مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران
سال یازدهم ● شماره ۲ ● صفحات ۱۱۴ تا ۱۱۹ ● تابستان ۱۳۹۲

مقاله تحقیقاتی

# ارزیابی محیط باکتااسلاید در تشخیص سالمونلا در آب و مواد غذایی و مقایسه آن با روش کشت استاندارد به منظور استفاده در شرایط بحران

*هومن مطلق[۱]، حمیدرضا توکلی[۲]، آراسب دباغ‌مقدم[۳]، نرجس چراغی[۴]، حسام‌الدین اکبرین[۵]

تاریخ اعلام وصول: ۹۱/۱۲/۱ تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۹۲/۱/۱۷

## چکیده

**سابقه و هدف:** سالمونلاها از باکتری‌های بیماریزای انسانی و حیوانی و مسئول حدود ۴۰ درصد از مسمومیت‌های غذایی در سطح جهان هستند. استفاده از روش‌های سریع تشخیصی مانند PCR، ELISA و کیت‌های تشخیص سریع مانند باکتااسلاید (Bactaslyde) در شناسایی سریع این عامل بیماریزا در شرایط بحرانی و رزمایش‌ها بیش از پیش احساس می‌گردد. هدف از انجام این پژوهش، بررسی توانایی محیط باکتااسلاید در تشخیص سالمونلا در آب و مواد غذایی و مقایسه آن با روش کشت استاندارد می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش آزمایشگاهی تعداد ۲۰ نمونه آب و مواد غذایی (شامل شیر پاستوریزه، آب، کباب کوبیده خام و گوشت مرغ خام) به سویه استاندارد سالمونلا (PTCC ۱۶۰۹) آلوده و سپس با دو روش باکتااسلاید و کشت استاندارد، باکتری در آن‌ها جستجو و حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی و سرعت دو روش مقایسه و تعیین گردید.

**یافته‌ها:** این پژوهش نشـان داد که محیط باکتااسلاید Pouch۴ توانایی تشخیص باکتری سالمونلا در نمونه‌های غذایی را که به عمد آلوده شده بودند، به میزان ۱۰۰درصد دارا می‌باشد. مدت زمان شناسایی باکتری سالمونلا در محیط باکتااسلاید به طور متوسط ۱۵ ساعت و ۵۵ دقیقه می‌باشد. در حالی که مدت زمان شناسایی این باکتری در محیط کشت استاندارد به طور متوسط ۹۳ ساعت تعیین گردید. در ضمن حساسیت روش ۱۰۰درصد، ویژگی آن ۹۰ درصد، ارزش اخباری مثبت ۹۰/۹۱ درصد، ارزش اخباری منفی ۱۰۰ درصد و اعتبار آزمون ۹۵ درصد می‌باشد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** محیط باکتااسلاید توانایی تشخیص سریع باکتری سالمونلا را در نمونه‌های آب و مواد غذایی دارد و برای شرایط بحران قابل توصیه است. ادامه پژوهش با تعداد نمونه بیشتر و در مورد سایر مواد غذایی مورد توصیه است.

**کلمات کلیدی:** آب، سالمونلا، غذا، محیط کشت تشخیصی

## مقدمه

سالمونلا باکتری گرم منفی و متحرک از خانواده انتروباکتریاسه و جزِ بیماری‌زاهای انسانی و دامی است (۱). از آن‌جا که سالمونلا یک ارگانیسم همه‌جایی در محیط است، عامل مسبب اغلب مسمومیت‌های غذایی می‌باشد. طبق آخرین آمار مرکز کنترل بیماری‌های آمریکا (CDC) در سال ۲۰۰۸ میلادی، سالمونلا دومین عامل مسبب بیماری‌های ناشی از غذا بوده، به طوری که ۲۳درصد از طغیان‌ها و ۳۱ درصد از بیماری‌های ناشی از غذا در سال ۲۰۰۸

۱ـ مربی، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، بیمارستان گلستان نداجا، گروه بهداشت و رئیس دایره طب پیشگیری و آزمایشگاه مواد غذایی (*نویسنده مسئول)
تلفن: ۰۹۱۲۱۲۳۰۸۲۵ آدرس الکترونیک: hooman.motlagh@yahoo. com
۲- استادیار، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا.. (عج)، مرکز تحقیقات بهداشتی، گروه تغذیه و بهداشت مواد غذایی
۳- مربی، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده پزشکی، گروه پزشکی اجتماعی و بهداشت
۴- پژوهشگر، ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دستیار تخصصی بهداشت مواد غذایی
۵- پژوهشگر، ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دستیار تخصصی اپیدمیولوژی

میلادی را موجب شده است. هم‌چنین سالمونلا معمول‌ترین عامل بستری شدن (۶۲ درصد) ناشی از این طغیان‌ها بوده و از ۲۰ مورد مرگ به دلیل آلودگی به عوامل باکتریایی، ۱۳ مورد مربوط به سالمونلا تشخیص داده شده است. از بین بیش از ۲۵۰۰ سروتیپ شناخته شده سالمونلا، سالمونلا تیفی موریوم و سالمونلا انتریتیدیس عامل مسبب ۴۶ و ۲۴ درصد طغیان‌های ناشی از سالمونلا و باکتری‌ها می‌باشند (۲، ۳). مواد غذایی با منشأ دامی ممکن است در اثر بیماری دام به صورت اولیه یا از سایر راه‌ها به صورت ثانویه، به این باکتری آلوده شوند ولی شیوع بیماری بین افراد جامعه به صورت ثانویه به مراتب بیشتر است. مواد غذایی آلوده به سالمونلا به راحتی محیط آشپزخانه‌ها و غذاخوری‌ها، ظروف و غیره را آلوده می‌سازند (۱). اغلب موارد بیماری‌های ناشی از غذا به دنبال مصرف مواد غذایی مانند ماکیان، تخم‌مرغ، گوشت، فراورده‌های لبنی، سبزیجات و میوه‌جات تازه رخ می‌دهد (۴).

روش استاندارد تشخیص سالمونلا، روش‌های کشت کلاسیک است که با استفاده از محیط مغذی انتخابی برای رشد، جداسازی یا شمارش ارگانیسم هدف و در عین حال کاهش فلور زمینه‌ای ماده غذایی به کار می‌روند. این روش‌ها همچنان توسط بسیاری از آزمایشگاه‌ها به خصوص سازمان‌های نظارتی استفاده می‌شوند و به عنوان "استاندارد طلایی" مطرح می‌باشند که ارزان ولی زمان‌بر بوده، احتیاج به حجم زیادی از محیط کشت، مواد شیمیایی و معرف دارد. روش‌های کشت استاندارد کلاسیک مثل ISO ۶۵۷۹: ۲۰۰۲ و HPA F۱۳ مؤسسه مراقبت از سلامت (Health Protection Agency) برای رسیدن به جواب منفی و مثبت تأیید شده به ترتیب به ۳ و ۵ روز کاری زمان نیاز دارد. استاندارد طلایی تشخیص سالمونلا مراحل پیش غنی‌سازی غیرانتخابی، غنی‌سازی انتخابی، جداسازی روی محیط جامد انتخابی و تأیید بیوشیمیایی یا سرولوژیک در محیط‌های مایع را شامل می‌شود. در دهه‌های اخیر، توجه به سمت استفاده از روش‌های سریع معطوف شده است. بر اساس استانداردهای طلایی، "روش سریع" به هر روشی که زمان رسیدن به نتیجه را کاهش دهد؛ اطلاق می‌شود. این روش‌های جایگزین در زمان‌های بحرانی، میادین نبرد و نیز در صنعت به سرعت دستیابی به نتایج قابل اعتماد در آزمایش‌ها و امنیت غذایی کمک می‌کنند. این روش‌ها باید در مقایسه با روش‌های مرجع استاندارد معتبر شناخته شده و در صورتی که نتایج یکسانی نشان دادند، در آزمایشگاه‌ها مورد استفاده قرار گیرند (۲، ۵-۷).

ترکیب روش‌های غنی‌سازی قدیمی و روش‌های جدید مانند واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR: Polymerase Chain Reaction) (فناوری‌های آزمایشگاهی مبتنی بر اسید نوکلئیک) زمان لازم برای تشخیص سالمونلا را یک یا ۲ روز کاهش می‌دهد. در کنار روش‌های واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)، تکنیک‌های مبتنی بر سنجش ایمونولوژی (Immunoassay) نیز اغلب به عنوان روش‌های سریع تجاری جهت تشخیص سالمونلا در مواد غذایی مورد تأیید می‌باشند. (۲) استفاده از این روش‌ها به‌ویژه در اعلام سریع نتایج جستجوی باکتری در مواد غذایی از نظر بهداشتی و اقتصادی (در زمان تصمیم برای انهدام یا مصرف مواد غذایی مشکوک) خصوصاً در هنگام بروز بلایای طبیعی یا جنگ‌ها حائز اهمیت است. (۸) حقیقت این است که عدم اطمینان به نتایج روش‌های سریع با تصور هزینه بر بودن استفاده از آن‌ها همواره به عنوان مانعی برای به‌کارگیری این روش‌ها در تشخیص آلودگی‌های سالمونلایی آب و مواد غذایی در آزمایشگاه‌های مواد غذایی مطرح بوده است. در حالی که استفاده از این روش‌ها بسیار سریع و آسان بوده و نیاز به آزمایشگاه مجهز و کارشناسان مجرب نداشته و به ویژه در شرایط بحرانی قابل استفاده است.

بر اساس جستجوهای انجام شده در مقالات، تاکنون در خصوص تشخیص سالمونلا با استفاده از کیت‌های تشخیص سریع مانند باکتااسلاید مطالعه‌ای در ایران صورت نگرفته است. هدف از این پژوهش، تعیین توانایی کیت‌های باکتااسلاید در تشخیص باکتری سالمونلا در نمونه‌های آب و مواد غذایی و مقایسه سرعت و حساسیت آن با روش کشت استاندارد به منظور دستیابی به یک روش تشخیص نسبتاً سریع جهت شناسایی باکتری سالمونلا در آب و غذا برای حفظ و ارتقاء سلامت مصرف‌کنندگان مواد غذایی به خصوص در شرایط بحرانی است. اساس روش‌هایی مانند محیط‌های کروموژن و باکتااسلاید، تولید فراورده‌های رنگی جهت تشخیص میکروارگانیسم مورد نظر می‌باشد. در واقع بسیاری از مواد، پس از واکنش با آنزیم‌های میکروبی یا دیگر اجزای آن‌ها، فراورده‌های رنگی تولید می‌کنند که از این خاصیت برای تشخیص باکتری استفاده می‌شود. اساس کار کیت باکتااسلاید، واکنش رنگی

سوبسترای موجود در اسلاید پوشش داده شده با محیط کشت اختصاصی با سالمونلا می‌باشد که استفاده از آن بسیار آسان است.

## مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه، ابتدا سویه استاندارد سالمونلا (PTCC ۱۶۰۹) از بخش میکروب شناسی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید. سپس تعداد ۲۰ نمونه شامل (۵ نمونه آب، ۵ نمونه شیر، ۵ نمونه گوشت مرغ خام و ۵ نمونه کباب کوبیده خام) به طور عمدی با سویه استاندارد سالمونلا آلوده و با دو روش باکتااسلاید و کشت استاندارد، به جستجوی باکتری در آن‌ها پرداخته شد و حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی و سرعت دو روش مقایسه و تعیین گردید.

نمونه‌های آلوده مطابق دستورکار شرکت سازنده در محیط باکتااسلاید کشت داده و به انکوباتور دارای دمای ۳۷ درجه سانتیگراد منتقل شدند. جهت مشاهده تغییر رنگ از سبز روشن به سبز تیره‌ی مایل به قهوه‌ای در محیط کشت، از ساعت دوازدهم به بعد هر نیم ساعت یک بار نمونه‌ها مورد کنترل قرار گرفتند، سپس زمان رشد باکتری با توجه به تغییر رنگ حاصل در جدول مربوط ثبت گردید. به منظور تأیید نتایج آزمایش‌های انجام شده با محیط باکتااسلاید، برای هر یک از نمونه‌ها یک کشت ساده به روش استاندارد برابر استاندارد ملی ایران به شماره ۱۸۱۰ انجام شد. طبق استاندارد، مقدار ۲۵ گرم یا سی سی از نمونه‌ی مورد نظر در ۲۲۵ میلی لیتر آب گوشت حاوی لاکتوز براث کشت داده و در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. سپس از کشت روز اول به لوله‌ی حاوی محیط آب گوشت سلنیت سیستئین و تتراتیونات منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد قرار داده شد. در ادامه از هر یک از لوله‌ها به منظور تهیه‌ی پرگنه‌ی تک، به طور خطی در سطح دو پلیت حاوی محیط سالمونلا- شیگلا آگار و همچنین محیط سبز درخشان کشت تهیه گردید و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد قرار داده شدند. سپس به منظور کنترل پرگنه‌های مشکوک، آن‌ها را در محیط‌های سه قندی آهن دار، آگار لیزین آهن دار و اوره تلقیح نموده و لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد قرار داده شدند. در پایان لوله‌ها از نظر رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفتند. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار آماری SPSS استفاده شد. با توجه به ماهیت داده‌ها از آنالیز آماری رگرسیون و آزمون غیرپارامتری کروسکال والیس (kruskal-Wallis) استفاده گردید.

## یافته‌ها

نتایج به تفصیل در جدول شماره‌ی ۱ ثبت گردید. این نتایج نشان داد که محیط باکتااسلاید Pouch۴ توانایی تشخیص باکتری سالمونلا در نمونه‌هایی که به طور عمدی آلوده شده بودند را به میزان ۱۰۰درصد دارا می‌باشد. همان طور که در جدول مشاهده می‌گردد، مدت زمان تشخیص و شناسایی باکتری سالمونلا در محیط باکتااسلاید به طور متوسط ۱۵ ساعت و ۵۵ دقیقه می‌باشد در حالی که مدت زمان تشخیص این باکتری در محیط کشت استاندارد به طور متوسط ۹۳ ساعت تعیین گردید. ضمناً با توجه به جدول شماره‌ی ۲ حساسیت روش ۱۰۰درصد و ویژگی آن ۹۰ درصد تعیین گردید.

**جدول ۱- مقایسه سرعت تشخیص باکتری سالمونلا در نمونه‌های شیر، آب و مواد غذایی با استفاده از دو روش محیط باکتااسلاید و کشت استاندارد**

| ردیف | نوع نمونه | تعداد | میانگین مدت زمان لازم برای تشخیص باکتری سالمونلا با روش باکتااسلاید (ساعت) | میانگین مدت زمان لازم برای تشخیص باکتری سالمونلا با روش کشت استاندارد (ساعت) |
|---|---|---|---|---|
| ۱ | آب | ۵ | ۱۵/۰۹ | ۹۲ |
| ۲ | شیر پاستوریزه | ۵ | ۱۵/۴۱ | ۹۴ |
| ۳ | کباب کوبیده خام | ۵ | ۱۶/۱۱ | ۹۴ |
| ۴ | گوشت مرغ خام | ۵ | ۱۵/۵۷ | ۹۲ |
| جمع (میانگین) | | ۲۰ | ۱۵/۵۵ | ۹۳ |

**جدول ۲- حساسیت و ویژگی آزمون تشخیص سالمونلا با روش باکتااسلاید**

| | | باکتااسلاید + | باکتااسلاید − |
|---|---|---|---|
| سالمونلا | + | ۲ | ۲۰ |
| | − | ۱۸ | ۰ |

| | |
|---|---|
| ارزش اخباری مثبت | ۹۰/۹۱ درصد |
| ارزش اخباری منفی | ۱۰۰ درصد |
| اعتبار تست | ۹۵ درصد |

## بحث

روش استاندارد طلایی به علت حساسیت بالا و انتخابی بودن از نظر اعتبار، بهترین گزینه جهت تشخیص سالمونلا در نمام نمونه‌های غذایی بوده است، اما زمان لازم جهت تشخیص آلودگی حدود ۵ تا ۷ روز می‌باشد و این مسأله مشکل عمده‌ی روش‌های کلاسیک محسوب می‌شود. (۹) تلاش‌های بسیاری در جهت کاهش زمان این روند و بهبود و توسعه‌ی این روش‌ها صورت گرفته است، به عنوان مثال ابراهیم (۱۹۸۵) و جایسون (۲۰۱۰) طی مقالات مروری به انواع روش‌های سریع به عنوان جایگزین روش‌های کلاسیک اشاره کردند، کیم و بهونیا (۲۰۰۸) استفاده از آبگوشت‌های غنی‌سازی هم‌زمان را جهت کاهش بار کاری آزمایش مورد بررسی قرار دادند و مهم‌ترین اصلاحی که اخیراً در این راستا صورت گرفته، استفاده از سوبسترای کروموژن و فلوروژن در آگار انتخابی است که امکان تشخیص مستقیم ارگانیسم در پلیت را فراهم کرده و نیاز به آزمایش‌های بیشتر جهت تأیید پرگنه‌ها را از بین می‌برد. اساس کار آن‌ها واکنش رنگی یک آنزیم خاص میکروارگانیسم با سوبسترای موجود در محیط می‌باشد که با مشاهده رنگ خاص مورد نظر می‌توان وجود میکروارگانیسم در نمونه را تأیید کرد. اغلب در کیت‌های تشخیصی سریع کروموژن از مشتقات دی‌گلوکورونید یا دی‌گالاکتورونید به‌صورت وسیعی به عنوان سوبسترا استفاده می‌شود. از محاسن این روش که انتخاب آن را نسبت به سایر روش‌ها مقدم نموده است، می‌توان سرعت تشخیص، حساسیت و ویژگی بالا و عدم نیاز به آزمایش های‌های تأییدی بیوشیمیایی را نام برد. (۵، ۸، ۱۰، ۱۱) بسیاری از این محیط‌های آگار انتخابی کروموژن به‌صورت تجاری در دسترس قرار دارند. جداسازی ایمونومگنتیک (IMS: Immunomagnetic Separation) روش دیگر کاهش زمان تشخیص است، استفاده از این روش در کنار کشت غنی‌سازی، حساسیت روش را افزایش و زمان آن را کاهش می‌دهد. از این روش می‌توان در کنار سایر روش‌ها مانند الایزا نیز استفاده کرد. استفاده از جداسازی ایمونومگنتیک در جداسازی سالمونلا از شیر در بررسی لیبانا و همکاران (۲۰۰۹) به روش Electrochemical Magneto-Immunosensing که بر پایه جداسازی ارگانیسم با امواج مغناطیسی و تأیید آن به روش سرولوژیک است، نشان داد که می‌توان زمان کشت را کاهش داد. البته ذکر شده است که پاسخ مثبت در این آزمایش، احتمالی بوده و احتیاج به یک مرحله تأییدی دارد که این مورد از معایب روش است. (۹، ۱۲)

علاوه بر روش‌های کشت، از روش‌های بر پایه ایمونولوژی در تشخیص این باکتری می‌توان استفاده کرد. روش‌های دسته‌بندی شده در این گروه شامل آگلوتیناسیون لاتکس سریع (Rapid Latex Agglutination)، الایزا (ELISA) و سنجش ایمونولوژی با استفاده از جریان جانبی (Lateral Flow Immunoassays) (که ترکیبی است از روش الایزا در کنار استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال و پلی‌کلونال)، می‌باشد. (۹)

پایه‌ی دسته‌ی بعدی روش‌های مورد استفاده در تشخیص سالمونلا، تکنیک‌های مولکولی است. بیش از ۱۵ سال است که روش‌های مولکولی در تشخیص پاتوژن‌های موجود در غذا بر سایر روش‌ها ارجحیت یافته‌اند. فناوری‌های واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز مختلف از جمله Real-time PCR، Multiplex PCR و RT-PCR جهت تشخیص باکتری در زمان کوتاه‌تر مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند و آخرین روش پیشنهادی جهت جداسازی سالمونلا از نمونه‌های غذا استفاده از فاژها می‌باشد. (۹)

بر اساس مطالعه پرل (۲۰۰۴) تشخیص سالمونلا در شیر به روش PCR-ELISA به علت حضور مهارکننده‌های PCR مشکل بوده و از حساسیت بسیار پایینی برخوردار می‌باشد. (۱۳) یکی از روش‌های سریع و جدید که در تشخیص سالمونلا در شیر خام و نمونه‌های گوشت توسط مازومدار (۲۰۰۷) مورد استفاده قرار گرفته است،

روش رزونانس سطحی پلاسمون است. اساس این روش استفاده از دستگاهی به همین نام است که بر پایه تشخیص حسگرهای زیستی رنگی عمل می‌کند. این روش از سرعت و حساسیت بالایی در مقایسه با روش استاندارد برخوردار است ولی هنوز در مرحله توسعه و بهبود قرار دارد و علاوه بر این، احتیاج به تجهیزات خاص و گران‌قیمت و کارشناسان مجرب جهت کار با آن، از محدودیت‌های این روش محسوب می‌شود. (۱۴)

در مورد تشخیص سالمونلا در گوشت طیور، ایگور (۲۰۰۲) به روش Real-time PCR، دی‌فریتاس (۲۰۱۰) به روش Multiplex PCR و در گوشت طیور و تخم مرغ، مالورنی (۲۰۰۷) به روش Real-time PCR و در گوشت قرمز و گوشت طیور، تملی (۲۰۱۲) به روش مولکولی و ایمونولوژیک (Real-time PCR و VIDAS) به صورت توأمان، مطالعاتی را انجام داده‌اند. (۱۵–۱۷) در مورد گوشت و فراورده‌های گوشتی نیز تورلاک (۲۰۱۲) روش Rapid Check Select را که بر اساس فناوری جریان جانبی عمل می‌کند، مورد ارزیابی قرار داد و مشاهده نمود که زمان تشخیص، ۲ روز نسبت به روش استاندارد کاهش پیدا کرد. (۱۸) در آب‌های نوشیدنی سطحی، هسو و همکاران (۲۰۱۱) به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در کنار مراحل کشت و الکتروفورز، تامسون (۲۰۰۶) در نمونه‌های آب به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به‌همراه هیبریداسیون مغناطیسی (Magnetic Capture Hybridization) و وان بلرک (۲۰۱۱) به روش Real-time PCR و آنالیز منحنی ذوب (High Resolution Melt Curve Analysis) نیز مطالعاتی در زمینه جداسازی سالمونلا انجام داده‌اند. (۱۹–۲۱) علاوه بر موارد قید شده، بررسی‌های بسیار زیاد دیگری جهت مقایسه روش‌های مولکولی و ایمونولوژیک در نمونه‌های غذایی مختلف از جمله شیر، گوشت، طیور، آب و غیره صورت گرفته است. اما بسیاری از این روش‌ها احتیاج به تجهیزاتی خاص جهت تشخیص دارند، هم چنین نیاز به مهارت کاربر جهت مراحل مختلف آماده‌سازی نمونه از جمله استخراج DNA، تقویت، هیبرید کردن آن و غیره، از عوامل محدود کننده‌ی استفاده از این روش در شرایط بحرانی می‌باشد و نظر به این‌که زمان تشخیص بسیار کوتاه بوده و حساسیت برخی از آن‌ها نیز بالاست، در موارد خاص و بحرانی کارایی مدنظر را ندارند. (۱۴، ۲۲) در مورد برخی کیت‌های بیوشیمیایی و ایمونولوژی نیز باید اذعان داشت که روش‌های نسبتاً زمان‌بری هستند، زیرا هم‌چنان به ۲۴ تا ۴۸ ساعت زمان جهت مرحله پیش غنی‌سازی سالمونلا در نمونه احتیاج دارند. (۱۴)

همان‌طور که در بررسی پژوهش‌های انتشار یافته مشاهده می‌شود، تلاش تمام پژوهشگران در راستای کاهش زمان و هزینه تشخیص ارگانیسم‌های خطرناک که از طریق آب و مواد غذایی به‌خصوص در شرایط خاص بیماری ایجاد می‌کنند، می‌باشد. پیرو این هدف، مؤثرترین راه استفاده از کیت‌های مینیاتوری مبتنی بر روش‌های بیوشیمیایی، سرولوژی یا مولکولی می‌باشد. بر اساس گزارش سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) تا سال ۲۰۰۱ میلادی حداقل حدود ۳۰ نوع فناوری سنجش مختلف از طریق این کیت‌ها طراحی شده است. البته به کار بردن هر یک از این روش‌های سریع فواید و محدودیت‌های مختص به خود را دارا می‌باشد. (۲۳)

همان‌طور که پیش از این اشاره شد، محیط‌های کروموژنیک یکی از تکنیک‌های تشخیص سریع میکروارگانیسم‌ها می‌باشند. استفاده از این محیط‌ها نیاز به آزمون‌های بیوشیمیایی بعد از کشت را از بین می‌برد (۸) از جمله مطالعات مرتبط با این روش می‌توان به بررسی منافی (۲۰۰۰) اشاره کرد. اسکوننبروشر (۲۰۰۸) در مطالعه‌ی ۳ محیط مختلف کروموژن روی نمونه‌های گوشت، نظریات پیشین مبتنی بر حساسیت پایین این روش را رد کرد و نشان داد که این محیط‌ها عملکرد و حساسیت بالایی در مورد نمونه‌های غذایی در مقایسه با روش استاندارد دارند. (۷، ۲۴)

با عنایت به نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر که حاکی از سرعت و اعتبار زیاد (حساسیت ۱۰۰ درصد، ویژگی ۹۰ درصد، ارزش اخباری مثبت ۹۰/۹۱ درصد و ارزش اخباری منفی ۱۰۰ درصد) تشخیص باکتری سالمونلای موجود در آب و مواد غذایی توسط محیط باکتااسلاید نسبت به روش کشت استاندارد می‌باشد، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از محیط باکتااسلاید به عنوان یک روش سریع و دارای اعتبار بالا به ویژه در شرایط بحرانی (که تشخیص سریع باکتری سالمونلا سبب پیشگیری از بروز یک همه‌گیری وسیع می‌گردد) مناسب است. انجام پژوهش‌های گسترده‌تر با سایر انواع مواد غذایی و با حجم نمونه بیشتر مورد توصیه می‌باشد.

## References

1- Tavakkoli HR. Food microbiology and health control of food supply and distribution centres. Tehran: Marze Danesh; 2008.[Persian]
2- Cheung PY, Kam KM. Salmonella in food surveillance: PCR, immunoassays, and other rapid detection and quantification methods. Food Res Int 2012; 45 (2): 802–8.
3- Gould LH, Nisler AL, Herman KM, Cole DJ, Williams IT, Mahon BE, et al. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks — United States, 2008. Atlanta: Centers for Disease Control Prevention (CDC); 2011.
4- Pui CF, Wong WC, Chai LC, Tunung R, Jeyaletchumi P, Noor Hidayah MS, et al. Salmonella: A foodborne pathogen. Int Food Res J 2011; 18: 465-73.
5- Jasson V, Jacxsens L, Luning P, Rajkovic A, Uyttendaele M. Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. Food Microbiol 2010; 27 (6): 710-30.
6- Downes FP, Ito K, editors. Compendium of methods for microbiological Examination of foods. 4th ed. Washington: APHA; 2001.
7- Schonenbrucher V, Mallinson ET, Bulte M. A comparison of standard cultural methods for the detection of foodborne Salmonella species including three new chromogenic plating media. Int J Food Microbiol 2008 Mar 31; 123 (1-2): 61-6. PubMed PMID: 18192050.
8- Tavakoli H, Bayat M, Kousha A, Panahi P. The Application of Chromogenic Culture Media for Rapid Detection of Food and Water Borne Pathogen. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science 2008; 4 (6): 693-8.
9- Odumeru JA, León-Velarde CG. Salmonella Detection Methods for Food and Food Ingredients. In: Barakat S. M. Mahmoud, editor. Salmonella - A Dangerous Foodborne Pathogen: InTech; 2012.
10- Ibrahim GF, Fleet GH. Detection of salmonellae using accelerated methods. Int J Food Microbiol 1985; 2 (5): 259-72.
11- Kim H, Bhunia AK. SEL, a selective enrichment broth for simultaneous growth of Salmonella enterica, Escherichia coli O157: H7, and Listeria monocytogenes. Applied and Environmental Microbiology 2008; 74 (15): 4853-66.
12- Liébanaa S, Lermoa A, Campoyb S, Cortésb MP, Alegreta S, Pividor MI. Rapid detection of Salmonella in milk by electrochemical magneto-immunosensing. Biosens Bioelectron 2009; 25: 510–3.
13- Perelle S, Dilasser F, Malorny B, Grout J, Hoorfar J, Fach P. Comparison of PCR-ELISA and LightCycler real-time PCR assays for detecting Salmonella spp. in milk and meat samples. Mol Cell Probe 2004; 18 (6): 409–20.
14- Mazumdar SD, Hartmann M, Kampfer P, Keusgen M. Rapid method for detection of Salmonella in milk by surface plasmon resonance (SPR). Biosens Bioelectron 2007; 22 (9-10): 2040-6. PubMed PMID: 17079127.
15- Eyigor A, Carli KT, Unal CB. Implementation of real-time PCR to tetrathionate broth enrichment step of Salmonella detection in poultry. Lett Appl Microbiol 2002; 34 (1): 37-41. PubMed PMID: 11849490.
16- de Freitas CG, Santana AP, da Silva PH, Goncalves VS, Barros Mde A, Torres FA, et al. PCR multiplex for detection of Salmonella Enteritidis, Typhi and Typhimurium and occurrence in poultry meat. Int J Food Microbiol 2010 Apr 30; 139 (1-2): 15-22. PubMed PMID: 20199820.
17- Temelli S, Eyigor A, Carli KT. Salmonella detection in poultry meat and meat products by the Vitek immunodiagnostic assay system easy Salmonella method, a LightCycler polymerase chain reaction system, and the International Organization for Standardization method 6579. Poult Sci 2012 Mar; 91 (3): 724-31. PubMed PMID: 22334749.
18- Torlak E, Akan IM, Inal M. Evaluation of RapidChek Select for the screening of Salmonella in meat and meat products. J Microbiol Methods 2012 Sep; 90 (3): 217-9. PubMed PMID: 22626824.
19- Hsu BM, Huang KH, Huang SW, Tseng KC, Su MJ, Lin WC, et al. Evaluation of different analysis and identification methods for Salmonella detection in surface drinking water sources. Sci Total Environ 2011 Sep 15; 409 (20): 4435-41. PubMed PMID: 21782212.
20- Thompson D, Rajal V, Batz S, Wuertz S. Detection of Salmonella spp. in water using magnetic capture hybridization combined with PCR or real-time PCR. J water health 2006; 4: 67-75.
21- van Blerk GN, Leibach L, Mabunda A, Chapman A, Louw D. Rapid and specific detection of Salmonella in water samples using real-time PCR and High Resolution Melt (HRM) curve analysis. Water Sci Technol 2011; 64 (12): 2453-9. PubMed PMID: 22170841.
22- Kumar S, Balakrishna K, Batra HV. Detection of Salmonella enterica serovar Typhi (S. Typhi) by selective amplification of invA, viaB, fliC-d and prt genes by polymerase chain reaction in mutiplex format. Lett Appl Microbiol 2006 Feb; 42 (2): 149-54. PubMed PMID: 16441380.
23- Majumdar I, Mastrandrea LD. Serum sphingolipids and inflammatory mediators in adolescents at risk for metabolic syndrome. Endocrine 2012 Jun; 41 (3): 442-9. PubMed PMID: 22228496.
24- Manafi M. New developments in chromogenic and fluorogenic culture media. Int J Food Microbiol 2000 Sep 25; 60 (2-3): 205-18. PubMed PMID: 11016610.

# Assessment of Bactaslyde media in diagnosis of Salmonella in water and foods in comparison with standard method in order to use in crisis

*Hooman Motlagh[1], Hamidreza Tavakoli[2], Arasb Dabbagh Moghaddam[3]
Narjes Cheraghi[4], Hesameddin Akbarein[5]

Received: 19 Feb 2013 Accepted: 6 Apr 2013

## Abstract

**Background:** Salmonellas are responsible for more than 40 percent of foodborne diseases in the world. Today, rapid diagnostic methods are essential for detecting these organisms in food and water especially in crisis. The aim of this study was to assess the Bactaslyde media usability in detection of salmonella and compare it with standard culture method.

**Materials and Methods:** In this laboratory study 20 samples of water and foods (pasteurized milk, water, raw Kabab and Raw Poultry Meat) were contaminated with salmonella standard strain (PTCC 1609) and then this salmonellas were detected by Bactaslyde culture media and standard culture method. Sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and speed of two methods compared with each other.

**Results:** This study showed that Bactaslyde culture pouch number 4 can detect Salmonella in all 20 contaminated samples of food and water. The detecting time was 15 hours and 55 minutes in compare with 93 hours for standard method. Sensitivity of the test was 100%, specificity 90%, positive predictive value 90.91%, negative predictive value, 100% and validity of the test was 95%.

**Conclusion:** It was found that Bactaslyde culture method can detect Salmonella as a rapid test in all food and water samples and it can be recommended for using in crisis. More research with more samples and different foods is recommended.

**Keywords:** Water, Diagnostic Test Kits, Food, Salmonella

1- (*Correspondence Author) Instructor, Department of Preventive Medicine, Golestan Hospital, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Tel: +982122771520 E-mail: hooman.motlagh@yahoo.com
2- Assistant Professor, Department of Nutrition and Food Hygiene, Baghiatollah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Instructor, Department of Social Medicine and Public Health, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- Researcher, Department of Food Hygiene and Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
5- Researcher, Division of Epidemiology, Department of Food Hygiene and Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran