi M, Zaeimi- Yazdi J, Ghasemi A, and et al. A Antimicrobial susceptibility and AP-PCR typing of Iranian isolates of Acinetobacter spp. strains. Iranian J Publ Health 2007;36: 50-56.

10. Ranjbar R, Sadeghifard NKH, Soltan dalal MM, Farshad S. Evaluation of a PCR based approach to study the relatedness among S. sonnei strains isolated in Tehran. Iranian J Clin Infect Dis 2009;4:163-166.

11. Ranjbar R, Soltan dalal MM, Talebi M, Pourshafie MR. Increased isolation and characterization of Shigella sonnei obtained from hospitalized children in Tehran, Iran. J Health Popul Nutr 2008;26:426-430

12. Ranjbar R, Owlia P, Saderi H, Mansouri S, Jonaidi-Jafari N, Izadi M, and et al. Antibiotic susceptibility and plasmid profiles of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burned patients hospitalized in a major burn center in Tehran, Iran. Acta Medica Iranica 2011; 49:675-679.

13. Sadeghifard N, Ranjbar R. Antimicrobial susceptibility, plasmid profiles, and RAPD-PCR typing of Acinetobacter bacteria. Asian Biomedicine 2010;4:901-911

14. Pourshafie MR, Bakhshi B, Ranjbar R, Sedaghat M, Sadeghifard N, Zaemi Yazdi J et al. Dissemination of a single Vibrio cholerae clone in cholera outbreaks during 2005 in Iran. J Med Microbiol 2007;56: 1615-1619

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-14]

15. Hulton CS, Higgins CF and Sharp PM. ERIC sequences: a novel family of repetitive elements in the genomes of Escherichia coli, Salmonella typhimurium and other enterobacteria. Mol Microbiol 1991;5:825-834.
16. Ranjbar R, Aleo A, Giammanco GM, Maria Dionisi A, Sadeghifard N KH, Mammina C. Genetic relatedness among isolates of Shigella sonnei carrying class 2 integrons in Tehran, Iran, 2002-2003. BMC Infect Dis 2007;22:62-69.
17. Ranjbar R, Giammanco GM, Aleo A, Plano MR, Naghoni A, Owlia P, and et al. Characterization of the first extended-spectrum b-lactamase–producing nontyphoidal Salmonella strains isolated in Tehran, Iran. Foodborne Pathogens and Disease 2010; 7:91-5.
18. Versalovic J, Koeuth T, Lupski JR. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. Nucleic Acids Res 1991;19: 6823-6831.
19. Ranjbar R, Rahbar M, Naghoni A, Farshad S, Davari A, Shahcheraghi F. A cholera outbreak associated with drinking contaminated well water. Archives of Iranian Medicine 2011;14:339-340.
20. Ranjbar R, Hosseini MJ, Kaffashian AR, Farshad S. An outbreak of shigellosis due to Shigella flexneri serotype 3a in a prison in Iran. Arch Iran Med 2010;13:413-416.
21. Galanis ED. M, Lo Fo Wong, M. E. Patrick, N Binsztein, A Cieslik, T Chalermchikit,and et al. Wegener for World Health Organization global salm-surv. Web-based surveillance and global Salmonella distribution, 2000-2002. Emerg Infect Dis 2006; 12:381-388.
22. Herikstad H, Y Motarjemi, and R V Tauxe. Salmonella surveillance: a global survey of public health serotyping. Epidemiol Infect 2002;129:1-8.
23. Humphrey, T. J. 2000. Public-health aspects of Salmonella infections, p.245-263. In C. Wray and A. Wray (ed.), Salmonella in domestic animals. CABI Publishing, CAB International, Wallingford, United Kingdom.
24. Naghoni A, Ranjbar R, Tabaraie B, Farshad S, Owlia P, Safiri Z, and et al. High prevalence of integron mediated resistances among clinical isolates of Salmonella enterica strains. Jpn J Infect Dis 2010;63: 417-418.
25. Lim H, Kyung HL, Chong-Hae H, Bahk GJ, Choi WS. Comparison of four molecular typing methods for the differentiation of Salmonella spp. Int J Food Microbiol 2005; 105:411–418.
26. Oliveira SD, Bessa MC, Santos LR, Cardoso MR, Brandelli AC, and Canal CW. Phenotypic and genotypic characterization of salmonella enteritidis isolates. Brazilian Journal of Microbiology 2007;38:720-728.
27. Sexena MK, Singh VP, Lakhcharua BD, Tai G, Sharma B. Strain differentiation of Indian isolates of Salmonella by ERIC-PCR. Res Vet Sci 2002;73:313-314.
28. Madalena VP, Mario G, Rogerio T, Concelicao M. Evaluation of PCR-based fingerprinting comparatively to the RFLP-PFGE for discrimination of Salmonella sp. isolated from slaughtered pork polymerase chain reaction identification of Salmonella serotypes. Journal of Food and Drug Analysis 2008;16: 88-95.
29. Saxena MK, Singh VP, Lakhcharua BD, Sharma B. Strain differentiation of Indian isolates of Salmonella by ERIC-PCR. Journal of Reserch in Veterinary Science 2002;73:313-314.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-14]

30. Gopal N, Pushpa M, Anil G. ERIC PCR and RAPD based fingerprinting of Salmonella typhi strains isolated over a period of two decades. Infection, genetics and evolution, 2010;10:530-536.
31. Soria G, Barbé J, Gibert I. Molecular fingerprinting of Salmonella typhimurium by IS200-typing as a tool for epidemiological and evolutionary studies. Microbiologia 1994 ;10:57-68.
32. Sanei F. molecular epidemiology and plasmid profiling of Salmonella enteritidis isolated from clinical samples and determination of antibiotic resistant profile. Iranian Journal of Infectious Diseases 2008;14:55-60.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-14]