جداسازی مولکولی سالمونلا از مدفوع گربه‌های ولگرد شهر تهران با استفاده از روش زنجیره‌ای پلی مراز

فرنوش صادقی‌وفا[۱]، سیامک مشهدی‌رفیعی*[۲]، محمود جمشیدیان[۳]

چکیده

این بررسی به منظور اطلاع از میزان آلودگی مدفوعگربه‌های ولگرد سطح شهر تهران به سالمونلا طراحی و انجام گردید. جهت نیل به این هدف از ۱۰۰ قلاده گربه ولگرد که توسط افراد حامی حیوانات از مناطق مختلف شهر تهران به کلینیک‌های دامپزشکی منتخب ارجاع داده شده بودند، نمونه‌برداری از مدفوع صورت پذیرفت. از سه روش کشت معمول، آزمون‌های سروتایپینگ و روش‌های مولکولی واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز تک گانه و چندگانه جهت تشخیص جنس و تعیین سرووار بهره گرفته شد. نمونه‌ها پس از قرار گرفتن در انکوباتور ۳۷°C به مدت ۲٤ ساعت به محیط‌های کشت انتخابی نظیر رامباخ و در صورت ظهور کلنی مشکوک، در محیط‌های افتراقی نظیرTSIکشت و پس از ۲٤ ساعت دیگر نتایج بررسی گردید. در روش کشت، از یک قلاده بچه گربه ماده حدودا ۲ ماهه نژاد مخلوط مبتلا به اسهال خونی و دهیدراسیون شدید باکتری سالمونلا جداسازی گردید. نمونه‌ی مدفوع این بیمار و تمامی موارد مشکوک حاصل از کشت را با استفاده ازروش‌های مولکولی (M-PCR و PCR)مورد ارزیابی قرار داده، که در نتیجه این اقدام یک مورد دیگر باکتری سالمونلا مربوط به یک قلاده گربه ماده یک ساله بدون علائم بالینی شناسایی گردید. با توجه به نتایج آزمایشات سروتایپینگ، هر دو جدایه در گروه سرمی D1 قرارگرفته‌اند. نظر به اینکه سالمونلا انتریتیدیس یکی از مهمترین علل مسمومیت غذایی در انسان می باشد و منابع دامپزشکی آن شامل گله‌های طیور و محصولات کشتارگاهی می باشد، به نظر می‌رسد جداسازی دو مورد سالمونلا به علت دسترسی گربه‌های ولگرد با چنین منابعی می باشد.

واژگان کلیدی: *سالمونلا انتریتیدیس، سروتایپینگ، گربه، تهران*

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۱٦ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۱۰

مقدمه

سالمونلا از دسته باکتری‌های روده‌ای، گرم منفی، بی هوازی اختیاری بوده و یکی از عوامل ایجاد بیماری در حیوانات و بروز مسمومیت‌های غذایی در انسان می‌باشد. سرووارهای مختلف باکتری از نظر میزان بیماریزائی در انسان وحیوانات متفاوت می‌باشند (۱٤). تاکنون متجاوز از ۲٦٦۳ سرووار شناسایی شده‌اند که تنوع بیوشیمیایی و سرولوژیکی قابل ملاحظه‌ای دارند(۱۲). سالمونلاها در خاک مرطوب و مدفوع انسان و دام تا ۹ ماه بقاء می‌یابند. سالمونلاها در رطوبت های نسبتا پایین‌تر مدت طولانی‌تری زنده می‌مانند. به همین لحاظ جستجوی سرووارهای جدیدتر سالمونلا مورد توجه بوده و یکی از اهداف این تحقیق به شمار می‌آید. *سالمونلا انتریتیدیس*اغلب باعث مسمومیت غذایی در انسان می‌گردد، ولی مشکلاتی مانند سپتی‌سمی شدید یا عفونت‌هایی مثل مننژیت نخاع و آبسه‌های زیرجلدی ناشی از آن شناخته شده است(۷). *سالمونلا انتریتیدیس* جزء سه سرووار با اهمیت و غالب در اکثر کشورهای جهان در انسان می باشد(۲). مخزن اصلی این سرووار گله‌های طیور، گوشت و تخم‌مرغ خام آلوده بوده و منبع مهمی جهت عفونت‌های انسانی محسوب می‌گردند(۳). سالمونلوز یکی از مهمترین بیماری‌های عفونی می‌باشد که گسترش جهانی دارد و در انسان و گونه‌های مختلف حیوانات به فرم‌های مختلفی ظاهر می‌گردد. سه سرووار شایع این باکتری در حیوانات و انسان شامل سالمونلا اینفنتیس، تیفی موریوم و انتریتیدیس می‌باشد. نشانی‌های عمده بیماری شامل عفونت‌های روده‌ای در حیوانات، مسمومیت‌های غذایی و گاستروآنتریت در انسان می‌باشد. تشخیص و شناسایی سالمونلوز از نظر بالینی مشکل است، چون معمولاً علایم آن با بسیاری از بیماری‌های دیگر مشابهت دارد و جراحات آن هیچ کدام مشخصه بیماری نیست، لذا نیاز به تشخیص آزمایشگاهی دارد(۱).

۱- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم وتحقیقات، تهران، ایران
۲*- گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم وتحقیقات، تهران، ایران
Sr1vet@yahoo.com
۳- گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم وتحقیقات، تهران، ایران

مواد و روش کار

در این مطالعه، از ۱۰۰ قلاده گربه ولگرد که از ۵ منطقه‌ی شمال، جنوب، شرق، غرب و مرکز تهران توسط افراد حامی حیوانات به کلینیک‌های دامپزشکی ارجاع شده بودند، یک نمونه مدفوع تازه و یا سوآب رکتال تهیه گردید.

الف)روش کشت

نمونه‌های اخذ شده در قوطی مخصوص جمع‌آوری نمونه نگهداری و در محیط راپاپورت کشت و به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۷C° نگه‌داری شد. سپس از محیط مزبور با رعایت شرایط عاری از عفونت با استفاده از لوپ مجددا در محیط‌های انتخابی شامل سالمونلا- شیگلا آگار ، کروم آگار سالمونلا، رامباخ و XLD و مک کانکی آگار به صورت خطی کشت داده شد. بعد از گذشت ۲٤ ساعت، از پرگنه های سیاه رنگ در SS ،پرگنه های بیرنگ با مرکز سیاه در XLD،پرگنه‌های صورتی در محیط رامباخ و پرگنه های بیرنگ در MAC نمونه‌هایی به محیط‌های بیوشیمیایی نظیرTSI، اوره، آبگوشت MR-VP و SIM انتقال داده شد. جهت جستجوی سالمونلا، نتایج آزمون‌های افتراقی با جداول رفرانس اختصاصی مطابقت داده- شد. همچنین جهت تعیین گروه سرمی از کشت ۲٤ ساعته و خالص باکتری در روی محیط TSI شیرابه غلیظی با سرم فیزیولوژی روی یک لام تمیز تهیه گردید و سپس آزمایش با سرم چند ارزشی O (پلی والان O) A-I یا سایر چند ارزشی‌ها روی یک سمت لام و آزمایش آگلوتیناسیون خود به‌خودی به تنهایی روی نیمه دیگر به عنوان شاهد جهت اطمینان از عدم آگلوتیناسیون خودبه‌خودی انجام شد و در صورتی که آگلوتیناسیون در کمتر از دو دقیقه مشاهده گردید، واکنش مثبت تلقی می‌شد. در این حالت آزمایش را با آنتی سرم مربوط به هر کدام از گروه‌های موجود در آنتی‌سرم چند ارزشی تکرار تا در نهایت، گروه سرمی سالمونلای جدا شده مشخص شد. جهت مشخص نمودن جنس سالمونلا از آنتی‌سرم‌تک ارزشی D وB استفاده گردید.

ب) بررسی مولکولی برای جستجوی سالمونلا از نمونه مدفوع

از کیت شرکت MBST بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده استفاده گردید.

ج)آزمونPCR برای تأئید ژن پلاسمید *invA*در سالمونلا

مزیت جستجوی ژن پلاسمید *invA* برای تایید جنس سالمونلا بوده و مراحل آن به شرح زیر می‌باشد:

آماده‌سازی نمونه به منظور انجام PCR:

در میکروتیوب‌های µl ۵۰ استریل پس از شماره‌گذاری بر روی در و بدنه‌ی آنها، ترکیبات مشخص شده در جدول ۱ به ترتیب اضافه شد.

جدول ۱. ترکیبات وارده به میکروتیوب‌ها به منظور انجام PCR

ترکیبات	حجم
Master mix	۱۲/۵µl
inv A_F	۱µl
inv A_R	۱µl
DNA	٤ µl
D.W	٦/۵µl

در این تحقیق ازMaster MiX۲X آماده ساخت شرکت سیناژن با کت کد PR901638 استفاده گردید(جدول ۲).

جدول ۲ـ محتویات PCR Master mix

$MgCl_2$	**۳mM**
dATP	**۰/٤mM**
dTTP	**۰/٤mM**
dGTP	**۰/٤mM**
dCTP	**۰/٤ mM**
Taq DNA Polymerase	**۰/۰۸ units/µl**

نکته: هرترکیبی را قبل از استفاده کاملا مخلوط می‌کنیم.

سپس نمونه‌ها، در دستگاه ترموسایکل قرار داده و مطابق جدول ۳ مراحل آن انجام گرفت:

جدول۳. برنامه ترموسایکل جهت انجام ازمایش PCR

Initial denaturation	95˚ C , 1 min
Amplification (30 cycles)	Denaturation : 65˚ C , 60 sec Annealing 72˚ C , 30 sec Extension : 72˚ C , 120 sec
Final extention	72˚ C , 10 min

پس از الکتروفورز فرآورده‌های PCR و رنگ آمیزی ژل، بر روی صفحه دستگاه ژل داک قرار داده شد و نتایج مورد ارزیابی قرار گرفت.

د) PCR چندگانه‌ای جهت تأئید سالمونلا انتریتیدیس

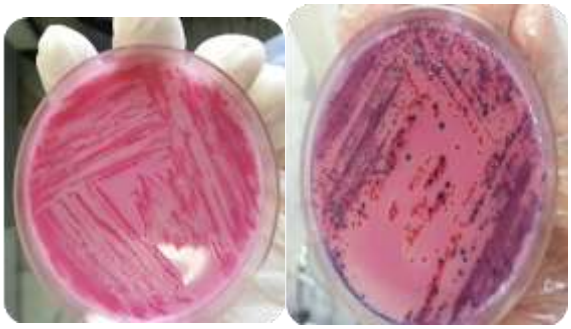
بر روی نمونه‌های سالمونلا جدا شده که از نظر سروتایپینگ دارای ساختار پادگنی سالمونلا بوده‌اند، جهت تشخیص جنس سالمونلا، آزمایش M-PCR انجام گردید. جهت انجام آزمون موردنظر از ۳ جفت آغازگر بهره گرفته شد (جدول ٤). پرایمرهای ST_{11} و ST_{14} بر مبنای ترادف اتفاقی با افزون‌سازی قطعه‌ای به وزن ٤٢٩ جفت باز جهت تشخیص جنس سالمونلا، پرایمرهای $SEFA_2$-$SEFA_4$ جهت تشخیص ژن sef_A اختصاصی فیمبریه سالمونلا انتریتیدیس با افزون‌سازی قطعهٔ به وزن ۳۱۰ جفت باز و پرایمرهای S_1-S_4 جهت تشخیص ژن مربوط به پلاسمید حدّت سالمونلا انتریتیدیس (*spv*) انتخاب گردید. به عنوان شاهد مثبت از یک جدایه بالینی طیور که توسط چندین نوع آنتی‌سرم از نظر سالمونلا انتریتیدیس تأئید شده بود، استفاده گردید. شاهد منفی شامل استافیلوکوکوس تأئید شده، که در آزمایشگاه نگهداری می‌شد، استفاده گردید. این آزمون نیز در یک واکنش ۲۵ میکرولیتری انجام گرفته شد : بافر PCR شامل: ۱/۵mM $MgCl_2$ ، ۱۰mMTris-HCL، ۲۵۰µmdNTPs، ۵۰mMKCl، پرایمرها هر کدام ۰/۵µm، آنزیم *Taq*DNA پلی‌مراز یک واحد و DNA الگو ۱۰ میکرولیتر از نمونه استخراج شده بود. برنامه M-PCR عبارت بود از ۳۵ سیکل شامل گام اول: واسرشت در ۹٤˚C به مدت ۳۰ ثانیه. گام دوم: اتصال در دمای ٥٦˚C به مدت ۹۰ ثانیه و گام سوم: امتداد در دمای ۷۲˚C به مدت ۳۰ ثانیه. در نهایت امتداد نهایی در ۷۲˚C به مدت ۱۰ دقیقه. محصول PCR به مدت ٦۰ دقیقه تحت ولتاژ ثابت ۱۱۰ ولت روی ژل آگارز ۱/۲ درصد الکتروفورز شد و پس از رنگ‌آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید(۰/۵ µg/ml)، قطعات تکثیر شده به صورت باندهای فلورسنت در دستگاه عکس‌برداری از ژل مشاهده گردید.

جدول ٤. ترادف نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده در PCR تأییدی جدایه‌های سالمونلا انتریتیدیس(٥).

طول	ژن هدف	طول محصول PCR
5’-GCCAACCATTGCTAAATTGGCGCA 5’GGTAGAAATTCCCAGCGGGTACTGG	Random[a] Sequence	٤۲۹
5’-GCCGTACACGAGCTTATAGA 5-ACCTACAGGGGCAATAAC	*Spv*[b]	۲٥۰
5’-GCAGCGGTTACTATTGCAGC 5’-TGTGACAGGGACATTTAGCG	*SefA*	۳۱۰

نتایج

سالمونلاها بیماریزائی خود را مدیون توانایی تهاجم بافتی و بقاء در داخل ماکروفاژها می‌باشند. شیوع عفونت سالمونلایی در سگ‌ها ٤ تا ٢٨٪ و در گربه‌ها صفر تا ١٤٪ می‌باشد. گزارشاتی مبنی بر فصلی بودن بیماری در دست است که وقوع آن در اواخر پاییز و اوایل زمستان بیشتر است. دفع واقعی جرم از طریق مدفوع اغلب انفرادی است و با استرس افزایش می‌یابد. نشانه‌های درمانگاهی به تعداد جرم، حالت حامل و حضور سایر بیماری‌ها بستگی دارد (١). دراین مطالعه از مجموع ١٠٠ نمونه مدفوع اخذشده، تنها یک مورد از نمونه مدفوع، باکتری سالمونلا براساس کشت جداسازی گردید(نگاره ١). مدفوع این بیمار و همچنین ٢٣ نمونه دیگر که در محیط رامباخ تغییر رنگ کلونی‌های مشکوک به سالمونلا ایجاد کرده بودند، از روش‌های دیگر (سروتایپینگ و PCR) مورد ارزیابی قرار گرفتند.



نگاره ١ـ نمونه‌ی سالمونلا مثبت یافت شده در محیط رامباخ

نتایج آزمایشات سروتایپینگ جهت تعیین گروه سرمی و تأئید آزمایش‌های بیوشیمیایی

براساس این آزمایش ٢ نمونه سالمونلا در گروه D_1 شناسایی گردید (نگاره٢).

نگاره ٢ـ سروتایپینگ سالمونلای جدا شده از نمونه‌ی گربه های ولگرد شهر تهران بر سطح لام

نتایج آزمون‌های PCR انجام شده جهت تایید تشخیص سالمونلا:

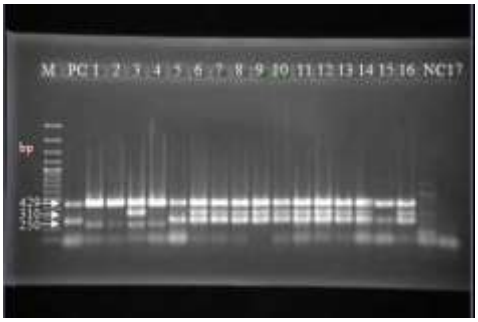
براساس نگاره٣ و ٤ دو نمونه سالمونلا تایید گردید.

نگاره ٣ـ تایید تشخیص سالمونلا با روش PCR.ستون ها از چپ به راست به ترتیب،ستون M : مارکر ١٠٠bp و ستونNC : شاهد منفی و ستون PC : شاهد مثبت (جدایه سالمونلا) و نمونه ٣٤ حاوی ژن*invA*(٢٨٤bp).

نگاره ٤ـ نتایج PCRحاصل از نمونه ٤٠ حاوی ژن*invA* (٢٨٤bp)، نمونه ٤٠ به منظور تایید قطعی تکرار شده است.

نتایج آزمون M-PCR

هر دو نمونه سالمونلا یافت شده بر اساس آزمایشات فوق، انتریتیدیس تشخیص داده شد(نگاره۵).



نگاره۵ : شناسایی سالمونلا انتریتیدیس با روش M-PCR با استفاده از ۳ جفت آغازگر: (ST_{11}-ST_{14} (۴۲۹bp) و ($SEFA_2$- (۳۱۰bp $SEFA_4$ و (S_1-S_4 (۲۵۰bp ستون M : مارکر ۱۰۰bp و ستون NC : شاهد منفی (استافیلوکوکوس) و ستون PC : شاهد مثبت (سالمونلا انتریتیدیس جدا شده از طیور) و ستون های ۱۵، ٤، ۲ و ۱: مربوط به گربه ماده یک ساله بدون علائم بالینی (به همراه ۲ باند)، ستون ١٦، ١٤، ۵ و ۳: مربوط به گربه ۲ ماهه دارای علائم بالینی (به همراه ۳ باند)

بحث

یافته‌های به دست آمده با توجه به منابع و مقالات مطالعه شده، کم نظیر و متفاوت می‌باشد. زیرا بر اساس اکثر منابع، سالمونلا شایع در گربه‌ها به ترتیب سالمونلا تیفی موریوم، هیدلبرگ، دابلین وانتریتیدیس مطرح شده است (۸)، درحالیکه سالمونلا انتریتیدیس جزء مهمترین عوامل ایجاد کننده مسمومیت‌های غذایی در انسان می‌باشد(۳). از جمله مهمترین مخازن این سرووار گله‌های طیور، گوشت و تخم-مرغ‌های خام آلوده می باشد(٤). همچنین گزارشات متعددی مبنی بر ابتلای جوندگان به این نوع سالمونلا *نیز وجود دارد*(۸). بنابراین به نظر می‌رسد که گربه‌های بیمار با توجه به راه‌های اپیدمیولوژیک ذکر شده، به احتمال زیاد این آلودگی را به علت تغذیه از مازادهای کشتارگاهی طیور و یا شکار جوندگان و پرندگان کسب کرده باشد. در مورد بالینی اول که مربوط به گربه ماده ۲ماهه می‌باشد، موضوع شکار جوندگان و پرندگانی نظیر گنجشک، کبوتر، کلاغ و نظایر آن و خوردن گوشت آن ها نیز متبادر به ذهن می‌شود، اما به لحاظ اینکه این گربه ۲ ماهه بوده و از جثه و قدرت کافی برای شکار موارد ذکر شده برخوردار نمی‌باشد، این فرض از احتمال بسیار کمتری برخوردار است. طی سالیان اخیر شاهد استقبال ایجاد موسسات مختلف و متعدد حمایت از حیوانات در سطح و اطراف شهر تهران بوده ایم و حتی افراد خیر و دلسوز شخصا اقدام به تهیه غذا جهت تغذیه پرندگان و گربه‌های ولگرد مخصوصا در ایام سرد سال می‌نمایند. در این راستا هزینه تهیه این اقلام همواره یک چالش جدی در این اقدامات خیریه و حمایتی است. به همین دلیل استفاده از ضایعات و مازادهای کشتارگاهی و غیر کشتارگاهی که به آلودگی‌های میکروبی متعددی از جمله انواع سالمونلا آغشته هستند می‌تواند مقرون به صرفه و رایج جلوه کند. گونه‌های مختلف سالمونلا از موارد انتریت، کولیت و عفونت‌های مزمن کبدی حیوانات مسن جدا شده است(۱). مواجه و انتقال بیمارستانی عفونت در حیوانات بستری شده هم گزارش شده است (۱۳).

Callegari و همکاران (۲۰۱٤) یک مورد جداسازی سالمونلا از ریه یک گربه نر ۵ ساله عقیم شده از نژاد مخلوط مبتلا به پنومونی شدید بدون درگیری روده را گزارش نمودند. این محققین علت درگیری ریه حیوان را مصرف سیکلوسپورین که باعث گسترش بیماری گردیده بود، اعلام داشتند (۹).

همچنین Van Immerseel و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی امکان انتقال سالمونلا از گربه به انسان از ۲۷۸ گربه سالم، ۵۸ گربه تلف شده و ۳۵ گربه که به صورت گروهی در خانه زندگی می‌کردند، با اخذ نمونه مدفوع از طریق سوآب رکتال و کشت در محیط BGو پیش غنی‌کننده رشد و سپس سروتایپینگ به نتایج ذیل دست یافتند: ٥١/٤ درصد درگروه

گربه‌های گروهی، ۸/٦٪ در گروه گربه‌های تلف شده و ۰/۳٦٪در گروه گربه های خانگی سالم سالمونلا را در ترشحات خود نشان دادند. سرو تایپ این سالمونلا ها شامل تایفی موریوم، انتریتیدیس و بوویس موربیفیکنس تشخیص داده شد(١٦).

Stiver و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی کالبدگشایی ۲ گربه مبتلا به گاستروآنتریت که در یک جا نگه داشته می‌شدند و توسط غذاهای خانگی و گوشت خام تغذیه می‌شدند، توانستند سالمونلا را از اندامهای مختلف حیوان جدا کنند. سروتایپ جدا شده، سالمونلا نیوپورت بوده که هم ازگربه ها و هم از غذای مصرفی آنها جدا گردید. این گزارش شاهدی بر تاثیر تغذیه با گوشت خام در گربه‌های اهلی مبتلا به سالمونلوز بالینی بوده است (۱۵).

Spain و همکاران (۲۰۰۱) در بررسی ۲٦۳ نمونه مدفوع گربه‌های ۱ تا ۱۲ ماهه، ۰/۸ درصد گربه ها آلوده به سالمونلا گزارش گردید(١٤). Hill و همکاران(۲۰۰۰) در بررسی سرمی و نمونه مدفوع ۸۷ گربه مبتلا به اسهال و ١٠٦ مورد گربه بدون اسهال، ۱ درصد آلوده به *سالمونلا* تایفی موریوم گزارش نمودند (۱۱). Fox و همکاران (۱۹۷۹) طی ۱۸ ماه با بررسی روی ١٤٩ قلاده گربه که به صورت تصادفی در چند ایالت مختلف آمریکا به منظور جستجوی سالمونلا در روده‌صورت گرفت به این نتیجه رسیدند که ۱۰ درصد گربه-ها مبتلا به سالمونلا بوده‌اند. همچنین در آزمایش سروتایپینگ، شیوع سالمونلاها را به ترتیب: سالمونلا دربی، تیفی موریوم، آناتوم، انتریتیدیس و بردینی اعلام داشتند(۱۰). بررسی سالمونلوز در گربه در کشور ایران بسیار محدود بوده و لذا نتایج خاصی گزارش نشده است. لذا آمار ارائه شده از بررسیهای صورت گرفته بر روی سگها به شرح زیر می‌باشد: طبق یک بررسی درصد آلودگی به سالمونلا در سگ‌های اطراف تهران ۲۹ /۱۲ درصد می باشد(۱).

روح الامینی و قاضی‌سعیدی طبق بررسی بر روی ٩٤ قلاده سگ مبتلا به اسهال حاد (که ٤٨ مورد آن اسهال خونی بود) ٤/٥٪ سگ‌ها علائم سالمونلوز بالینی را نشان دادند (۲).

در مطالعه دیگری میزان اشاعه سالمونلا در دستگاه گوارش سگ‌های دست آموز، میزان شیوع سالمونلا را یک درصد اعلام نمود (۱). نامداری در بررسی سالمونلوز بالینی در سگ های خانگی تهران گزارش نمود که در ۵/۹ درصد از موارد اسهال، سالمونلا به عنوان عامل اصلی ایجاد کننده بیماری است (٦).

بر اساس این تحقیق و مواردی که به آنها اشاره گردید می توان نتیجه گیری کردکه حیوانات خانگی و دست‌آموزی که با افراد در تماس نزدیک می‌باشند، می‌توانند از منابع احتمالی عفونت و آلودگی برای انسان باشند.

فهرست منابع

۱. آل داوود، ج. (١٣٨٦): اپیدمیولوژی، تشخیص و درمان بیماری-های باکتریایی سگ، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران، ١٢٠-١١٣.

۲. روح‌الامین، ر.، قاضی‌سعیدی، ک. (۱۳۷۱): بررسی سالمونلوز در سگ و اهمیت آن از نظر بهداشت عمومی، مجله دانشکده دامپزشکی تهران، ۵۷(۱).

۳. زهرائی‌صالحی، ت. (۱۳۷۸): سالمونلا، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران، صفحه: ۱۷۱-۱۸۲.

٤. زهرایی‌صالحی، ت.، شایق، ج. (١٣٨٦): میکروب شناسی دامپزشکی و بیماری‌های میکروبی، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران، ١٧٦-١٨٦.

۵. کیوانفر، ه. (١٣٤٧): گزارش یک واگیری کشنده سالمونلوز در قناری و مرغ عشق، مجله دانشکده دامپزشکی تهران، ٢٤(٢): ١٠١-١٠٧.

٦. نامداری،ا.(۱۳۷۹): بررسی سالمونلوز کلینیکی در سگ‌های خانگی شهر تهران، چهارمین کنگره ملی بیماری‌های قابل انتقال بین حیوان و انسان، ١٣٧-١٣٦

۷. فیروز بخش، ف. (۱۳۷۸): یافته‌های نوین در بیماری‌های مشترک انسان و دام، چاپ اول، انتشارات مرکز نشر دانشگاهی، تهران، ایران، ۳۰۷-۳۰۶.

8. Barrow, P.A., Methner, U. (2013): *Salmonella*in domestic animals 2th edition. Friedrich- Loeffler- Institut, Germany. P: 318-336.

9.Callegari, C., Palermo, G., Greco, M., Corrente, M., Piseddu, E., Auriemma, E. (2014): Pneumonia associated with *Salmonella* spp. infection in a cat receiving cyclosporine: Schzer. Arch. Für. Tiek. 156(10):499-503.

10. Fox, J., Beaucage, C. (1979): The incidence of *Salmonella* in random-source cats purchased for use in research: J. Infect. Dis. 139(3): 325-362.

11. Hill, SL., Cheney, J.M., Taton-Allen, G.F., Reif, J.S., Bruns, C., Lappin, M.R. (2000): Prevalence of enteric zoonotic organisms in cats: J. US. Vet. Med. Ass, 216(5):687-692.

12.Kinde, H., Read, D., Chin, R., Bickford, A., Walker, R., Ardans, A. (1996): *Salmonella enteritidis* phage type 4 infection in a commercial layer flock in southern California: Avian. Dis. 40(3): 665-671.

13. Russell, G. (1997): The 5-minute veterinary consult,canine and feline: Cana. Vet. J. 38(8): 522.

14. Spain, C.V., Scarlett, J.M., Wade, S.E., McDonough,P. (2001): Prevalence of enteric zoonotic agents in cats less than 1 year old in central NewYorkstate: J. Vet. Intern.Med. 15(1): 33-38.

15. Stiver, S.L., Frazier, K.S., Mauel, M.J., Styer, E.L. (2003): Septicemicsalmonellosis in two cats fed a raw-meat diet: J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 39(6) 342-538.

16. Van Immerseel, F., Pasmans, F., De Buck, J., Rychlik, I., Hradecka, H., Collard, J.M. (2004): Cats as a risk for transmission of antimicrobial drug-resistant salmonella. Emerg. Infect. Dis. 10(12): 2169-2174.