



Determination of Antibiotic Resistance and Identification of Tetracycline (*tet*) Resistance Genes in *Salmonella enteritidis* Strains Isolated from Food Sources

Somayeh Naghizadeh, Gholamali Moradli

Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

Article Information

Article history:

Received: 2016/03/06
Accepted: 2017/02/06
Available online: 2017/09/12

Article Subject:

Food Microbiology

IJMM 2017; 11(4): 64-69

Corresponding author:

Dr. Gholamali Moradli

Department of Microbiology,
Saveh Branch, Islamic Azad
University, Saveh, Iran

Tel: 0989121551217

Email:

Moradli.mic@gmail.com

Abstract

Background and Aims: Salmonellosis is an important disease among human animals and which is caused by different serovars of *Salmonella enterica*. Serovars *enteritidis* and *typhimurium* are the most prevalent serovars among human and animals which are the causes of foodborne infections. This study aimed to detect the antibiotic resistance pattern in *Salmonella* strains isolated from red meat as well as the molecular identification of tetracycline resistance genes.

Materials and Methods: In this study, 230 red meat samples were collected during 2015 from slaughterhouses, distribution centers and industrial processing plants around Tehran and were examined using culture and biochemical tests for the presence of *Salmonella* isolates. Serotyping was performed using O and H antisera. Antimicrobial susceptibility testing was done for all the strains. Detection of the tetracycline resistance gene was performed using Multiplex PCR and specific primers for the *tetA*, *tetB*, *tetC* and *tetD* genes.

Results and Conclusions: A total of 60 *Salmonella* samples were isolated and identified. The serotyping results showed that all of the 60 samples belonged to group D and serovar *enteritidis*. The highest resistance was against amoxicillin and the lowest resistance against gentamicin. Twenty five percent of the samples showed phenotypical resistance to tetracycline, among which 60% had the *tet* genes, 7 isolates (46.6%) having the *tetA* gene, one isolate having the *tetB* and one isolate possessing the *tetC* gene. This study showed the prevalence of *Salmonella* isolates in red meat samples and the presence of tetracycline resistance genes among these isolates.

KeyWords: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, Tetracycline resistance genes

Copyright © 2017 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Naghizadeh S, Moradli Gh. Determination of Antibiotic Resistance and Identification of Tetracycline (*tet*) Resistance Genes in *Salmonella enteritidis* Strains Isolated from Food Sources. Iran J Med Microbiol. 2017; 11 (4): 64-69

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سالمونلا انتریتیدیس جداسازی شده از منابع غذایی و شناسایی ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین (*tetA/B/C*)

سمیه نقی زاده، غلامعلی مرادلی

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و اهداف: سالمونلوز یک بیماری مهم در انسان و حیوانات است که به وسیله سرووارهای مختلف سالمونلا انتریکا ایجاد می‌شود. سرووارهای انتریتیدیس و تیفی‌موریوم از شایع‌ترین سرووارها در انسان و دام و همچنین عامل بیماری منتقله از طریق غذا می‌باشند. هدف از این مطالعه بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های سالمونلا جداسازی شده از گوشت قرمز و شناسایی مولکولی ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین می‌باشد.

مواد و روش کار: در این مطالعه در سال ۱۳۹۴، تعداد ۲۳۰ نمونه گوشت قرمز از کشتارگاه‌ها و مراکز توزیع گوشت قرمز اطراف تهران جمع‌آوری شد و با استفاده از روش‌های کشت و بیوشیمیایی جهت جداسازی سالمونلا مورد بررسی قرار گرفت. سروتایپینگ نمونه‌ها با استفاده از آنتی‌سرم‌های O و H انجام شد. آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای تمامی جدایه‌ها انجام گرفت. جهت تشخیص ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین از روش MultiplexPCR و پرایمرهای اختصاصی ژن‌های *tetA*، *tetB*، *tetC* و *tetD* استفاده شد.

یافته‌ها و نتیجه‌گیری: تعداد ۶۰ نمونه سالمونلا جداسازی و شناسایی شد. نتایج سروتایپینگ نشان داد هر ۶۰ نمونه مربوط به گروه D و سرووار انتریتیدیس هستند. بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین و کمترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به دست آمد. ۲۵ درصد نمونه‌ها به تتراسایکلین مقاومت داشته‌اند. در میان ایزوله‌های مقاوم به تتراسایکلین، در مجموع ۶۰ درصد واجد ژن‌های *tet* بودند که ۷ ایزوله (۴/۶٪) دارای ژن *tetA* و یک جدایه دارای ژن *tetB* و یک جدایه دارای ژن *tetC* بود. مطالعه حاضر نشان‌دهنده شیوع بالای سالمونلا در نمونه‌های گوشت قرمز و مقاومت آنتی‌بیوتیکی از جمله مقاومت به تتراسایکلین می‌باشد.

کلمات کلیدی: سالمونلا انتریتیدیس، سالمونلا تیفی‌موریوم، ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبیولوژی پزشکی ایران محفوظ است.

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۶
پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۱۸
انتشار آنلاین: ۱۳۹۶/۰۶/۲۱
موضوع:

میکروبیولوژی مواد غذایی

IJMM 1396; 11(4): 64-69

نویسنده مسئول:

دکتر غلامعلی مرادلی

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم

پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد

اسلامی، ساوه، ایران

تلفن: ۰۹۸۹۱۲۱۵۵۱۲۱۷

پست الکترونیک:

Moradli.mic@gmail.com

مقدمه

اثر خوردن مواد غذایی آلوده مانند گوشت، مرغ، تخم‌مرغ و شیر اتفاق می‌افتد. که در گوشت تا زمان مصرف می‌تواند زنده بماند. یکی از روش‌های اجتناب از آلودگی عرضه مواد غذایی به صورت بسته‌بندی است. متأسفانه در کشور ما هنوز بسیاری از مواد غذایی به صورت سنتی تهیه و عرضه می‌گردد از آنجاکه محصولات گوشتی به عنوان یک منبع غذایی عمده تلقی می‌شوند، می‌توانند به عنوان یک عامل مهم در انتقال عوامل بیماری‌زا به انسان عمل کنند (۵). در سال‌های اخیر، مقاومت عوامل پاتوژن به عوامل ضد میکروبی

بیماری‌های منتقله از غذا یکی از مشکلات جدی در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه می‌باشد که این مسئله به خصوص در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی یا سوءتغذیه بیشتر دیده می‌شود (۱،۲). این باکتری به عنوان یکی از پاتوژن‌های مواد غذایی بوده که طی ۲۰ سال گذشته به عنوان یکی از عوامل مهم عفونت‌های معده‌ای- روده‌ای و مسمومیت غذایی در انسان مطرح می‌باشد (۳). سالمونلا در انسان عامل تب تیفوئید و عفونت‌های روده‌ای می‌باشد (۴). عفونت‌های سالمونلایی در انسان عمدتاً در

افزایش یافته است. مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در دام‌های تولیدکننده غذا به دلایل مختلفی از جمله پیشگیری، درمان، افزایش رشد و متعاقباً افزایش تولید انجام می‌شود (۶). استفاده گسترده از مواد ضد میکروبی در این حیوانات منجر به ایجاد سویه‌های مقاوم باکتری‌های پاتوژن مانند *سالمونلا* شده است (۷). از آنجایی که درمان سویه‌های مقاوم بسیار مشکل می‌باشد، این مسئله، به مشکل اساسی از لحاظ بهداشت عمومی تبدیل شده است (۶). تتراسایکلین یک آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف است که رشد قسمت اعظمی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را مهار می‌کند. مکانیسم‌های اصلی در مقاومت به تتراسایکلین از طریق کسب ژن *tet* شامل: پمپ‌های انتشار به خارج، محافظت ریبوزومی و غیرفعال شدن آنزیمی است. از دیگر مکانیسم‌های مقاومت به تتراسایکلین در برخی از باکتری‌ها شامل جهش، سد نفوذناپذیری و سیستم‌های انتقال چندگانه است (۳). با این وجود ژن *tetB* کد کننده پمپ‌های انتشار به خارج است که علاوه بر تتراسایکلین مقاومت به مینوسایکلین را نیز ایجاد می‌کند. بیشترین شیوع ژن‌های *tet* را در گرم منفی‌ها، پمپ‌های انتشار به خارج دارند که توسط ژن‌های *tetG*، *tetD*، *tetC*، *tetB*، *tetA* کد می‌شود (۶). ویژگی آنتی‌باکتریایی و فقدان اثرات جانبی این آنتی‌بیوتیک، باعث استفاده زیاد آن در عفونت‌های دامی و انسانی شده است، لذا هدف از این مطالعه، بررسی میزان آلودگی نمونه‌های گوشت قرمز به باکتری *سالمونلا* و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این جدایه‌ها و تعیین حضور ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین، در بین سویه‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع توصیفی-مقطعی بوده که در سال ۱۳۹۴ بر روی نمونه‌های گوشت قرمز مراکز توزیع و کشتارگاه‌های صنعتی اطراف تهران، به تعداد ۲۳۰ عدد انجام شد. بعد از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، ۲۵ گرم از این نمونه‌ها برداشت و به ۲۲۵ میلی‌لیتر محیط پیش غنی کننده لاکتوز برات انتقال و ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. سپس ۱ میلی‌لیتر از این محیط به ۹ میلی‌لیتر راپپورت غنی کننده منتقل و بعد از ۲۴-۱۸ ساعت در محیط‌های انتخابی و افتراقی مانند کروم آگار *سالمونلا* (M 1078, Himedia, India)، مک‌کانکی آگار (Himedia, India)، کشت داده شدند و تست‌های تکمیلی بیوشیمیایی بر روی آن‌ها انجام گرفت (۱). جهت تعیین هویت با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم، شکل میکروسکوپی، تست‌های کاتالاز

و اکسیداز و تست سیمون سیترات، تولید H_2S ، تولید اندول، اوره آز، تربیل شوگرآیرون آگار، دکربوکسیلاسیون اورنیتین و لیزین انجام گرفت. سروتایپینگ نمونه‌های *سالمونلا* جداسازی شده با استفاده از آنتی سرم های O و H با روش آگلوتیناسیون روی لام طبق دستورالعمل شرکت سازنده (Difco, Detroit) صورت گرفت (۳). در این پژوهش از روش دیسک دیفیوژن برای تعیین قطر هاله عدم رشد مطابق با استانداردهای CLSI سال ۲۰۱۱ انجام شد (۸). دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در این پژوهش: آموکسی سیلین (۲۵ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، مینوسایکلین (۳۰ میکروگرم)، کوتریماکسازول (۲۵ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، و جنتامایسین (۱۰ میکروگرم) از شرکت هایمیدیا HIMEDIA (Himedia Laboratories Pvt.Limited-INDIA) تهیه گردید. از سویه‌های استاندارد *سالمونلا انتریتیدیس* ATCC 13076 و *سالمونلا تیفی موریوم* ATCC 14028 به عنوان سوش های کنترل کیفی استفاده گردید.

تعیین MIC سویه‌های مقاوم به تتراسایکلین با استفاده از پودر تتراسایکلین هیدرو کلراید با قدرت تأثیر ۹۷۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (Sigma, United States of America) (Sigma) و به روش رقیق‌سازی در آگار (Agar Dilution) طبق سند CLSI (M7-A7) سال ۲۰۱۱ انجام گرفت (۱۰). محلول دارویی اصلی با غلظت ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک مورد استفاده تهیه شد و از آن جهت ساخت غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک در محیط آگار استفاده شده است، در این تحقیق غلظت MIC تتراسایکلین به میزان ۵۱۲-۲ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه شد. طبق سند CLSI اگر MIC ایزوله‌ها برای تتراسایکلین بیشتر از ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر باشد، سویه مقاوم خواهد بود و اگر کمتر از ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر باشد سویه حساس گزارش می‌شود. غلظت نهایی تلقیح سوسپانسیون باکتری باید 10^4 CFU/mL باشد. سپس پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس برای مدت ۱۶ تا ۲۰ ساعت قرار داده شده و بعد از انکوبه کردن نمونه‌ها، کمترین غلظتی از آنتی‌بیوتیک که از رشد باکتری جلوگیری کرده است به عنوان MIC برای آن ایزوله تعریف گردید. استخراج DNA با استفاده از کیت تجاری مرکز ذخایر ژنتیکی مطابق دستورالعمل ارائه شده توسط کیت انجام شد. از پرایمرهای *tet(A)*، *tet(B)*، *tet(C)* و *tet(D)* در سویه‌های مقاوم استفاده شد (مطابق جدول ۱) (۹). در این پژوهش واکنش

دقیقه، الحاق ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۰ ثانیه، بسط ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و بسط نهایی ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه. محصولات PCR در ژل آگاروز ۱ درصد الکتروفورز گردیده و توسط ژل داگ BIORAD, USA مشاهده شد. داده‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA) و با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

زنجیره‌های پلی‌مراز در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر PCR Buffer 10X، ۱ میکرولیتر MgCl₂، ۱ میکرولیتر dNTPs، ۰/۸ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها، ۰/۲۵ میکرولیتر از *Taq DNA polymerase* و ۵ میکرولیتر DNA الگو انجام گرفت. برنامه حرارتی جهت انجام واکنش‌های PCR عبارت‌اند از: واسرشت سازی اولیه ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۳ دقیقه، ۳۵ سیکل هر کدام شامل واسرشت سازی ۹۵ درجه سلسیوس ۱

جدول ۱: آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق (۹)

اندازه باند (bp)	توالی پرایمر (5' to 3')	ژن هدف	نام پرایمر
۲۱۰	GCT ACA TCC TGC TTG CCT TC CAT AGA TCG CCG TGA AGA GG	<i>tetA</i>	tet(A)-f tet(A)-r
۶۵۹	TTG GTT AGG GGC AAG TTT TG GTA ATG GGC CAA TAA CAC CG	<i>tetB</i>	tet(B)-f tet(B)-r
۴۱۸	CTT GAG AGC CTT CAA CCC AG ATG GTC GTC ATC TAC CTG CC	<i>tetC</i>	tet(C)-f tet(C)-r
۷۸۷	AAA CCA TTA CGG CAT TCT GC GAC CGG ATA CAC CAT CCA TC	<i>tetD</i>	tet(D)-f tet(D)-r

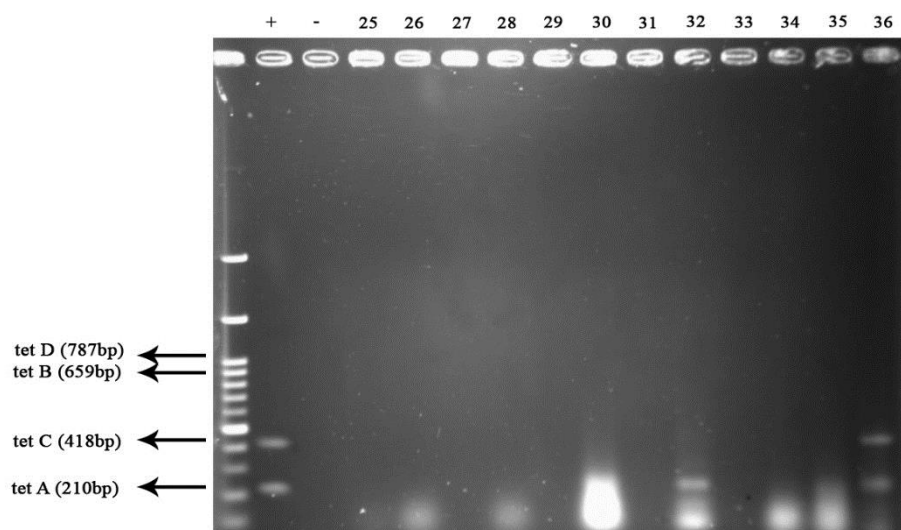
نشده بررسی و در مجموع ۲۰ درصد نمونه‌ها را آلوده به سالمونلا گزارش کردند (۵). در مطالعه Jalali و همکاران در سال ۲۰۰۷، سرووارهای سالمونلا در جدای‌های مواد غذایی خام و پخته در شهر اصفهان بررسی شد، که بیشترین سرووارهای جداسازی شده، سرووارهای انتریتیدیس و بایبکوم بودند (۱۱). در مطالعه حاضر میزان شیوع سالمونلا در نمونه‌های گوشت قرمز ۲۴٪ بود و تمامی نمونه‌ها متعلق به سرووار انتریتیدیس بودند که با مطالعات ذکر شده از نظر میزان فراوانی نوع سرووار سالمونلا متفاوت می‌باشند. افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها یک مشکل جهانی محسوب می‌شود (۱۲). در مطالعه Ranjbar و همکاران در سال ۱۳۹۲، حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سالمونلای بررسی و ۲۰/۳٪ نمونه‌ها به کوتریموکسازول و ۵۰/۷٪ به تتراسایکلین مقاوم گزارش شد (۱۳). در مطالعه Soltan Dallal و همکاران در سال ۱۳۹۰، ۱۰٪ نمونه‌ها به آموکسی سیلین و کوتریموکسازول و ۲۴٪ نمونه‌ها به تتراسایکلین مقاوم بودند (۱۴). در مطالعه حاضر نیز میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی سیلین، تتراسایکلین، مینوسایکلین، کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید و جنتامایسین به ترتیب ۳۳/۳٪، ۲۵٪، ۱۵٪، ۱۱/۶٪، ۳/۲٪ و ۱/۶٪ بوده است. از علل افزایش مقاومت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند در نتیجه استفاده بیش از حد از این آنتی‌بیوتیک‌ها در حیوانات به جهت درمان یا افزایش رشد باشد (۱۳). در اکثر موارد، حالت مقاومت انگیزه پذیر است و

یافته‌ها و بحث

تعداد ۶۰ نمونه با استفاده از آزمون‌های کشت و بیوشیمیایی به‌عنوان سالمونلا شناخته شدند. نتایج سروتاپینگ نشان داد تمامی نمونه‌ها به گروه سرمی D و سرووار انتریتیدیس متعلق بودند. نتایج آنتی بیوگرام سویه‌های سالمونلا انتریتیدیس نشان داد بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک آموکسی سیلین (۳۳/۳٪) و بیشترین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۹۸/۴٪) بود. مطابق نتایج MIC حداقل غلظت مهاری از ۱۵ سویه‌های مقاوم به تتراسایکلین، ۶۶/۶ درصد با MIC=128 µg/mL و ۳۳/۴ درصد با MIC=256 µg/mL داشتند. نتایج Multiplex-PCR نشان داد که بیشترین ژن شناسایی شده مقاومت به تتراسایکلین در ایزوله‌ها ژن *tetA* بوده است که به میزان ۷ نمونه (۴۶/۶٪) ایزوله یافت شدند. ژن *tetB* و *tetC* هر کدام تنها در یک ایزوله معادل (۶/۶٪) شناسایی شدند و ژن *tetD* در هیچ‌یک از نمونه‌ها شناسایی نگردید (شکل-۱). سالمونلا در اثر آلودگی لاشه با محتویات روده‌ای دام آلوده در کشتارگاه می‌تواند به گوشت منتقل باشد و از آنجایی که این پاتوژن تا زمان مصرف، در گوشت باقی می‌ماند می‌تواند در اثر مصرف به‌صورت خام و یا نیم‌پز به انسان منتقل شود. Soltan Dallal و همکاران در سال ۱۳۸۸، میزان شیوع سالمونلا در گوشت قرمز را ۱۴٪ گزارش نمودند (۱۰). Soltan Dallal و همکاران در سال ۱۳۹۳، شیوع سالمونلا را در گوشت‌های بسته‌بندی شده و بسته‌بندی

سروتیپ متفاوت که از دام و انسان جداسازی شده بود را بررسی نموده، که ۲۷٪ جدایه‌ها، به تتراسایکلین مقاوم بودند (۱۸). طبق نتایج این مطالعه میزان شیوع ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین در مقایسه با سایر مطالعات پایین بوده، به طوری که فراوانی ژن *tetD* کاملاً منفی گزارش شده است. *tetB* و *tetC* تنها در یک ایزوله مشاهده شد. در این مطالعه *tetA* بیشترین شیوع را داشته است. شیوع کم ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین می‌تواند به علت جهش در ناحیه اتصال پرایمر بوده که می‌تواند منجر به نتیجه منفی کاذب شود. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، شیوع *سالمونلا* در نمونه‌های گوشت قرمز بسیار بالا بوده که نظارت دقیق در حین کشتار و توزیع این ماده غذایی بسیار ضروری می‌باشد.

غلظت‌های کم دارو سبب عدم حساسیت باکتری می‌گردد. طبق مطالعات انجام شده ژن *tetA* در سرووارهای *سالمونلا* عمدتاً در پلاسمید کد می‌شود. سایر کلاس‌های ژنی می‌توانند وابسته پلاسمید یا کروموزوم باشند (۷، ۱۵). در مطالعه Tajbakhsh و همکاران در سال ۲۰۱۲، گزارش شد که ۲۵٪ نمونه‌ها به تتراسایکلین و ۱۸٪ به کوتریموکسازول مقاومت داشتند که از این میان، ۲۸٪ دارای ژن *tetA* ۱۴٪ دارای ژن *tetB* و ۶٪ دارای ژن *tetG* بودند (۱۶). در مطالعه Carraminana در سال ۲۰۰۴ بر روی *سالمونلا* جداسازی شده از کشتارگاه طیور، مقاومت به تتراسایکلین و سولفامتوکسازول میزان ۲۱/۸٪ و ۹۶/۲ درصد گزارش شد. (۱۷). Randall و همکاران در سال ۲۰۰۴، ۳۵



شکل ۱: محصول PCR بر روی ژل آگارز، به ترتیب از چپ به راست، نشانگر ۱۰۰ bp، کنترل مثبت، کنترل منفی، کنترل PCR، ۲۵-۳۶ نمونه‌های *سالمونلا انتریتیدیس* جدا شده از نمونه‌های مواد غذایی، چاهک شماره ۳۲ و ۳۶ واجد ژن *tetA* با طول باند ۲۱۰ bp، نمونه ۳۶ واجد ژن *tetC* با طول باند ۴۱۸ bp

تقدیر و تشکر

با تشکر از جناب آقای دکتر مرادلی که زحمات زیادی برای اینجانب کشیدند.

تعارض منافع

بین نویسندگان و مجله میکروبیولوژی پزشکی ایران هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

References

- Egli T, Koster W, Meile L. Pathogenic microbes in water and food: changes and challenges. FEMS Microbiol Rev 2002; 26(2):111-12.
- Tacket CO, Narain JP, Sattin R, Lofgren JP, Konigsberg C JR, Rendtorff RC. A multistate outbreak of infections caused by *Yersinia enterocolitica* transmitted by pasteurized milk. JAMA 1984; 251(4):483-86.
- Cortez ALL, Carvalho ACFB, Ikunob AA, Burger KP, Vidal-Martins AMC. Identification of *Salmonella* spp. Isolates from chicken abattoirs by multiplex-PCR. Vet Sci 2006; 81(3): 340-344.
- Braden Christopher R. *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and egg; a national epidemic in the united states. Food safety 2006; 43(4): 512-17.
- 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):9254-58.
- Schwarz S and Chaslus-Dancla E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. Vet Res 2001;32(3-4):201-225.
- Shahada F, Chuma T, Tobata T, Okamoto K, Sueyoshi M, Takase K. Molecular epidemiology of antimicrobial resistance among *Salmonella enterica* serovar Infantis from poultry in Kagoshima, Japan. Int J Antimicrob Agents 2006; 28(4):302-7.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty first informational supplement. M100-S21. Wayne, PA: CLSI 2011.
- Su HC, Ying GG, Tao R, Zhang RQ, Fogarty LR. Occurrence of antibiotic resistance and characterization of resistance genes and integrons in *Enterobacteriaceae* isolated from integrated fish farms in south China. J Environ Monitoring 2011; 13(11): 3229-36.
- Soltan Dallal MM, Taremi M, Gachkar L, Modarressi S, Sanaei M, Bakhtiari R. Characterization of antibiotic resistant patterns of *Salmonella* serotypes isolated from beef and chicken samples in Tehran. Jundishapur J Microbiol 2009; 2(4):124- 31.
- Jalali M, Abedi D, Pournakhsh SA, Ghoukasini K. prevalence of *Salmonella* spp. in raw and cooked foods in Isfahan-Iran. J Food Safety 2008; 28(3):442-52.
- Salyers AA and Whitt DD. Revenge of the Microbes: How bacterial resistance is undermining the antibiotic miracle. 2nd ed. ASM Press: Washington, DC; 2005.
- Ranjbar, R, Naghoni A. Class 1 integron-mediated antibiotic resistance in *salmonella enterica* strains isolated in Tehran, Iran. Iran J med Microbiol 2014;7(4): 16-23. [in Persian]
- Soltan-Dallal MM, Rahimi Forushani, A., Sadigh Maroufi, S., Sharifi Yazdi, K. The comparison of PCR technique and API-20E kit with the conventional biomedical methods for the identification of *Salmonella* species in laboratory. Med Lab J 2011;5(2): 21-27. [in Persian]
- Frech G and Schwarz S. Molecular analysis of tetracycline resistance in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovars Typhimurium, Enteritidis, Dublin, Choleraesuis, Hadar and Saintpaul: construction and application of specific gene probes. J Appl Microbiol 200;89: 633-41.
- Tajbakhsh M, Hendriksen RS, Nochi Z, Zali M, Aarestrup FM, Garcia-Migura L. Antimicrobial resistance in *Salmonella* spp. recovered from patients admitted to six different hospitals in Tehran, Iran from 2007 to 2008. Folia Microbiol 2012; 57: 91-97.
- Carraminana JJ, Rota C, Agustin I, Herrera A. High prevalence of multiple antibiotics in *Salmonella* serovars from a poultry slaughterhouse in Spain. Vet Microbiol 2004; 104(1-2): 133-9.
- Randall LP, Cooles SW, Osborn MK, Piddock LJV, Woodward MJ. Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty-five serotypes of *Salmonella enterica* isolated from humans and animals in the UK. J Antimicrob Chemother 2004; 53(2): 208-16.