Investigating the prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* isolates in chicken meat

Saeed Mohammad reza[1], Seyed Majid Hashemi[2*]

1- Graduated in food hygiene, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

2- Research Center of Nutrition and Organic Products (R.C.N.O.P), Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Corresponding Author: majidhashemi54@gmail.com

UNCORRECTED ROOF

Abstract

Chicken meat is rich in essential nutrients and rare elements, which can be the carrier of many pathogenic microorganisms; In this regard, the aim of this study was to investigate the prevalence of antimicrobial *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in chicken meat sold in Natanz county. 350 samples of chicken meat in Year 2024 were collected from the supply centers and transferred to the food hygiene laboratory under sterile conditions. The contamination of the samples was determined by linear culture and multiplex PCR methods, and the antibiotic resistance of the isolates was evaluated by the disk-diffusion method. The results showed that 156 samples (44.58%) were infected with Staphylococcus aureus and Salmonella out of a total of 350 samples. The evaluations showed Staphylococcus aureus infection in chicken breast, cut chicken meat and slaughtered chicken in 17 samples (34%), 32 samples (32%) and 62 samples (31%), respectively, and for Salmonella 7 samples (14 %), 15 samples (15 %) and 23 samples (11.5 %). The frequency of enterotoxin-producing genes of Staphylococcus aureus for SEA 27 samples (24.32%), SEB 10 samples (9.1%) and SEC 7 samples (6.30%) and the frequency of *Salmonella typhimurium* genes in 8 samples (17.78 %), *flj*B and rfbJ were a total of 1 sample (2.22 %). The results of the present study showed that chicken meat can be an important source of transmission of Staphylococcus aureus and Salmonella, and it is expected that their monitoring and inspection will be done with utmost care.

Keyword: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, antibiotic resistance, chicken meat

بررسی شیوع میکروبی و مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *سالمونلا تایفی‌موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت مرغ

سعید محمد رضا[1]، سید مجید هاشمی[2]*

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲- مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

پست الکترونیکی نویسنده مسئول: majidhashemi54@gmail.com

UNCORRECTED ROOF

چکیده

گوشت مرغ سرشار از مواد مغذی ضروری و عناصر کمیاب است که می‌تواند عامل انتقال‌دهنده بسیاری از میکروارگانیسم‌های پاتوژن باشد؛ در همین راستا هدف از پژوهش حاضر بررسی شیوع میکروبی *سالمونلا تایفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت مرغ عرضه شده در شهرستان نطنز بود. تعداد ۳۵۰ نمونه گوشت مرغ از مراکز عرضه نمونه‌گیری در سال ۱۴۰۳ و در شرایط سترون به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی انتقال داده شد. آلودگی نمونه‌ها توسط روش کشت خطی و Multiplex PCR تعیین و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها به روش Disk-Diffusion ارزیابی شد. نتایج نشان داد آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* و سالمونلا از مجموع ۳۵۰ نمونه، ۱۵۶ نمونه (۴۴/۵۸ درصد) بود. ارزیابی‌ها نشان داد آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در سینه مرغ، گوشت مرغ قطعه‌شده و مرغ کشتارشده ۱۷ نمونه (۳۴ درصد)، ۳۲ نمونه (۳۲ درصد) و ۶۲ نمونه (۳۱ درصد) و برای سالمونلا ۷ نمونه (۱۴ درصد)، ۱۵ نمونه (۱۵ درصد) و ۲۳ نمونه (۱۱/۵ درصد) بود. فراوانی ژن‌های انتروتوکسین‌زای *استافیلوکوکوس اورئوس* برای SEA ۲۷ نمونه (۲۴/۳۲ درصد)، SEB ۱۰ نمونه (۹/۱ درصد) و SEC ۷ نمونه (۶/۳۰ درصد) و فراوانی ژن‌های حدت سالمونلا تایفی‌موریوم برای ژن invA ۸ نمونه (۱۷/۷۸ درصد)، fljB و rfbJ هرکدام ۱ نمونه (۲/۲۲ درصد) بودند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد گوشت مرغ می‌تواند از منابع مهم انتقال *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی موریوم* باشد و انتظار می‌رود نظارت و بازرسی بر آن‌ها در نهایت دقت انجام شود تا از شیوع گسترده بیماری‌ها جلوگیری شود.

کلمات کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تایفی‌موریوم*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، گوشت مرغ

مقدمه

گوشت (سفید و قرمز) و فرآورده‌های گوشتی جزء پرمصرف‌ترین مواد غذایی هستند و منابع مهمی برای انواع ویتامین‌ها، پروتیئن‌ها، اسیدهای چرب و مینرال‌ها هستند. گوشت با منشاء حیوانی منبع اصلی پروتئین بوده و بنابراین برای رشد، ترمیم و نگهداری سلول‌های بدن و برای فعالیت‌های روزمره ضروری است. با توجه به ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های بیولوژیکی، انواع گوشت‌ها مواد غذایی بسیار فاسدشدنی هستند که منبع عالی مواد مغذی برای رشد چندین میکروارگانیسم خطرناک بوده و می‌توانند باعث عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذایی در انسان شوند (Lika et al., 2021). گوشت طیور یکی از پر مصرف‌ترین مواد غذایی است که مصرف آن در بین سایر موادغذایی به دلیل دردسترس بودن برای تمام اقشار جامعه و رشد بسیار بالای مرغداری‌های گوشتی، بالاتر است و متاسفانه علی‌رغم دارا بودن اکثر مواد مغذی مورد نیاز بدن، آلودگی این ماده غذایی به میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا دور از ذهن نخواهد بود (Sun et al., 2020).

از سال ۲۰۰۰، تولید جهانی گوشت ۴۷ درصد افزایش یافته است (که طیور نیمی از این افزایش را به خود اختصاص داده است)، به این معنی که تولید جهانی ۱۰۹ میلیون تن افزایش یافته است. در سال ۲۰۱۸، تولید گوشت در جهان ۳۴۲ میلیون تن، که ۱۱۹/۷ میلیون تن مربوط به گوشت طیور بود. سهم گوشت طیور در ساختار جهانی از ۶۹ میلیون تن در سال ۲۰۰۰ به ۱۱۹/۷ میلیون تن افزایش یافته است و افزایش تولید گوشت طیور پیش‌بینی شده‌است که در سال ۲۰۳۰ به سطحی نزدیک به ۱۵۱ میلیون تن خواهد رسید (Wójcik et al., 2022). دو دلیل اصلی که باعث موفقیت گوشت طیور در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه می‌شود، شامل هزینه پایین‌تر و مشخصات تغذیه‌ای سالم است. علاوه بر این، فقدان محدودیت‌های مذهبی و سهولت نسبی آماده‌سازی، همراه با در دسترس‌بودن زیادِ محصولاتِ فرآوری شده‌ی مناسب نیز نقش مثبتی در گسترش مصرف آن داشته است (Petracci et al., 2014)؛ بنابراین پایش سلامت این ماده غذایی اهمیت بالایی دارد. کشتارگاه طیور یکی از مهم‌ترین نقاط بحرانی است که اثرات بالقوه‌ای بر بهداشت گوشت طیور دارد. در طی عملیات کشتار، پدیده‌های بسیاری که سبب آلودگی شود، رخ می‌دهد و این امر باعث تکثیر پاتوژن‌های باکتریایی بر روی لاشه‌های اولیه‌ی سالم می‌شوند. در تولید گوشت طیور به دلیل آلودگی احتمالی دستگاه‌های خوراکی، آب، بسته‌بندی و ظروف باید توجه ویژه‌ای شود. گوشت طیور مسئول بسیاری از عفونت‌های ناشی از غذای مشترک بین انسان و دام در جهان است. بیماری‌های منتقله از غذا تاثیر جدی بر سلامت عمومی گذاشته و خسارات اقتصادی ناشی از مسمومیت‌های غذایی به چندین میلیارد دلار می‌رسد (Guergueb et al., 2014).

بیماری‌های منتقل‌شونده از غذا یک مشکل بهداشتی در حوزه بهداشت عمومی جهانی هستند و سالانه حدود ۶۰۰ میلیون نفر به این بیماری‌ها مبتلا می‌شوند (Juni, 2014). بر اساس یک بررسی جامع از ۳۱ میکروب رایج عامل FBD[1] در سراسر جهان، سازمان بهداشت جهانی مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های پاتوژن گوشت را اشرشیاکلای، سالمونلا، کلستریدیوم، استافیلوکوکوس اورئوس، کمپیلوباکتر، لیستریا، یرسینیا و گونه‌های مختلف بروسلا می‌داند (Adesiji et al., 2011).

سالمونلا از میکروارگانیسم‌های گرم‌منفی خانواده انتروباکتریاسه‌ها بوه که ۲۶۰۰ سروتیپ از آن ردیابی شده است. محدوده رشد دمایی ۱۵ تا ۴۵ درجه، فعالیت آبی ۹۳/ تا Aw=۰/۹۸ و در pH با محدوده ۴/۷ تا ۸/۱ رشد می‌کند. سالمونلا در دستگاه گوارش حیوانات اهلی و وحشی یافت می‌شود، شدت عفونت سالمونلا به سویه خاص مسئول عفونت و وضعیت سلامت میزبان بستگی دارد. کودکان زیر ۵ سال، سالمندان و افراد دارای نقص ایمنی، بیشتر مستعد ابتلا به سالمونلوز هستند. این بیماری با حالت تهوع، استفراغ، گرفتگی عضلات شکم و اسهال خونی همراه است. از دست دادن مداوم مایعات بدن ممکن است منجر به کم آبی بدن به خصوص برای نوزادان و افراد مسن شود. سالمونلوز یک بیماری خود محدود شونده است که در عرض یک هفته از بین می‌رود، اما مرگ و میر به ویژه در گروه‌های جمعیتی آسیب‌پذیر ثبت شده است. سیستم نظارت بر شیوع بیماری‌های منتقله از غذا ایالات متحده گزارش داد که سالمونلا غیر تیفوئیدی تهاجمی در درجه اول مسئول یک سوم شیوع تک پاتوژن بین

[1] Food borne disease

UNCORRECTED PROOF

سال‌های ۲۰۰۹ و ۲۰۱۵ بوده است (Heidarzadi et al., 2021). از شایع‌ترین سروتیپ‌های سالمونلا که باعث گاستروانتریت انسانی در سراسر جهان می‌شوند، *سالمونلا تایفی‌موریوم* و *سالمونلا انتریتیدیس* هستند. حدت سالمونلا به عوامل زیادی بستگی دارد. توانایی آن در چسبیدن به سلول‌ها، حمله به آنها، زنده ماندن و تکثیر در داخل سلول‌های اپیتلیال و ماکروفاژها به لطف دخالت چندین فاکتور حدت که اغلب توسط پلاسمیدها حمل می‌شود، تعیین می‌گردد (Nazari Moghadam et al., 2023).

استافیلوکوکوس اورئوس یک پاتوژن گرم مثبتِ همه‌جایی است که به علت فروانی حضور در طبیعت، وجود آن در مواد غذایی دور از انتظار نیست. *استافیلوکوکوس اورئوس* طیف گسترده‌ای از سموم از جمله انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی را تولید می‌کند که مهم‌ترین آن شامل Sea، Seb، Sec و Sed هستند و همگی به صورت اسهال و استفراغی نشان داده می‌شوند (Titouche et al., 2020)، بسیاری از سموم *استافیلوکوکوس اورئوس* به غشاهای بیولوژیکی آسیب رسانده و منجر به مرگ سلولی می‌شوند. به طور خاص، *استافیلوکوکوس اورئوس* همولیزین‌ها و لکوتوکسین-های قوی تولید می‌کند. در میان لکوتوکسین‌ها، برخی اخیراً شناسایی شدند که نوتروفیل‌ها را پس از مصرف لیز می‌کنند، که نشان‌دهنده یک سلاح به‌ویژه قدرتمند در برابر حذف باکتری‌ها توسط دفاع ذاتی میزبان است. این باکتری به دلیل ترکیبی از حرکت، تهاجمی و مقاومت آنتی بیوتیکی ناشی از سموم، یک پاتوژن مهم است. *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌تواند در طیف وسیعی از دما (۷ تا ۴۸/۵ درجه سانتی‌گراد؛ بهینه ۳۰ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد)، pH (۴/۲ تا ۹/۳؛ بهینه ۷ تا ۷/۵) و غلظت کلرید سدیم تا ۱۵ درصد رشد کند. ارگانیسم مقاوم به خشکی با توانایی زنده ماندن در محیط های بالقوه خشک و استرس‌زا مانند بینی انسان و روی پوست و اشیا مانند لباس است (Gajewska et al., 2023). با توجه به شیوع رو به رشد باکتری‌های پاتوژن و همچنین مقاومت آنتی‌بیوتیکی ناشی از استفاده بیش از حد آن‌ها در درمان بیماری‌ها، لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع ضد میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی موریوم* در مرغ عرضه شده در شهرستان نطنز است.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری

حجم نمونه با توجه به میانگین شیوع حدود ۶۵ درصدی سالمونلا در مرغ (Dallal et al., 2010)، با استفاده از فرمول زیر مجموعا ۳۵۰ نمونه بود.

$$n = z^2 \frac{pq}{d^2}$$

$$n = (1.96)^2 \times \frac{0.65 \times 0.35}{0.05 \times 0.05} = 349.6 \approx 350$$

نمونه‌ها شامل سینه مرغ کشتارشده، سینه مرغ قطعه شده و سینه مرغ چرخ‌شده بود که به صورت تصادفی از فروشگاه‌های عرضه‌کننده در شهرستان نطنز جمع‌آوری شدند.

نحوه جداسازی سالمونلا

مقدار ۲۵ گرم از نمونه‌های با ۲۲۵ سی‌سی محیط کشت لاکتوز براث مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرمخانه‌گذاری شدند. سپس مقدار یک سی‌سی از نمونه غنی شده به ۱۰ سی‌سی سلنیت‌سیستین (Italy, liofilchem) و یک سی‌سی به ۱۰ سی‌سی تتراتیونات براث (Italy, liofilchem) منتقل شدند. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری، از محیط سلنیت سیستین روی سالمونلا–شیگلا آگار، بیسموت سولفیت آگار و بریلیانت‌گرین‌آگار (Italy, liofilchem) به صورت خطی کشت داده شد. به همین ترتیب از تتراتیونات، روی محیط‌های مذکور کشت

UNCORRECTED PROOF

انجام داده شد. سپس بعد از ۲۴ ساعت تعداد دو یا بیشتر از پرگنه‌های تیپیک به محیط TSI و LIA (Italy, liofilchem) منتقل و نتایج بر اساس دستورالعمل استاندارد مورد تفسیر قرار گرفت (Rahimi et al., 2024).

نحوه جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس*

برای جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس* ۵ گرم از نمونه‌های مورد آزمایش به درون ظرف توزین استریل منتقل و سپس میزان ۴۵ سی‌سی محلول رینگر به عنوان حلال به آن افزوده شد تا رقت 10^{-1} بدست آید. پس از حل کردن مخلوط کردن و یکدست شدن و ایجاد یک محلول همگن، میزان ۰/۱ سی‌سی از آن به وسیله سمپلر روی محیط برد پارکر آگار (Agar Parker -Baird) (Mirmedia, Iran) به روش کشت سطحی کشت داده شد. پلیت‌های کشت داده شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرم‌خانه‌گذاری شدند. بعد از پایان انکوباسیون در صورت رشد، باکتری‌های با کلنی‌های گرد و سیاه رنگ، جهت انجام کشت تأییدی، از کلونی‌های مشکوک به وسیله لوپ استریل روی محیط مانیتول سالت آگار(Salt Manitol Agar) (Mirmedia, Iran) کشت داده و محیط‌ها مجدداً به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و بعد از گذشت ۲ ساعت بر روی کلنی‌های مانیتول مثبت (کلونی های زرد رنگ دارای هاله زرد رنگ) تست Dnase جهت تأیید *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام گرفت. همچنین باکتری‌های مورد نظر با تست کواگولاز ارزیابی و نتیجه این تست در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* مشخص شدند (Pishadast et al., 2021).

نحوه ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی

تست‌آنتی‌بیوگرام به روش diffusion_Disk انجام شد. بعد از تهیه سوسپانسیون میکروبی مطابق با محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند، در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده و پس از آن دیسک‌های آنتی‌بیوگرام، شامل سولفامتاکسازول (SXT)، جنتامایسین (GM)، پنی‌سیلین (PEN)، تتراسایکلین و(TE)، امی‌پنم (IM) و آمپی‌سیلین (AM) روی محیط کشت قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، با تعیین قطر هاله‌های عدم رشد، میزان مقاومت جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها مطابق استاندارد CLSI مشخص شد (Heidarzadi et al., 2021).

نحوه استخراج DNA و انجام واکنش PCR

برای استخراج DNA، باکتری‌های رشد کرده در طول یک شب در محیط آب پپتونه که در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شده بودند، به وسیله‌ی کیت استخراج DNA شرکت سیناژن ایران و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده استخراج و تا زمان انجام PCR در فریزر منفی۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس برای انجام واکنش PCR از جفت پرایمرهای ارائه شده در جدول ۱، طراحی‌شده بر اساس ردیف نوکلئوتیدی ژن *16s rRNA* باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (Vahed et al., 2023) و *سالمونلا تایفی موریوم* (Rahimi et al., 2024) استفاده شد. برای بررسی محصولات PCR از الکتروفورز در ژل آگاروز ۱ درصد و رنگ آمیزی DNA با رنگ سایبرگرین انجام شد. برای ردیابی ژن‌های حدت در گونه‌های سالمونلا تایفی‌موریوم در مورد ژن‌های یک سیکل ۳۵ درجه ۶ دقیقه، ۳۴ سیکل تکراری ۳۵ درجه ۶۱ ثانیه، ۴۷ درجه ۱ دقیقه، ۷۲ درجه ۶۱ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۸ دقیقه؛ در مورد ژن‌های rfbJ، سیکل ۹۴ درجه ۶ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۴ درجه ۶۰ ثانیه، ۵۷ درجه ۱ دقیقه ۷۲ درجه ۶۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۸ دقیقه و در مورد ژن‌های fljb، سیکل ۹۴ درجه ۶ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۴ درجه ۶۰ ثانیه، ۵۷ درجه ۱ دقیقه ۷۲ درجه ۶۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۸ دقیقه انجام شد (Rahimi et al., 2024). برای انجام آزمایش PCR برای تشخیص ژن16s rRNA از دستگاه Master cycler gradient (Mastersycler, Germany) استفاده شد. حجم کلی واکنشPCR، ۳۰ میکرولیتر و شامل ۹۰ نانوگرم پرایمر، ۰/۲ میلی مول dNTP، ۱۰ میلی مول تریس –

UNCORRECTED PROOF

HCl، ۱/۵ میلی‌مول MgCl 2، ۵۰ میلی‌مول KCl و ۱ واحد آنزیم Polymerase Taq DNA بود. برنامه‌ی حرارتی مورد استفاده شامل: یک سیکل ۹۵ درجه سلسیوس ۳ دقیقه، ۳۵ سیکل دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۵۳ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه و در نهایت یک سیکل ۷۲ درجه سلسیوس ۸ دقیقه بود. سپس تمام نمونه‌هایی که از نظر حضور ژن rRNA 16 S مثبت بودند، با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلی مراز چندتایی (PCR Multiplex) برای ردیابی توکسین‌های باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ارزیابی شدند. واکنش PCR چندتایی جهت ردیابی توکسین‌ها در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل 5 میکرولیتر بافرX10 buffer PCR، ۱/۵ میلی مول MgCl2، ۲۰۰ میکرومولdNTP، ۱ میکرومول از زوج پرایمرهای F وR ، ۵ میکرولیتر از هر نمونهDNA و ۱/۲۵ واحد آنزیم Polymerase Taq DNA انجام شد. برنامه‌ی حرارتی مورد استفاده شامل: یک سیکل ۹۵ درجه سلسیوس ۲ دقیقه، ۳۵ سیکل دمایی به ترتیب ۹۵ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۶۰ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه و۲۰ ثانیه و نهایتا یک سیکل ۷۲ درجه سلسیوس ۱۰ دقیقه بود. به منظور ردیابی ژن‌های مورد مطالعه باکتری حجم نهایی واکنش ۲۵، MgCl2 میکرولیتر بود که شامل: ۲۰ نانوگرم DNA الگو، ۲ میلی مول ۲۵ پیکومول از هر پرایمر، ۱ واحد آنزیم Polymerase Taq DNA و۲۰۰ میکرومول dNTP بود. برنامه‌ی حرارتی مورد استفاده شامل: یک سیکل ۹۵ درجه سلسیوس ۵ دقیقه، سپس ۳۵ سیکل دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۵۰ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه و یک سیکل نهایی ۷۲ درجه سلسیوس ۵ دقیقه بود. تأیید وجود قطعه‌ی تکثیر یافته از ژل آگارز ۱ درصد استفاده می‌شود. برای این منظور ۱ گرم از پودر آگارز در ۱۰۰ میلی لیتر بافر TBE حل و بعد از ذوب شدن مقدار ۲ میکرولیتر اتیدیوم بروماید به آن اضافه و در سینی مخصوص الکتروفروز ریخته شد. سپس ۱۵ میکرولیتر ازمحصولPCR همراه با ۱ میکرولیتر لودینگ بافر مخلوط و روی ژل ۱ درصد آگارز در حضور مارکر ۱۰۰ جفت بازی DNAFermentas در ولتاژ ثابت ۹۰ ولت الکتروفروز شد (Vahed et al., 2023).

جدول شماره ۱، توالی پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی ژن‌های هدف *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی‌موریوم* در واکنش PCR

منبع	اندازه محصول (Pb)	توالی پرایمر	ژن هدف
(Torki et al., 2023)	۱۰۲	ACGATCAATTTTTACAGC TGCATGTTTTCAGAGTTAATC	Sea
	۱۶۴	GAATGATATTAATTCGCATC TCTTTGTCGTAAGATAAACTTC	Seb
	۴۵۱	GACATAAAAGCTAGGAATTT AAATCGGATTAACATTATCCA	Sec
(Rahimi et al., 2024)	۲۴۴	GTGAAATTATCGCCACGTTCGGGCAA TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	invA
	۵۲۶	ACGAATGGTACGGCTTCTGTAACC TACCGTCGATAGTAACGACTTCGG	fljb
	۶۶۳	CCAGCACCAGTTCCAACTTGATAC GGCTTCCGGCTTTATTGGTAAGCA	rfbJ

آنالیزهای آماری

داده‌های حاصل از آزمایش‌های انجام شده در نرم افزار Microsoft Office Excel گردآوری شده و توسط نرم‌افزار SPSS آنالیز شدند. روش آماری تجزیه و تحلیل داده‌ها، آزمون مربع‌کای و تست دقیق فیشر بود.

نتایج

نتایج به دست‌آمده از پژوهش حاضر نشان داد میزان شیوع آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* و سالمونلا از مجموع ۳۵۰ نمونه گوشت مرغ نمونه‌گیری شده در شهرستان نطنز، ۱۵۶ نمونه (۴۴/۵۸ درصد) بود. ارزیابی‌ها نشان داد از مجموع ۳۵۰ نمونه سینه مرغ، گوشت مرغ قطعه‌شده و

UNCORRECTED PROOF

مرغ کشتارشده به ترتیب ۱۷ نمونه (۳۴ درصد)، ۳۲ نمونه (۳۲ درصد) و ۶۲ نمونه (۳۱ درصد) به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بود. نتایج نشان داد شیوع آلودگی به سالمونلا در سینه مرغ، مرغ کشتارشده و مرغ قطعه‌شده در شهرستان نطنز ۴۵ نمونه (۱۲/۸۵ درصد) بود. آلودگی به سالمونلا در سینه مرغ، گوشت مرغ قطعه‌شده و مرغ کشتارشده به ترتیب به ترتیب ۷ نمونه (۱۴ درصد)، ۱۵ نمونه (۱۵ درصد) و ۲۳ نمونه (۱۱/۵ درصد) بود. نتایج حاصل از ارزیابی آلودگی‌ها نشان داد که در بین نمونه‌ها، سینه مرغ کشتارشده نسبت به *استافیلوکوکوس اورئوس* و سالمونلا بیشترین آلودگی را داشت.

جدول شماره ۲، نتایج شیوع آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* و سالمونلا در گوشت مرغ کشتارشده

ماده غذایی	تعداد نمونه	آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس			آلودگی به سالمونلا		
		تعداد	درصد	فاصله اطمینان	تعداد	درصد	فاصله اطمینان
سینه مرغ	۵۰	۱۷	۳۴[c]	۰/۲۲ – ۰/۴۸	۷	۱۴[c]	۰/۰۶ – ۰/۲۶
مرغ کشتارشده	۲۰۰	۶۲	۳۱[a]	۰/۲۵ – ۰/۳۷	۲۳	۱۱/۵[a]	۰/۰۷ – ۰/۱۶
مرغ قطعه‌شده	۱۰۰	۳۲	۳۲[b]	۰/۲۳ – ۰/۴۱	۱۵	۱۵[b]	۰/۰۹ – ۰/۲۳
مجموع	۳۵۰ نمونه	۱۱۱	۳۱/۷۱	۰/۲۷ – ۰/۳۶	۴۵	۱۲/۸۵	۰/۰۹ – ۰/۱۶

ارزیابی آماری جدول ۳، نشان داد بین آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا ارتباط آماری معنی‌داری وجود ندارد.

جدول شماره ۳، وضعیت آماری نمونه‌های آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* و سالمونلا

میکروارگانیسم	آلودگی
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۱۱ نمونه
سالمونلا	۴۵ نمونه
سطح معنی داری	۰/۱۰۷[ns]

NS: تفاوت فصول مختلف معنی‌دار نیست.

مطابق نتایج به دست‌آمده مندرج در جدول ۴، فراوانی ژن‌های انتروتوکسین‌زای *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از سینه مرغ، مرغ کشتارشده و مرغ قطعه‌شده به ترتیب مربوط به SEA ۲۷ نمونه (۲۴/۳۲ درصد)، SEB ۱۰ نمونه (۹/۱ درصد) و SEC ۷ نمونه (۶/۳۰ درصد) بود.

جدول شماره ۴، فراوانی ژن‌های انتروتوکسین‌زای *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از سینه مرغ، مرغ کشتارشده و مرغ قطعه‌شده

ماده غذایی	تعداد نمونه آلوده	SEA	SEB	SEC
سینه مرغ	۱۷	۵ (۲۹/۴۱ درصد)	۲ (۱۱/۷۶ درصد)	۱ (۵/۸۸ درصد)
مرغ کشتارشده	۶۲	۱۵ (۲۴/۱۹ درصد)	۷ (۱۱/۲۹ درصد)	۵ (۸/۰۶ درصد)
مرغ قطعه‌شده	۳۲	۷ (۲۱/۸۷ درصد)	۱ (۱/۶۱ درصد)	۱ (۱/۶۱ درصد)
مجموع	۱۱۱	۲۷ (۲۴/۳۲ درصد)	۱۰ (۹/۱ درصد)	۷ (۶/۳۰ درصد)

UNCORRECTED ROOF

جدول ۵، نشان داد، فراوانی ژن‌های *سالمونلا تایفی‌موریوم* یا ژن *invA* ۸ نمونه (۱۷/۷۸ درصد)، *fljB* و *rfbJ* مجموعا ۱ نمونه (۲/۲۲ درصد) بودند.

جدول شماره ۵، فراوانی ژن‌های *سالمونلا تایفی‌موریوم* و ژن‌های حدت جدا شده از سینه مرغ، مرغ کشتارشده و مرغ قطعه‌شده

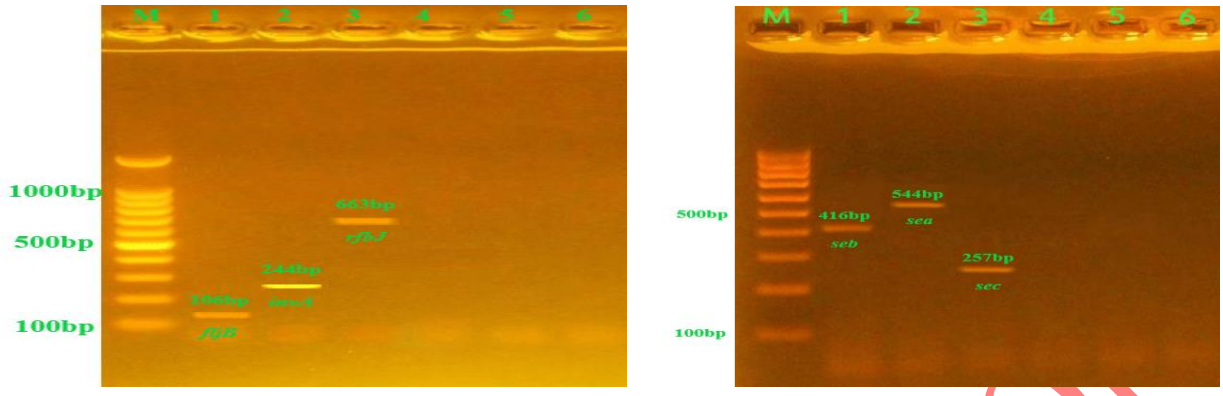
ماده غذایی	تعداد نمونه آلوده	*invA*	*fljB*	*rfbJ*
سینه مرغ	۷	۱ (۱۴/۲۸ درصد)	–	–
مرغ کشتارشده	۲۳	۵ (۲۱/۷۳ درصد)	۱ (۴/۳۴ درصد)	۱ (۴/۳۴ درصد)
مرغ قطعه‌شده	۱۵	۲ (۱۳/۳۳ درصد)	–	–
مجموع	۴۵	۸ (۱۷/۷۸ درصد)	۱ (۲/۲۲ درصد)	۱ (۲/۲۲ درصد)

بیشترین مقاومت در *استافیلوکوکوس اورئوس* مربوط به آمپی‌سیلین (۸۹/۱۸ درصد) و سولفامتاکسازول (۸۷ درصد) بود. همچنین بیشترین حساسیت مربوط به امی‌پنم (۹۲/۸۰ درصد) بود، همچنین بیشترین مقاومت در سالمونلا مربوط به آمپی‌سیلین (۷۳/۳۳ درصد) و سولفامتاکسازول (۶۶/۶۸ درصد) بود. همچنین بیشترین حساسیت مربوط به امی‌پنم (۹۳/۳۳ درصد) بود.

جدول شماره ۶، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و سالمونلا جداشده از گوشت مرغ

وضعیت تعداد جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به انتی‌بیوتیک‌های مختلف (درصد)						وضعیت تعداد جدایه‌های سالمونلا نسبت به انتی‌بیوتیک‌های مختلف (درصد)		
آنتی‌بیوتیک	حساس	نیم‌حساس	مقاوم	حساس	نیم‌حساس	مقاوم
سولفامتاکسازول (SXT)	۰ (۰)	۱۵ (۱۳)	۹۶ (۸۷)	۲ (۴/۴۳)	۱۳ (۲۸/۸۹)	۳۰ (۶۶/۶۸)
جنتامایسین (GM)	۲۵ (۲۲/۵۲)	۵۵ (۴۹/۵۴)	۳۱ (۲۷/۹۴)	۱۳ (۲۸/۸۹)	۹ (۲۰)	۲۳ (۵۱/۱۱)
پنی‌سیلین (PN)	۷ (۶/۳۱)	۲۳ (۲۰/۷۲)	۸۱ (۷۲/۹۷)	۹ (۲۰)	۱۱ (۲۴/۴۴)	۲۵ (۵۵/۵۶)
تتراسایکلین (TE)	۷ (۶/۳۱)	۹ (۸/۱۱)	۹۵ (۸۵/۵۸)	۲ (۴/۴۳)	۱۲ (۲۶/۶۷)	۳۱ (۶۸/۹۰)
امی‌پنم (IMP)	۱۰۳ (۹۲/۸۰)	۸ (۷/۲۰)	۰ (۰)	۴۲ (۹۳/۳۳)	۳ (۶/۶۷)	۰ (۰)
آمپی‌سیلین (AMP)	۵ (۴/۵۰)	۷ (۶/۳۲)	۹۹ (۸۹/۱۸)	۰ (۰)	۱۲ (۲۶/۶۷)	۳۳ (۷۳/۳۳)

UNCORRECTED ROOF



شکل ۱ سمت راست، واکنش PCR. فراوانی ژن‌های sea، seb و sec در *استافیلوکوکوس اورئوس*. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک ۱: ژن seb (۴۱۶ جفت باز)، چاهک ۲: ژن sea (۵۴۴ جفت باز)، چاهک ۳: ژن sec (۲۵۷ جفت باز)، چاهک‌های ۴-۶: کنترل منفی.

شکل ۱ سمت چپ؛ واکنش PCR. فراوانی ژن‌های *fljB*، *invA* و *rfbJ* در سالمونلا. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک ۱: ژن *fljB* (۱۰۶ جفت باز)، چاهک ۲: ژن *invA* (۲۴۴ جفت باز)، چاهک ۳: ژن *rfbJ* (۶۶۳ جفت باز)، چاهک‌های ۴-۶: کنترل منفی.

بحث

یکی از ویژگی‌های اساسی پاتوژنز سالمونلا، توانایی آن برای ورود به سلول های میزبان و باقی ماندن در آنجا به عنوان یک انگل درون سلولی اختیاری است. یکی دیگر از خطرات احتمالی برای سلامت انسان وجود ژن‌های حدت است که اغلب توسط پلاسمیدها و پروفاژها حمل می‌شوند که می‌توانند بین این باکتری‌ها منتقل شوند. *استافیلوکوکوس اورئوس* از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زا برای انسان به شمار می‌رود که واجد قابلیت تجمع و تکثیر روی پوست انسان و حیوانات می‌باشـــد. این باکتری به راحتی از طریق زخم‌های پوستی افراد، عطسه و سرفه، خاک، آب و هوا به ماده غذایی منتقل شده و در سراسر بافت گوشت طی ذبح، فراوری، بســـته بندی، نگهداری و دســـتکاری پخش می‌شـــود. عدم رعایت اصول و موازین بهداشـــتی بروز میزان قابل مالحظه‌ای از آلودگی و شیوع گسترده مسمومیت غذایی استافیلوکوکی می‌گردد (Chomvarin et al., 2006).

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان شیوع سالمونلا ۱۲/۸۵ درصد می‌باشد، که این میزان آلودگی تا حدودی مشابه تحقیقات قبلی در ایران و سایر کشورها بر روی انواع گوشت مشاهده می‌باشد. به این ترتیب نظری‌مقدم در شهرکرد، آلودگی ۹ درصدی (Nazari Moghadam et al., 2023)؛ عزیزپور در اردبیل ۶ درصد (Azizpour, 2021)، مهدوی و همکاران در مهاباد ۷ درصد (Mahdavi et al., 2018)، قدوسی و همکاران در تهران ۱۲ درصد (Ghoddusi et al., 2019)، دوسنده و همکاران در زنجان ۲۸/۴ درصد (Dousandeh et al., 2016) گزارش دادند. به نظر می‌رسد این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از شرایط جغرافیایی، وضعیت بهداشتی مراکز پرورش طیور، نوع و حجم نمونه و روش‌های تشخیص آلودگی باشد. در این مطالعه، در مقایسه با ارقام گزارش شده در خصوص آلودگی به سالمونلا در سایر کشورهای آسیایی مانند هند (۱۴/۸ درصد) (Kumar et al., 2015)، عراق (۴۸/۹ درصد) (Hussein et al., 2021)، چین (۵۲/۲ درصد) (Yang et al., 2011)، پاکستان (۳۸ درصد) (Al-Ouqaili et al., 2020)، و مالزی (۴۸ درصد) (Abatcha et al., 2018) دارای شیوع پائین‌تری بود که نشان دهنده روند بهبود وضعیت بهداشتی در ایران نسبت به سایر کشورهای آسیایی است.

UNCORRECTED ROOF

گزارش‌های متعددی در مورد مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلا در کشورهای مختلف ارائه شده است که نشان دهنده تنوع و سطوح بالای مقاومت دارویی در مناطق مختلف است. Molla و همکاران (۲۰۰۳) بیشترین مقاومت انتی‌بیوتیکی را سولفامتاکسازول، آمپی‌سیلین و تتراسایکلین گزارش دادند (Molla et al., 2003). Capitta و همکاران (۲۰۰۷)، در اسپانیا بالاترین مقاومت را در تتراسایکلین و فلوروکینولون‌ها مشاهده کردند (Capita et al., 2007)، در مصر Abdelghany و همکاران (۲۰۱۵) بالاترین مقاومت مربوط به سولفامتاکسازول، آمپی‌سیلین و تتراسایکلین گزارش دادند (Abd-Elghany et al., 2015). در ایران نیز مقاومت‌های بالایی نسبت به سالمونلا در انواع آنتی‌بیوتیکی‌ها انجام شده است که رنجبر و همکاران (۲۰۲۲) کلرامفنیکل و آمپی‌سیلین را مقاومت‌ترین جدایه‌ها گزارش دادند (Ranjbar R. et al., 2022). مظهری‌دهکردی و همکاران (۲۰۲۳)، بیشترین مقاومت را در سولفامتاکسازول، آمپی‌سیلین و تتراسایکلین گزارش دادند (Mazhari et al., 2023). رحیمی و همکاران (۲۰۲۴) نیز هم‌راستا با مطالعه حاضر بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی را سولفامتاکسازول و آمپی‌سیلین گزارش دادند (Rahimi et al., 2024) که نتایج فوق همگی با نتایج به دست‌آمده از پژوهش حاضر هم‌راستا هستند. در این مطالعه بیشترین میزان مقاومت مربوط به آمپی‌سیلین، تتراسایکلین و سولفامتاکسازول بود. اما میزان عددی مقاومت جدایه‌ها در مطالعه حاضر با نتایج برخی مطالعات پیشین متفاوت است که این تفاوت می‌تواند ناشی از مصرف بی‌رویه و طولانی مدت آنتی بیوتیک‌ها در مناطق مختلف کشور و انتقال ژنتیکی مقاومت دارویی بین باکتری‌ها باشد.

مطالعه حاضر نشان داد میزان آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* ۳۱/۷۱ درصد بود؛ پژوهش‌های مختلفی در ایران و سایر نقاط دنیا انجام شده است که با نتایج مطالعه حاضر مطابقتی ندارند؛ عزیزخانی و توریان در مازندران (۲۰۱۹)، آلودگی ۶۸ درصد را گزارش دادند (Azizkhani and Tooryan, 2019) و رحیمی و همکاران (۲۰۱۳)، در اصفهان آلودگی ۶۰/۳ درصد (Rahimi et al., 2013)، Thang و همکاران (۲۰۱۷)، در دانمارک آلودگی ۶۷ درصد (Tang et al., 2017)، Tarazi و همکاران (۲۰۰۹) در اردن ۸۰/۸ درصد (Al-Tarazi et al., 2009) را گزارش دادند. از مهم‌ترین دلایل فراوانی مطالعات سایرین می‌توان به فاصله زمانی طولانی بین آلوده‌شدن ماده غذایی تا زمان فروش و یا مصرف و نیز نگهداری ماده غذایی در دمای اتاق یا بالاتر از آن به مدت زیاد سبب افزایش تعداد باکتری اســتافیلوکوکوس اورئوس و تولید مقدار کافی انتروتوکســین برای ایجاد مسمومیت غذایی می‌شود اشاره کرد. از آنجا که گوشــت مرغ منبع غذایی غنی برای باکتری‌ها به شمار می‌رود، طی فرایند تهیه ماده غذایی به خصــوص در مراکز خرد عرضه غذاهای آماده، دستکاری غیربهداشتی محصولات گوشتی، تماس با ظروف و ابزار آلوده، تماس دســت و لباس آلــوده افراد با ماده غذایی و نگهــداری محصول در شرایط دمایی نامناسب خطر تولید انتروتوکسین و احتمال بروز مسمومیت استافیلوکوکی را افزایش می‌دهد. کرمی و ممتاز (۲۰۱۹) ۳۰ درصد در تهران (Karimi and Momtaz, 2022)، فرهمند و همکاران در تبریز ۲۵ درصد (Farahmand et al., 2020)، Ge و همکاران (۲۰۱۷) در آمریکا ۲۷/۳ درصد (Ge et al., 2017)، Wu و همکاران (۲۰۱۷) در چین آلودگی ۳۵ درصد (Wu et al., 2018) را گزارش دادند که با نتایج این پژوهش هم‌سویی و مطابقت دارد.

شیوع انتروتوکسین‌های ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از گوشت مرغ در تایوان توسط چیانگ و همکاران (۲۰۰۸) فراوانی ژن Sea، Seb و Sec را به ترتیب ۲۹/۲، ۹/۷ و ۶/۷ درصد (Chiang et al., 2008)؛ مداحی و همکاران (۲۰۱۵) Sea را ۲۵ (Madahi et al., 2015)، سعادتی و همکاران Sec را ۸ درصد (Saadati et al., 2021)، Li و همکاران Sec را ۶ درصد (Li et al., 2018) گزارش دادند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری

UNCORRECTED ROOF

استفاده بی رویه و نادرست از آنتی بیوتیک‌ها در کشاورزی به عنوان محرک رشد یا به عنوان عامل پیشگیری کننده با دوز کمتر از دوز درمان باعث ایجاد فشار انتخابی روی جمعیت های باکتریایی ساکن روده حیوانات و بروز مقاومت می‌شود. این گونه باکتری‌های مقاوم می‌توانند به طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق فرآورده‌های دامی به انسان انتقال یافته و در انسان ایجاد بیماری کنند یا اینکه مخزن انتقال ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیک‌ها به باکتری‌های بیماری‌زای انسان باشند. با توجه به نتایج به دست‌آمده از پژوهش حاضر، و میزان آلودگی‌ها می‌توان نتیجه گرفتگوشت مرغ، منبع آلودگی به *سالمونلا تایفی‌موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* و انواع ژن‌های حدت و بیماری‌زا است، بنابراین باید از استفاده مرغ به صورت خام یا کم‌پخته امتناع کرد تا دچار عفونت و مسمومتی‌های ناشی از آن نشد و در صورت ابتلا به عفونت و مسمومیت‌های ناشی از این میکروارگانیسم‌ها، از مصرف خودسرانه آنتی‌بیوتیک جلوگیری شود. در پایان توصیه می‌شود به جهت کاهش آلودگی در گوشت مرغ، رعایت بهداشت و حفظ زنجیره‌ی سرما رعایت گردد و مسئولان دیربط نسبت به وضع استانداردهای سخت‌گیرانه اقدامات لازم را انجام دهند.

منابع

Abatcha, M. G., Effarizah, M. E., & Rusul, G. (2018). Prevalence, antimicrobial resistance, resistance genes and class 1 integrons of Salmonella serovars in leafy vegetables, chicken carcasses and related processing environments in Malaysian fresh food markets. Food control, 91, 170-180.

Abd-Elghany, S., Sallam, K., Abd-Elkhalek, A., & Tamura, T. (2015). Occurrence, genetic characterization and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from chicken meat and giblets. Epidemiology & Infection, 143(5), 997-1003.

Adesiji, Y. O., Alli, O. T., Adekanle, M. A., & Jolayemi, J. B. (2011). Prevalence of Arcobacter, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and Salmonella species in retail raw chicken, pork, beef and goat meat in Osogbo, Nigeria. Sierra Leone Journal of Biomedical Research, 3(1), 8-12.

Al-Ouqaili, M. T., Khalaf, E. A., & Al-Kubaisy, S. H. (2020). DNA Sequence Analysis of BlaVEB Gene Encoding Multi-drug Resistant and Extended-spectrum β-lactamases Producer Isolates of and. The Open Microbiology Journal, 14(1).

Al-Tarazi, Y. H., Albetar, M. A., & Alaboudi, A. R. (2009). Biotyping and enterotoxigenicity of Staphylococci isolated from fresh and frozen meat marketed in Jordan. Food research international, 42(3), 374-379.

Azizkhani, M., & Tooryan, F. (2019). Detection of enterotoxin coding genes of Staphylococcus aureus strains isolated from ground meat in retail shops in Mazandaran.

Azizpour, A. (2021). Prevalence and antibiotic resistance of Salmonella serotypes in chicken meat of Ardabil, Northwestern Iran. Iranian Journal of Medical Microbiology, 15(2), 232-246.

Capita, R., Alonso-Calleja, C., & Prieto, M. (2007). Prevalence of Salmonella enterica serovars and genovars from chicken carcasses in slaughterhouses in Spain. Journal of Applied Microbiology, 103(5), 1366-1375.

Chiang, Y.-C., Liao, W.-W., Fan, C.-M., Pai, W.-Y., Chiou, C.-S., & Tsen, H.-Y. (2008). PCR detection of Staphylococcal enterotoxins (SEs) N, O, P, Q, R, U, and survey of SE types in *Staphylococcus aureus* isolates from food-poisoning cases in Taiwan. International journal of food microbiology, 121(1), 66-73.

Chomvarin, C., Chantarasuk, Y., Srigulbutr, S., Chareonsudjai, S., & Chaicumpar, K. (2006). Enteropathogenic bacteria and enterotoxin producing *Staphylococcus aureus* isolated from ready-to-eat foods in Khon Kaen, Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health, 37(5), 983.

UNCORRECTED PROOF

Dallal, M. M. S., Doyle, M. P., Rezadehbashi, M., Dabiri, H., Sanaei, M., Modarresi, S., . . . Zali, M. R. (2010). Prevalence and antimicrobial resistance profiles of Salmonella serotypes, Campylobacter and Yersinia spp. isolated from retail chicken and beef, Tehran, Iran. Food control, 21(4), 388-392.

Dousandeh, S., Asaadi Tehrani, G., Amini, B., & Maziri, P. (2016). Simultaneous detection of invA, STM4497, and fliC183 genes in *Salmonella typhimurium* by multiplex PCR method in poultry meat samples in Zanjan, Iran. Infection Epidemiology and Microbiology, 2(4), 20-23.

Farahmand, S., Haeili, M., & Darban-Sarokhalil, D. (2020). Molecular typing and drug resistance patterns of *Staphylococcus aureus* isolated from raw beef and chicken meat samples. Iranian Journal of Medical Microbiology, 14(5), 478-489.

Gajewska, J., Zakrzewski, A. J., Chajęcka-Wierzchowska, W., & Zadernowska, A. (2023). Impact of the food-related stress conditions on the expression of enterotoxin genes among *Staphylococcus aureus*. Pathogens, 12(7), 954.

Ge, B., Mukherjee, S., Hsu, C.-H., Davis, J. A., Tran, T. T. T., Yang, Q., . . . Crarey, E. T. (2017). MRSA and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in US retail meats, 2010–2011. Food microbiology, 62, 289-297.

Ghoddusi, A., Nayeri Fasaei, B., Zahraei Salehi, T., & Akbarein, H. (2019). Serotype distribution and antimicrobial resistance of Salmonella isolates in human, chicken, and cattle in Iran. Archives of Razi Institute, 74(3), 259-266.

Guergueb, N., Alloui, N., Ayachi, A., & Bennoune, O. (2014). Effect of slaughterhouse hygienic practices on the bacterial contamination of chicken meat. Scientific Journal of Veterinary Advances, 3(5), 71-76.

Heidarzadi, M., Rahnama, M., Alipoureskandani, M., Saadati, D., & Afsharimoghadam, A. (2021). Salmonella and *Escherichia coli* contamination in samosas presented in Sistan and Baluchestan province and antibiotic resistance of isolates. Food Hygiene, 11(2), 42.

Hussein, R. A., Al-Ouqaili, M. T., & Majeed, Y. H. (2021). Detection of Helicobacter Pylori infection by invasive and non-invasive techniques in patients with gastrointestinal diseases from Iraq: A validation study. PLoS one, 16(8), e0256393.

Juni, M. H. (2014). Three decades of health financing study: did Malaysia learn anything? International Journal of Public Health and Clinical Sciences, 1(1), 1-12.

Karimi, S., & Momtaz, H. (2022). Molecular typing, phenotypic and genotypic assessment of antibiotic resistance and virulence factors amongst the *Staphylococcus aureus* bacteria isolated from raw chicken meat. Molecular Genetics, Microbiology and Virology, 37(4), 226-241.

Kumar, M., Dahiya, S., Sharma, P., Sharma, S., Singh, T. P., Kapil, A., & Kaur, P. (2015). Structure based in silico analysis of quinolone resistance in clinical isolates of *Salmonella typhi* from India. PLoS one, 10(5), e0126560.

Li, S., Wang, P., Zhao, J., Zhou, L., Zhang, P., Fu, C., . . . Wang, X. (2018). Characterization of toxin genes and antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus from retail raw chicken meat. Journal of food protection, 81(4), 528-533.

Lika, E., Puvača, N., Jeremić, D., Stanojević, S., Shtylla Kika, T., Cocoli, S., & de Llanos Frutos, R. (2021). Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus species* isolated in raw chicken meat from retail stores. Antibiotics, 10(8), 904.

UNCORRECTED PROOF

Madahi, H., Rahimi, E., & Jalali, M. (2015). Detection of enterotoxin genes of *Staphylococcus aureus* isolates from chicken nugget in Esfahan province by PCR technique. Biological Journal of Microorganism, 4(13), 25-34.

Mahdavi, S., Azizi Dehbokri, M., & Isazadeh, A. (2018). Contamination of chicken meat with salmonella spp distributed in mahabad city, iran. Int J Enteric Pathog, 6(3), 65-68.

Mazhari, M., Bonyadian, M., & Moshtaghi, H. (2023). samples Antibiotic resistance profile of *Salmonella typhimurium* isolated from raw milk and traditional cheese. Journal of Food Microbiology, 2(10), 74-86. doi:10.30495/jfm.2023.1976067.1801

Molla, B., Mesfin, A., & Alemayehu, D. (2003). Multiple antimicrobial-resistant Salmonella serotypes isolated from chicken carcass and giblets in Debre Zeit and Addis Ababa, Ethiopia. Ethiopian Journal of Health Development, 17(2), 131-139.

Nazari Moghadam, M., Rahimi, E., Shakerian, A., & Momtaz, H. (2023). Prevalence of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* isolated from poultry meat: virulence and antimicrobial-resistant genes. BMC microbiology, 23(1), 168.

Petracci, M., Mudalal, S., Babini, E., & Cavani, C. (2014). Effect of white striping on chemical composition and nutritional value of chicken breast meat. Italian Journal of Animal Science, 13(1), 3138.

Pishadast, S., Rahnama, M., Alipour Eskandani, M., Saadati, D., Noori Jangi, A., & Heidarzadi, M. (2021). Study of antimicrobial effect of nisin and alcoholic extract of garlic on the activity of *Staphylococcus aureus* ATCC 1113 in Tilapia minced meat during storage at 4° C. Food Hygiene, 11(3 (43)), 37-47.

Rahimi, E., Heidarzadi, M. A., & Vahed Dehkordi, N. (2024). Evaluation of prevalence rate, antibiotic resistance and frequency of fljb and rfljb genes of *Salmonella typhimurium* in industrial and traditional dairies. New Findings in Veterinary Microbiology, 6(2), 57-65.

Rahimi, E., Nonahal, F., & ATAYE, S. E. (2013). Detection of classical enterotoxins of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw meat in Esfahan, Iran.

Ranjbar R., Naghoni A., Izadi M., Joneidi Jafari N., & Panahi Y. (2022). Isolation and antibiotics resistance pattern determination of *Salmonella typhimurium*. Journal of Military Medicine, 11(2), 115-118.

Saadati, A., Mashak, Z., & Yarmand, M. S. (2021). Prevalence and Molecular Characterization of Enterotoxin-and Antibiotic Resistance-Encoding Genes in the Methicillin-resistant Staphylococcus aureus Recovered from Poultry Meat. Egyptian Journal of Veterinary Sciences, 52(2), 163-173.

Sun, Z., Zhang, X., Wu, H., Wang, H., Bian, H., Zhu, Y., . . . Fu, L. (2020). Antibacterial activity and action mode of chlorogenic acid against *Salmonella enteritidis*, a foodborne pathogen in chilled fresh chicken. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 36(2), 1-10.

Tang, Y., Larsen, J., Kjeldgaard, J., Andersen, P. S., Skov, R., & Ingmer, H. (2017). Methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus* from retail meat in Denmark. International journal of food microbiology, 249, 72-76.

Titouche, Y., Houali, K., Ruiz-Ripa, L., Vingadassalon, N., Nia, Y., Fatihi, A., . . . Torres, C. (2020). Enterotoxin genes and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from food products in Algeria. Journal of Applied Microbiology, 129(4), 1043-1052.

Wu, S., Huang, J., Wu, Q., Zhang, J., Zhang, F., Yang, X., . . . Ding, Y. (2018). *Staphylococcus aureus* isolated from retail meat and meat products in China: incidence, antibiotic resistance and genetic diversity. Frontiers in microbiology, 9, 2767.

UNCORRECTED PROOF

Wójcik, W., Łukasiewicz-Mierzejewska, M., Damaziak, K., & Bień, D. (2022). Biogenic amines in poultry meat and poultry products: formation, appearance, and methods of reduction. *Animals*, *12*(12), 1577.

Yang, B., Xi, M., Wang, X., Cui, S., Yue, T., Hao, H., . . . Meng, J. (2011). Prevalence of Salmonella on raw poultry at retail markets in China. Journal of food protection, 74(10), 1724-1728.

UNCORRECTED ROOF