

Prevalence and Antibiotic Resistance of *Salmonella* Serotypes in Chicken Meat of Ardabil, Northwestern Iran

Aidin Azizpour* 

1. Department of Medicinal Plants, Meshginshahr Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

 [10.30699/ijmm.15.2.232](https://doi.org/10.30699/ijmm.15.2.232)



ABSTRACT

Background and Aim: Salmonellosis is one of the most important zoonotic diseases; most of the infections caused by the consumption of contaminated food is caused by this bacterium. During the last decades, the resistance of *Salmonella* isolates to conventional antibiotics has increased, which is a global health problem. The objective of this study was to investigate *Salmonella* serotypes in chicken meat and their antibiotic resistance regarding ten commonly used antibiotics in Iran.

Materials and Methods: A total of 100 chicken meat samples were collected randomly from meat supply and distribution centers of Ardabil City. After cultivation and isolation of *Salmonella*, its colonies were examined by serological and PCR methods. Finally, PCR confirmatory test was also used for confirmation of *Salmonella Typhimurium*. Antibiotic resistance of the isolates was determined by Kirby Bauer method.

Results: Of the 100 samples, 6 isolates of *Salmonella* (6%) were obtained of which, 3 isolates (50%) belonged to *Salmonella infantis*, 1 isolate (16.6%) to *Salmonella enteritidis*, 1 isolate (16.6%) to *Salmonella Typhimurium* and 1 isolate (16.6%) to *Salmonella thompson*. More than 60% of the isolates were resistant to seven antibiotics. The highest drug resistance rates were against ampicillin (83.3%), sulfadiazine+trimethoprim (83.3%), chloramphenicol (83.3%), co-trimoxazole (66.7%), amikacin (66.7%), tetracycline (66.7%), doxycycline (66.7%) and florphenicol (16.7%). No resistance was observed against enrofloxacin and ciprofloxacin.

Conclusion: The results of this study indicated the dominant serotype of *Salmonella* which is *Salmonella infantis*. The results showed that *Salmonella* isolates are resistant to the majority of the ten antimicrobial agents commonly used in the livestock and poultry industry, which is important for public health.

Keywords: *Salmonella* / Isolates Antimicrobial resistance. Serotype Ciprofloxacin

Received: 2021/01/23; Accepted: 2021/02/20; Published Online: 2021/04/09

Corresponding Information: Aidin Azizpour, Department of Medicinal Plants, Meshginshahr Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
Email Aidin_azizpour@uma.ac.ir, Aidin_azizpour@yahoo.com



Copyright © 2021, This is an original open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribution of the material just in noncommercial usages with proper citation.

Use your device to scan and read the article online



Azizpour A. Prevalence and Antibiotic Resistance of *Salmonella* Serotypes in Chicken Meat of Ardabil, Northwestern Iran. Iran J Med Microbiol. 2021; 15 (2) :232-246

Download citation: [BibTeX](#) | [RIS](#) | [EndNote](#) | [Medlars](#) | [ProCite](#) | [Reference Manager](#) | [RefWorks](#)

Send citation to:  [Mendeley](#)  [Zotero](#)  [RefWorks](#)

Introduction

Salmonellosis is one of the most common food-borne infectious diseases in the world, particularly in developing countries. It can be said that this disease

imposes many damages to the countries annually due to the subsequent health problems (1). This disease is caused by various serotypes of *Salmonella* bacteria

that are highly diverse, biochemically and serologically (2). *Salmonella infantis* has been reported as the most common isolated serotype in recent years (3, 4). Vegetables, dairy products, infected poultry, meat and eggs are among the most important sources of infection in humans (5, 6, 7). According to the World Health Organization (WHO), 17 million people are annually diagnosed with typhoidal *Salmonella*. Nearly 600,000 of them die, and 1.3 billion acute gastroenteritis or diarrhea cases are caused by non-typhoidal *Salmonella* leading to three million deaths and making salmonellosis a major health issue, globally (8).

Antibiotic therapy is one of the important methods applied to reduce and control Salmonellosis in birds and humans (9, 10). Antibiotic resistance to this bacterium has been increased due to the excessive consumption of antibiotics in the fields and health centers, so that the spread of resistant strains has become a global problem (11, 12), and a serious threat to public health (13, 14).

Considering that poultry products, especially chicken, count for sources of *Salmonella* infection, the present research was carried out about contamination of chicken to *Salmonella* serotypes in Ardabil region. Therefore, the aim of this study was to evaluate *Salmonella* infection in chicken to identify the regarding serotypes and to determine drug resistance to 10 antibiotics which are commonly used in Iran.

Materials and Methods

Sample Collection

This cross-sectional descriptive study was carried out within five months in 2017 in cooperation with the Veterinary Organization of Ardebil province. In this study, chicken supply and distribution centers with health license in Ardabil city were included. The study consisted of 100 chicken samples that were randomly selected from above mentioned centers from four districts of north, south, east and west of the city. Samples were collected in sterilized 30-gram plastic containers and transferred to the laboratory.

Salmonella Identification

Samples prepared in selenite F rich medium (Himedia, India) were cultured at 37°C for 24 hours and transferred and cultured in the selected solid mediums of *Salmonella* such as MacConkey Agar (Merk, Germany), Salmonella-Shigella Agar (Himedia, India) and Brilliant Green Agar (Himedia, India). The

colonies were investigated after incubation for 24 hours at 37°C. Negative lactose colonies (uncolored) were considered as suspected colonies with and without H₂S production. Suspected samples were again cultured in xylose lysine deoxycholate (XLD) agar (Himedia, India), which produced red and black centered colonies. Suspected colonies were cultured in differential mediums including Urea Broth, Simon Citrate Agar, SIM, TSI Agar (Quelab, Canada) and their reactions were investigated in sugar mediums including MRVP, mannitol, maltose, lactose, arabinose, sucrose, glucose and D-xylose (Quelab, Canada) (15). Then, by comparing the results with the biochemical table, the isolated bacteria were determined. Determination of serogroups and serotypes of positive samples was performed using serological tests and polyvalent anti-serums (Mast, England) (A to D). Numerous monovalent antiserums available for the diagnosis of serum group O were used. Subsequently, to determine the serotype within the group, flagellar antigens (H₂, H₆, H_L, H_gm) were used according to the instructions of Mast Company (England), using the slide agglutination method (15). For this purpose, a concentrated suspension of bacteria was prepared in a physiological serum on a slide, then a drop of monovalent O serum was added to it and agglutination was evaluated in less than two minutes. Then, the above mentioned sample was determined with H anti-serums (phases 1 and 2) and by observing agglutination and based on the Kauffman-White table of bacteria serotype.

DNA Extraction

The boiling method was employed to extract the DNA. For this purpose, confirmed colonies, were directly cultured in a peptone water medium and after 24 hours, 100 µL of bacterial culture was boiled in the peptone water medium for 10 minutes with 500 µL of distilled water. After centrifugation of the samples in 14000 rpm, supernatant was used as DNA.

PCR Test

To determine the molecular characteristics of different *Salmonella* species, PCR was performed. Firstly, PCR was performed using *St11/St15* primers to determine the genus of *Salmonella*, and then PCR test was also performed to determine *Salmonella* Typhimurium (S. Tm) by using specific primers (*fliC*) (Table 1). S. Tm ATCC 14028 was used as positive control. The details of the sequences of their returning and forward primers are as follows:

Table 1: Primers Used for PCR detection of *Salmonella* and *Salmonella* Tm

Target gene	Primer sequence (5' to 3')	Amplicon Size (bp)	References
<i>ST 11</i>	GAGCCAACCATGCTAAATTGGCGC A	429	Soumet et al. (1999) (16)
<i>ST 15</i>	GGTAGA.AATTCCCAG.CGCGTACTGG	429	
<i>fliC</i>	CCCGCTTACAGGTGGACTAC	432	Azizpour A (2020) (5)
<i>fliC</i>	AGCGGGTTTTTCGGTGGTTGT	432	

The PCR was performed in 50 µl volume containing 5 µl each Primers (Metabion, Germany), 1 µl of Taq Polymerase, 0.5 µl of dNTP, 1 µl of MgCl₂, 5 µl of 10x Loading DNA, 5 µl of DNA template and 32/5 µl of sterile distilled water. The steps of the thermocycler device (Eppendorf, Germany) were as follows: Initial denaturation at 94°C for 5 minutes and 35 cycles for the other steps containing a denaturation at 94°C for 45 seconds, annealing at 56°C for 45 seconds, extension at 72°C for one minute and Final extension at 72°C for 5 minutes. Electrophoresis was performed for the amplified products (20 µl) on 1.5 % agarose gel (Simga, USA) prepared in 1x TBE buffer (89 mmol 1⁻¹Tris, 89 mmol 1⁻¹Borate and 2 mmol 1⁻¹EDTA) at 80 V for 45 minutes. This gel was stained with DNA safe SYBR (SinaClon, Iran) and then photographed under UV light. The images were prepared using a Gel Doc system (Cambridge, Germany).

Antibiotic susceptibility testing

After determining the serogroups of *Salmonella* isolates, their antibiotic resistance patterns were investigated using antibiotic disks manufactured by Padtan Teb Company of Tehran, Iran by Disc diffusion, Kirby Bauer methods according to instructions of Clinical and Laboratory Standards Institute (5). The tested antimicrobial agents and their concentrations were as follows: tetracycline (30 µg), trimethoprim-sulfadiazine (1.25/23.75 µg), florfenicol (30 µg), enrofloxacin (5 µg), co-trimoxazole (trimethoprim-sulfamethoxazole) (1.25/23.75 µg), amoxicillin (10 µg), ciprofloxacin (5 µg), ampicillin (10 µg), chloramphenicol (30 µg) and doxycycline (30 µg). To perform an antibiogram test, a standard 0.5 McFarland solution was prepared from the suspension and then cultured in Mueller-Hinton agar medium. In the next step, the disk locating was performed and the

plates were incubated at 35°C for 18 hours (15). Finally, by measuring the diameter of zone of inhibition, the bacterial resistance or sensitivity to tested antibiotics was determined.

Results

Of the 100 chicken samples, *S. enterica* was isolated in six cases (6%), from which, four isolates (66.6%) were assigned to serogroup C, one isolate (16.6%) was assigned to serogroup D, and also one isolate (16.6%) to serogroup B. Of the four isolates of the serogroup C, three isolates were assigned to the *S. infantis* serotype and one isolate was assigned to the *S. thompson* serotype. One isolate of the serogroup D was assigned to *S. enteritidis*, and one isolate of serogroup B was considered as *S. Tm*.

The results of the study of the antibiotic sensitivity and resistance of *Salmonella* isolates to 10 common antibiotics are shown in Table 2. All isolates were sensitive to two antibiotics, enrofloxacin and ciprofloxacin. More than 60% of the isolates were resistant to 7 antibiotics. The only isolate assigned to the serogroup B was sensitive to doxycycline, florphenicol, enrofloxacin and ciprofloxacin and resistant to six antibiotics. The isolate assigned to the serogroup D was fully sensitive to florphenicol, enrofloxacin and ciprofloxacin and fully resistant to tetracycline, doxycycline, chloramphenicol, amikacin, sulfadiazine+trimethoprim, co-trimoxazole and ampicillin. The isolates assigned to the serogroup C were fully sensitive to enrofloxacin and ciprofloxacin. The resistance of these isolates was 75% against four antibiotics; doxycycline, chloramphenicol, sulfadiazine+trimethoprim and ampicillin, and 50% against tetracycline, amikacin and co-trimoxazole and 25% against florphenicol.

Table 2: Resistance and sensitivity of *Salmonellas* isolated from chicken meat indicated by serogroup

Antibiotics	Serum Groups						
	B	D	C	C	C	C	
Tetracycline	R	R	R	S	S	R	
Doxycycline	S	R	R	R	S	R	
Florphenicol	S	S	R	S	S	S	
Chloramphenicol	R	R	R	R	R	S	

Antibiotics	Serum Groups						
	B	D	C	C	C	C	
Enrofloxacin	S	S	S	S	S	S	
Ciprofloxacin	S	S	S	S	S	S	
Amikacin	R	R	R	S	R	S	
Sulfadiazine+Trimetoprim	R	R	R	R	R	S	
Cotrimoxazole	R	R	R	S	R	S	
Ampicillin	R	R	R	R	S	R	

R: Resistance S: Susceptible

S. Tm PCR product was detected on 1.5% agarose gel, and the 432 bp band was observed. The results of

the PCR products on the agarose gel and the bands formed with the markers are shown in [Figure 1](#).



Figure 1. Gel electrophoresis of the PCR products. M: Molecular ladder; 1: Positive control; 2: *S. Tm* band at 432 bp; 3: Negative control

Discussion

Salmonellosis is one of the most important bacterial diseases of the poultry industry, especially broiler chickens in the world and the industrial poultry and its products are the most important sources of transmission of *Salmonella* to humans (10, 17). *Salmonella* contamination occurs in humans as food poisoning, gastroenteritis, typhoid fever, and sometimes septicemia (6, 18). Therefore, identification of *Salmonella*, especially circulating serotypes and determination of the drug resistance pattern in order to prevent the spread of resistance genes are of great importance in terms of public health.

In Ethiopia, *Salmonella* was isolated by 21.2% from 378 poultry carcasses in 2003 (12). In Nigeria, in 2005, 12.5% of 120 chicken feces samples were positive with *Salmonella* (13). In another study in 2007, out of a total of 336 carcasses in industrial slaughter-houses in northern Spain, 17.9% were infected with *Salmonella* (19). In Shanxi Province of China, 515 chicken samples were tested for *Salmonella* in 2010 and 54% contamination was announced (20). In Bangladesh, in

2011, Out of 503 poultry carcasses, *Salmonella* infection was reported in 37% of the cases (10). In the central region of Mato Grosso do Sul of Brazil in 2011, *Salmonella* was isolated by 11.28% from 258 slaughter poultry (21). In Algeria in 2012, out of 314 samples of studied red meat and chicken, 19.34% were positive with *Salmonella* (22). In a study in northeastern Poland, 300 slaughtered turkeys were investigated during 2014, of which, 8.3% were infected with *Salmonella* (1). In Egypt, *Salmonella* was also isolated by 34% from 200 investigated meat samples (23).

Various reports have been provided on *Salmonella* infection rates in different regions of the country. In Hamadan Province of Iran in 2000, 140 chicken samples were examined for *Salmonella* and the contamination rate of 8.6% was reported (24). A study conducted in Fars Province of Iran during 2005, resulted that 15.62% of 192 samples from broiler flocks were infected with *Salmonella* (7). In the southern regions of Tehran in 2007, out of 315 samples of chicken, 11.3% were infected with *Salmonella* (25). In 2009, 1125 poultry samples were

collected from native poultry in northern Iran and the rate of infection with *Salmonella* was 2.4% (2). In 2010, *Salmonella* was isolated with the rate of 31% from 93 investigated chicken flocks in Ahwaz Region of Iran (26). In Uremia Region of Iran, in the year 2011, 20.8% *Salmonella* were isolated from 360 various organs of poultry (16). Out of 245 cloaca samples collected from slaughtered poultry in Arak Region of Iran, in the year 2013, 30.61% of the samples were infected with *Salmonella* (27). In Gilan Province of Iran, in 2013, *Salmonella* was isolated at a rate of 15% from 20 slaughtered broiler chicken flocks (3). In another study in the year 2013 in Talesh Region of Iran, *Salmonella* contamination in 100 chickens was reported to be 21% (28). In Chaharmahal and Bakhtiari Province of Iran, 620 samples of meat collected from supermarkets in 2014 were reported as contaminated with *Salmonella* by 4.51% (6). Another study in Ardabil Region of Iran, showed that 260 samples of chicken and viscera on the market were contaminated to *Salmonella* by 10% (15). In Alborz Province of Iran, in 2015, out of 560 chicken samples (liver, heart and gizzard) *Salmonella* was isolated at a rate of 19.22% (29). In another study, three poultry slaughter-houses in Alborz Markazi and Fars provinces of Iran were investigated during 2016 and this study showed that of the 585 samples, 25.5% were infected with *Salmonella* (30). In the present study, the infection rate of chicken to various *Salmonella* species was found to be 6%. This infection rate is lower than the majority of the previous reports (14, 15) and higher than some of them (2, 6). This difference seems to be due to geographical location, health condition of poultry centers, type and volume of samples, and methods applied to detect contamination.

There are different reports on the prevalence of various *Salmonella* serogroups and serotypes in different regions of the world. In a study by Mehrabian *et al.* (2001) in Tehran Region of Iran on beef, chicken and egg samples, the results showed that *S. enteritidis* is dominant to other *Salmonella* species (31). In Spain, the highest serotypes isolated from poultry samples were *S. enteritidis*, *S. Tm*, *S. virchow*, *S. newport*, and *S. heidelberg* (32). In Thailand, *S. Tm*, *S. gallinarum*, *S. pulorom* and *S. cholerasuis* were reported as the most common serotypes (32). In a study by Sultan Dallal *et al.* (2007) in Tehran Region of Iran, the dominant serotype was *S. thompson* in chicken specimens (25). Namaei *et al.* (2009) isolated two local serotypes of *S. enteritidis* and *S. Tm* from eggs in Birjand Region of Iran (34). According to Shapouri *et al.* (2009) in Zanjan region of Iran, the highest serotypes isolated from egg shell were *S. enteritidis* (23.3%), *S. agona* (10%), *S. virchow* (10%), *S. gallinarum* (6.7%), *S. infantis* (3.3%) and *S. heidelberg* (3.3%) (29). Azizpour (2018) isolated four *Salmonella* serotypes in poultry flocks in Ardabil city of Iran, which consisted of *S. enteritidis* (59.1%), *S.*

infantis (31.8%), *S. thompson* (4.5%) and *S. Tm* (4.5%) (4).

In a study by Zahraei Salehi *et al.* (2005) in Fars Province of Iran, 70% of *Salmonella* was assigned to serogroup D1, 20% to serogroup C1, 6.6% to serogroup C2 and 3.3% to serogroup B (7). Pooladgar *et al.* (2010) isolated three serogroups B, C, D in Ahvaz Region of Iran (26). Akbarmehr (2010) in Sarab region of West Azerbaijan Province of Iran showed that 53.3%, 26.6%, 11.1% and 8.8% of *Salmonellas* were assigned to groups D1, B, C1 and C2, respectively (9). In a study by Ezzatpanah *et al.* (2013) in Arak Region of Iran, the serogroup D1 of *Salmonella* was reported as the dominant serogroup (27). Raeisi and Ghiyami (2015) indicated that three serogroups of *Salmonella* (C, B and D with 92.3%, 3.8% and 3.8% isolation rates, respectively) were isolated from chicken and viscera in Ardebil Region of Iran. Several studies have also been conducted on the prevalence of serogroups in different countries (15). Goncagul *et al.* (2005) in Turkey, isolated the groups A, B, C and D on the skin of wings of slaughter poultry and represented that serum D was the majority (11). According to the results of Mahmud *et al.* (2011) in Bangladesh, 43% of isolates were assigned to serogroup B and 57% to serogroup C (10). In the present study, three serogroups C, B and D were isolated; serogroup C had the highest rate of isolates with an isolation rate of 66.7% and among isolated serotypes, *S. infantis* was the dominant serotype with the rate of 50%. The findings of this study on the dominance of serogroup C and *S. infantis* are consistent with the results of some of researchers (9). This issue seems to be due to the endemic of this type of *Salmonella* in recent years in Iran (7, 27). Of noteworthy points in the present study, is the assignment of a high percentage of group C isolates to *S. infantis* which was the second highest *Salmonella* infection rate. Comparison of isolation rates from the results of present study with the results of Raeisi and Ghiyami's study (2015) on chicken in Ardebil (15), indicates that there is a change in the prevalence rate of serogroups, so that serogroups D and B have been increased from the rate of 3.8% to 16.4%. While the serogroup C has been decreased from the rate of 92.3% to 66.7%. In other words, the highest prevalence of *Salmonella* in this study is also related to *S. infantis* serotype. So that, in recent years, it has been shown that the prevalence of *Salmonella* serogroup C, especially *S. infantis* serotype is increasing in broiler poultry flocks, which is important in terms of public health (15). Various results for serogroups can be due to differences in geographic regions and also time and type of sampling. It seems that serotypes can replace each other in a particular region and period, due to the existed rotational situation between serotypes (4).

Several reports have been provided on the antibiotic resistance of *Salmonella* in different countries, which indicates the diversity and high levels of drug resistance in different regions. Molla et al. (2003) in Ethiopia, indicated that among 23 tested antibiotics, the highest levels of resistance were related to sulfamethoxazole (51.2%), amoxicillin and ampicillin (46.2%), tetracycline (2/41%), chloramphenicol (30%), florphenicol (27.5%), streptomycin (22.5%) and cotrimoxazole (21%), and there was no resistance against nitrofurans, quinolones, cephalosporins, kanamycin and neomycin (12). In Spain, Capita et al. (2007) observed that the highest levels of resistance were against sulfonamides, fluoroquinolones and tetracyclines (19). According to reports by Yang et al. (2010) in Chinese Shanxi Province, the highest percentages of resistance were related to sulfamethoxazole+trimethoprim (67%), tetracycline (56%), nalidixic acid (35%), ciprofloxacin (21%) and ceftriaxone (16%) (20). In Chinese Sichuan Province, Ruichao et al. (2013) reported the highest percentages of resistance to tetracycline (77%), sulfamethoxazole+trimethoprim (43%), nalidixic acid (41%), streptomycin (41%) and ampicillin (25%), and the lowest percentages to gentamycin (15%), amoxicillin (14%), ciprofloxacin (12%), and florphenicol (10%) (14). Abdelghany et al. (2015) in Egypt observed the highest percentages of resistance to nalidixic acid (98.8%), sulfamethoxazole+trimethoprim (96.4%), oxytetracycline (95.2%) and ampicillin (91.06%) (23).

In Iran, studies conducted in different regions of the country indicate the emergence and increase of drug resistance in the *Salmonella* isolates. So that in Zahraei Salehi et al. (2005) studies, all isolates were sensitive to colistin, gentamicin, ciprofloxacin, enrofloxacin and cefalotin, and the highest drug resistances were observed to be against streptomycin, flumequin, nalidixic acid, tetracycline, neomycin and trimethoprim (7). Peighambari et al. (2011) reported the highest resistances to tetracycline (66.6%), furazolidone (52.8%), nalidixic acid (43.8%), linoespectin (42.3%), flumequine (40.6%) and streptomycin (39.1%), while ciprofloxacin and imipenem had 100% sensitivity (18). According to reports by EzzatPanah et al. (2013), the highest drug resistance percentages were observed when using nitrofurantoin (92.6%), nalidixic acid (86.7%), clistin (64%), tetracycline (54%), furazolidone (49.3%), and amoxicillin (45.3%) (27). Asadpour et al. (2013) showed that all isolates were resistant to tetracycline, streptomycin, nalidixic acid, cefazolin, and

sulfamethoxazole+trimethoprim (3). Raeisi and Ghiyami (2015) observed the highest resistance rates to streptomycin and nalidixic acid (100%), tetracycline (92.3%), neomycin and furazolidone (84.6%) and chloramphenicol (73.3%). Also, the lowest resistance rates were against amoxicillin and ampicillin (11.5%), ciprofloxacin (7.7%) and gentamicin (3.7%) (15). Sodagari et al. (2015) in Alborz Province introduced tetracycline as the most resistant antibiotic against *Salmonella* isolated from poultry (29).

In the present study, among the common antibiotics in the poultry industry, the highest rates of resistance were against sulfadiazine+trimethoprim, tetracycline, doxycycline and florphenicol, respectively. In the group of human antibiotics, the highest resistance rates were observed against ampicillin, chloramphenicol, co-trimoxazole and amikacin, respectively. The resistance rates of isolates in the present study were different from the results of some previous studies, which can be due to long-term and excessive consumption of antibiotics in different regions of the country and the genetic transfer of drug resistance between bacteria (15, 27). In the present research, the lowest resistances were observed against fluoroquinolone and florphenicol groups. Therefore, these drugs may be effective in the treatment of salmonellosis.

Conclusion

According to the results of this investigation, the predominant serotype is *S. infantis*. Poultry *Salmonella* isolates are resistant to the majority of antimicrobial agents under study, which is of great importance in term of public health. This situation can be due to continuous consumption of drugs in poultry farms. Therefore, in order to prevent the emergence of resistant strains of bacteria, the principled consumption of antibiotics seems to be necessary.

Acknowledgment

The author of this study would like to thanks Dr Ciamak Ghazaei from University of Mohaghegh Ardabili who helped with performing this research.

Funding and Support

This research resulted from an independent research without receiving any financial support.

Conflict of Interest

Authors declare that there is no conflict of the interest.



بررسی میزان شیوع و مقاومت دارویی سروتیپ‌های سالمونلا در گوشت مرغ اردبیل، ایران

آیدین عزیزپور^{*}

۱. دانشیار بیماری‌های طیور، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی مشهدین شهر، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۰۴

پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۰۲

انتشار آنلاین: ۱۴۰۰/۰۱/۲۰

موضوع: میکروبیولوژی مواد غذایی

نویسنده مسئول:

آیدین عزیزپور، دانشیار بیماری‌های طیور، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی مشهدین شهر، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
ایمیل:

Aidin_azizpour@uma.ac.ir

چکیده

زمینه و اهداف: سالمونلوز یکی از مهمترین بیماری‌های زئونوز است که بیشتر عفونت‌های سالمونلایی در اثر مصرف مواد غذایی آلوده به این باکتری ایجاد می‌شود. در طی دهه‌های اخیر، مقاومت دارویی سالمونلاهای جدا شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج افزایش یافته است که به عنوان یک مشکل بهداشتی جهانی مطرح است. لذا هدف از این تحقیق بررسی سروتیپ‌های سالمونلا در گوشت مرغ و میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها نسبت به ده آنتی‌بیوتیک با مصرف رایج ایران بود.

مواد و روش کار: تعداد ۱۰۰ نمونه گوشت مرغ به‌طور تصادفی از مراکز تهیه و توزیع گوشت مرغ در نقاط مختلف شهرستان اردبیل جمع‌آوری گردید. پس از کشت و جداسازی سالمونلا، پرگنه‌های آن با روش سرولوژی و PCR بررسی شدند. در نهایت تست PCR برای تایید نمونه‌های مثبت سالمونلا تیپی موربوم انجام گردید. میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدا شده‌ها با روش کربی بایوئر (Kirby Bauer) مشخص شد.

یافته‌ها: مجموع ۱۰۰ نمونه گوشت مرغ نمونه برداری شده ۶ درصد سالمونلا (تعداد ۶ مورد) به‌دست آمد که از این تعداد ۵۰ درصد به سالمونلا اینفنتیس، ۱۶/۶ درصد به سالمونلا آنتریتیدیس، ۱۶/۶ درصد به سالمونلا تیپی موربوم و ۱۶/۶ درصد به سالمونلا تامپسون تعلق داشت. بیش از ۶۰ درصد جدا شده‌ها به هفت آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. به‌طوری‌که بیشترین مقاومت دارویی نسبت به آمپیسیلین (۸۳/۳ درصد)، سولفادایزین + تری متوپریم (۸۳/۳ درصد)، کلرامفنیکل (۸۳/۳ درصد) و بعد از آنها کوتریموکسازول (۶۶/۷ درصد)، آمیکاسین (۶۶/۷ درصد)، تتراسیکلین (۶۶/۷ درصد)، داکسی‌سیکلین (۶۶/۷ درصد) و فلورفنیکل (۱۶/۷ درصد) مشاهده شد. تمامی جدا شده‌ها در مقابل سیپروفلوکساسین و انزوفلوکساسین حساس بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان داد که در گوشت مرغ سالمونلا اینفنتیس غالب هست و جدا شده‌ها نسبت به اکثریت ده آنتی‌بیوتیک رایج در صنعت دام و طیور مقاومت دارویی دارند که از نظر بهداشت عمومی حایز اهمیت فراوانی است.

کلید واژه‌ها: سالمونلا، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، سروتیپ، سیپروفلوکساسین

کپی‌رایت © مجله میکروبیولوژی پزشکی ایران؛ دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده غیرتجاری با ذکر منبع آزاد است.

مقدمه

می‌شوند که نزدیک به ۶۰۰ هزار نفر آنها می‌میرند و ۱/۳ بلیون مورد گاسترو انتریت حاد یا اسهال ناشی از سالمونلاهای غیر تیفوئیدی منجر به مرگ ۳ میلیون نفر می‌شود که به‌عنوان یک مساله بزرگ بهداشتی در دنیا است (۸).

درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از روش‌های مهم کاهش و کنترل خسارات سالمونلوزیس در پرندگان و انسان است (۹، ۱۰) که عمدتاً به دلیل مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در سطح مزارع و مراکز درمانی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی به این باکتری افزایش یافته است و به‌طوری‌که گسترش سویه‌های مقاوم به‌صورت یک معضل جهانی در آمده است (۱۱، ۱۲). در حال حاضر این مساله به‌عنوان خطر جدی برای بهداشت عمومی است (۱۳، ۱۴).

سالمونلوز یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی با منشا مواد غذایی در جهان است که در اکثر نقاط مختلف به‌خصوص در کشورهای در حال توسعه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به‌طوری‌که می‌توان گفت این بیماری به خاطر ایجاد مشکلات بهداشتی، سالانه خسارات فراوانی را به کشورها تحمیل می‌کند (۱). این بیماری توسط سروتیپ‌های مختلف باکتری سالمونلا ایجاد می‌شود که از نظر بیوشیمیایی و سرولوژیک بسیار متنوع هستند (۲). در طی سال‌های اخیر، سالمونلا اینفنتیس به‌عنوان شایع‌ترین سروتیپ جدا شده گزارش شده است (۳، ۴). سبزیجات، فرآورده‌های لبنی و گوشت طیور و تخم مرغ آلوده از مهمترین منابع آلودگی در انسان به شمار می‌روند (۵، ۶، ۷). بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت (WHO) سالانه ۱۷ میلیون نفر به سالمونلای تیفوئیدی مبتلا

سیترات آگار، SIM، TSI آگار (Quelab, Canada) کشت و واکنش آنها در محیط‌های قندی شام MRVP مانیتول، مالتوز، لاکتوز، آرابینوز، ساکارز، گلوکز و D گزیلوز (Quelab, Canada) بررسی شدند (۱۵). سپس با مقایسه نتایج به دست آمده با جدول بیوشیمیایی، باکتری جدا شده مشخص شد. از تست‌های سرولوژی به کمک آنتی‌سرم‌های پلی‌والان (Mast, England) (A تا D) روی نمونه‌ها انجام شد و برای تعیین گروه نمونه‌های مثبت، آنتی‌سرم‌های منوالان O (O₂، O₄.....) استفاده شد و مرحله بعدی برای تعیین سروتیپ آنتی‌ژن‌های تاژک دار (H₂، H₆، HL، Hgm) بر اساس دستورالعمل شرکت Mast (انگلستان) با روش آگلوتیناسیون روی لام به کار برده شد (۱۵). برای این منظور ابتدا سوسپانسیون غلیظی از باکتری در سرم فیزیولوژی روی لام تهیه، سپس یک قطره از سرم منوالان O به آن اضافه و ایجاد آگلوتیناسیون در زمان کمتر از ۲ دقیقه بررسی شد. سپس نمونه فوق با آنتی‌سرم تاژک دار (فاز ۱ و ۲) مجاور و با مشاهده آگلوتیناسیون و بر اساس جدول کافمن-وایت سروتیپ باکتری تعیین گردید.

استخراج DNA

از روش جوشاندن (Boiling) برای استخراج DNA باکتری‌ها استفاده شد. بدین منظور، کلنی‌های تایید شده *Salmonella* مستقیماً در محیط آب پیتونه کشت داده شدند؛ بعد از ۲۴ ساعت میزان ۱۰۰ میکرولیتر از آن با ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد. پس از سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها در دور ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه مایع رویی رسوب به عنوان DNA در نظر گرفته شد.

آزمون PCR

برای تایید تشخیص سروتیپ‌ها *Salmonella* آزمایش PCR انجام شد. ابتدا PCR با استفاده از پرایمرهای St11/St15 برای تعیین جنس *Salmonella* انجام شد. سپس برای تعیین *Salmonella* تیپی موربوم از پرایمرهای اختصاصی (*fliC*) استفاده شد (جدول ۱). سوپه *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 (*S. Tm*) به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد.

نظر به اینکه فرآورده‌های طیور به‌ویژه گوشت مرغ از منابع آلودگی *Salmonella* به شمار می‌روند. انجام این تحقیق میزان در خصوص آلودگی گوشت مرغ منطقه اردبیل به سروتیپ‌های *Salmonella* ضروری به نظر می‌رسید. بنابراین هدف از این تحقیق بررسی میزان آلودگی گوشت مرغ منطقه اردبیل به *Salmonella* و شناسایی انواع سروتیپ‌ها و میزان مقاومت دارویی آنها نسبت به ده آنتی‌بیوتیک با مصرف رایج در ایران است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

این مطالعه به روش توصیفی-مقطعی طی ۵ ماه در سال ۱۳۹۶ با همکاری اداره کل دامپزشکی استان اردبیل انجام گرفت. در این مطالعه مراکز تهیه و توزیع گوشت مرغ دارای مجوز بهداشتی سطح شهرستان اردبیل در نظر گرفته شدند. نوع و حجم نمونه شامل ۱۰۰ نمونه گوشت مرغ بود که نمونه‌برداری به‌طور تصادفی از مراکز فوق‌الذکر از ۴ منطقه شمال، جنوب، شرق و غرب شهرستان انجام گرفت. نمونه‌ها در حجم ۳۰ گرم در ظروف پلاستیکی استریل جمع‌آوری و بلافاصله با انتقال به آزمایشگاه بررسی شدند.

شناسایی باکتری *Salmonella*

نمونه‌های تهیه‌شده در محیط غنی‌کننده سلنیت (Himedia, F India) به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس کشت داده شدند و بعد از رشد به محیط‌های جامد انتخابی *Salmonella* نظیر مکانکی آگار (Merk, Germany)، *Salmonella*-شیگلا آگار (Himedia, India) و بریلیانت گرین آگار (Himedia, India) منتقل و کشت داده شدند و پس از مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سلسیوس کلنی‌ها بررسی شدند. کلنی‌های لاکتوز منفی (بی‌رنگ) با تولید H₂S و بدون تولید H₂S به‌عنوان کلنی‌های مشکوک در نظر گرفته شد. نمونه‌های مشکوک مجدداً در گزیلوز لیزین دزوکسی کولات آگار (Himedia, XLD) (India) کشت داده شد که کلنی‌های قرمز با مرکز سیاه تولید کردند. کلنی‌های مشکوک در محیط‌های افتراقی شامل اوره برات، سیمون

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت تشخیص جنس *Salmonella* و *Salmonella* تیپی موربوم

منبع	اندازه باند	توالی پرایمرها (3' → 5')	ژن هدف
Soumet et al. (1999) (16)	429	GAGCCAACCATTGCTAAATTGGCGC A	ST 11
	429	GGTAGA.AATTCCCAG.CGGGTACTGG	ST 15
Azizpour A (2020) (5)	432	CCCCTTACAGGTGGACTAC	<i>fliC</i>
	432	AGCGGGTTTTCGGTGGTTGT	<i>fliC</i>

آگار (Merck, Germany) کشت داده شد. در مرحله بعدی دیسک‌گذاری انجام و پلیت‌ها به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس انکوبه شدند (۱۵). در پایان نیز، با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه با جدول استاندارد تفسیر آنتی‌بیوتیک (شرکت پادتن طب) میزان مقاومت و یا حساسیت باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش مشخص شد.

یافته‌ها

از مجموع ۱۰۰ نمونه گوشت مرغ مورد بررسی در ۶ مورد (۶ درصد) *سالمونلا انتریکا* جداسازی شد که از ۶ *سالمونلا*ی جدا شده از گوشت مرغ، ۴ جدایه (۶۶/۶ درصد) به گروه سرمی C، ۱ جدایه (۱۶/۶ درصد) مربوط به گروه سرمی D و ۱ جدایه (۱۶/۶ درصد) به گروه سرمی B تعلق داشتند. از ۴ جدایه گروه سرمی C، ۳ مورد متعلق به سروتیپ *سالمونلا اینفتیس* و ۱ مورد متعلق به سروتیپ *سالمونلا تامپسون* بود. ۱ جدایه گروه سرمی D، به *سالمونلا انتریتیدیس* تعلق داشت. و ۱ جدایه گروه سرمی B نیز به‌عنوان سروتیپ *سالمونلا تیفی* موربوم بود.

نتایج حاصل از بررسی میزان حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *سالمونلا* نسبت به ۱۰ آنتی‌بیوتیک رایج در جدول ۲ نشان داده شده است. تمامی جدایه‌ها به ۲ آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین حساس بودند. بیش از ۶۰ درصد جدایه‌ها به ۷ آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند. تنها جدایه متعلق به گروه سرمی B نسبت به داکسی‌سیکلین، فلورفنیکل، نروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین حساس و نسبت به ۶ آنتی‌بیوتیک دیگر مقاومت نشان داد. جدایه متعلق به گروه سرمی D نسبت به فلورفنیکل، انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین کاملاً حساس بودند، این جدایه‌ها در برابر تتراسیکلین، داکسی‌سیکلین، کلرامفنیکل، آمیکاسین، سولفادiazین+ تری متوپریم، کوتریموکسازول و آمپی‌سیلین مقاومت کامل داشتند. جدایه‌های متعلق به گروه سرمی C نسبت به انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین کاملاً حساس بودند، میزان مقاومت این جدایه‌ها نسبت به ۴ آنتی‌بیوتیک داکسی‌سیکلین، کلرامفنیکل، سولفادiazین+ تری متوپریم و آمپی‌سیلین ۷۵ درصد بود و در برابر تتراسیکلین، آمیکاسین و کوتریموکسازول ۵۰ درصد و نسبت به فلورفنیکل ۲۵ درصد مشاهده شد.

برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و تکثیر قطعات ژنی از مواد و واکنش‌گرهای PCR در یک حجم ۵۰ میکرولیتری شامل هر کدام از پرایمرها ۵ میکرولیتر (Metabion, Germany)، آنزیم Taq DNA پلیمرز ۱ میکرولیتر، dNTP ۰/۵ میکرولیتر (۲۰ میکرومول)، MgCl₂ ۱ میکرولیتر (۲۵ میلی مولار)، بافر PCR ۵ میکرولیتر (۱۰x)، DNA الگو ۵ میکرولیتر و آب مقطر استریل ۳۲/۵ میکرولیتر استفاده شد. برنامه دمایی مخلوط PCR در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf, Germany) به شرح ذیل بود. واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، و به دنبال آن ۳۵ سیکل دمایی برای سایر مراحل شامل واسرشت در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمرها در دمای ۵۶ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، تکثیر در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام شد (۵). در پایان برای ردیابی محصول مورد نظر از ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی (SinaClon, Iran) DNA SYBR safe استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر از محصول PCR هر نمونه در بافر ۱ x TBE در ولتاژ ثابت ۸۰ ولت به مدت ۴۵ دقیقه الکتروفورز و محصول PCR بعد از رنگ‌آمیزی زیر نور ماورای بنفش مشاهده شد و سپس تصویر ژل با استفاده از دستگاه ژل داک (Cambridge, Germany) تهیه گردید.

تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی

بعد از تعیین گروه‌های سرمی جدایه‌های *سالمونلا*، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک ساخت شرکت پادتن طب ایران به روش انتشار دیسک دیفیوژن (Disc diffusion)، کربی بائر (Kirby Bauer) طبق دستورالعمل موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) بررسی شد (۵). تعداد ۱۰ عامل ضد میکروبی مورد آزمایش و غلظت آنها (بر حسب میکروگرم) عبارتند از تتراسایکلین (۳۰)، تریمتوپریم-سولفادiazین (۱.۲۵/۲۳.۷۵)، فلورفنیکل (۳۰)، انروفلوکساسین (۵)، کوتریموکسازول (تریمتوپریم-سولفامتوکسازول) (۱.۲۵/۲۳.۷۵)، آموکسی‌سیلین (۱۰)، سیپروفلوکساسین (۵) آمپی‌سیلین (۱۰)، کلرامفنیکل (۳۰) و داکسی‌سیکلین (۳۰) بود. برای انجام تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند از سوسپانسیون تهیه و سپس در محیط مولر هینتون

جدول ۲. میزان مقاومت و حساسیت سالمونلاهای جدا شده از گوشت مرغ به تفکیک گروه سرمی

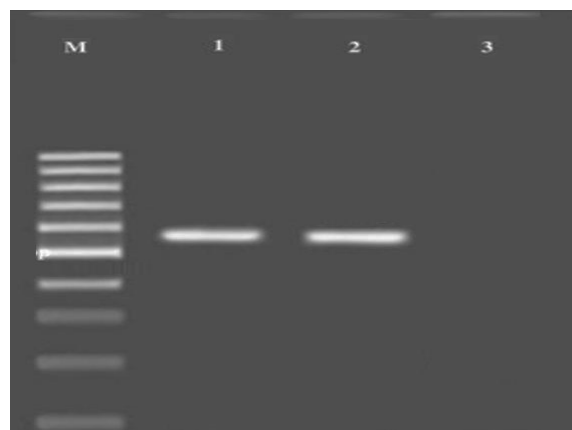
گروه سرمی						نوع آنتی بیوتیک
C	C	C	C	D	B	
R	S	S	R	R	R	تتراسیکلین
R	S	R	R	R	S	داکسی سیکلین
S	S	S	R	S	S	فلورفنیکل
S	R	R	R	R	R	کلرامفنیکل
S	S	S	S	S	S	انزوفلوکسازین
S	S	S	S	S	S	سیپروفلوکسازین
S	R	S	R	R	R	آمیکاسین
S	R	R	R	R	R	سولفادیازین + تری متوپریم
S	R	S	R	R	R	کوتریموکسازول
R	S	R	R	R	R	آمپی سیلین

R: Rresistant, S: Sensitive

منابع انتقال سالمونلا به انسان هستند (۱۰، ۱۷). عفونت سالمونلایی در انسان به صورت مسمومیت غذایی، گاستروانتریت، تب رودهای و گاهی سپتیسمی دیده می شود (۶، ۱۸). بنابراین شناسایی سالمونلا به ویژه سروتیپ های در حال چرخش و تعیین الگوی مقاومت دارویی آن برای جلوگیری از گسترش ژن های مقاوم از نظر بهداشت عمومی اهمیت فراوان دارد.

در اتیوپی در سال ۲۰۰۳ سالمونلا به میزان ۲۱/۲ درصد از ۳۷۸ لاشه طیور جداسازی گردید (۱۲). در نیجریه در سال ۲۰۰۵ از کل ۱۲۰ نمونه مدفوع مرغ، ۱۲/۵ درصد نمونه ها از نظر سالمونلا مثبت بودند (۱۳). در مطالعه دیگر در سال ۲۰۰۷، از مجموع ۳۳۶ لاشه کشتاری در کشتارگاه های صنعتی شمال اسپانیا ۱۷/۹ درصد آلوده به سالمونلا بودند (۱۹). در استان شانکسی چین ۵۱۵ نمونه مرغ از نظر سالمونلا در سال ۲۰۱۰ بررسی و میزان آلودگی ۵۴ درصد اعلام شد (۲۰). در منطقه مرکزی ماتو گروسو دو سول برزیل در سال ۲۰۱۱، سالمونلا به میزان ۱۱/۲۸ درصد از طیور کشتاری جداسازی شد (۲۱). در الجزایر در سال ۲۰۱۲ از ۳۱۴ نمونه گوشت قرمز و مرغ مورد مطالعه ۱۹/۴۳ درصد (۶۱ نمونه) از نظر سالمونلا مثبت بودند (۲۲). در مطالعه ای در شمال شرقی لهستان ۳۰۰ بوقلمون کشتاری در سال ۲۰۱۴ بررسی شد که ۸/۳ درصد آلوده به سالمونلا بودند (۱). در مصر نیز سالمونلا به میزان ۳۴ درصد از ۲۰۰ نمونه گوشت مورد بررسی جداسازی شد (۲۳).

محصول PCR سالمونلا تیپی موریوم بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ ردیابی و باند ۴۳۲ bp مشاهده شد که نتایج PCR روی ژل آگارز و باندهای ایجاد شده همراه با مارکرها در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱. نتایج واکنش PCR بر روی ژل آگارز جهت تشخیص سالمونلا تیپی موریوم. ستون M: DNA Ladder 100bp، ستون ۱: کنترل مثبت (سالمونلا تیپی موریوم ATCC ۱۴۰۲۵)، ستون ۲: محصول PCR سالمونلا تیپی موریوم با باند ۴۳۲ bp، ستون ۳: کنترل منفی

بحث

سالمونلوزیس از لحاظ اقتصادی یکی از مهم ترین بیماری های باکتریایی صنعت طیور به ویژه جوجه های گوشتی در سراسر دنیا است که طیور صنعتی و فرآورده های آنها مهم ترین

نمونه‌های تخم مرغ و گوشت مرغ *S. enteritidis* مشاهده شد (۳۱). در اسپانیا بیشترین سروتیپ‌های جدا شده از نمونه‌های گوشت مرغ کشتاری مربوط به *S. enteritidis*، *S. Tm*، *S. S.*، *S. heidelberg* و *S. new port*، *virchow* بودند (۳۲). در تایلند *S. cholerasuis*، *S. pulorom*، *S. gallinarum*، *S. Tm* به‌عنوان شایع‌ترین سروتیپ‌ها گزارش شدند (۳۳). در تحقیق Soltan Dallal و همکاران (۲۰۰۷) در تهران سروتیپ غالب در نمونه‌های گوشت مرغ *S. thompson* بود (۲۵). Namaei و همکاران (۲۰۰۹) از تخم مرغ‌های محلی آلوده به سالمونلا در بیرجند دو سروتیپ *S. enteritidis* و *S. Tm* جداسازی شد (۳۴). طبق گزارش شاپوری و همکاران (۲۰۰۹) در زنجان بیشترین سروتیپ‌های جدا شده از پوسته تخم مرغ به ترتیب مربوط به *S. enteritidis* (۲۳/۳٪)، *S. agona* (۱۰٪)، *S. virchow* (۱۰٪)، *S. gallinarum* (۷/۶٪)، *S. infantis* (۳/۳٪) و *S. heidelberg* (۳/۳٪) بود (۳۵). Azizpour (۲۰۱۸) در اردبیل چهار سروتیپ سالمونلا را در گله‌های طیور کشتاری جداسازی کردند که به ترتیب فراوانی شامل *S. enteritidis* (۵۹/۱٪)، *S. infantis* (۳۱/۸٪)، *S. thompson* (۴/۵٪) و *S. Tm* (۴/۵٪) بودند (۴).

در مطالعه Zahraei Salehi و همکاران (۲۰۰۵) در استان فارس، ۷۰ درصد سالمونلا به گروه سرمی D1، ۲۰ درصد به گروه سرمی C1، ۶/۶ درصد به گروه سرمی C2 و ۳/۳ درصد به گروه سرمی B تعلق داشتند (۷). Pooladgar و همکاران (۲۰۱۰) در اهواز سه گروه سرمی B، C، D را جداسازی کردند (۲۶). Akbarmehr (۲۰۱۰) در منطقه سراب آذربایجان شرقی نشان داد که ۵۳/۳ درصد، ۲۶/۶ درصد، ۱۱/۱ درصد و ۸/۸ درصد سالمونلاها به ترتیب متعلق به گروه‌های D1، B، C1 و C2 بودند (۹). در مطالعه Ezzatpanah و همکاران (۲۰۱۳) گروه سرمی D1 سالمونلا گروه سرمی غالب اعلام گردید (۲۷). Raeisi و Ghiyami (۲۰۱۵) بر روی سالمونلاهای جدا شده از گوشت و احشای مرغ در اردبیل سه گروه سرمی C، B و D به ترتیب با ۹۲/۳٪، ۳/۸٪ و ۳/۸٪ را نشان دادند (۱۵). در کشورهای مختلف نیز مطالعاتی در خصوص شیوع گروه‌های سرمی صورت گرفته است. Goncagul و همکاران (۲۰۰۵) در ترکیه گروه‌های A، B، C، D را در پوست قطعات بال طیور کشتاری جداسازی نمودند و بیان کردند که اکثریت با گروه سرمی D بود (۱۱). طبق نتایج Mahmud و همکاران (۲۰۱۱) در بنگلادش ۴۳ درصد به گروه سرمی B و ۵۷ درصد به گروه سرمی C تعلق داشتند (۱۰). در مطالعه حاضر سه گروه سرمی C، B، D

گزارش‌های متفاوتی در خصوص میزان آلودگی به سالمونلا در مناطق مختلف کشور ارائه شده است. در استان همدان در سال ۲۰۰۰ از ۱۴۰ نمونه طیور بررسی شده میزان ۸/۶ درصد آلودگی سالمونلایی گزارش شد (۲۴). مطالعه‌ای در استان فارس طی سال ۲۰۰۵ نشان داد که از ۱۹۲ نمونه اخذ شده از گله‌های طیور گوشتی، به میزان ۱۵/۶۲ درصد آلوده به سالمونلا بودند (۷). در مناطق جنوب تهران در سال ۱۳۸۶ از ۳۱۵ نمونه گوشت مرغ مورد آزمایش، ۱۱/۳ درصد آلوده به سالمونلا گزارش شد (۲۵). از ماکیان بومی شمال ایران در سال ۲۰۰۹، ۱۱۲۵ نمونه طیور اخذ گردید و میزان آلودگی به سالمونلا ۲/۴ درصد بود (۲). در اهواز در سال ۲۰۱۰، سالمونلا به میزان ۳۱ درصد از ۹۳ گله طیور مورد بررسی جدا شد (۲۶). در ارومیه در سال ۲۰۱۱ از اندام‌های مختلف طیور کشتاری ۲۰/۸ درصد سالمونلا جداسازی گردید (۱۶). از ۲۴۵ نمونه کلواک جمع‌آوری شده از ماکیان کشتاری در شهرستان اراک در سال ۱۳۹۲، ۳۰/۶۱ درصد نمونه‌ها آلوده به سالمونلا بودند (۲۷). در استان گیلان در سال ۲۰۱۳ از ۲۰ گله مرغ گوشتی کشتاری، سالمونلا به میزان ۱۵ درصد جدا شد (۳). در مطالعه دیگر در سال ۲۰۱۳ در تالش از تعداد ۱۰۰ نمونه گوشت مرغ جمع‌آوری شده ۲۱ درصد آلودگی سالمونلایی دیده شد (۲۸). در استان چهارمحال بختیاری از ۶۲۰ نمونه گوشت جمع‌آوری شده از سوپرمارکت‌ها در سال ۲۰۱۴ میزان آلودگی به سالمونلا ۴/۵۱ درصد گزارش شد (۶). مطالعه دیگر در اردبیل نشان داد که نمونه‌های گوشت مرغ و احشای عرصه شده در بازار به میزان ۱۰ درصد به سالمونلا آلوده بودند (۱۵). در استان البرز در سال ۲۰۱۵ از ۵۶۰ نمونه از گوشت مرغ کبد، قلب و سنگدان سالمونلا به میزان ۱۹/۸۲ درصد جداسازی شد (۲۹). در مطالعه‌ای دیگر سه کشتارگاه طیور استان‌های البرز، مرکزی و فارس در سال ۲۰۱۶ مورد بررسی قرار گرفت که از مجموع ۵۸۵ نمونه، ۲۵/۵ درصد به سالمونلا آلوده بودند (۳۰). در مطالعه حاضر نیز میزان آلودگی گوشت مرغ به گونه‌های مختلف سالمونلا ۶ درصد مشاهده گردید. این میزان آلودگی از اکثریت گزارش‌های پیشین (۱۴، ۱۵) کمتر و برخی (۲، ۶) نیز بیشتر است. به نظر می‌رسد این تفاوت می‌تواند ناشی از شرایط جغرافیایی، وضعیت بهداشتی مراکز پرورش طیور، نوع و حجم نمونه و روش‌های تشخیص آلودگی باشد.

در زمینه شیوع گروه‌های سرمی و سروتیپ‌های سالمونلا در مناطق مختلف گزارش‌های متفاوتی وجود دارد. در مطالعه Mehrabian و همکاران (۲۰۰۱) در تهران سروتیپ‌های غالب در

مقاومت به ترتیب مربوط به سولفامتوکسازول+تریمتوپریم (۶۷٪)، تتراسایکلین (۵۶٪)، نالیدیکسیک اسید (۳۵٪)، سیپروفلوکساسین (۲۱٪) و سفتریاکسون (۱۶٪) بود (۲۰). Ruichao و همکاران (۲۰۱۳) در استان سیچان چین بالاترین درصد مقاومت را در مقابل تتراسایکلین (۷۷٪)، سولفامتوکسازول+تریمتوپریم (۴۳٪)، نالیدیکسیک اسید (۴۱٪)، استرپتومایسین (۴۱٪) و آمپی سیلین (۲۵٪) و کمترین آن در مقابل جنتامایسین (۱۵٪)، آموکسی سیلین (۱۴٪)، سیپروفلوکساسین (۱۲٪)، فلورفنیکل (۱۰٪) گزارش کردند (۱۴). Abdelghany و همکاران (۲۰۱۵) در مصر نیز بالاترین مقاومت را در برابر نالیدیکسیک اسید (۹۸/۸٪) مشاهده کردند و پس از آن سولفامتوکسازول+تریمتوپریم (۹۶/۴٪)، اکسی تتراسایکلین (۹۵/۲٪) و آمپی سیلین (۹۱/۰۶٪) قرار داشتند (۲۳).

در ایران نیز مطالعات انجام شده در نقاط مختلف حاکی از بروز و افزایش مقاومت دارویی جدایه‌های سالمونلا است. به طوری که در مطالعات Zahraei Salehi و همکاران (۲۰۰۵) همه جدایه‌ها به کلیستین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، انروفلوکساسین و سفالوتین حساس بودند و بیشترین مقاومت دارویی نسبت به استرپتومایسین، فلومکوئین، نالیدیکسیک اسید، تتراسایکلین، نئومایسین و تریمتوپریم مشاهده شد (۷). Peighambari و همکاران (۲۰۱۱)، بالاترین میزان مقاومت را نسبت به تتراسایکلین (۶۶/۶ درصد)، فورازولیدون (۵۲/۸ درصد)، نالیدیکسیک اسید (۴۳/۸٪)، لینواکسپکتین (۴۲/۳٪)، فلومکوئین (۴۰/۱۶٪) و استرپتومایسین (۳۹/۱٪) نشان دادند؛ در حالی که سیپروفلوکساسین و ایمپنم (Imipenem) حساسیت ۱۰۰ درصد داشتند (۱۸). طبق گزارش Ezzatpanah و همکاران (۲۰۱۳) بیشترین مقاومت دارویی به ترتیب در برابر نیتروفورانئوین (۹۲/۱۶٪)، نالیدیکسیک اسید (۸۶/۷٪)، کلیستین (۶۴٪)، تتراسایکلین (۵۴٪)، فورازولیدون (۴۹/۳٪) و آموکسی سیلین (۴۵/۳٪) مشاهده گردید (۲۷). Asadpour و همکاران (۲۰۱۳)، در مطالعه‌ای نشان دادند که همه جدایه‌ها به تتراسایکلین، استرپتومایسین، نالیدیکسیک اسید، سفازولین و سولفامتوکسازول+تریمتوپریم مقاوم بودند (۳). Raeisi و Ghayami (۲۰۱۵) بالاترین میزان مقاومت را نسبت به استرپتومایسین و نالیدیکسیک اسید (۱۰۰٪) مشاهده کردند. اما مقاومت در برابر تتراسایکلین (۹۲/۳٪)، نئومایسین و فورازولیدون (۸۴/۶٪) و کلرآمفنیکل (۷۳/۳٪) در رتبه‌های بعدی بودند. همچنین کمترین مقاومت مربوط به آموکسی سیلین و آمپی سیلین

جداسازی گردید که گروه سرمی C با ۶۶/۷ درصد بالاترین میزان جدایه‌ها را تشکیل داد و از بین سروتیپ‌های جدا شده، سالمونلا/اینفنتیس با ۵۰ درصد سروتیپ غالب بود. یافته‌های این مطالعه در خصوص غالب بودن گروه سرمی C و سالمونلا/اینفنتیس با نتایج محققین (۹) هم‌خوانی دارد. دلیل این امر شاید آندومیک بودن این نوع سالمونلا در طی سال‌های اخیر در ایران باشد (۷، ۲۷). از نکات قابل توجه در مطالعه حاضر درصد بالایی از جدایه‌های گروه C به سالمونلا/اینفنتیس تعلق داشتند و دومین رتبه عفونت سالمونلایی را به خود اختصاص داد. مقایسه میزان جداسازی گروه‌های سرمی نتایج مطالعه حاضر با نتایج Raeisi و Ghayami (۲۰۱۵) در گوشت مرغ اردبیل (۱۵) نشان می‌دهد که در میزان شیوع گروه‌های سرمی تغییراتی ایجاد شده است. به طوری که گروه‌های سرمی D و B از ۳/۲۸٪ به ۴/۱۶٪ افزایش یافته است. در حالی که گروه سرمی C از ۳/۹۲٪ به ۷/۶۶٪ رسیده است. به عبارت دیگر در این مطالعه نیز بیشترین میزان شیوع سالمونلا مربوط به سروتیپ/اینفنتیس است. به طوری که در سال‌های اخیر نشان داده شده است میزان شیوع گروه سرمی C سالمونلا به ویژه سروتیپ/اینفنتیس در گله‌های طیور گوستی در حال افزایش است که این موضوع از نظر بهداشت عمومی جامعه اهمیت به‌سزایی دارد (۱۵). نتایج متنوع در خصوص گروه‌های سرمی می‌تواند به دلیل تفاوت در مناطق جغرافیایی و زمان و نوع نمونه‌گیری باشد. به نظر می‌رسد در یک منطقه و یک دوره خاص با توجه به وضعیت چرخشی که بین سروتیپ‌ها وجود دارد، سروتیپ‌ها می‌توانند جایگزین همدیگر شوند (۴).

در خصوص مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلا در کشورهای مختلف گزارش‌های متعددی ارائه شده است که نشان‌دهنده متنوع و بالا بودن مقاومت دارویی در مناطق مختلف است. Molla و همکاران (۲۰۰۳) در اتیوپی در بین ۲۳ آنتی‌بیوتیک مورد آزمایش نشان دادند که بیشترین میزان مقاومت به ترتیب مربوط به سولفامتوکسازول (۵۱/۲٪)، آموکسی سیلین و آمپی سیلین (۴۶/۲٪)، تتراسایکلین (۴۱/۲٪)، کلرآمفنیکل (۳۰٪)، فلورفنیکل (۲۷/۵٪)، استرپتومایسین (۲۲/۵٪) و کوتریموکسازول (۲۱٪) بود، اما در برابر نیتروفوران‌ها، کلینولون‌ها، سفالوزپورین‌ها، کانامایسین و نئومایسین مقاومتی مشاهده نکردند (۱۲). Capita و همکاران (۲۰۰۷) در اسپانیا بالاترین مقاومت را در برابر سولفامیدها، فلوروکینولون‌ها و تتراسایکلین‌ها مشاهده نمودند (۱۹). طبق گزارش Yang و همکاران (۲۰۱۰) در استان شانگسی چین بیشترین درصد

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این بررسی سروتیپ غالب، سالمونلا اینفنتیس است و جدایه‌های سالمونلای پرندگان نسبت به اکثریت عوامل ضد میکروبی مورد مطالعه مقاومت دارند که از جنبه بهداشت عمومی حایز اهمیت فراوانی است. این وضعیت می‌تواند ناشی از مصرف مداوم داروها در مزارع پرورش طیور باشد. لذا به‌منظور جلوگیری از بروز سویه‌های مقاوم باکتری، مصرف اصولی آنتی‌بیوتیک‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

نویسنده مقاله از آقای دکتر سیامک قضایی به خاطر همکاری در انجام آزمایشات میکروبی این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارد.

تعارض در منافع

این مقاله پژوهشی مستقل است که بدون حمایت مالی سازمانی انجام شده است و هیچ‌گونه تعارضی در منافع گزارش نشده است.

(۱۱٪/۵) و سپس سیپروفلوکساسین (۰.۷٪/۷) و جنتامایسین (۳٪/۷) درصد) بود (۱۵). Sodagari و همکاران (۲۰۱۵) در استان البرز، تتراسایکلین را مقاوم‌ترین آنتی‌بیوتیک در برابر سالمونلای جداشده از طیور معرفی کردند (۲۹).

در این مطالعه از بین آنتی‌بیوتیک‌های رایج در صنعت طیور بالاترین میزان مقاومت به ترتیب مربوط به سولفادیازین+تری متوپریم، تتراسایکلین، داکسی‌سیکلین و فلورفنیکل بود. در گروه آنتی‌بیوتیک‌های انسانی بالاترین مقاومت به ترتیب در برابر آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل، کوتریموکسازول و آمیکاسین مشاهده گردید. میزان مقاومت جدایه‌ها در مطالعه حاضر با نتایج برخی مطالعات پیشین متفاوت است که این تفاوت می‌تواند ناشی از مصرف بی‌رویه و طولانی مدت آنتی‌بیوتیک‌ها در مناطق مختلف کشور و انتقال ژنتیکی مقاومت دارویی بین باکتری‌ها باشد (۱۵)، (۲۷). در این تحقیق کمترین مقاومت به گروه فلوروکینولون‌ها و فلورفنیکل مشاهده شد که احتمالاً این داروها می‌توانند در درمان سالمونلوز موثر واقع شوند.

Referance

- Zrodowska B, Liedrke K, Radkowski M. Post-harvest Salmonella spp. prevalence in turkey carcasses in processing plant in the northeast of part of Poland. Polish J Vet Sci. 2014; 17(1): 181-9. [DOI:10.2478/pjvs-2014-0026] [PMID]
- Emaddi Chashni S, Hassanzadeh M, Bozorgmehri Fard M. Characterization of the Salmonella Isolates from Backyard Chickens in North of Iran, by Serotyping, Multiplex PCR and Antibiotic Resistance Analysis. Arch Razi Inst. 2004; 64 (2):77-83.
- Asadpour Y, Mohammadi M, Pournabakhsh S A, Rasa M. Isolation, serotyping and antibiotic resistance of Salmonella isolated from chicken carcasses in Guilan province. Iranian Vet J. 2013; 9 (4): 5-13.
- Azizpour A. Determining the antibiotic resistance patterns of isolated Salmonella from broiler flocks to 28 antimicrobial agents used in Iran. J Comp Path Iran. 2018; 15 (1): 2411-20.
- Azizpour A. A Study of Salmonella Spp. Contamination of Eggs and their Antibiotic Resistance Patterns in Ardabil, Iran. Qom Uni Med Sci J. 2020; 14 (1): 38-50. [DOI:10.29252/qums.14.1.38]
- Momtaf H, Gha'ed Amini M, Momeni M. Detection of virulence factors in Salmonella typhimurium and Salmonella enteritidis serotypes isolated from chicken meat in Chaharmahal va Bakhtiari Province of Iran. J Food Microb. 2014; 1(1): 17-22.
- Zahraei Salehi T, Mahzounieh M, Saeedzadeh A. The isolation of Antibiotic- Resistant Salmonella from intestine and liver of poultry in Fars province of Iran. Inter J Poul Sci. 2005; 4(5): 320-2. [DOI:10.3923/ijps.2005.320.322]
- Nair S, Lin TK, Pang T, Altwegg M. Characterization of Salmonella serovars by PCR-Single-Strand conformation polymorphism analysis. J Clini Microb. 2002; 40 (7): 2346-51. [DOI:10.1128/JCM.40.7.2346-2351.2002] [PMID] [PMCID]
- Akbarmehr J. Isolation of Salmonella spp. from poultry (ostrich, pigeon, and chicken) and detection of their hilA gene by PCR method. Afr J Microb Res. 2010; 4 (24): 2678-81.
- Mahmud MS, Bari ML, Hossain MA. Prevalence of Salmonella serovars and antimicrobial resistance profiles in poultry of Savar area, Bangladesh. Foodborne Pathol Dis. 2011; 8(10): 8-14. [DOI:10.1089/fpd.2011.0917] [PMID]
- Goncagul G, Gunaydin E, Carli T. Prevalence of Salmonella serogroups in chicken meat. Turkish J Vet Anim Sci. 2005; 29: 103-6.

12. Molla B, Mesfin A, Alemayehu D. Multiple antimicrobial-resistant Salmonella serotypes isolated from chicken carcass and giblets in Debre Zeit and Addis Ababa, Ethiopia. *Ethiopian J Health Devel.* 2003; 17: 131-149. [DOI:10.4314/ejhd.v17i2.9854]
13. Orji MU, Onuigbo HC, Mbata TI. Isolation of Salmonella from poultry droppings and other environmental sources in Awka Nigeria. *Int J Infect Dis.* 2009; 9(2): 86-89. [DOI:10.1016/j.ijid.2004.04.016] [PMID]
14. Ruichao L, Jing L, Yang W, Shuliang L, Yun L. Prevalence and characterization of Salmonella species isolated from pigs, ducks and chickens in Sichuan Province China. *Inter J Food Microb.* 2013; 163:14-8. [DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.01.020] [PMID]
15. Raeisi A, Ghiyami R.M. Survey on Prevalence of Salmonella Serogroups and Antibiotics Susceptibility Pattern in Chicken Meat in Ardabil, Iran *J Ardabil Uni Med Scie.* 2015; 15 (3): 320-9.
16. Soumet C, Ermel G, Rose N, Drouin P, Salvat G, Colin P. Evaluation of a multiplex PCR assay for simultaneous identification of Salmonella sp., Salmonella Enteritidis and Salmonella Typhimurium from environmental swabs of poultry houses. *Lett Appl Microbiol* 1999; 28(2): 113-7. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.1997.00358.x> [DOI:10.1046/j.1365-2672.1999.00488.x]
17. Sadeghi Zali M, Hashempour A, Kalbkhani M, Delshad R. Comparative inspection about infection to Salmonella in different organs (heart, liver, ovary, feces) in slaughtered poultry of Urmia industrial slaughter house. *J Large Anim Clin Sci Res (Iran J Vet Med).* 2011; 5(1): 56-60.
18. Peighambari SM, Akbarian R, Morshed R, Yazdani A. Characterization of Salmonella isolates from poultry sources in Iran. *Iran J Vet Med.* 2013; 7: 35-41.
19. Capita R, Alonso-Calleja C, Prieto M. Prevalence of Salmonella enterica serovars and genovars from chicken carcasses in slaughter houses in Spain. *J Appl Microb.* 2007; 103 (5): 1366-75. [DOI:10.1111/j.1365-2672.2007.03368.x] [PMID]
20. Yang B, Qu D, Zhang X, Shen J, Cui S. Prevalence and characterization of Salmonella serovars in retail of marketplace in Shaanxi, China. *Int J Food Microb.* 2010; 141: 63-72. [DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.015] [PMID]
21. Boni HFK, Carrijo AS, Fascina VB. Detection of Salmonella spp. in broiler buildings and stuff of slaughterhouse in the central region of Mato Grosso do Sul. *Revista Brasil De Saude Prod Anim.* 2011; 12: 84-9.
22. Mezali L, Hamdi TM. Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from meat and meat products in Algiers (Algeria). *Foodborne Pathol Dis.* 2012; 9 (6): 522-9. [DOI:10.1089/fpd.2011.1032] [PMID]
23. Abdelghany SM, Sallam KI, Abd-Elkhalek A, Tamura T. Occurrence, genetic characterization and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from chicken meat and giblets. . *Epidemiol Infect.* 2015; 143(5): 997-1003. [DOI:10.1017/S0950268814001708] [PMID]
24. Yusufi Mashouf R. The study of prevalence of Salmonella in poultry carcasses for sale in Hamedan retail market *J Zanjan Uni Med Sci Health Servi.* 2001; 8(33): 47-51.
25. Soltan Dallal M M, Vahedi S, Zeraati H, Bakhtiary R, Izadpour F. Comparison of prevalence of microbial contamination of red and poultry meat and non- packaging in retail and chain stores in southern Tehran. *J Shahid Sadoughi Uni Med Sci Health Servi.* 2007; 15 (1): 35-43.
26. Pooladgar AA, Yousef JV, Nemati M. Salmonellosis in Ahwaz poultry farms-southwest of Iran. *J Exper Zool.* 2010; 13: 503-7.
27. Ezzatpanah A, Moradi BS, Khaki P, Ghaderi R, Seyedan Jasbi S. Isolation, Determination of Serotype and Pattern of Antibiotic Resistance of Isolated Salmonella from Poultry in Arak. *Iran Vet J.* 2013; 9(2): 88-96.
28. Amirmozaffari N, Rahmani Z, Iesazadeh Kh. Evaluation of the level of contamination with Salmonella spp. in red meat, chicken and domestic and industrial eggs produced in Talesh city and assessment of their antibiotic resistance pattern, Iran. *Qom Uni Med Sci J.* 2013; 7(5): 60-65.
29. Sodagari HR, Mashak Z, Ghadimianazar A. Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella serotypes isolated from retail chicken meat and giblets in Iran. *J Infect Dev Count.* 2015; 9(5):463-9. [DOI:10.3855/jidc.5945] [PMID]
30. Ghaderi R, Moradi Bidhendi S, Khaki. Occurrence of multidrug-resistant Salmonella enterica serovar Enteritidis isolates from poultry in Iran. *Arch Razi Inst.* 2016; 71 (1):43-9.
31. Mehrabian S, Rafiee R, Hajian A. Examining the type and rate of drug resistance in Salmonella isolated from food. *Iran J Sci Tech.* 2001; 1(3):193-9.

32. Carraminana JJ, Rota C, Augutin I. High Prevalence of multiple resistance to antibiotics in Salmonella serovars isolated from poultry slaughterhouse in Spain. *Vet Microb.* 2004; 104 (1-2): 133-139. [[DOI:10.1016/j.vetmic.2004.08.010](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.08.010)] [[PMID](#)]
33. Angkititrakul S, Chomvarin C, Chaita T, Kanistanon K, Waethewutajarn S. Epidemiology of antimicrobial resistance in Salmonella isolated from pork, chicken meat and humans in Thailand. *Southeast Asian J Tropic Med Pub Health.* 2005; 36 (6): 1510-5.
34. Namaei M, Ziaee M, Ghannad KM. Prevalence of Salmonella contamination in locally (non-industrially) produced eggs in Birjand. *J Birjand Uni Med Sci.* 2009; 16(2): 37-41.
35. Shapouri R, Rahnema M, Eghbalzadeh SH. Prevalence of Salmonella serotypes in chicken meat and egg and determine their antibiotic susceptibility in Zanjan. *Quarterly J Anim Phys Devel.* 2009; 6(3):63-71.