پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال نوزدهم، شماره ۵، پی در پی ۱۰۱، صفحات ۲۳۵ تا ۲۴۳
آذر و دی ۱۳۹۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۱/۱۳
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۸/۲۱

بررسی تأثیر pH و درجه حرارت محیط بر نشانگرهای ویرولانس گونه‌های یرسینیا

دکتر محمد مهدی سلطان دلال[۱،۲]، سونیا سید امیری[۱]، دکتر محمدکاظم شریفی یزدی[*۳،۴]

۱. مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲. بخش میکروب‌شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳. مرکز تحقیقات زئونوز (بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوان)، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴. گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *یرسینیا انتروکلی‌تیکا* یک باکتری گرم منفی است که سویه‌هایی از آن در ایجاد اسهال در انسان دخیل هستند. با توجه به نقش نشانگرهای ویرولانس در بیماری‌زایی و عدم اطلاع کافی در خصوص تأثیر فاکتورهای محیطی مانند pH و دما بر این نشانگرها در گونه‌های یرسینیا، این مطالعه با هدف تعیین اثر pH و دما بر نشانگرهای ویرولانس یرسینیا انجام شده است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع تجربی و در طی دو مرحله روی ۱۲ سویه‌ی ویرولان و ۷ سویه‌ی غیرویرولان یرسینیا از گونه‌های انتروکلی‌تیکا، اینترمدیا، کریستنسنی و فردریکسنی که از منابع مختلف جدا شده بودند، انجام شد. در مرحله‌ی اول مطالعه، تأثیر pH و دما بر رشد باکتری و در مرحله‌ی دوم، تأثیر pH و دما بر مارکرهای ویرولانس با استفاده از تست‌های اتواگلوتیناسیون، وابستگی به کلسیم، کریستال ویوله، استفاده ازسالیسین- اسکولین، تهاجم سلولی Hep-2 و RPMI-1640 بررسی شد.

یافته‌ها: pH و دما، هر یک به طور مستقل، بر میزان رشد باکتری‌ها مؤثر بودند، درحالی‌که تأثیر متقابلی بر یکدیگر نداشتند. در ضمن، ویرولان و غیر ویرولان بودن سویه، بر میزان رشد مؤثر بود. نتایج نشان داد که دما بر ویرولانس مؤثر بوده درحالی‌که pH، تأثیری بر کاهش ویرولانس در باکتری نداشته است. همچنین، ۳ آزمون کریستال ویوله، RPMI-1640 و تهاجم سلولی جهت نشان‌دادن خاصیت ویرولانس سویه‌های یرسینیا، همخوانی بیشتری داشتند. در ضمن، تعدادی از سویه‌ها توانسته بودند در تمامی سطوح تیماری، ویرولانس خود را حفظ کنند که این مسأله ممکن است به علت پایداری پلاسمید ویرولانس این سویه‌ها باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج بدست آمده نشان داد که بر رشد باکتری، pH و دما، ولی بر ویرولانس باکتری، تنها دما تأثیر دارد.

واژگان کلیدی: *یرسینیا انتروکلی‌تیکا*، ویرولانس، pH، دما

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:
Soltan Dallal MM, Seyed Amiri S, Sharifi Yazdi MK. The effect of pH and environmental temperature on the virulence factors of Yersinia spp. Pejouhandeh 2014;19(5):235-243.

مقدمه

یکی از معضلاتی که هم‌اکنون برخی از کشورها با آن درگیرند، شیوع بیماری‌های عفونی نظیر اسهال به دلیل استفاده از مواد غذایی آلوده می‌باشد. این امر هنگامی اتفاق می‌افتد که صنایع غذایی از نظر بسته‌بندی و افزودن مواد نگهدارنده، بسیار پیشرفت کرده است. شاید یکی از دلایل ظهور بیماری‌هایی نظیر یرسینیوز (Yersiniosis) نیز، همین علت باشد (۲،۱). در جایی که این باکتری در کنار فلور مواد غذایی جایی برای ظهور ندارد، استفاده از روش‌هایی نظیر سرماگذاری، قلیایی کردن مواد غذایی و افزودن مواد نگهدارنده باعث می‌شود فلور مواد غذایی از بین رفته و در عوض، باکتری‌های سرمادوستی نظیر یرسینیا، محیط را برای رشد و تکثیر خود مناسب ببینند (۵-۳).

در مطالعه‌ای که توسط Noble و همکارانش در سال‌های ۱۹۸۲ تا ۱۹۸۵ در کانادا انجام گرفت، محققین در طی ۴۲ ماه، ۲۱۵ نمونه‌ی مدفوع را جمع آوری کرده و به وسیله‌ی تکنیک غنی‌سازی در سرما و کشت، آنها را از لحاظ حضور گونه‌های یرسینیا مورد بررسی قرار دادند. از بین نمونه‌های

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر محمدکاظم شریفی یزدی؛ مرکز تحقیقات بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوان، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ تلفن: ۸۸۹۹۷۰۴۹ (۰۲۱)؛ پست الکترونیک: mksharifi@tums.ac.ir

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-31]

جمع‌آوری شده، تعداد ۱۳۲ مورد از نظر وجود گونه‌ی یرسینیا، مثبت بودند که از این تعداد، ۸۰ سویه *یرسینیا انتروکلی‌تیکا*، ۴۲ سویه *یرسینیا فردریکسنی*، ۸ سویه *یرسینیا اینترمدیا* و ۲ سویه *یرسینیا کریستنسنی* گزارش گردید (۶).

ویرولانس (virulence)، به معنای شدت درجه‌ی بیماری‌زایی در یک گونه از باکتری بوده و به عنوان نرخ مرگ و میر و یا توانایی ارگانیسم برای حمله به بافت‌های میزبان به کار می‌رود. میکروارگانیسم‌های پاتوژن روده‌ای، با یکی از دو مکانیسم تهاجم و یا سم‌زایی (invasive and toxigenic) بیماری ایجاد می‌کنند (۷). به طور کلی، قدرت تهاجم به توانایی ارگانیسم‌های پاتوژن جهت نفوذ در بافت‌های بدن، اطلاق می‌شود. البته باید توجه داشت که هر تهاجمی، موجب بیماری‌زایی نشده و بیماری‌زایی نیز فقط از طریق تهاجم، حاصل نمی‌شود. تهاجم و بیماری‌زایی در بیشتر باکتری‌ها بر پایه‌ی وجود پذیرنده‌هایی در سطح برخی از سلول‌های حیوانی و سطح باکتری‌ها بوده و این ارگانیسم‌های بیماری‌زا، از طریق همین پذیرنده‌ها به سطح سلول‌های میزبان متصل شده و بیماری‌زایی خود را نمایان می‌سازند (۹،۸). از طرفی، *یرسینیا انتروکلی‌تیکا* قابلیت تولید سم مقاوم به حرارت (heat-stable enterotoxin- ST) همانند *اشریشیا کلی* دارد که به دو زیرگروه ST1 و STT2 تقسیم می‌شود. بررسی‌های قبلی ما نشان داده است که این سم قادر است در روده‌ی بچه موش، گوانیلات سیکلاز را فعال نموده و موجب افزایش تجمع گوانین ۳ و ۵ مونوفسفات حلقوی شود (۱۰).

یرسینیوز در انسان عموماً در ارتباط با بیماری‌های گاستروانتریت همانند انتریت است که شایع‌ترین علایم بالینی آن شامل تب، دردهای شکمی و اسهال است (۱۱). بیماری‌زایی *یرسینیا انتروکلی‌تیکا* تحت کنترل چند ژن کروموزومی و پلاسمیدی با سایز ۴۴-۴۲ مگادالتون است. با از دست رفتن پلاسمید، ویرولانس نیز از بین می‌رود (۱۳،۱۲). گونه‌های مختلفی شامل انواع بیماری‌زا و غیربیماری‌زا، از مواد غذایی نظیر شیر خام، آب آشامیدنی کلردهی نشده، سبزی‌های تازه و گوشت خام یا نیم‌پز و صدف‌های خام جدا شده است (۱۶-۱۴). خوک، به عنوان مهمترین منبع این باکتری در طبیعت مطرح است و به همین علت، بیماری‌های ناشی از این ارگانیسم را زئونوز (Zoonosis) می‌دانند (۱۹-۱۷).

Noble و همکارانش، نشانگرهای ویرولانس شامل رشد وابسته به کلسیم، اتوآگلوتیناسیون، جذب کونگورد و اتصال به کریستال ویوله را بر این گونه‌های جداسازی شده بررسی کرده و نشان دادند که تمامی ۸۰ سویه‌ی *یرسینیا انتروکلی‌تیکای* جدا شده، نسبت به جذب کونگورد و واکنش اتوآگلوتیناسیون، مثبت، در حالی که تمام سویه‌های *یرسینیا کریستنسنی* جداسازی شده، نسبت به تمام مارکرهای ویرولانس انجام گرفته، منفی می‌باشند (۶). همچنین در مطالعه‌ای که توسط Prpic و همکارانش در سال ۱۹۸۵ در استرالیا انجام گرفت، تعداد ۱۳۶ نمونه ایزوله یرسینیا شامل ۱۱۲ عدد سوش *یرسینیا انتروکلی‌تیکا*، ۱۲ عدد سوش *یرسینیا فردریکسنی*، ۸ عدد سوش *یرسینیا اینترمدیا* و ۵ عدد سوش *یرسینیا کریستنسنی*، از لحاظ حضور فاکتورهای ویرولانس مانند جذب کونگو رد، اتوآگلوتیناسیون و وابستگی به کلسیم، مورد آزمایش قرار گرفتند (۲۰).

با توجه به مهمترین راه انتقال یرسینیا که از طریق مواد غذایی می‌باشد و اینکه ویرولانس یرسینیا تحت فاکتورهای محیطی قرار دارد (۲۱،۱۵،۱۴) و نظر به اهمیت فاکتورهای محیطی در بروز برخی خصوصات بیماری‌زایی میکروب‌ها، هدف از انجام این مطالعه، تعیین تأثیر pH و دما بر نشانگرهای ویرولانس در بیماری‌زایی گونه‌های مختلف یرسینیا بوده است.

مواد و روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر، از نوع تجربی بوده و طی دو مرحله، روی ۱۹ سویه‌ی یرسینیا از گونه‌های انتروکلی‌تیکا (۱۴)، اینترمدیا (۲)، کریستنسنی (۲) و فردریکسنی (۱) که از منابع مختلف مانند شیر خام ایران ۳ نمونه (۱۵/۸٪)، مدفوع ایران ۳ نمونه (۱۵/۸٪)، سبزی‌های ایران ۲ نمونه (۱۰/۵٪)، مدفوع فرانسه ۵ نمونه (۲۶/۳٪) و آب فرانسه ۶ نمونه (۳۱/۶٪) جدا شده بودند، انجام شد. در مرحله‌ی اول مطالعه، تأثیر pH و دما بر رشد باکتری و در مرحله‌ی دوم، تأثیر pH و دما بر نشانگرهای ویرولانس با استفاده از تست‌های اتواگلوتیناسیون، وابستگی به کلسیم، کریستال ویوله، استفاده ازسالیسین- اسکولین، تهاجم سلولی Hep-2 و RPMI-1640 بررسی شد. در کلیه‌ی مراحل آزمایش، از باکتری *E. coli* جدا شده از انسان، به عنوان شاهد استفاده گردید.

تست کریستال ویوله. ابتدا سویه‌هایی که جهت تست ویرولانس در نظر گرفته شده بودند (سویه‌های اولیه و سویه‌های تحت تیمار pH و دما)، در محیط TSB به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس با استفاده از استاندارد مک فارلند و سرم فیزیولوژی، رقتی از باکتری به میزان 10^3 cfu/ml تهیه و مقدار ۰/۱

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-31]

میلی‌لیتر از سوسپانسیون فوق، روی محیط BHIA پخش گردید. برای هر سویه، دو پلیت در نظر گرفته شد که یکی در دمای ۳۷ و دیگری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. کلنی‌های بنفش، مثبت و کلنی‌های بدون رنگ، منفی در نظر گرفته می‌شدند (۲۲).

تست RPMI-1640 آگار. ابتدا سوش‌ها در محیط TSB همانند شرایط فوق، آماده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، نگهداری شدند. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون فوق، به کمک آنس استریل، روی محیط RPMI-1640 آگار و TSA پخش شده و سپس پلیت‌ها در دمای ۲۵ یا ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت، نگهداری شدند. در محیط TSA که به عنوان شاهد به کار رفت، تمامی سویه‌های ویرولان و غیر ویرولان، کلنی‌هایی به یک اندازه (۳-۲ mm) تولید می‌کنند. در حالی‌که در محیط RPMI-1640 آگار، سویه‌های ویرولان، کلنی‌های نوک سوزنی و سویه‌های غیر ویرولان، کلنی‌های بزرگ (تقریباً هم‌اندازه‌ی کلنی‌های شکل گرفته در محیط TSA) تشکیل می‌دهند (۲۳).

تست وابستگی به کلسیم. همانند روش فوق، سوش‌ها در محیط TSB آماده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون فوق، روی محیط BHI آگار و BHIO آگاروز به صورت سطحی کشت داده و سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، نگهداری شدند. سویه‌های ویرولان، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در حضور منیزیم، به علت داشتن پلاسمید ویرولانس، در محیط فاقد کلسیم (محیط BHIO)، کلنی‌های نوک سوزنی تشکیل می‌دهند. این در حالی است که همین سویه‌ها در همان دما ولی روی محیط BHIA، به علت وجود کلسیم، کلنی‌ها بزرگ تشکیل می‌دهند. همچنین، سویه‌های غیر ویرولان، روی دو محیط BHIA و BHIO، کلنی‌های بزرگ و مشابه تشکیل می‌دهند که ناشی از عدم وابستگی رشد سلول‌های غیر ویرولان به کلسیم می‌باشد (۲۴).

تست اتوآگلوتیناسیون. ابتدا سویه‌های مورد نظر، روی محیط TSA به طور مستقیم کشت داده شده و به مدت ۲ تا ۳ روز در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد و یک لوله‌ی دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت نگهداری و سپس سویه‌ها از نظر اتوآگلوتیناسیون، مورد بررسی قرار گرفتند. در لوله‌های مثبت، مایع رویی کاملاً شفاف است ولی در انتهای لوله قطعات دلمه (فولکوله) وجود دارد که حتی با تکان دادن، در محیط حل نمی‌شوند. اما در لوله‌های منفی، مایع رویی کدر بوده و ظاهر دلمه وجود ندارد. سویه‌های ویرولانس فقط در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، اتوآگلوتیناسیون دارند و در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد، چنین رویدادی دیده نمی‌شود. در ضمن، سویه‌های غیر ویرولان، در هیچ‌یک از دو دما، اتوآگلوتیناسیون نمی‌دهند (۲۵).

تست سالیسین و اسکولین. سویه‌های مورد آزمایش، به صورت سطحی و عمقی توسط آنس سوزنی، روی محیط اسکولین آگار کشت داده می‌شوند. همچنین، سویه‌ها به محیط سالیسین اضافه شده و سپس در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری می‌شوند. سویه‌های ویرولان معمولاً سالیسین و اسکولین منفی هستند. یعنی هیچ تغییر رنگی روی محیط مذکور دیده نمی‌شود، درحالی‌که سویه‌های غیر ویرولان، عموماً مثبت بوده و محیط سالیسین را بعد از سپری شدن مدت انکوباسیون، به رنگ زرد در می‌آورند. همچنین، با استفاده از اسکولین روی محیط اسکولین آگار، باعث آزاد شدن آهن موجود در محیط و ایجاد رسوب سیاه‌رنگ می‌شوند (۲۶).

کشت سلولی Hep-2. این روش برای بررسی تماس بین سلول‌های Hep-2 و باکتری‌ها و همچنین به حداقل رساندن باکتری‌های خارج سلولی آزمایش، طی دو مرحله‌ی متوالی، انجام گردید.

الف) مرحله‌ی عفونی نمودن سلول‌های Hep-2. ابتدا محیط کشت سلول‌های Hep-2 موجود در لوله‌های درپیچ‌دار (leighthon tube) را که قبلاً تهیه شده بودند، خالی کرده و سلول‌ها با ۱/۵ میلی‌لیتر Earle's salt گرم، شستشو داده شدند. پس از چند دقیقه، آن را خالی نموده و به آن ۱/۵ میلی‌لیتر محیط مخصوص این مرحله (Infection medium) که در واقع همان MEM بدون آنتی‌بیوتیک حاوی باکتری است، اضافه گردید. سپس لوله‌ها به طور افقی به مدت ۳ ساعت در اتوکلاو ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. به این ترتیب در طول ۳ ساعت، باکتری‌های مهاجم، با استفاده از قدرت تهاجمی خود، وارد سلول‌ها می‌شوند. پس از ۲ ساعت، محیط کشت سلولی که در اثر رشد باکتری‌ها، زرد رنگ شده (تغییر pH محیط)، دور ریخته و سلول‌ها چندین بار (۵ یا ۶ بار) با Earle's salt گرم، به آرامی شستشو داده شدند.

ب) مرحله رشد داخلی سلولی. پس از شستشوی سلول‌های Hep-2 با Earle's salt، یک بار دیگر سلول‌ها با ۱/۵ میلی‌لیتر محیط مخصوص مرحله‌ی ۲ یعنی محیط رشد داخلی سلول گرم، شستشو داده شده و پس از اضافه کردن ۱/۵ میلی‌لیتر از محیط فوق به سلول‌های Hep-2، لوله‌ها به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد به طور افقی

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-31]

قرار داده شدند. در طول این مدت، باکتری‌های مهاجم کـه در مرحله‌ی اول وارد سلول‌های Hep-2 شده بودند، به طور داخل سلولی شروع به تکثیر نموده و فضای سلولی را پـر مـی‌کننـد. بهتر است هر یک ساعت، تغییر رنگ محیط که نشـانه‌ی رشـد باکتری‌های خارج سلولی است، کنترل و در صورت تغییر رنگ محیط، مجدداً سلول‌ها سه مرتبه با ۱/۵ میلـی‌لیتـر Earle's salt گرم شستشو داده شده و پس از آن، ۱/۵ میلی‌لیتر محیط رشد داخل سلولی، به سلول‌هـا اضـافه گـردد. پـس از سـپری شدن ۴ ساعت، محیط کشت سلولی دور ریخته شد و سلول‌ها سه بار با Dublecco's PBS گرم به آرامی شسـته و بـه ایـن ترتیب، لامل حاوی سلول‌هـای Hep-2 آمـاده‌ی رنـگ‌آمیـزی شدند (۲۷).

بررسی میکروسـکوپی لام‌هـای تهیـه شـده. لام‌هـا بـا بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰، زیر میکروسکپ بررسی شدند. چنانچـه در سلول‌هـای Hep-2 در ۲۰ الـی ۳۰ میـدان دیـد، بـیش از ۱۰ بـاکتری در هـر میـدان مشـاهده شـده گـردد، *یرسـینیا انتروکلی‌تیکا* مثبت در نظر گرفته می‌شود.

یافته‌ها

این مطالعه طی دو مرحله انجام گرفته است. مرحلـه‌ی اول شامل تـأثیر pH و دماهـای مختلـف روی گونـه‌هـای مختلـف یرسینیا بود. بیشترین میـزان رشـد در pH=۷ مشـاهده شـد. میزان رشد در pH های ۵ و ۹، کمتر و کاملاً مشـابه هـم بـود. این روند در مورد سویه‌های ویرولان و غیر ویـرولان، بـه طـور کاملاً یکسان، مشاهده شد. تأثیر دماهای ۴، ۲۰ و ۳۷ درجـه‌ی سانتی‌گراد بر میزان رشد، کاملاً متفاوت از یکـدیگر بـود و هـر یک تأثیر خاصی روی میزان رشد داشت. اثر دما بر میزان رشد باکتری‌هـا نشـان داد کـه بیشـترین میـزان رشـد در دمـای ۴ درجـه‌ی سـانتی‌گـراد و کمتـرین آن در دمـای ۳۷ درجـه‌ی سانتی‌گراد صورت گرفته است. سویه‌های ویرولان نیز بیشترین رشد را در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد از خود نشان دادند و به ترتیب این میزان در دماهای ۲۰ و ۳۷ درجـه‌ی سـانتی‌گـراد، کاهش یافت. همین روند رشد، در مورد سویه‌های غیرویـرولان نیـز مشـاهده شـد. در مرحلـه‌ی دوم مطالعـه، از هفـت تسـت ویرولانس استفاده شد. نتایج تست کریستال ویولـه و RPMI-1640 نشان‌دهنده‌ی ۱۲ سویه‌ی مثبت و ۷ سویه‌ی منفی بود. برعکس، در تست وابستگی به کلسیم، ۷ سـویه‌ی مثبـت و در تست اتواگلوتیناسـیون، تنهـا یـک سـویه‌ی مثبـت، مشـخص گردیـد. در تسـت سالیسـین- اسـکولین، ۱۰ تسـت مثبـت و سرانجام در تست تهاجم سلولی Hep-2، ۱۲ سـویه‌ی مثبـت، مشخص گردید. قدرت تهاجم به سلول در دو دمـای ۲۵ و ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد بررسی شد. تمامی سـویه‌هـا در دمـای ۳۷ درجـه‌ی سـانتی‌گـراد، منفـی ولـی در دمـای ۲۵ درجـه‌ی سانتی‌گراد، مثبت بودند (جدول ۱).

جدول ۱. بررسی میزان پراکندگی گونه‌های ویرولانس یرسینیا برحسب نوع نمونه.

منبع جداسازی	گونه یرسینیا							
	سویه‌های بومی ایران				سویه‌های غیر بومی ایران			
	Y.e	Y.i	Y.k	Y.f	Y.e	Y.i	Y.k	Y.f
مدفوع انسان	۳	-	-	-	۳	-	-	-
آب	-	-	-	-	۱	۱	۱	-
سبزیجات	-	-	-	-	-	-	-	-
شیر	۳	-	-	-	-	-	-	-

Yersinia enterocolitica (Y.e)، *Yersinia frederiksenii* (Y.f)، *Yersinia kristensenii* (Y.k)، *Yersinia intermedia* (Y.i)

گونـه‌های ویـرولان جـدا شده از مدفوع، چـه بـومی و چـه غیـر بـومی، مربـوط بـه *Y. enterocolitica* بـود. همچنـین، نمونه‌های شیر بومی ایران نیـز از گونـه‌ی انتروکلـی‌تیکـا بـود. درحالی‌که گونه‌های غیربـومی ویـرولان از منبـع آب، بـه سـه گونه‌ی اینترمـدیا، انتروکلـی‌تیکـا و کریستنسـنی مربـوط بـود (جدول ۲). همانطور که پیش از این توضیح داده شد، تعـدادی از سویه‌هایی که تحت تیمارهای مختلف pH و دما قرار گرفته بودند به طور کامل ویرولانس خود را از دست داده بودند ولـی عده‌ای نیز توانسـته بودنـد ویـرولانس خـود را حفـظ نماینـد. جدول ۳، نشان‌دهنده‌ی سویه‌های بـومی و غیربـومی ویـرولان تحت تیمارهای مختلـف pH و دمـا بـوده و وضـعیت پایـداری ویرولانس این سویه‌ها را نشان مـی‌دهـد. اصـطلاح ویـرولانس کاملاً مثبت، نمایانگر سویه‌هایی اسـت کـه ویـرولانس خـود را کـاملاً حفـظ کـرده و اصـطلاح ویـرولانس کـاملاً منفـی، نشان‌دهنده‌ی سویه‌هایی است که ویـرولانس خـود را کـاملاً از دست داده‌اند. در میان آزمـون‌هـای انجـام شـده، سـه آزمـون

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-31]

کریستال ویوله، RPMI-1640 و تهاجم سلولی، جهت نشان دادن خاصیت ویرولانس سویه‌های پرسینیا، همخوانی بیشتری دارند. همچنین، تمامی آزمون‌ها در خصوص سویه‌ی *اشریشیا کلی* که به عنوان کنترل استفاده شده بود، منفی بودند. این نتیجه، اختصاصی بودن این آزمون‌ها را نسبت به سوش‌های پرسینیا نشان می‌دهد.

جدول ۲. نتایج حاصل از تست‌های ویرولانس در گونه‌های پرسینیا *.

سویه	نوع گونه (تعداد سویه)	منبع جداسازی	کریستال ویوله	RPMI-1640	وابستگی به کلسیم	اتواگلوتیناسیون	سالیسین/ اسکولین	تهاجم سلولی
۱	(۱۴) *Y. enterocolitica*	نمونه‌های شیر ایران (۳) نمونه‌های مدفوع ایران (۳) نمونه‌های سبزیجات ایران (۱) نمونه‌های آب فرانسه (۳) نمونه‌های مدفوع فرانسه (۴)	+(۱۰) -(۴)	+(۱۰) -(۴)	+(۶) -(۸)	+(۰) -(۱۴)	+/+(۶) -(۸)	+(۱۰) -(۴)
۲	(۱) *Y. frederiksenii*	نمونه‌های سبزیجات ایران	-(۱)	-(۱)	-(۱)	-(۱)	+/+(۱)	-(۱)
۳	(۲) *Y. intermedia*	نمونه‌های آب فرانسه	+(۱) -(۱)	+(۱) -(۱)	+(۱) -(۱)	+(۱) -(۱)	+/+(۲)	+(۱) -(۱)
۴	(۲) *Y. kristensenii*	نمونه‌های آب فرانسه	+(۱) -(۱)	+(۱) -(۱)	-(۲)	-(۲)	+/-(۱) +/+(۱)	+(۱) -(۱)
۵	(۱) *E. coli*	عفونت انسانی	-	-	-	-	-/-	-

* اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده‌ی تعداد است.

جدول ۳. مقایسه‌ی سویه‌های ویرولانس بومی و غیر بومی از نظر پایداری ویرولانس.

مکان جداسازی	سویه‌های بومی ایران			سویه‌های غیربومی ایران		
	ویرولانس کاملاً مثبت	ویرولانس کاملاً منفی	ویرولانس نسبی	ویرولانس کاملاً مثبت	ویرولانس کاملاً منفی	ویرولانس نسبی
تعداد	۳	۲	۱	۲	۲	۲
درصد فراوانی	٪۲۵	٪۱۶/۶۷	٪۸/۳۳	٪۱۶/۶۷	٪۱۶/۶۷	٪۱۶/۶۷

بحث

در این مطالعه تلاش شد بررسی نسبتاً جامعی در ارتباط با تأثیرات pH و دما بر قدرت بیماری‌زایی *پرسینیا انتروکلی‌تیکا* صورت گیرد. برای رسیدن به این هدف، مجموعه‌ای از عوامل در نظر گرفته شدند تا عمومیت این مطالعه بیشتر شود. در همین راستا، علاوه بر سویه‌ی *پرسینیا انتروکلی‌تیکا*، از سایر گونه‌های پرسینیا نظیر *Y. frederiksenii*، *Y. intermedia* و *Y. kristensenii* استفاده گردید. همچنین تلاش شد این سویه‌ها از منابع مختلفی انتخاب شوند. به همین منظور، در کنار سویه‌های کلینیکی و محیطی جدا شده از نمونه‌های شیر، سبزی‌ها و مدفوع در ایران، از سویه‌های محیطی و کلینیکی سانتر بین‌المللی پرسینیا در فرانسه نیز استفاده شد.

جهت بررسی تأثیر دما و pH بر ویرولانس سویه‌های پرسینیا، ابتدا لازم بود سویه‌های ویرولان پرسینیا مشخص شوند. برای همین منظور، از هفت تست کریستال ویوله، RPMI آگار، وابستگی به کلسیم، اتوآگلوتیناسیون، سالیسین-اسکولین و تهاجم سلولی Hep-2 استفاده گردید. بررسی‌های به عمل آمده نشان داد که از هفت تست ویرولانس به‌کار رفته در این مطالعه، سه تست کریستال ویوله، RPMI آگار و تهاجم سلولی Hep-2، بیشترین دقت و بازده را دارند.

بر اساس مطالعات انجام شده توسط محققین مختلف، سویه‌هایی از *پرسینیا انتروکلی‌تیکا* ویرولان که توانایی بیمار کردن موش‌ها را در شرایط *in vivo* دارند، هنگامی که تحت شرایط آزمایشگاهی کشت و نگهداری شوند، تعدادی از شاخص‌های ویرولانس خود را از دست می‌دهند. این در حالی است که هنوز قدرت حمله به رده‌های سلولی را دارا بوده و چنانچه تحت شرایطی به حیوانات آزمایشگاهی تلقیح شوند، در بسیاری از موارد قادرند در حیوان مورد آزمایش، باعث ایجاد بیماری شوند (۲۹،۲۸). همچنین محققین بر این باورند که عوامل و شاخص‌های متعددی در ویرولانس پرسینیا انتروکلی‌تیکا مؤثر است که تعدادی از آنها تحت کنترل پلاسمید ویرولانس و تعداد دیگری، تحت کنترل کروموزوم

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-31]

باکتری هستند. با این وجود، اهمیت تمامی آنها به یک اندازه نیست. بر این اساس، تست‌های مختلف آزمایشگاهی برای تشخیص این شاخص‌ها و در نتیجه، تشخیص ویرولانس باکتری، ابداع شده است (۲۶-۲۲). در همین ارتباط، مشخص شده است که سوش‌های مثبت از نظر حمله به سلول‌های Hep-2، دارای خاصیت اتوآگلوتیناسیون و وابستگی به کلسیم در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد می‌باشند. همچنین، مشاهده شده است که با کاهش خاصیت ویرولانس که ممکن است با نگهداری سویه در محیط‌های مصنوعی حاصل شود، تست‌های اتوآگلوتیناسیون و وابستگی به کلسیم، منفی می‌شود، درحالی‌که باکتری هنوز قادر به تهاجم به سلول‌های Hep-2 می‌باشد. بر همین اساس، رویداد ویرولانس در این باکتری، پیچیده بوده و تحت عوامل مختلفی کنترل می‌شود (۲۷،۲۵،۲۴).

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تست اتوآگلوتیناسیون در تمامی موارد (به جز یک سویه از *Y. enterocolitica*) به صورت مثبت کاذب) علی‌رغم اینکه از روش‌های متعددی استفاده گردید، منفی می‌باشد. همچنین، تست وابستگی به کلسیم نیز حساسیت سه تست انتخابی کریستال ویوله، RPMI آگار و تهاجم سلولی را نداشت. دلیل این مسأله را با توجه به مطالعات سایر محققین، شاید بتوان در نگهداری سویه‌ها روی محیط‌های مصنوعی دانست که موجب از بین رفتن تعدادی از شاخص‌های ویرولانس باکتری شده است. در این میان، تست سالیسین- اسکولین در مقایسه با دو تست اتوآگلوتیناسیون و وابستگی به کلسیم، از حساسیت بیشتری برخوردار بوده و در ۶۳٪ موارد، با سه تست انتخابی ما تطابق دارد، اما از آنجا که در حدود ۳۷٪ نتایج آن، با تست‌های انتخابی ما تفاوت داشت، ترجیحاً در استفاده از آن دچار محدودیت شدیم. لازم به ذکر است این تست در مورد سویه‌های ویرولانی که تست اتوآگلوتیناسیون آنها منفی است، از حساسیت و کاربرد بیشتری برخوردار است (۲۶).

با توجه به مطالب فوق، از بین ۱۹ سویه‌ای که مورد آزمون‌های مختلف ویرولانس قرار گرفتند، ۷ سویه غیر ویرولان و ۱۲ سویه، ویرولان تشخیص داده شد. از بین ۱۲ سویه‌ی ویرولان، تعداد ۶ سویه متعلق به سویه‌های بومی و مابقی، متعلق به سویه‌های غیربومی بود. همچنین، سویه‌های بومی ویرولان، از منابعی نظیر شیر و مدفوع جدا شده بودند در حالی که سویه‌های ویرولان غیربومی، از منشأ آب و مدفوع بودند.

در این مطالعه، نتایج مربوط به تأثیر دما و pH های مختلف بر رشد و ویرولانس باکتری نشان داد که یرسینیا قادر است محدوده‌ی دمایی بین ۴ تا ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد را به خوبی تحمل نماید، ولی بهترین دمای رشد برای این باکتری، در محدوده‌ی ۲۵ تا ۲۸ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داشت. همچنین این ارگانیسم، نسبت به سرما مقاومت خوبی از خود نشان می‌دهد، به نحوی که یکی از راه‌های مهم جداسازی آن، غنی‌سازی در سرما می‌باشد (۵،۳۰،۳۱). محققین معتقدند درجه‌ی بالای اسیدهای چرب غیراشباع در غشای *یرسینیا انتروکلی‌تیکا* مهم‌ترین فاکتور مؤثر در سازش این باکتری به محیط‌های سرد می‌باشد (۳۱). نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر، مطالب بالا را تأیید می‌کند، هر چند از آنجا که هدف اصلی این مطالعه، بررسی تأثیر pH و دما بر ویرولانس باکتری بود، ناگزیر مدت انکوباسیون در این مطالعه، یکسان در نظر گرفته نشد. اما نتایج نشان داد که دما بر میزان رشد، کاملاً مؤثر بوده به نحوی که دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برای رشد یرسینیا مناسب‌تر از دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد بوده و باکتری در این دما، در شرایط بهینه (optimum) رشد خود از نظر دمایی قرار دارد. همچنین، افزایش جمعیت یرسینیا در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، مؤید سرمادوست بودن این باکتری است، به نحوی که در این دما (البته بدون در نظر گرفتن مدت انکوباسیون) بیشترین میزان رشد را می‌توان مشاهده کرد.

مطالعات متعددی بیانگر توانایی رشد و بقای *یرسینیا انتروکلی‌تیکا* در pH های شدید بوده و نشان می‌دهند که این باکتری در pH=۹/۶ تا pH=۴/۶ قادر به رشد است و در pH=۷/۲ در بهترین و سریع‌ترین شرایط رشد قرار دارد. البته، pH های به شدت اسیدی یا قلیایی، به طور فزاینده‌ای اثر مهاری بر رشد باکتری داشته و باعث طولانی‌تر شدن lag فاز و در نتیجه، کاهش سرعت رشد می‌شود (۳۲،۳۱). بهترین pH برای رشد باکتری، pH=۷ می‌باشد به نحوی که در این pH، بیشترین مقدار رشد میکروبی مشاهده می‌شود. همچنین، تأثیر این pH در هر سه دمای ۴، ۲۰ و ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد یکسان است. به عبارت دیگر، بیشترین میزان رشد در این سه دما، مربوط به pH=۷ می‌باشد. نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد تأثیر pH های ۵ و ۹ روی رشد باکتری تقریباً مشابه بوده و این دو pH نسبت به pH=۷، اثر مهاری بر رشد داشته و جمعیت باکتریایی در این دو pH به طور محسوسی، کمتر از pH=۷ می‌باشد. لازم به ذکر است میزان رشد در pH=۹ در دو دمای ۲۰ و ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، بیشتر از pH=۵ در هریک از این دو دما است. این

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-31]

در حالی است که در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، میزان رشد در pH=۵ بیشتر از pH=۹ است. باید توجه داشت که الگوی ارایه شده در مورد دما و pH در هر دو گروه از سویه‌های ویرولان و غیر ویرولان، مشابه است.

همان‌طور که قبلاً توضیح داده شد، این مطالعه طی دو فاز انجام گرفت. به این ترتیب که در فاز اول، از ۱۹ سویه ویرولان و غیر ویرولان استفاده شد و اثرات دما و pH های مختلف روی این سویه‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. در فاز دوم، فقط از ۱۲ سویه ویرولان استفاده شد و تأثیر pH و دما بر پایداری ویرولانس، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که دما، روی پایداری ویرولانس کاملاً مؤثر است، درحالی‌که تغییرات pH بر پایداری ویرولانس، اثر قابل توجهی ندارد. این یافته، با نتایج حاصل از سایر مطالعات همخوانی دارد (۳۳،۳۲). مطالعات نشان می‌دهند، ویرولانس در *یرسینیا انتروکلیتیکا*، یک رویداد پیچیده بوده و عوامل متعددی در ایجاد آن مؤثرند. همچنین، مشخص شده است که دما در ظهور شاخص‌های ویرولانس، بسیار مؤثر است. به عنوان مثال، پروتئین‌هایی تحت عنوان YOPs، فقط در دمای بالای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد تولید می‌شوند و همراه با تولید این پروتئین‌ها، سلول با محدودیت شدید در رشد مواجه می‌گردد (۳۴). همچنین گزارش شده است که کشت سویه‌های ویرولان در ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد و نگهداری طولانی آنها، می‌تواند باعث از بین رفتن پلاسمید ویرولانس و در نتیجه، از بین رفتن ویرولانس باکتری شود (۳۱). بررسی دقیق‌تر نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بیشترین میزان از دست رفتن ویرولانس، در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد رخ می‌دهد. این مسأله در pH های به‌کار رفته در این دما، کاملاً مشابه است. همچنین، کمترین تأثیر در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد بوده و دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نیز تقریباً مشابه دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد است. به عبارت دیگر، تعداد از دست دادن ویرولانس در دماهای ۴ و ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، به نسبت بالایی، مشابه است.

در حدود ۴۱٪ سویه‌ها توانسته بودند به طور کامل ویرولانس خود را حفظ کنند درحالی‌که ۳۳٪ سویه‌ها، به طور کامل، ویرولانس خود را از دست داده بودند. در این میان، ۲۴٪ سویه‌ها در برخی سطوح تیماری، ویرولانس خود را حفظ و در سایر سطوح، ویرولانس خود را از دست داده بودند. در بین سویه‌هایی که به طور کامل ویرولانس خود را حفظ کرده بودند، ۳ سویه متعلق به منبع مدفوع انسان جدا شده در ایران و ۲ سویه‌ی دیگر، مربوط به نمونه‌ی جدا شده از آب فرانسه می‌باشد. همچنین، در بین سویه‌هایی که به طور کامل ویرولانس خود را از دست داده بودند، دو سویه متعلق به نمونه‌های شیر جدا شده در ایران و دو مورد مربوط به نمونه‌های جدا شده در فرانسه می‌باشد.

لازم به ذکر است که با وجود عدم تأثیر pH در تغییر ویرولانس، در یک مورد در دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و pH=۷ (که شرایط بهینه‌ی رشد یرسینیا می‌باشد)، تعداد سویه‌هایی که ویرولانس خود را حفظ کرده بودند، بیشتر بود. البته برای تأیید بیشتر این مطلب، لازم است که سویه‌های بسیار بیشتری مورد بررسی قرار گیرند تا به طور مشخص در این مورد خاص (حفظ ویرولانس در pH و دمای بهینه) بتوان نتیجه‌گیری کرد.

نتیجه‌گیری

در مجموع، عوامل متعددی از جمله دمای محیط بر شاخص‌های ویرولانس *یرسینیا انتروکلیتیکا* مؤثر است به طوری‌که سویه‌های ویرولان، به دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد بسیار حساس بوده و در این دما نسبت به دماهای پایین‌تر، ویرولانس خود را به راحتی از دست می‌دهند. اما نباید فراموش کرد که دما، تنها عامل مؤثر بر تغییرات ویرولانس نیست. هرچند در این مطالعه، فقط تأثیر pH و دما بر ویرولانس یرسینیا مورد بررسی قرار گرفت، اما چون برخی سویه‌ها در هیچ سطح تیماری، ویرولانس خود را از دست ندادند، می‌توان نتیجه گرفت که این سویه دارای پلاسمید ویرولانس پایدارتری بوده و بنابراین عوامل ژنتیکی را نیز می‌توان در پایداری ویرولانس مؤثر دانست.

تشکر و قدردانی

این مقاله، نتیجه‌ی طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران، به شماره قرارداد ۲۰۳۵۷ مورخ ۹۱/۴/۱۶ می‌باشد. بدین‌وسیله، نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه جهت تقبل هزینه‌های طرح، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

REFERENCES

1. Soltan Dallal MM, Sharifi Yazdi Mk, Mirzaei N, Kalantar E. Prevalence of Salmonella spp. in packed and unpacked red meat and chicken in south of Tehran. Jundishapur J Microbiol 2014; 7(4): e9254.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-31]

2. Soltan Dallal MM, Vahedi S, Zeraati H, Bakhtiari R, Salsali M, Norooz Babaei H, *et al*. The comparison of the prevalence rate of microbial contamination for packed and unpacked red meat and chicken's meat in retailers and department stores in south of Tehran. J Yazd Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2007; 15(1): 35-43.

3. Andersen JK, Sørensen R, Glensbjerg M. Aspects of the epidemiology of *Yersinia enterocolitica*: a review. Int J Food Microbiol 1991; 13(3): 231-7.

4. Ananchaipattana C, Hosotani Y, Kawasaki S, Pongsawat S, Latiful BM, Isobe S, *et al*. Prevalence of foodborne pathogens in retailed foods in Thailand. Foodborne Pathog Dis 2012; 9(9): 835-40.

5. Fredriksson-Ahomaa M, Korkeala H. Low occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in clinical, food, and environmental samples: a methodological problem. Clin Microbiol Rev 2003; 16(2): 220-9.

6. Noble MA, Barteluk R, Freeman H, Subramaniam R, Hudson J. Clinical significance of virulence-related assay of Yersinia species. J Clin Microbiol 1987; 25(5): 802-7.

7. Soltan Dallal MM. Bacterial diarrheal infections and mechanisms of their pathogenicity. Nabz 1995; 5(4): 48-52.

8. Uliczka F, Pisano F, Schaake J, Stolz T, Rohde M, Fruth A, *et al*. Unique cell adhesion and invasion properties of *Yersinia enterocolitica* O:3, the most frequent cause of human Yersiniosis. PLoS Pathog 2011; 7(7): e1002117. doi:10.1371/journal.ppat.1002117.

9. Heise T, Dersch P. Identification of a domain in Yersinia virulence factor YadA that is crucial for extracellular matrix-specific cell adhesion and uptake. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103(9): 3375-80.

10. Soltan Dallal MM, Gean JL. Production and purfication of heat-stable (ST) enterotoxin of *Yersinia enterocolitica*. Tehran Univ Med J 1998; 56(1): 9-16.

11. Soltan-Dallal MM, Moezardalan K. Frequency of Yersinia species infection in paediatric acute diarrhoea in Tehran. East Mediterr Health J 2004; 10(1-2): 152-8.

12. Mäki M, Vesikari T, Rantala I, Sundqvist C, Grönroos P. Pathogenicity of 42-44 Mdal plasmid positive and negative *Yersinia pseudotuberculosis* I and *Yersinia enterocolitica* 0:8 and 0:9 studied in the guinea pig eye model (Serény test). Acta Pathol Microbiol Immunol Scand B. 1983; 91(4): 241-4.

13. Miliotis MD, Morris JG Jr, Cianciosi S, Wright AC, Wood PK, Robins-Browne RM. Identification of a conjunctivitis-associated gene locus from the virulence plasmid of *Yersinia enterocolitica*. Infect Immun 1990; 58(8): 2470-7.

14. Soltan-Dallal MM, Tabarraie A, MoezArdalan K. Comparison of four methods for isolation of *Yersinia enterocolitica* from raw and pasteurized milk from northern Iran. Int J Food Microbiol 2004; 94(1): 87-91.

15. Quaglio P, Aggazzotti G, Fabio A, Messi P, Mantovani G. Presence of bacteria belonging to the genus Yersinia in surface and ground water. Ann Ig 1989; 1(1-2): 157-64.

16. Määttä J, Lehto M, Kuisma R, Kymäläinen HR, Mäki M. Microbiological quality of fresh-cut carrots and process waters. J Food Prot 2013; 76(7): 1240-4.

17. Van Damme I, Berkvens D, De Zutter L. Effect of sampling and short isolation methodologies on the recovery of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* from pig tonsils. Foodborne Pathog Dis 2012; 9(7): 600-6.

18. Fondrevez M, Labbé A, Houard E, Fravalo P, Madec F, Denis M. A simplified method for detecting pathogenic *Yersinia enterocolitica* in slaughtered pig tonsils. J Microbiol Methods 2010; 83(2): 244-9.

19. Van Damme I, Habib I, De Zutter L. *Yersinia enterocolitica* in slaughter pig tonsils: enumeration and detection by enrichment versus direct plating culture. Food Microbiol 2010; 27(1): 158-61.

20. Prpic JK, Robins-Browne R, Davey RB. *In vitro* assessment of virulence in *Yersinia enterocolitica* and related species. J Clin Microbiol 1985; 22(1): 105-10.

21. Campioni F, Falcão JP. Genotypic diversity and virulence markers of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A strains isolated from clinical and non-clinical origins. APMIS 2014; 122(3): 215-22.

22. Madan L, Kaur H, Gupta LK, Sharma P. Are crystal violet binding and plasmid detection indicators of virulence in *Yersinia enterocolitica*? Indian J Pathol Microbiol 2005; 48(3): 423-4.

23. Mazigh D, Alonso JM, Mollaret HH. Simple method for demonstration of differential colony morphology of plasmid-associated virulent clones of *Yersinia enterocolitica*. J Clin Microbiol 1983; 17(3): 555-7.

24. Falcão JP, Falcão DP, Pitondo-Silva A, Malaspina AC, Brocchi M. Molecular typing and virulence markers of *Yersinia enterocolitica* strains from human, animal and food origins isolated between 1968 and 2000 in Brazil. J Med Microbiol 2006; 55(Pt 11): 1539-48.

25. Schütz M, Weiss EM, Schindler M, Hallström T, Zipfel PF, Linke D, *et al*. Trimer stability of YadA is critical for virulence of *Yersinia enterocolitica*. Infect Immun 2010; 78(6): 2677-90.

26. Farmer JJ 3rd, Carter GP, Miller VL, Falkow S, Wachsmuth IK. Pyrazinamidase, CR-MOX agar, salicin fermentation-esculin hydrolysis, and D-xylose fermentation for identifying pathogenic serotypes of *Yersinia enterocolitica*. J Clin Microbiol 1992; 30(10): 2589-94.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-31]

27. Grant T, Bennett-Wood V, Robins-Browne RM. Characterization of the interaction between *Yersinia enterocolitica* biotype 1A and phagocytes and epithelial cells in vitro. Infect Immun 1999; 67(9): 4367-75.

28. Schiemann DA, Devenish JA. Invasiveness and cytotoxicity as criteria in assessing Yersinia attenuation. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol 1988; (9): 10-6.

29. Igumbor EO, Ogbimi AO, Agbonlahor DE, Obi CL. Evaluation of the pathogenicity and virulence of Yersinia species isolated in Edo and Delta States of Nigeria. East Afr Med J 1993; 70(12): 803-6.

30. Soltan Dallal MM, Bakhtiari R, Amin Harati F, Sharifi Yazdi MK. The Effect of temperature in invasive properties of Yersinia species isolated from human and non-human sources. Med J Tabriz Univ Med Sci 2013; 35(5): 48-57.

31. Goverde RL, Kusters JG, Huis in 't Veld JH. Growth rate and physiology of Yersinia enterocolitica; influence of temperature and presence of the virulence plasmid. J Appl Bacteriol 1994; 77(1): 96-104.

32. Palonen E, Lindström M, Korkeala H. Adaptation of enteropathogenic Yersinia to low growth temperature. Crit Rev Microbiol 2010; 36(1): 54-67.

33. Bhagat N, Virdi JS. Molecular and biochemical characterization of urease and survival of *Yersinia enterocolitica* biovar 1A in acidic pH in vitro. BMC Microbiol 2009; 9: 262. doi: 10.1186/1471-2180-9-262.

34. Białas N, Kasperkiewicz K, Radziejewska-Lebrecht J, Skurnik M. Bacterial cell surface structures in *Yersinia enterocolitica*. Arch Immunol Ther Exp (Warsz) 2012; 60(3): 199-209.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-31]