گزارش کوتاه

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۱۰، مهر ۱۳۹۵، صفحه ۴۵-۴۰

# شناسایی مو لکولی ژن های حدت agfA و mgtC در سویه های سالمونلا تیفی موریوم جداشده از کودکان مبتلا به گاستروانتریت به روشMultiplex -pcr و تعیین الگوحساسیت آنتی بیوتیکی آن

ساره امیری (MSc)[۱]، غلامعلی مرادلی (PhD)[۲*]

۱-دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه
۲-گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه

دریافت: ۹۵/۲/۲۶، اصلاح: ۹۵/۳/۱۲، پذیرش: ۹۵/۵/۶

## خلاصه

**سابقه و هدف:** گاستروانتریت ناشی از سالمونلا در انسان ها شایع است و به عنوان یک معضل جهانی در بهداشت عمومی مطرح می باشد. هدف از این مطالعه شناسایی ژن های *agfA* و *mgtC* در سویه های سالمونلا تیفی موریوم جدا شده از نمونه های مدفوعی به روش multiplex-PCR و تعیین الگوی مقاومتی این سویه ها می باشد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه مقطعی بر روی سالمونلا تیفی موریوم جدا شده از نمونه مدفوع کودکان مبتلا به گاسترو آنتریت بستری شده در بیمارستان مرکز طبی کودکان تهران انجام گردید. با استفاده از روش Multiplex-PCR میزان فراوانی ژن های agfA و mgtC مورد بررسی قرار گرفت و همچنین با استفاده از روش انتشار از ژل و بر اساس دستورالعمل CLSIمیزان حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه های فوق بررسی شد.

**یافته‌ها:** از مجموع ۲۰۰ نمونه مدفوع کشت داده شده تعداد ۶۰ جدایه سالمونلا تیفی موریوم بدست آمد که ۲۴ جدایه به طور همزمان واجد هر دو ژن agfA و mgtC بودند و ۵۲ جدایه واجد ژن *mgtC* و ۴۰ جدایه حامل ژن *agfA* بودند. تمامی سویه ها (۱۰۰٪) به سیپروفلوکساسین حساس و همچنین ۸۵٪ سویه ها به نیتروفورانتوئین مقاوم بودند.

**نتیجه گیری:** نتایج مطالعه نشان داد که فراوانترین ژن حدت در سویه های سالمونلا تیفی، mgtC با میزان (۸۶/۶٪) و کمترین درصد فراوانی مربوط به ژن حدت، agfA به میزان(۶۶/۶٪) بوده است.همچنین نتیجه گرفته شدکه جدایه های فوق نسبت به سیپروفلوکساسین ۱۰۰ ٪حساس بوده اند و نسبت **به نیتروفورانتوئین** ۸۵٪ مقاوم ترین بوده است.

**واژه‌های کلیدی: سالمونلا تیفی موریوم، ژن های *agfA* و *mgtC*، حساسیت آنتی بیوتیکی.**

## مقدمه

استقرار ارگانیسم ها در بافت و اتصال شان به بافت هدف، اولین مرحله در بیماریزایی می باشد(۲و۱). فیمبریه ها اندامک های سطحی فیلامنتی هستند که از هزاران نسخه از تحت واحد اصلی بنام fimbrillin و یک یا تعداد معدودی کپی از تحت واحد چسبنده که اغلب در نوک فیلامان قرار دارند، تشکیل شده است(۴و۳). یک سلول سالمونلا ممکن است ۲۰۰ تا ۳۰۰ کپی از فیمبریه را بیان نمایدکه تحت تغییر فاز قرار می گیرند(۵). فیمبریه های انتروباکتریاسه به دو گروه بطور کلی حساس به مانوز(MS=Mannose Sensitive) و مقاوم به مانوز (MR= Mannose Resistant) تقسیم می شوند(۶). بر همین اساس انواع مختلفی از فیمبریه وجود دارند که یکی از آنها فیمبریه تیپ IV یا همان GVVPQ است که اولین بار در اشرشیا کلی بعنوان فیمبریه دارای واکنش متقاطع با SEF17 (فیمبریه ۱۷ کیلودالتونی سالمونلا انتریتیدیس) شناسایی شدند. تحت واحدهای SEF17 بوسیله ژن *agfA* (فیمبریه متمایل به تجمع) رمزدهی شده و در برخی (نه در همه) سروارهای سالمونلا دیده می شوند. وجود ژن *agfA* در یک سروار متغیر است؛ برای مثال تنها ۵۰٪ سویه های سالمونلا تیفی موریوم از لحاظ آنتی ژن AgfA مثبت هستند. فیمبریه های کورلی (Curli) نوعی از فیمبریه هستند که با چرخه بیرون سلولی تجمع/رسوب گردهمایی می نمایند(۹-۷). جزء اصلی سازنده فیمبریه کورلی در اشریشیا کلی پروتئین CsgA است که با معادل آن در سالمونلا تیفی موریوم بنام AgfA دارای ۸۶٪ مشابهت است(۱۰). پس از اتصال و کلونیزاسیون، زنده ماندن و تکثیر سالمونلاها در درون ماکروفاژها کلید موفقیت این ارگانیسم ها در بیماریزایی می باشد. اکثر ژن های دخیل در پاتوژنز این باکتری در نواحی به نام جزایر پاتوژنسیته سالمونلاها (SPI) کد می شوند(۸). در سالمونلا سه سیستم حمل و نقل جهت منیزیوم دو ظرفیتی ($Mg^{2+}$) بنام CorA و MgtA و MgtB وجود دارد. دو سیستم جذب منیزیوم دوظرفیتی بوسیله جایگاه mgtA و

▣ این مقاله حاصل پایان نامه ساره امیری دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی و طرح تحقیقاتی به شماره ۶۲۳۳۰۵۰۷۹۴۱۰۰۳ دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه می باشد.
* مسئول مقاله: دکتر غلامعلی مرادلی
آدرس: ساوه، بلوار شهید بهشتی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی. تلفن: ۰۸۶-۴۲۴۳۳۳۴۲
E-mail: Moradli.mic@gmail.com

[ DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.10.6.8 ]
[ DOI: 10.22088/jbums.18.10.40 ]

mgtCB موجود در SPI-3 رمزدهی می شوند(۱۱). جایگاه mgtCB دو پروتئین MgtC و MgtB را کد می‌کند. Nikbakht و همکاران اظهار کردند که MgtC ممکن است در تنظیم هموستازی یونی سلول نقش داشته باشد(۱۲). بر اساس مطالعات Nikbakht و همکاران MgtC بعنوان تحت واحدی پمپ سدیم/از پتاسیم ($Na^+/K^+$ ATPase) فعالیت می‌کند و بدین سان در تنظیم پتانسیل غشا دخالت دارد(۱۲). افزودن آنتی بیوتیک به جیره غذایی دام‌ها، استفاده نادرست، بیش از حد و خودسرانه آنتی بیوتیک ها و عدم نظارت دقیق در تجویز دارو سبب بروز سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک شده است(۶).

با توجه به شباهت *mgtC* موجود در سامونلاتیفی با پمپ سدیم/پتاسیم *agfA* با csgA موجود در فیمبریه کورلی و این مطالعه به منظور شناسایی ژنهای *agfA* و*mgtC* در سویه های سالمونلا تیفی موریوم جدا شده از نمونه های مدفوعی کودکان به روش multiplex-PCR و تعیین الگوی مقاومتی این سویه‌ها می باشد (۷و۸).

## مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی طی یک بازه زمانی ۷ ماهه (از ابتدای خرداد لغایت انتهای آذر) ۱۳۹۴ انجام شد تعداد ۲۰۰ نمونه مدفوع از بیماران مشکوک به عفونت سالمونلا در بیمارستان مرکز طبی اطفال تهران در ظروف پلاستیکی و درب دار استریل جمع آوری شد. تمامی نمونه ها به محیط آزمایشگاه منتقل گردید و به منظور غنی سازی به محیط کشت سلنیتF (مرک، آلمان) منتقل شدند و به مدت۱۲-۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سیلسیوس گرمخانه گذاری انجام گردید. نمونه های مدفوع کشت داده شده در محیط SF را در مرحله بعد بر روی محیط گزیلوز لیزین دزوکسی کولات آگار (XLD) و سالمونلا-شیگلا (SS) آگار (مرک، آلمان) کشت داده و در ۳۷ درجه سلسیوس برای ۲۴ ساعت انکوبه شد. کلنی های رشد کرده و مشکوک با استفاده از تست های روزمره و استاندارد بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی مانند: مانند تریپل شوگر آیرون آگار (TSI)، Sulfide Indol Motility=SIM، متیل رد-وگس پرسکوئر (MR-VP)، سیمون سیترات و تولید $H_2S$ مورد شناسایی قرار گرفتند. آزمون سروتایپینگ برای مشخص نمودن آنتی ژن های سوماتیک(O)، فلاژله(H) و کپسولی (Vi) با استفاده از آنتی سرم های مونو والان (MAST) و پلی والان تهیه شده از شرکت بهار افشان به روشSlide agglutination انجام گردید. در تمامی مراحل آزمون از سویه استاندارد سالمونلا تیفی موریوم ATCC 14028 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

حساسیت آنتی بیوتیکی سویه ها از روش انتشار از دیسک و بر روی محیط مولر هینتون آگار (MHA) (ساخت شرکت مرک، کشور آلمان) و بر اساس دستورالعمل موسسه استاندارد آزمایشگاه و بالینی (CLSI) صورت گرفته است(۱۳). به منظور آنالیز مولکولی ژنهای تحت مطالعه DNA ژنومی با استفاده از کیت DNA سیناژن ( Cell culture, Tissues, Gram negative Bacteria and CSF) استخراج گردید. تست Multiplex-PCR برای شناسایی ژن های *agfA* و *mgtC* (۱۴) با استفاده از پرایمر های اختصاصی انجام شد (جدول ۱). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. هر واکنش PCR شامل ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۱۰ پیکومول از هر پرایمر، ۱/۵ میلی مول در لیتر $MgCl_2$، ۰/۵ واحد آنزیم Taq و ۵۰ نانوگرم DNA الگو می‌باشد. واکنش Multiplex-PCR در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) به شرح زیر انجام شد. یک سیکل ۱۰ دقیقه در ۹۵ درجه سلسیوس (دناتوراسیون اولیه) سپس ۳۵ سیکل شامل مرحله واسرشت شدن ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سلسیوس، مرحله اتصال ۶۰ ثانیه در ۵۹ درجه سلسیوس و مرحله بسط ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس و نهایتاً یک سیکل ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس. محصولات Multiplex-PCR از نظر حضور ژن های مورد نظر با انجام الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱٪ و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید در مقایسه با سویه استاندارد سالمونلا تیفی موریوم ATCC 14028 به عنوان کنترل مثبت و سویه استاندارد اشرشیاکلی ATCC 25923 به عنوان کنترل کیفی آنالیز شدند(۱۴).

**جدول ۱. توالی الیگونوکلیوتیدی توالی های آغازگر (پرایمر) استفاده شده در مطالعه پیش رو**

| پرایمرها | توالی پرایمر (۳-۵) | طول محصولات (bp) |
|---|---|---|
| *agfA* | F=5□-TACAAGGGATTCGGCATCG-3□<br>R= 5□-TAATGGCCTGTTCCCATGTG-3□ | ۲۶۱ |
| *mgtC* | F= 5□-AAAATCTGGGTACGCAAACG-3□<br>R=5□-ACATTATCCGCTGGAACAGG-3□ | ۶۵۵ |

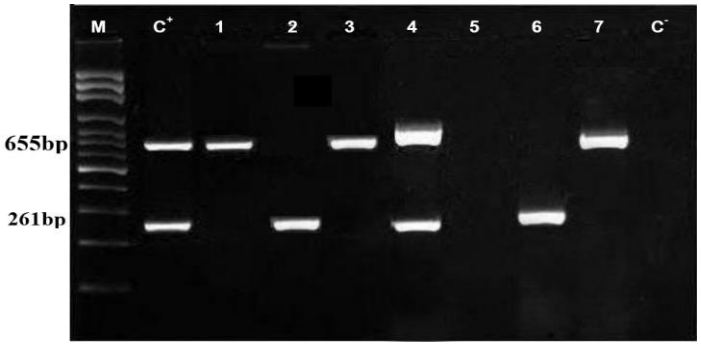
## یافته ها

نتایج نشان داد که در مجموع تعداد ۶۰ (۳۰٪) جدایه سالمونلا تایفی موریوم از مجموع ۲۰۰ نمونه مدفوع تحت بررسی بدست آمد. در نتایج آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی بیشترین میزان مقاومت به نیتروفورانتوئین و نالیدیکسیک اسید به ترتیب (۸۵٪) و (۷۰٪) بود. همچنین تمامی ۶۰ ایزوله (۱۰۰٪) به ایمی پنم، سیپروفلوکساسین و سفالکسین حساس بودند (جدول ۲). آنالیز مولکولی ژن های تحت مطالعه نشان داد که ۵۲ نمونه (۸۶/۶٪) واجد ژن *mgtC* و ۴۰ نمونه (۶۶/۶٪) واجد ژن *agfA* بودند (شکل ۱). تکثیر همزمان ژن ها در واکنش Multiplex-PCR نشان داد که ۲۴ (۴۰٪) جدایه به طور همزمان حامل ژن‌های *mgtC* و *agfA* بودند.

**جدول ۲. فراوانی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های تحت مطالعه**

| عامل ضد میکروبی (میکرو گرم) | سالمونلا تیفی موریوم (n=۶۰) | | |
|---|---|---|---|
| | S(حساس) تعداد(درصد) | I(نیمه حساس) تعداد(درصد) | R(مقاوم) تعداد(درصد) |
| آموکسی سیلین µg ۲۵ | ۵۵(۹۱/۶) | ۵(۸/۴) | ۰(۰) |
| نیتروفورانتوئین µg ۳۰۰ | ۶(۱۰) | ۳(۵) | ۵۱(۸۵) |
| ایمی پنم µg ۱۰ | ۶۰(۱۰۰) | ۰(۰/۰) | ۰(۰/۰) |
| نالیدکسیک اسید µg ۳۰ | ۱۳(۲۱/۶) | ۵(۸/۴) | ۴۲(۷۰) |
| سیپروفلوکساسین µg ۵ | ۶۰(۱۰۰) | ۰(۰) | ۰(۰) |
| سفالکسین µg ۳۰ | ۶۰(۱۰۰) | ۰(۰) | ۰(۰) |
| مروپنم µg ۱۰ | ۵۹(۹۸/۴) | ۱(۱/۶) | ۰(۰) |
| تری متوپریم/سولفومتاکسازول µg ۱۵ | ۴۷(۷۸/۳) | ۰(۰) | ۱۳(۲۱/۷) |

[ DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.10.6.8 ]
[ DOI: 10.22088/jbums.18.10.40 ]




**شکل ۱. نتایج آزمون M-PCR از چپ به راست: (شرکت سیناژن، ایران) Ladder 100bp، کنترل مثبت (سالمونلا تیفی موریوم ۱۴۰۲۸ ATCC)، کنترل منفی (اشریشیاکلی ۲۵۹۲۳ ATCC)، *agfA* (۲۶۱bp) و *mgtC* (۶۵۵bp)، ۷-۱؛ سویه های بالینی سالمونلا.**

## بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه ژن‌ها مورد مطالعه پروتئین‌هایی را کد می‌نمایند که در واکنش بین میزبان و باکتری دخالت می کنند و این پروتئین‌های تاثیرگذار (افکتور) نقش مهمی در بقا و تکثیر سالمونلا دارند. نتایج این مطالعه مشابه با مطالعه Alphons و همکاران (۱۵) نقش ژن های ویرولانس را در برهم کنش انگل-میزبان نشان می دهد. محصول ژن *agfA* با ایفای نقش در حرکت لغزشی ( Gliding motility) سبب اتصال باکتری به سلول های اپی تلیال و در نهایت باعث تجمع باکتری شده است. در ناحیه SPI3 کروموزوم اصلی باکتری ژن دیگری وجود دارد که پروتئینی به نام mgtC را کد می کند. این پروتئین در غلظت کم $mg^{2+}$ و شرایط رشد در درون ماکروفاژ تولید می شود و در انتقال یون منیزیم به درون باکتری نقش دارد. در این مطالعه ۲۴ (۴۰٪) جدایه به طور همزمان حامل ژن های *mgtC* و *agfA* بودند. این یافته ها با مطالعه Amini و همکاران متفاوت است که این اختلاف می تواند در نتیجه نوع نمونه (دامی در مقایسه با انسانی) باشد (۱۶). Gritli و همکاران (۱۷) دریافتند که تمامی سویه های (۱۰۰٪) سالمونلا انتریتیدیس جدا شده از جوجه حامل ژن *mgtC* بودند. در این مطالعه بیشترین میزان مقاومت به نیتروفورانتوئین (۸۵٪) و نالیدیکسیک اسید (۷۰٪) بودکه مشابه نتایج بدست امده از مطالعه Banisaeed و همکاران بوده است (۱۸). همچنین تمامی ۶۰ ایزوله (۱۰۰٪) بدست آمده در پژوهش حاضر به ایمی پنم، سیپروفلوکساسین و سفالکسین حساس بودند. لذا پیشنهاد می گردد آنتی بیوتیک های مذکور به عنوان گزینه درمانی (First choice) برای درمان عفونت ناشی از این سویه ها استفاده گردد. این نتایج با مطالعات انجام گرفته در آمریکا (۱۹) و انگلستان (۲۰) همخوانی دارد.

Spiliopoulou و همکاران (۲۱) نشان دادند که تمام ایزوله ها به سفتریاکسون و سیپروفلوکساسین حساس بودند که با مطالعه حاضر تطابق دارد. نتایج مقاومت به ایمی پنم در مطالعه پیش رو با مطالعه Ranjbar و همکاران(۲۲)، Soltan Dallal و همکاران(۲۳)، Diniz-Santos و همکاران (۲۴) همخوانی دارد. Ranjbar و همکاران (۲۲) تایید نمودند که استفاده بیش از حد و یا انتقال عناصر مقاومت مانند پلاسمید در بین گونه ها انسانی سالمونلا می تواند دلیل بروز مقاومت باشد.

## تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد ساوه و آزمایشگاه میکروب شناسی پاسارگاد و کلیه همکارانی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

[ DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.10.6.8 ]
[ DOI: 10.22088/jbums.18.10.40 ]

# Molecular Identification of Virulence Genes (*agfA* and *mgtC*) in *Salmonella Typhimurium* Strains Isolated from Children with Gastroenteritis Using Multiplex PCR Method and Determination of Their Antibiotic Susceptibility Pattern

**S. Amiri (MSc)[1], Gh. Moradli (PhD)*[2]**

1.Islamic Azad University, Saveh, I.R.Iran.

2.Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University of Saveh, I.R.Iran

**J Babol Univ Med Sci; 18(10); Oct 2016; PP: 40-5**

**Received: May 15th 2015, Revised: Jun 1st 2016, Accepted: Jul 6th 2016.**

## ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Gastroenteritis caused by *salmonella* is common in humans and is regarded as a global public health issue. The aim of this study is to identify *agfA* and *mgtC* genes in *salmonella typhimurium* strains isolated from stool samples using multiplex PCR method and to determine the resistance patterns of these strains.

**METHODS:** This cross-sectional study was conducted on *salmonella typhimurium* isolated from children with gastroenteritis admitted to Children's Hospital Medical Center in Tehran. Frequency of *agfA* and *mgtC* genes was evaluated using multiplex PCR method. In addition, antibiotic susceptibility of these isolates was studied using gel diffusion method and according to CLSI guidelines.

**FINDINGS:** Of total 200 stool samples, 60 *salmonella typhimurium* isolates were obtained. Molecular analysis showed that 24 isolates contained both *agfA* and *mgtC* genes at the same time, while 52 isolates contained *mgtC* gene and 40 isolates carried *agfA* gene. All strains (100%) were susceptible to ciprofloxacin and 85% of strains were resistant to nitrofurantoin.

**CONCLUSION:** Results of the study demonstrated that most frequent virulence gene in these strains was *mgtC* (86.6%) and the least frequent virulence gene was *agfA* (66.6%). Moreover, it was concluded that these isolates were 100% susceptible to ciprofloxacin and were the most resistant to nitrofurantoin (85%).

**KEY WORDS:** *Salmonella typhimurium, mgtC and agfA genes, Antibiotic susceptibility*.

**Please cite this article as follows:**

Amiri S, Moradli Gh. Molecular Identification of Virulence Genes (agfA and mgtC) in Salmonella Typhimurium Strains Isolated from Children with Gastroenteritis Using Multiplex PCR Method and Determination of Their Antibiotic Susceptibility Pattern. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(10):40-5.

***Corresponding author: Gh. Moradli (PhD)**

**Address:** Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, I.R.Iran

**Tel:** +98 86 42433342

**E-mail:** Moradli.mic@gmail.com

[ DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.10.6.8 ]

[ DOI: 10.22088/jbums.18.10.40 ]

## References

1.Ranjbar R, Salimkhani E, Sadeghifard N, Yazdi JZ, Morovvati S, Jonaidi N, et al. An outbreak of gastroenteritis of unknown origin in Tehran, July 2003. Pak J Biol Sci. 2007; 10(7):1138-40.

2.Su LH, Wu TL, Chia JH, Chu C, Kuo AJ, Chiu CH. Increasing ceftriaxone resistance in Salmonella isolates from a university hospital in Taiwan. J Antimicrob Chemother. 2005; 55(6):846-52.

3.Halawani E, Shohayeb M. Molecular characterization of multiple antibiotic resistance in salmonella enterica serovar typhimurium and eenteritidis isolated in saudi arabia. World J Med Sci. 2008; 3(2):65-70.

4.Guerra B, Soto S, Helmuth R, Mendoza MC. Characterization of a self-transferable plasmid from Salmonella enterica serotype Typhimurium clinical isolates carrying two integron-borne gene cassettes together with virulence and drug resistance genes. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46(9):2977-81.

5.Ebner PD, Mathew AG. Three molecular methods to identify *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104: PCR fingerprinting Multiplex PCR and rapid PFGE. FEMS Microbiol Lett. 2001; 205(1):25-9.

6.Sang Y, Ren J, Ni J, Tao J, Lu J, Yao YF. Protein acetylation is involved in salmonella enterica serovar typhimurium virulence. J Infect Dis. 2016; 213(11): 1836-45.

7.Oueslati W, Rjeibi MR, Mhadhbi M, Jbeli M, Zrelli S, Ettriqui A. Prevalence, virulence and antibiotic susceptibility of Salmonella spp. strains, isolated from beef in Greater Tunis (Tunisia). Meat Sci. 119; 2016:154-9.

8.Afshari-Nic S, Zahraei-Salehi T, Jamshidi A. Detection of salmonella spp contamination of carcasses salaughtered in poultry abattoir in Mashhad, Iran. Arch Razi Ins. 2007; 62(4):229-33.

9.Ranjbar R, Mirzaee A. Determining of the variety of genotypes in Salmonella Typhimurium by ERIC-PCR. J Babol Univ Med Sci. 2013; 15(1):51-7.[In Persian]

10.Jeníková G, Pazlarová J, Demnerová K. Detection of Salmonella in food samples by the combination of immunomagnetic separation and PCR assay. Int Microbiol. 2010;3(4):225-9.

11.Karami A, Ranjbar RE, Ahmadi Z, Safiri Z. Rapid detection of different serovares of Salmonella entrica by multiplex PCR. Iran J Pub Health. 2007;36(2):38-42.

12.Nikbakht Gh, Tajbakhsh H. Study of salmonella plasmid virulence genes (spv) in Salmonella enterica serovars isolated in Iran. J Vet Res. 2004; 59(2):137-40.

13.Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement. M100-S25. 2015; 35(3): 44-50. Available from: http://shop.clsi.org/site/Sample_pdf/M100S25_sample.pdf

14.Namimatsu T, Asai T, Osumi T, Imai y, Sato S. Prevalence of the virulence plasmid in *Salmonella* Typhimvrium isolates from pigs. J Vet Med Sci. 2006;68(2).187-8.

15.van Asten AJ, van Dijk JE. Distribution of ‘‘classic’’ virulence factors among *Salmonella* spp. FEMS Immunol Med Microbiol. 2005; 44(3):251-9.

16.Amini K, Zahraei Salehi T, Nikbakht G, Ranjbar R, Amini J, Ashrafganjooei SB. Molecular detection of *invA* and *spv* virulence genes in Salmonella enteritidis isolated from human and animals in Iran. Afr J Microbiol Res. 2010; 4(21): 2202-10.

17.Gritli A, Daboussi T, Ben Moussa M, Abassi MS. Prevalence and characterizaton of *Salmonella* in chicken consumed in military cantines. J New Sci. 2015; 12: 908-14.

18.Banisaeed SR, Aslani MM, Nikbin VS, Faezi M, Shahcheraghi F. Antibiotic resistant pattern in salmonella spp. isolated from clinical samples in Tehran. Iran J Infect Dis Tropic Med. 2011;16(55):39-45. [In Persian]

19.Travers K, Michael B. Morbidity of infections caused by antimicrobial-resistant bacteria. Clin Infect Dis. 2002;34(Suppl 3):S131-4.

[ DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.10.6.8 ]
[ DOI: 10.22088/jbums.18.10.40 ]

20.Meakins S, Fisher IS, Berghold C, Gerner-Smidt P, Tschäpe H, Cormican M, et al. Antimicrobial drug resistance in human nontyphoidal Salmonella isolates in Europe 2000-2004: a report from the Enter-net International Surveillance Network. Microb Drug Resist. 2008; 14(1):31-5.

21.Spiliopoulou I, Zografou S, Goula A, Dimitracopoulos G, Christofidou M. Molecular epidemiology and antibiotic resistance patterns of *Salmonella enterica* from southwestern Greece. Chemotherapy. 2007; 53(6):392-6.

22.Ranjbar R, Naghoni A, Izadi M, Jonadi Jafari N, Panahi Y. Isolation and antibiotic resistance pattern determination of Salmonella typhimurium. J Mil Med. 2009; 11(2): 115-8. [In Persian]

23.Soltan Dallal MM, Rastegar Lari A, Sharifi Yazdi MK. Pattern of serotyping and antibiotic resistance of Salmonella in children with diarrhea. J Gorgan Univ Med Sci. 2014;16(1):100-5. [In Persian]

24.Diniz-Santos DR, Santanal JS, Barretto JR, Andrade MGM, Silva LR. Epidemiological and Microbiological Aspects of Acute Bacterial Diarrhea in Children from Salvador, Bahia, Brazil. Braz J Infect Dis. 2005; 9(1):77-83.

[ DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.10.6.8 ]
[ DOI: 10.22088/jbums.18.10.40 ]