University of Tehran Press

Journal of Veterinary Research

Homepage: jvr.ut.ac.ir

Online ISSN: 2251-6190

Research Article

Phenotypic Detection of Extended-Spectrum β-Lactamases and Distribution of blaTEM and blaCTX-M Genes among Isolates Recovered from Chicken Meat in Three Provinces of Iran

Solmaz Rostami[1]✉, Nariman Sheikhi[2]✉, Abed Zahedi Bialvaei[3]✉, Parviz Tajik[4]✉, Marjan Rahnamaye Farzami[5]✉

[1] *Graduated from the SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran*
[2] *Department of Animal Sciences, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran*
[3] *Microbial Biotechnology Research Center, Iran University of Medical Science, Tehran, Iran*
[4] *Department of Clinical Sciences, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran*
[5] *Reference Health Laboratory Research Center, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran*

Received: *…,* ***Reciver in revised from:*** *…,* ***Accepted:*** *…,* ***Available online****: …*

10.22059/jvr.2026.419125.3584 **J Vet Res, Volume 81, Number 4, 2026, …**

Abstract

BACKGROUND: Non-typhoidal *Salmonella (*NTS*)* is a major foodborne pathogen worldwide, and chicken meat is an important source of human infection. The emergence of antimicrobial resistance, particularly extended-spectrum β-lactamase (ESBL) production, has become a growing public health concern.

OBJECTIVES: This study aimed to determine serogroups, phenotypically detect ESBL production, and investigate the distribution of the bla_{TEM} and bla_{CTX-M} genes among NTS isolates recovered from chicken meat.

METHODS: This retrospective laboratory-based study included 40 NTS isolates recovered from chicken meat samples collected in three provinces of Iran during 2019-2025. The isolates were confirmed by biochemical testing and were serogrouped using slide agglutination according to the Kauffmann–White classification method. Antimicrobial resistance to ampicillin, ceftazidime, ceftazidime/clavulanic acid, cefotaxime, cefotaxime/clavulanic acid, imipenem, and meropenem was determined by disk diffusion in accordance with the CLSI M100 2026 guidelines. ESBL production was assessed using the combined-disk test, and beta-lactamase genes of the bla_{CTX-M} and bla_{TEM} families were detected by polymerase chain reaction (PCR).

RESULTS: Of the 40 isolates, none belonged to serogroup A. Serogroup C was the most prevalent, accounting for 20 isolates (50%), followed by serogroups B and D, with 11 (27.5%) and 9 (22.5%) isolates, respectively. All isolates were susceptible to imipenem and meropenem, while 17.5% were resistant to ampicillin. Two isolates (5%) were phenotypically identified as ESBL producers. The bla_{TEM} gene was detected in 39 isolates (97.5%), whereas bla_{CTX-M} was detected in two isolates (5%). Both ESBL-producing isolates carried both bla_{TEM} and bla_{CTX-M} and were resistant to ampicillin.

CONCLUSIONS: Although the phenotypic distribution of ESBLs was low, detection of bla_{CTX-M} and the high frequency of bla_{TEM} in ESBL-positive isolates suggest an association with the emergence of this resistance phenotype. These findings underscore the need for continuous antimicrobial resistance surveillance and prudent antibiotic use in the poultry industry.

Keywords: bla_{TEM}, bla_{CTX-M}, Chicken, Extended-spectrum β-lactamase, ESBL, Non-typhoidal *Salmonella*

Copyright © The Author(s). Publisher: University of Tehran Press Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Marjan Rahnamaye Farzami, Tel/Fax: +9821-66740040 / +9821-66728121

How to cite this article:

…

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Primer sequences of the antimicrobial resistance of study genes.
Table 2. Diameter of inhibition zones among ESBL-producing isolates.
Table 3. Antimicrobial resistance rates of NTS isolates.
Table 4. Distribution of the bla_{TEM} and bla_{CTX-M} genes and their association with the ESBL phenotype in NTS isolates.
Figure 1. ESBL-positive isolate by the combination disk diffusion test.
Figure 2. PCR amplification of the bla_{TEM} gene showing the expected 797 bp amplicon. M: 100 bp DNA ladder.
Figure 3. PCR amplification of the bla_{CTX-M} gene showing the expected 544 bp amplicon. M: 100 bp DNA ladder.

مجله تحقیقات دامپزشکی
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: ۶۱۹۰-۲۲۵۱
انتشارات دانشگاه تهران
مقاله پژوهشی

بررسی فنوتیپی بتالاکتامازهای طیف گسترده (ESBL) و توزیع ژن‌های bla_{TEM} و $bla_{CTX\text{-}M}$ در بین ایزوله‌های جداشده از گوشت مرغ در سه استان ایران

سلماز رستمی[۱]، نریمان شیخی[۲]، عابد زاهدی بیالوائی[۳]، پرویز تاجیک[۴]، مرجان رهنمای فرزامی[۵]

[۱] دانش آموخته واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲] گروه علوم دامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۳] مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
[۴] گروه علوم درمانگاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۵] مرکز تحقیقات آزمایشگاه رفرانس، وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ...، **تاریخ بازنگری:** ...، **تاریخ پذیرش:** ...، **تاریخ انتشار:** ...

دوره ۸۱، شماره ۴، ۱۴۰۵، ...

10.22059/jvr.2026.419125.3584

چکیده

زمینه مطالعه: *سالمونلای* غیرتیفوئیدی (Non-typhoidal *Salmonella*; NTS) از مهم‌ترین عوامل بیماری‌های منتقل‌شده ازطریق غذا در سراسر جهان می‌باشد و گوشت مرغ از منابع انتقال این باکتری به انسان محسوب می‌شود. گسترش مقاومت ضدمیکروبی، به‌ویژه تولید بتالاکتامازهای طیف گسترده (Extended-Spectrum β-Lactamases; ESBLs)، در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری نگرانی‌های قابل‌توجهی ایجاد کرده است.

هدف: بررسی سروگروپ، شناسایی فنوتیپی تولید ESBL و تعیین فراوانی ژن‌های bla_{TEM} و $bla_{CTX\text{-}M}$ در جدایه‌های NTS جداشده از گوشت مرغ است.

روش‌کار: در مطالعه حاضر که به صورت گذشته‌نگر مبتنی بر آزمایشگاه انجام شد، ۴۰ جدایه NTS جمع‌آوری‌شده از گوشت مرغ طی سال‌های ۱۳۹۸ تا ۱۴۰۴ از سه استان ایران مورد بررسی قرار گرفتند. جدایه‌ها با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی و تعیین سروگروپ به روش آگلوتیناسیون اسلایدی براساس طبقه‌بندی کافمن ـ وایت تأیید شدند. تعیین الگوی مقاومت ضدمیکروبی نسبت به آمپی‌سیلین، سفتازیدیم، سفتازیدیم / کلاوولانیک اسید، سفوتاکسیم، سفوتاکسیم / کلاوولانیک اسید، ایمی‌پنم و مروپنم با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و براساس دستورالعمل CLSI (M100, 2026) انجام شد. تولید ESBL با آزمون ترکیبی دیسک و حضور ژن‌های بتالاکتاماز خانواده bla_{TEM} و $bla_{CTX\text{-}M}$ با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction; PCR) ارزیابی شد.

نتایج: از میان ۴۰ جدایه، هیچ جدایه‌ای متعلق به سروگروپ A نبود، سروگروپ C با ۲۰ جدایه (۵۰ درصد) شایع‌ترین سروگروپ و پس از آن سروگروپ‌های B با ۱۱ جدایه (۲۷/۵ درصد) و D با ۹ جدایه (۲۲/۵ درصد) قرار داشتند. تمامی جدایه‌ها نسبت به ایمی‌پنم و مروپنم حساس بودند. مقاومت به آمپی‌سیلین در ۱۷/۵ درصد از جدایه‌ها مشاهده شد. دو جدایه (۵ درصد) از نظر فنوتیپی تولیدکننده ESBL بودند. ژن bla_{TEM} در ۳۹ جدایه (۹۷/۵ درصد) و ژن $bla_{CTX\text{-}M}$ در دو جدایه (۵ درصد) وجود داشت. هر دو جدایه ESBL مثبت، به‌طور هم‌زمان حامل ژن‌های bla_{TEM} و $bla_{CTX\text{-}M}$ و نسبت به آمپی‌سیلین مقاوم بودند.

نتیجه‌گیری نهایی: توزیع فنوتیپی ESBL در جدایه‌های مورد بررسی پایین بود. فراوانی بالای خانواده ژنی bla_{TEM} و شناسایی ژن $bla_{CTX\text{-}M}$ در جدایه‌های ESBL مثبت، با این مقاومت مرتبط است. یافته‌ها بر ضرورت پایش مستمر مقاومت ضدمیکروبی و مدیریت منطقی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت طیور تأکید می‌کنند.

کلمات کلیدی: بتالاکتامازهای طیف گسترده، ژن $bla_{CTX\text{-}M}$، ژن bla_{TEM}، *سالمونلای* غیرتیفوئیدی، گوشت مرغ

کپی‌رایت © نویسندگان. ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: مرجان رهنمای فرزامی، مرکز تحقیقات آزمایشگاه رفرانس، وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

مقدمه

سالمونلا یکی از عوامل مهم بیماری‌های با منشأ غذا در انسان است. باتوجه‌به اهمیت گوشت مرغ در تغذیه افراد جامعه، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها جهت افزایش ضریب رشد و کاهش خسارات ناشی از بیماری‌های طیور مورد توجه می‌باشد. عفونت‌های *سالمونلا* می‌توانند تهاجمی باشند و نیاز به درمان آنتی‌بیوتیکی مؤثر داشته باشند(۱). گردش سویه‌های مقاوم *سالمونلا* در زنجیره تولید طیور می‌تواند سلامت عمومی را تهدید کند. همچنین استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در خوراک دام نیز به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی منجر شده است(۲).

در حال حاضر مقاومت به آنتی‌بیوتیک سالانه باعث مرگ ۷۰۰ هزار نفر می‌شود. رقمی که انتظار می‌رود تا سال ۲۰۵۰ به ۱۰ میلیون نفر افزایش یابد و ضرر اقتصادی‌ای حدود ۱۰۰ تریلیون دلار را به همراه داشته باشد(۳). مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *سالمونلا* می‌تواند به‌سرعت پس از مصرف آنتی‌بیوتیک ایجاد شود و ازطریق انتقال افقی ژن ازطریق پلاسمیدها، اینتگرون‌ها، ترانسپوزون‌ها و سایر عناصر ژنتیکی متحرک گسترش یابد(۲). مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *سالمونلاهای* جداشده از طیور در کشورهای مختلف طی سال‌های اخیر رو به افزایش است(۴). همچنین مطالعات متعددی در کشورهای توسعه‌یافته و درحال‌توسعه به بررسی شیوع *سالمونلا انتریکای* تولیدکننده ESBL در محصولات گوشتی پرداخته‌اند. این مقاومت قابلیت انتقال ازطریق زنجیره غذایی به انسان را دارد و می‌تواند نشان‌دهنده استفاده غیرقانونی از داروها در طول دوره پرورش باشد(۲). آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به دلیل سمیت پایین، اثربخشی مناسب و طیف وسیع فعالیت از مهم‌ترین داروهای مورداستفاده در درمان عفونت‌های *سالمونلایی* به شمار می‌روند. از زمان کاربرد گسترده بتالاکتام‌ها در انسان و حیوانات، مقاومت به آن‌ها در سراسر جهان مشاهده شده است. مکانیسم مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها، غیرفعال کردن دارو و هیدرولیز حلقه بتالاکتام با تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز توسط باکتری‌هاست. آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده از مهم‌ترین آن‌ها می‌باشند که معمولاً بر روی عناصر متحرک ژنی قرار دارند و به همین دلیل به‌راحتی به سایر باکتری‌ها منتقل(۵) و اغلب توسط اسید کلاولانیک، سولباکتام و تازوباکتام مهار می‌شوند، ولی بر روی سفامایسین‌ها (سفوکسیتین و سفوتتان) و کارباپنم‌ها (ایمی‌پنم و مروپنم) بی‌اثر می‌باشند(۶).

تقریباً ۳۵۰ تا ۴۰۰ بتالاکتاماز مختلف از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت شناخته شده است. ژن‌های کدکننده بتالاکتاماز مختلفی در *سالمونلاها* شناسایی شده‌اند، مانند *TEM*، *SHV*، *PSE*، *OXA*، *PER*، *CTX-M*، *CMY*، *ACC*، *DHA*، *KPC*، *SCO*، *NDM* یا *VIM* (۷). براساس تشابه آمینواسیدی، بتالاکتامازها را به چهار گروه مختلف سرین بتالاکتاماز A, B, C, D تقسیم می‌کنند. کلاس A، سرین پروتئازهایی می‌باشند که در سطوح مختلف، پنی‌سیلین‌ها، مونوباکتام‌ها، سفالوسپورین‌ها و کاربابنم‌ها را هیدرولیز می‌کنند(۸). بتالاکتامازهایی مانند *TEM* و *CTX-M* از آنزیم‌های شایع کلاس A می‌باشند که از نظر اپیدمیولوژیک پراهمیت می‌باشند و ژن آن‌ها به وسیله عناصر متحرک ژنی به سویه‌های انتروباکتریاسه‌ها انتقال می‌یابند(۹). *TEM-1* و *TEM-2* اولین‌بار از بیماری به نام تمورینا جدا شد و *TEM* نامیده شد. ژن bla_{TEM} از شایع‌ترین ژن‌های مقاومت در باکتری‌های گرم منفی است که از بسیاری از سویه‌های *سالمونلا* گزارش شده است(۱۰). در *سالمونلا* آنزیم‌های *CTX-M* از ژن‌های کروموزومی *bla* گونه‌های *Kluyvera* منشأ گرفته‌اند و به دنبال آن به پلاسمیدها منتقل شده‌اند. *CTX-M* اولین‌بار از یک بیمار اروپایی در اواخر دهه ۱۹۸۰ جدا شد(۱۱). آنزیم‌های *CTX-M* با هیدرولیز آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، به‌ویژه سفوتاکسیم، موجب کاهش اثربخشی این داروها می‌شوند. ژن‌های کدکننده این آنزیم‌ها عمدتاً ازطریق انتقال افقی ژن، میان جنس‌ها و گونه‌های مختلف باکتریایی منتشر می‌شوند. تاکنون بیش از ۲۵۰ واریانت از خانواده *CTX-M* شناسایی شده است که براساس شباهت توالی اسیدآمینه‌ای در پنج گروه اصلی فیلوژنتیکی شامل *CTX-M-1*، *CTX-M-2*، *CTX-M-8*، *CTX-M-9* و *CTX-M-25* طبقه‌بندی می‌شوند(۱۲). قبلاً این آنزیم‌ها سفوتاکسیماز بودند، اما امروزه بیش از ۶۰ درصد از انواع *CTX-M* می‌توانند هم سفتازیدیم و هم سفوتاکسیم را هیدرولیز کنند(۱۳). خانواده *CTX-M* به شایع‌ترین ESBL در جهان تبدیل شده و گزارش حضور آن در *سالمونلاهای* با منشأ غذایی افزایش یافته است(۱۴).

گزارش‌هایی از حضور ژن‌های bla_{TEM} و bla_{CTX-M} در جدایه‌های *سالمونلا* در ایران منتشر شده است، ولی اطلاعات مربوط به *سالمونلاهای* غیرتیفوئیدی جداشده از گوشت مرغ محدود می‌باشد و پایش منظم مقاومت ضدمیکروبی در زنجیره تولید محصولات طیور کاملاً توسعه نیافته است(۷). باتوجه‌به نقش گوشت مرغ به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع سالمونلوز انسانی، پایش مقاومت ضدمیکروبی در جدایه‌های *سالمونلاهای* غیرتیفوئیدی برای مدیریت مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در دامپزشکی ضروری است. ازاین‌رو مطالعه حاضر با هدف بررسی الگوی مقاومت ضدمیکروبی، شناسایی فنوتیپی تولید ESBL و تعیین فراوانی ژن‌های bla_{TEM} و bla_{CTX-M} در جدایه‌های *سالمونلاهای* غیرتیفوئیدی جداشده از گوشت مرغ در سه استان ایران انجام شد.

مواد و روش کار

جمع‌آوری نمونه و بررسی بیوشیمیایی جدایه‌ها: در مطالعه حاضر که گذشته‌نگر مبتنی بر آزمایشگاه بود ۹۶ جدایه قابل‌دسترس از آرشیو سویه‌های *سالمونلاهای* غیرتیفوئیدی سه استان تهران (۲۰ عدد)، البرز (۱۱عدد) و قزوین (۹ عدد) که از نمونه‌های گوشت مرغ کشتارگاه‌ها در طی سال‌های ۱۳۹۸ تا ۱۴۰۴ توسط یک مرکز تحقیقات آزمایشگاهی، جمع‌آوری شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند .به‌منظور احیا و رشد جدایه‌ها، هر نمونه در محیط Brain Heart Infusion (BHI) (BD, USA) تلقیح و به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۲ ± ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. از ۹۶ جدایه فقط ۴۰ جدایه رشد کردند که این می‌تواند به دلیل نگهداری جدایه‌ها در شرایط نامناسب دمایی طی این چند سال و یا عدم رعایت استانداردهای ذخیره‌سازی طولانی‌مدت جدایه‌ها بوده باشد. سپس یک لوپ از هر ۴۰ محیط غنی‌شده کدر که جدایه در آن رشد کرده بود بر روی محیط آگار خون‌دار (پرونادیسا، اسپانیا) کشت داده شد. پس از گرمخانه‌گذاری، پرگنه‌های خالص برای تأیید اولیه فنوتیپی بر روی محیط کشت گزیلوز لیزین دکستروز آگار (پرونادیسا، اسپانیا) کشت داده شدند. پرگنه‌های با ویژگی *سالمونلا* (دارای مرکز سیاه) برای بررسی آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد، به محیط کشت‌های Triple Sugar Iron (TSI) (پرونادیسا، اسپانیا)، بررسی تخمیر قند، لیزین آیرون آگار، (پرونادیسا، اسپانیا)، فعالیت دکربوکسیلاز، اوره آگار، فعالیت اوره‌آز (میلی‌پور، آلمان)، SIM واکنش‌های سولفید، ایندول و حرکت (میلی‌پور، آلمان)، MRVP (TM media هند)، واکنش متیل رد / ووژس ـ پروسکوئر، سیمونز سیترات آگار ارزیابی استفاده از سیترات (پرونادیسا، اسپانیا) تلقیح شده و پس از گرمخانه‌گذاری بررسی شدند.

بررسی سروگروپ جدایه‌ها: تعیین سروگروپ جدایه‌ها با استفاده از آنتی‌سرم‌های *سالمونلا* (بهارافشان، ایران) و به روش آگلوتیناسیون اسلایدی براساس طبقه‌بندی کافمن ـ وایت تعیین شد. بدین منظور، یک پرگنه از کشت تازه با یک قطره سرم فیزیولوژی استریل روی لام شیشه‌ای مخلوط شد و سپس یک قطره از آنتی‌سرم‌های مربوط به سروگروپ A تا D به آن اضافه شد. مشاهده آگلوتیناسیون واضح طی مدت ۶۰ ثانیه به‌عنوان نتیجه مثبت در نظر گرفته شد(۱۵).

آزمایش تعیین مقاومت ضدمیکروبی: مقاومت ضدمیکروبی جدایه‌ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (لیوفیلکم، ایتالیا) انجام شد. انتخاب دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی، کنترل کیفی و تفسیر نتایج آن‌ها براساس اصول مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI M100, 36th ed, 2026) انجام شد. آنتی‌بیوتیک‌های موردبررسی آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم / کلاولانیک اسید (۴۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) و سفوتاکسیم / کلاولانیک اسید (۴۰ میکروگرم) (لیوفیلکم، ایتالیا) بودند. برای تهیه سوسپانسیون باکتریایی، از کشت ۲۴ ساعته هر جدایه، سوسپانسیونی معادل نیم مک‌فارلند تهیه و کدورت آن با دستگاه نفلومتری تأیید شد. سپس سوسپانسیون با استفاده از سواب استریل به‌طور یکنواخت بر سطح محیط کشت مولرهینتون آگار کشت داده شد و دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی روی سطح محیط کشت قرار گرفتند. پس از گرمخانه‌گذاری در دمای ۲ ± ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت، قطر هاله‌های عدم رشد با خط‌کش اندازه‌گیری شد. برای اطمینان از صحت نتایج، قطر هاله عدم رشد توسط دو نفر مستقل اندازه‌گیری شد و در صورت نیاز آزمایش مقاومت ضدمیکروبی برای جدایه‌ها تکرار شد. به‌منظور تشخیص فنوتیپی تولید ESBL، از آزمون انتشار دیسک ترکیبی و از دیسک‌های سفتازیدیم، سفتازیدیم / کلاولانیک اسید، سفوتاکسیم و سفوتاکسیم / کلاولانیک اسید استفاده شد. افزایش قطر هاله عدم رشد برابر یا بیشتر از ۵ میلی‌متر در دیسک حاوی مهارکننده کلاولانیک اسید نسبت به دیسک بدون مهارکننده کلاولانیک اسید، به‌عنوان نتیجه مثبت برای تولید ESBL در نظر گرفته شد. برای کنترل کیفیت آزمون‌ها، سویه‌های استاندارد *Escherichia coli* ATCC 25922 به عنوان کنترل منفی و *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 به عنوان کنترل مثبت به‌صورت روزانه مورد استفاده قرار گرفتند.

جدول ۱. توالی پرایمر ژن‌های مقاومت موردبررسی.

ژن مقاومت	توالی پرایمر(´3-´5)	دمای اتصال درجه سانتی‌گراد	سایز محصول واکنش (bp)	مرجع
bla$_{TEM}$	F: CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC	۵۸	۷۹۷	(۱۶)
	R: CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC			
bla$_{CTX-M}$	F: TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA	۵۹	۵۴۴	(۱۷)
	R: CGATATCGTTGGTGGTGCCATA			

جدول ۲. قطر هاله عدم رشد ایزوله‌های دارای فنوتیپ ESBL.

ایزوله	قطر هاله عدم رشد برای هر آنتی‌بیوتیک برحسب میلی‌متر			
	سفتازیدیم	سفتازیدیم کلاولانیک	سفوتاکسیم	سفوتاکسیم کلاولانیک
ایزوله اول	۲۲	۲۹	۱۲	۳۰
ایزوله دوم	۲۱	۲۸	۱۴	۲۹

جدول ۳. میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های NTS.

نام آنتی‌بیوتیک	مقاوم درصد (تعداد)	حساس بینابینی درصد (تعداد)	حساس درصد (تعداد)
آمپی‌سیلین	۱۷/۵(۷)	۲/۵(۱)	۸۰(۳۲)
مروپنم	۰ (۰)	۰ (۰)	۱۰۰ (۴۰)
ایمی‌پنم	۰ (۰)	۰ (۰)	۱۰۰(۴۰)
سفوتاکسیم*	–	–	–
سفوتاکسیم / کلاولانیک*	–	–	–
سفتازیدیم*	–	–	–
سفتازیدیم / کلاولانیک*	–	–	–

*هدف از بررسی دیسک‌های سفوتاکسیم، سفتازیدیم و ترکیبات حاوی کلاوولانیک اسید در مطالعه حاضر، صرفاً مقایسه قطر هاله مهار رشد آن‌ها برای تأیید فنوتیپی تولید ESBL است.

جدول ۴. توزیع ژن‌های bla_{TEM} و bla_{CTX-M} و ارتباط آن‌ها با فنوتیپ ESBL در جدایه‌های NTS.

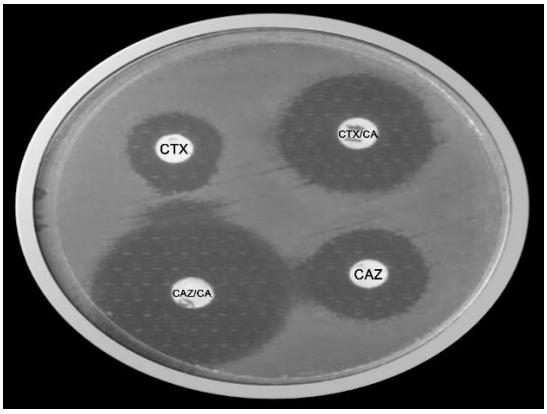
فنوتیپ ESBL	تعداد جدایه	bla_{TEM}	bla_{CTX-M}	هر دو ژن	فاقد هر دو ژن
مثبت	۲	۲	۲	۲	۰
منفی	۳۸	۳۷	۰	۰	۱
مجموع	۴۰	۳۹	۲	۲	۱

استخراج DNA و تعیین ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی: از پرگنه‌های تازه تمامی جدایه‌ها و با کیت استخراج (DNA ساخت شرکت ویراژن، ایران) برای استخراج DNA طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. کیفیت و غلظت DNA استخراج‌شده با دستگاه اسپکتروفتومتری نانودراپ اندازه‌گیری شد. جدایه‌ها برای بررسی دو ژن عامل مقاومت ضدمیکروبی bla_{TEM} و bla_{CTX-M} (مقاومت به بتالاکتام) با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز معمولی آزمایش شدند(۱۸). واکنش PCR برای هر ژن bla_{TEM} و bla_{CTX-M} با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در نظر گرفته شد که حاوی ۱۲ میکرولیتر مخلوط اصلی (مسترمیکس) PCR 2X (pcrbio، انگلستان) از هر پرایمر فوروارد، ریورس ۰/۵ میکرولیتر، ۵ میکرولیتر DNA استخراج‌شده و ۷ میکرولیتر آب دوبار تقطیر بود. توالی‌های پرایمر (متابیون، آلمان)، دمای اتصال و اندازه محصولات PCR در جدول ۱ ارائه شده است. شرایط تکثیر برای ژن‌های مقاومت، شامل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ بار تکرار از چرخه دمایی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال مطابق دمای اتصال در جدول ۱ به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله طویل‌سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه بود. در انتها طویل‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه برای یک چرخه انجام گرفت. در هر سیکل کاری، یک محلول بلانک به‌عنوان کنترل منفی قرار داده شد. محصولات PCR در دمای اتاق بر روی ژل آگارز 1 درصد حاوی رنگ DNA Safe Dye در بافر TBE×۰/۵ الکتروفورز شدند و باندهای حاصل در دستگاه مستندسازی ژل عکس‌برداری و تصاویر آن‌ها جهت تحلیل و آنالیز ذخیره شد. همچنین سویه *Klebsiella pneumoniae* ATCC 7881 دارای ژن‌های bla_{TEM} و bla_{CTX-M} در این مرحله به‌عنوان کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفت.

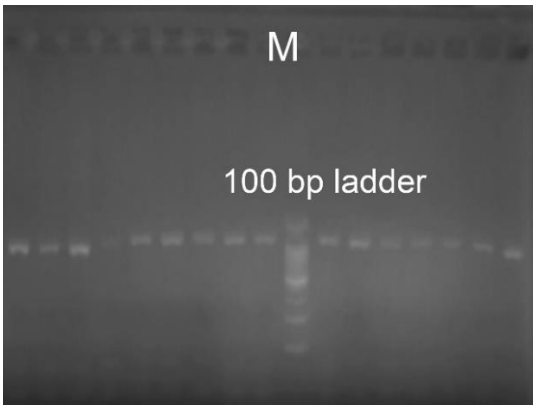
تجزیه‌وتحلیل آماری: برای آنالیز آماری نتایج از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ استفاده شد. ارتباط بین تولید فنوتیپی ESBL و وجود ژن‌های bla_{TEM} و bla_{CTX-M} با آزمون دقیق فیشر بررسی شد.

نتایج

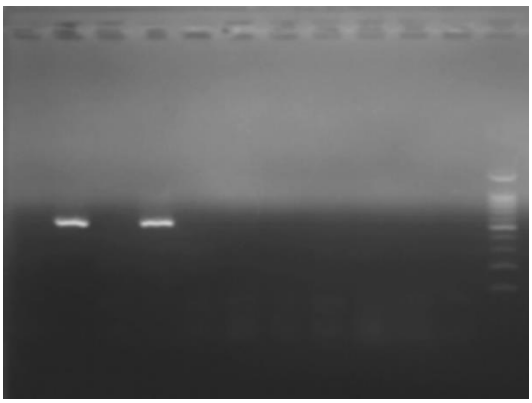
شناسایی بیوشیمیایی: نتایج جدایه‌های NTS براساس آزمایش‌های بیوشیمیایی استاندارد بر روی محیط کشت به این صورت مشاهده شد: TSI slant (K)/butt(A)، H2S (+)، gas (+)، motility (+)، indole (-)، urea(-)، citrate(+)، LIA (+)، MR(+)، VP(-). الگوی بیوشیمیایی تمامی جدایه‌ها با خصوصیات استاندارد *سالمونلا* طبق دستورالعمل CLSI مطابقت داشت.



تصویر۱. نمونه پلیت ESBL مثبت.



تصویر ۲. نتیجه PCR محصول تکثیر ژن bla_{TEM} با سایز مارکر مولکولی ۱۰۰ bp با سایز محصول ۷۹۷ bp. Lane1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14: به ترتیب جدایه‌های بارگذاری‌شده در چاهک‌ها می‌باشند. PC: کنترل مثبت. NC: کنترل منفی. M: سایز مارکر مولکولی.



تصویر ۳. نتیجه PCR محصول تکثیر ژن bla_{CTX-M} با سایز مارکر مولکولی ۱۰۰ bp با سایز محصول ۵۴۴ bp. Lane1,2,3,4,5,6,7,8,9: به ترتیب جدایه‌های بارگذاری شده در چاهک‌ها می‌باشند. PC: کنترل مثبت. NC: کنترل منفی. M: سایز مارکر مولکولی.

توزیع سروگروپ‌های *سالمونلا*: جدایه‌های موردمطالعه در سروگروپ‌های B، C و D قرار داشتند. سروگروپ C با میزان ۵۰ درصد(۱۹) شایع‌ترین سروگروپ بود و پس از آن سروگروپ B با میزان ۲۷/۵ درصد(۱۱) و سروگروپ D با میزان ۲۲/۵(۹) قرار گرفتند. هیچ‌یک از جدایه‌ها متعلق به سروگروپ A نبودند.

آزمایش حساسیت ضدمیکروبی و شناسایی جدایه‌های ESBL: جدایه‌های *سالمونلای* غیرتیفوئیدی جمع‌آوری‌شده طی پنج سال، در برابر دیسک‌های عامل ضدمیکروبی، با استفاده از روش آزمون انتشار دیسک ترکیبی بررسی شدند. تنها ۵ درصد (۲/۴۰) از جدایه‌ها مولد آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بودند (تصویر ۱ و جدول ۲). همه جدایه‌ها نسبت به ایمی‌پنم و مروپنم حساس بودند. ۱۷/۵ درصد مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین مشاهده شد. در سند Vet CLSI هاله عدم رشد برای آنتی‌بیوتیک‌ها تعریف نشده است. ارزیابی نتایج آزمایش ESBL و بررسی مقاومت سایر آنتی‌بیوتیک‌ها در *سالمونلا* به‌عنوان یک باکتری زئونوز براساس دستورالعمل CLSI M100, 35th ed, 2026 صورت گرفت. مطابق این دستورالعمل، سفتازیدیم داروی انتخابی برای درمان *سالمونلا* در نظر گرفته نشده و قطر هاله مهار رشد برای آن تعریف نشده است. سفوتاکسیم، داروی انتخابی برای درمان عفونت‌های خارج روده‌ای *سالمونلا* می‌باشد. باتوجه‌به اینکه جدایه‌های این مطالعه از لاشه‌های طیور در کشتارگاه‌ها جمع‌آوری شده‌اند به احتمال زیاد منشأ روده‌ای داشته و نماینده موارد سپتی‌سمی نیستند؛ زیرا طیور مبتلا به سپتی‌سمی معمولاً پیش از رسیدن به کشتارگاه تلف می‌شوند (جدول ۳).

نتیجه بررسی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی: بررسی جدایه‌ها از نظر حضور ژن‌های بتالاکتاماز bla_{TEM} و bla_{CTX-M} با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز نشان داد که ژن‌های bla_{TEM} در ۳۹ مورد از ۴۰ جدایه (۹۷/۵ درصد) و bla_{CTX-M} در ۲ مورد از ۴۰ جدایه (۵ درصد) شناسایی شدند (تصویر ۲ و تصویر ۳). هر دو جدایه حامل ژن bla_{CTX-M}، به‌طور هم‌زمان دارای ژن bla_{TEM} نیز بودند. این دو جدایه در آزمون فنوتیپی تولید ESBL مثبت بوده و نسبت به آمپی‌سیلین نیز مقاومت نشان دادند. علاوه‌براین ژن bla_{TEM} در ۳۷ مورد از ۴۰ جدایه (۹۲/۵ درصد) که فاقد فنوتیپ ESBL بودند نیز شناسایی شد. در مقابل در یک جدایه هیچ‌یک از ژن‌های bla_{TEM} و bla_{CTX-M} شناسایی نشد (جدول ۴).

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر اهمیت بررسی مقاومت ضدمیکروبی در *سالمونلای* غیرتیفوئیدی با منشأ طیور را نشان می‌دهد. بخش قابل‌توجهی از موارد سالمونلوز با عامل غیرتیفوئیدی در ایران با مصرف مواد غذایی آلوده، به‌ویژه گوشت مرغ و فرآورده‌های طیور، مرتبط است(۷). ظهور مقاومت در بین جدایه‌های *سالمونلای* غیرتیفوئیدی از نمونه‌های انسانی و طیور در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است(۲۰).

در مطالعه حاضر، جدایه‌ای متعلق به سروگروپ A نبود. سروگروپ C با فراوانی ۵۰ درصد شایع‌ترین سروگروپ و سروگروپ‌های B و D به ترتیب ۲۷/۵ درصد و ۲۲/۵ درصد از جدایه‌ها را تشکیل دادند. عدم شناسایی سروگروپ A در مطالعه حاضر احتمالاً به توزیع پایین این گروه در طیور ایران مربوط می‌شود که با مطالعات انجام‌شده در گذشته همخوانی دارد. در این مطالعات سروگروپ‌های B، C و D به‌عنوان سروگروپ‌های غالب گزارش شده‌اند و سروگروپ A شناسایی نشده یا بسیار نادر بوده است(۲، ۲۱). غلبه سروگروپ C در این مطالعه با یافته‌های سایر مطالعات در ایران مطابقت دارد(۷، ۲۲). میزان سروگروپ B نیز با مطالعات انجام‌شده در ایران و سایر کشورها همخوانی دارد(۳). همچنین سروگروپ D که از مهم‌ترین عوامل بیماری‌های منتقل‌شده از مواد غذایی در جهان محسوب می‌شود، در بسیاری از کشورها ارتباط مستقیمی با مصرف تخم‌مرغ و فرآورده‌های طیور دارد(۳).

طبق یافته‌های مطالعه، تمامی جدایه‌ها نسبت به ایمی‌پنم و مروپنم حساس بودند که با مطالعات متعدد در کشورهای مختلف همخوانی دارد و نشان می‌دهد مقاومت به کاربانپم‌ها در *سالمونلا* هنوز بسیار پایین است(۲) که این احتمالاً به دلیل مصرف محدود کاربانپم‌ها در دامپزشکی و استفاده از آن‌ها به‌عنوان آنتی‌بیوتیک‌های خط آخر درمان در پزشکی است. البته، گزارش‌هایی از شناسایی ژن‌های کاربانپماز مانند bla_{NDM}، bla_{KPC} و bla_{OXA-48} در برخی جدایه‌های *سالمونلا* منتشر شده که نشان می‌دهد، بررسی مداوم مقاومت به کاربانپم‌ها ضروری می‌باشد. ۱۷/۵ درصد از جدایه‌ها نسبت به آمپی‌سیلین مقاوم بودند که میزان آن نسبت به برخی مطالعات پایین‌تر می‌باشد (۱۹، ۲۱، ۲۳). مقاومت به آمپی‌سیلین در *سالمونلا*، با مصرف گسترده آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در پزشکی و دامپزشکی که

عمدتاً ناشی از تولید بتالاکتامازهای کلاس A و گسترش ژن‌های بتالاکتاماز، به‌ویژه bla_{TEM} می‌باشد، افزایش یافته است(۲۴). در مطالعه حاضر همه جدایه‌های مقاوم به آمپی‌سیلین، حامل ژن bla_{TEM} بودند. این ژن مسئول کدگذاری بتالاکتامازها می‌باشد(۲). مصرف طولانی‌مدت و گسترده آمپی‌سیلین به‌عنوان یکی از نخستین آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، در تولیدات دامی و طیور موجب ایجاد فشار انتخابی و گسترش ژن‌های مقاومت، به‌ویژه در ژن‌های بتالاکتاماز مانند bla_{TEM} شده که افزایش تدریجی مقاومت به آمپی‌سیلین در بسیاری از سروارهای *سالمونلا* را به دنبال داشته است(۲۱).

تنها دو جدایه (۵ درصد) از نظر فنوتیپی تولیدکننده ESBL بودند. این میزان نسبت به برخی مطالعات در آسیا و آفریقا کمتر است. همچنین مطالعاتی در برزیل، چین، ژاپن و کشورهای اروپایی افزایش تدریجی *سالمونلاهای* تولیدکننده ESBL را گزارش کرده‌اند(۲۵). در مطالعه Liu و همکاران در سال ۲۰۲۳، بر روی *سالمونلاهای* جداشده از طیور، فراوانی ESBL بین ۸ تا ۲۰ درصد گزارش شد(۱۹). میزان پایین جدایه‌های مولد ESBL در مطالعه حاضر، می‌تواند ناشی از تفاوت در منطقه جغرافیایی، منبع و نوع نمونه، الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک و همچنین اندازه نمونه باشد که در مطالعات مختلف به‌عنوان مهم‌ترین دلایل ناهمگونی در توزیع ESBL گزارش شده‌اند(۲۶، ۲۷). شناسایی حتی دو جدایه تولیدکننده ESBL از گوشت مرغ، از نظر بهداشت عمومی و اپیدمیولوژیک حائز اهمیت می‌باشد؛ زیرا این جدایه‌ها می‌توانند به‌عنوان حامل برای ژن‌های مقاومت عمل کرده و ژن‌های بتالاکتاماز را به سایر باکتری‌های خانواده انتروباکترالز منتقل کنند(۲۸).

از مهم‌ترین یافته‌های مطالعه، فراوانی بسیار بالای خانواده ژنی (۹۷/۵ درصد) bla_{TEM} بود؛ به‌طوری‌که این ژن در ۳۹ مورد از ۴۰ جدایه شناسایی شد که نسبت به سایر مطالعات میزان بالایی نشان می‌دهد. Yu و همکاران در سال ۲۰۲۶، حضور bla_{TEM} را در ۷۹ درصد جدایه‌های *سالمونلا انتریکا* گزارش کردند(۲۹). فراوانی بالای این ژن در مطالعه حاضر، می‌تواند به دلیل فشار انتخابی ناشی از مصرف گسترده آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در دامپزشکی، همراه با انتقال افقی ژن ازطریق عناصر متحرک ژنتیکی به‌عنوان مکانیسم‌های احتمالی در جمعیت *سالمونلا* باشد(۳۰). همچنین اختلاف بین حضور خانواده ژنی bla_{TEM} و عدم بروز فنوتیپ ESBL از نظر علمی قابل‌انتظار است؛ زیرا همه اعضای خانواده *TEM* از نوع ESBL نیستند و وجود ژن bla_{TEM} الزاماً به معنای تولید ESBL نیست. واریانت‌هایی مانند *TEM-1* و *TEM-2* موجب مقاومت به پنی‌سیلین‌ها و آمینوپنی‌سیلین‌ها می‌شوند، ولی توانایی هیدرولیز سفالوسپورین‌های نسل سوم را ندارند. از طرفی واریانت‌های مشتق‌شده *TEM -3* که در اثر جهش‌های نقطه‌ای ایجاد شده‌اند دارای فعالیت ESBL می‌باشند(۳۱). مطالعات جدید نشان می‌دهند وجود خانواده bla_{TEM} پیش‌بینی‌کننده تولید ESBL نیستند و تنها می‌توانند به‌عنوان عامل مرتبط با سویه‌های مولد ESBL تلقی شوند(۳۲). بروز فنوتیپ ESBL علاوه بر حضور ژن، به میزان بیان ژن، نوع پروموتر، تعداد نسخه‌های پلاسمید، تنظیم بیان ژن و وجود سایر مکانیسم‌های مقاومت نیز وابسته است؛ بنابراین ممکن است یک جدایه حامل ژن مولدESBL باشد، اما در آزمون‌های فنوتیپی ESBL نتیجه منفی نشان دهد(۳۳). این نتیجه، یک هشدار مهم برای مراکز تشخیصی است که صرفاً براساس روش‌های مولکولی نتیجه بررسی ESBL را گزارش می‌کنند. در مطالعه حاضر، ژن bla_{CTX-M} تنها در دو جدایه (۵ درصد) شناسایی شد که این میزان کمتر از مطالعات انجام‌شده در سایر کشورها است؛ به‌طوری‌که در چین، مصر، هند و برزیل میزان بالاتری از این ژن در جدایه‌های *سالمونلا* گزارش شده است(۳۳-۳۵). این اختلاف احتمالاً به تفاوت در منبع نمونه، منطقه جغرافیایی، سروارهای غالب، الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک و سیاست‌های کنترل مصرف داروهای ضدمیکروبی مربوط است. از سوی دیگر ژن bla_{CTX-M} اغلب بر روی عوامل متحرک قابل‌انتقال قرار دارد و انتشار آن تحت تأثیر انتقال افقی ژن و فشار انتخابی ناشی از مصرف سفالوسپورین‌های نسل سوم قرار می‌گیرد؛ بنابراین تفاوت در میزان مصرف این آنتی‌بیوتیک‌ها در مناطق مختلف می‌تواند اختلاف گزارش‌شده را توجیه کند(۳۶).

Ranjbar و همکاران در سال ۲۰۱۰، اولین جدایه‌های *سالمونلا* انتریتیدیس و *سالمونلا* اینفنتیس تولیدکننده *CTX-M* را در ایران گزارش کردند که هر دو از نظر فنوتیپی تولیدکننده ESBL بودند(۳۷). آنزیم‌های حاصل از bla_{CTX-M} توانایی بالایی در هیدرولیز سفوتاکسیم و سایر سفالوسپورین‌های نسل سوم را دارند(۳۸). بین حضور ژن bla_{CTX-M} و بروز فنوتیپ ESBL در جدایه‌های موردبررسی در این مطالعه همخوانی قابل‌ملاحظه‌ای مشاهده شد(۳۳). از طرفی هر دو جدایه حامل ژن bla_{CTX-M} نسبت به آمپی‌سیلین نیز مقاوم بودند. این یافته می‌تواند ناشی از هم‌زمانی حضور ژن bla_{CTX-M} با سایر ژن‌های بتالاکتاماز، به‌ویژه bla_{TEM}، بر روی عوامل ژنی متحرک قابل‌انتقال باشد که منجر به مقاومت هم‌زمان نسبت به چندین آنتی‌بیوتیک بتالاکتام می‌شود(۳۶).

در مطالعه حاضر هر دو جدایه ESBL مثبت، به‌طور هم‌زمان حامل دو ژن bla_{TEM} و bla_{CTX-M} بودند. هم‌زمانی این دو ژن قبلاً نیز در جدایه‌های *سالمونلا* گزارش شده است (۳۹) و معمولاً با افزایش سطح مقاومت به سفالوسپورین‌های نسل سوم همراه است(۳۳). باید در نظر داشت ژن bla_{CTX-M} می‌تواند شاخص بهتری برای فنوتیپ ESBL نسبت به bla_{TEM} باشد. برخی مطالعات نشان داده‌اند برای تفسیر صحیح مقاومت به بتالاکتام‌ها، ارزیابی هم‌زمان فنوتیپ و ژنوتیپ ضروری است؛ زیرا وجود ژن‌های مقاومت همیشه با بروز فنوتیپ متناظر همراه نیست(۳۳، ۴۰).

وجود ژن‌های مقاومت در جدایه‌های گوشت مرغ که یکی از مهم‌ترین منابع انتقال *سالمونلا* به انسان محسوب می‌شود، از اهمیت بالایی برخوردار است. اگرچه توزیع ESBL در *سالمونلا* تاکنون نسبتاً پایین گزارش شده است، اما افزایش آن در آینده دور از انتظار نبوده و با کاهش اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام همراه خواهد بود(۴۱).

نتیجه‌گیری نهایی: بر اساس نتایج بررسی جدایه‌های مطالعه حاضر، می‌توان نتیجه گرفت گوشت مرغ در انتقال *سالمونلاهای* مقاوم به آنتی‌بیوتیک نقش بسزایی دارد و مصرف آنتی‌بیوتیک در دامپزشکی، به‌ویژه در صنعت طیور می‌تواند از عوامل ایجاد این مقاومت باشد. پایش مستمر مقاومت ضدمیکروبی، مصرف منطقی آنتی‌بیوتیک‌ها براساس آزمون حساسیت، رعایت اصول بهداشتی در کل زنجیره تولید غذا، برای جلوگیری از انتشار *سالمونلاهای* مقاوم به درمان ضروری می‌باشد. مطابق یافته‌ها، بین وجود bla_{TEM} و فنوتیپ ESBL ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نشد (P=۱)، که احتمالاً به دلیل میزان بالای ژن در جدایه‌ها و توزیع نامتوازن داده‌ها بود که این مورد توانایی آزمون را برای تشخیص ارتباط محدود می‌کرد. شناسایی خانواده ژنی bla_{TEM} در بخش قابل‌توجهی از جدایه‌ها، با فنوتیپ ESBL مثبت و منفی، بیان‌کننده وجود bla_{TEM} به‌عنوان ژن مرتبط با تولید این مقاومت می‌باشد. همچنین ارتباط معنی‌داری بین وجود bla_{TEM} و مقاومت به آمپی‌سیلین مشاهده نشد (P=۱)، در مقابل، بین حضور bla_{CTX-M} و فنوتیپ ESBL ارتباط آماری معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵)؛ به‌طوری‌که هر دو جدایه حامل این ژن دارای فنوتیپ ESBL بودند. این یافته‌ها اگرچه داده‌های مقدماتی برای پایش مقاومت ضدمیکروبی در جدایه‌های *سالمونلای* منتقل‌شده از غذا را مطرح می‌کند، ولی به دلیل محدودیت تعداد نمونه‌ها، عدم طراحی جمعیتی و ماهیت آرشیوی جدایه‌ها، یافته‌ها تنها برای همین مجموعه قابل‌تعمیم می‌باشد. باتوجه‌به ماهیت آرشیوی جدایه‌ها، مطابق مصوبه تاریخ ۱۴۰۵/۰۲/۲۸ کمیته اخلاق در پژوهش کد مصوبه اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1405.075 به این مطالعه تعلق گرفت.

محدودیت‌های مطالعه: بررسی تنها دو ژن مقاومت و عدم بررسی سایر ژن‌های مولد ESBL، در جدایه‌های حامل ژن bla_{TEM}، عدم انجام توالی‌یابی (Sequencing) برای تأیید اختصاصیت واکنش تکثیر (آمپلی‌فیکیشن) باتوجه‌به منفی بودن فنوتیپ ESBL آن‌ها و نیز بررسی نکردن واریانت‌های ژن‌های bla_{CTX-M} و bla_{TEM} از محدودیت‌های مطالعه بود. همچنین تعداد کم جدایه‌ها و وجود تنها دو جدایه مولد ESBL، درنهایت قدرت آماری مطالعه را بسیار محدود می‌کرد.

ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه از ارگانیسم‌های تغییر ژنتیکی یافته یا مواد بیولوژیکی استفاده نشد و تمام مراحل جمع‌آوری نمونه‌ها تحت نظارت دانشکده دامپزشکی دانشگاه علوم و تحقیقات تهران، طبق کنترل‌های تأییدشده انجام شد. طبق مصوبه تاریخ ۱۴۰۵/۰۲/۲۸ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات (کمیته اخلاق در پژوهش) کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1405.075 به این مطالعه تعلق گرفت.

سپاس‌گزاری

نویسندگان مطالعه حاضر از همکاری پرسنل محترم آزمایشگاه رفرانس وزارت بهداشت و درمان تشکر و قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافعی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

References

1. Cardim Falcao R, Edwards MR, Hurst M, Fraser E, Otterstatter M. A review on microbiological source attribution methods of human salmonellosis: from subtyping to whole-genome sequencing. Foodborne Pathog Dis. 2024;21(3):137-146. doi: 10.1089/fpd.2023.0075 PMID: 38032610

2. Punchihewage-Don AJ, Ranaweera PN, Parveen S. Defense mechanisms of *Salmonella* against antibiotics: a review. Front Antibiot. 2024;3:1448796. doi: 10.3389/frabi.2024.1448796 PMID: 39816264

3. Soubeiga AP, Kpoda DS, Compaoré MK, Somda-Belemlougri A, Kaseko N, Rouamba SS, et al. Molecular characterization and the antimicrobial resistance profile of *Salmonella* spp. isolated from ready-to-eat foods in Ouagadougou, Burkina Faso. Int J Microbiol. 2022;2022:9640828. doi: 10.1155/2022/9640828 PMID: 36406904

4. El-Shall NA, Adiguzel MC, Abd El-Ghany WA, Gamal WA. *Salmonella* infection in chickens: pathogen, pathogenesis, and dietary non-drug feed additives as alternatives to antibiotics a comprehensive review. Folia Microbiol (Praha). 2026;71(4):815-837. doi: 10.1007/s12223-025-01403-z PMID: 41762430

5. Lamichhane B, Mawad AMM, Saleh M, Kelley WG, Harrington PJ, Lovestad CW, et al. Salmonellosis: an overview of epidemiology, pathogenesis, and innovative approaches to mitigate the antimicrobial resistant infections. Antibiotics (Basel). 2024;13(1):76. doi: 10.3390/antibiotics13010076 PMID: 38247636

6. Tamma PD, Heil EL, Justo JA, Mathers AJ, Satlin MJ, Bonomo RA. Infectious diseases society of America 2024 guidance on the treatment of antimicrobial-resistant gram-negative infections. Clin Infect Dis. 2024;ciae403. doi: 10.1093/cid/ciae403 PMID: 39108079

7. Zavari A, Badouei MA, Tabar GH. Molecular epidemiology and genetic profile of non-typhoidal *Salmonella* serovars isolated from poultry production chain in Khorasan Province, Iran: a comprehensive analysis of prevalence, virulence genes, and antibiotic resistance. Vet Med Sci. 2026;12(1). doi: 10.1002/vms3.70757 PMID: 41495621

8. Macesic N, Uhlemann AC, Peleg AY. Multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. Lancet. 2025;405(10474):257-272. doi: 10.1016/S0140-6736(24)02081-6 PMID: 39826970

9. Yao Y, Imirzalioglu C, Falgenhauer L, Falgenhauer J, Heinmüller P, Domann E, et al. Plasmid-mediated spread of carbapenem resistance in Enterobacterales: a three-year genome-based survey. Antibiotics (Basel). 2024;13(8):682. doi: 10.3390/antibiotics13080682 PMID: 39199982

10. Salem M, Ghabbour R, Mostafa NF, Awad A, Younis G. Molecular characterization of *Salmonella* isolates from poultry in Egypt: detection of virulence, ESBLs genes and antimicrobial resistance profiling. Vet Res Commun. 2026;50(1):44. doi: 10.1007/s11259-025-10936-0 PMID: 41251873

11. Yassara S, Zeouk I, Jaouhar S, Sbiti M, Bekhti K. Extended-spectrum beta-lactamases: definition, history, an update on their genetic environment and detection methods. J Med Microbiol. 2025;74(6):002033. doi: 10.1099/jmm.0.002033 PMID: 40554694

12. Peirano G, Endimiani A, Pitout JDD. CTX-M-producing *Escherichia coli*: history, molecular epidemiology and laboratory detection. Infect Drug Resist. 2025;18:6549-6560. doi: 10.2147/IDR.S553853 PMID: 41399812

13. Babaei Hemmati T, Mehdipour Moghaddam MJ, Salehi Z, Habibzadeh SM. Prevalence of *CTX-M*-type β-lactamases in multi-drug resistant *Escherichia coli* isolates from north of Iran, Rasht. Biol J Microorg. 2015;3:69-78.

14. Abdollahi A, Mohammadi A, Fasihi M, Shayan R, Radmanesh R. Genetic Thromboembolic Risk Factors Associated with Deep Vein Throm-bosis in a Iranian Population. J Isfahan Med Sch. 2010;28(116):987–96.

15. Deng X, Li S, Xu T, Zhou Z, Moore MM, Timme R, et al. *Salmonella* serotypes in the genomic era: simplified *Salmonella* serotype interpretation from DNA sequence data. Appl Environ Microbiol. 2025;91(3). doi: 10.1128/aem.02600-24 PMID: 39992117

16. Begum R, Asha NA, Dipu DCC, Roy M, Rahman A, Chowdhury MSR, et al. Virulence and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* spp. recovered from migratory and captive wild birds. Vet Med Sci. 2024;10(6). doi: 10.1002/vms3.70102 PMID: 39494993

17. Cao ZZ, Xu JW, Gao M, Li XS, Zhai YJ, Yu K, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates from goose farms in Northeast China. Iran J Vet Res. 2020;21(4):287-293. PMID: 33584841

18. Pavon RDN, Mora JFB, Nagpala MJM, Codia A, Pantua HD, Rivera WL. Microarray-based serotyping and molecular characterization of virulence and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* from swine meat samples in abattoirs and wet markets of Metro Manila, Philippines. Foods. 2026;15(2):187. doi: 10.3390/foods15020187 PMID: 41596787

19. Zhao L, Liu G, Tang W, Song X, Zhao X, Wang C, et al. Antimicrobial resistance and genomic characteristics of *Salmonella* from broilers in Shandong Province. Front Vet Sci. 2023;10:1292401. doi: 10.3389/fvets.2023.1292401 PMID: 38076566

20. Khan YR, Hernandez JA, Kariyawasam S, Butcher G, Czyz DM, Pellissery AJ, et al. Exposure factors associated with antimicrobial resistance and identification of management practices for preharvest mitigation along broiler production systems: a systematic review. J Glob Antimicrob Resist. 2024;39:212-223. doi: 10.1016/j.jgar.2024.09.010 PMID: 39490979

21. Piryaei MR, Peighambari SM, Razmyar J. Drug resistance and genotyping studies of *Salmonella* Enteritidis isolated from broiler chickens in Iran. Front Vet Sci. 2025;12:1542313. doi: 10.3389/fvets.2025.1542313 PMID: 40041666

22. Besharati S, Sadeghi A, Ahmadi F, Tajeddin E, Salehi RM, Fani F, et al. Serogroups, and drug resistance of nontyphoidal *Salmonella* in symptomatic patients with community-acquired diarrhea and chicken meat samples in Tehran. Iran J Vet Res. 2020;21(4):269-278. PMID: 33584839

23. Sales AJ, Naebi S, Nasiri R, Bannazadeh-Baghi H. The antibiotic resistance pattern and prevalence of blaTEM, blaSHV, blaCTX-M, blaPSE-1, sipB/C, and cmlA/tetR genes in *Salmonella* Typhimurium isolated from children with diarrhea in Tabriz, Iran. Int J Health Life Sci. 2021;7(4). doi: 10.5812/ijhls.118523 PMID: 39416803

24. Brown EW, Bell R, Zhang G, Timme R, Zheng J, Hammack TS, et al. *Salmonella* genomics in public health and food safety. EcoSal Plus. 2021;9(2). doi: 10.1128/ecosalplus.ESP-0008-2020 PMID: 34125583

25. Zhang Z, Shi C. A systematic review of expanding *Salmonella enterica* serovar Indiana from China: prevalence, antimicrobial resistance and genomic characterization. Food Biosci. 2024;62:105248. doi: 10.1016/j.fbio.2024.105248

26. Wang Y, Xu X, Jia S, Qu M, Pei Y, Qiu S, et al. A global atlas and drivers of antimicrobial resistance in *Salmonella* during 1900-2023. Nat Commun. 2025;16(1):4611. doi: 10.1038/s41467-025-59758-3 PMID: 40382325

27. Amir Y, Omar M, Adler A, Abu-Moch S, Donkor ES, Cohen D, et al. The prevalence of antimicrobial drug resistance of non-typhoidal *Salmonella* in human infections in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. Expert Rev Anti Infect Ther. 2024;22(9):761-774. doi: 10.1080/14787210.2024.2368989 PMID: 38922636

28. Dushayeva LZ. Antimicrobial resistance in foodborne *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. from animal-origin foods: transmission pathways, global surveillance gaps, and alternative therapeutic strategies. Vet World. 2025;18(11):3288-3305. doi: 10.14202/vetworld.2025.3288-3305 PMID: 41472774

29. Zhang M, Yu L, Li M, Zhang M, Wang W, Liu H, et al. Epidemiological, phenotypic, and genomic characterization of *Salmonella* from food and clinical sources in Liaoning, China, 2022-2024. Microorganisms. 2026;14(4):823. doi: 10.3390/microorganisms14040823 PMID: 42075220

30. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005;18(4):657-686. doi: 10.1128/CMR.18.4.657-686.2005 PMID: 16223952

31. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005;18(4):657-686. doi: 10.1128/CMR.18.4.657-686.2005 PMID: 16223952

32. Shen Z, Zhang CY, Gull T, Zhang S. Comparison of genotypic and phenotypic antimicrobial resistance profiles of *Salmonella enterica* isolates from poultry diagnostic specimens. J Vet Diagn Invest. 2024;36(4):529-537. doi: 10.1177/10406387241242118 PMID: 38571400

33. Bush K, Bradford PA. Epidemiology of β-lactamase-producing pathogens. Clin Microbiol Rev. 2020;33(2). doi: 10.1128/CMR.00047-19 PMID: 32102899

34. Oliveira MM, de Almeida FA, Baglinière F, de Oliveira LL, Vanetti MCD. Behavior of *Salmonella* Enteritidis and Shigella flexneri during induction and recovery of the viable but nonculturable state. FEMS Microbiol Lett. 2021;368(14). doi: 10.1093/femsle/fnab087 PMID: 34227668

35. Abd-Elghany SM, Fathy TM, Zakaria AI, Imre K, Morar A, Herman V, et al. Prevalence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovars in buffalo meat in Egypt. Foods. 2022;11(18):2924. doi: 10.3390/foods11182924 PMID: 36141052

36. Rozwandowicz M, Brouwer MSM, Fischer J, Wagenaar JA, Gonzalez-Zorn B, Guerra B, et al. Plasmids carrying antimicrobial resistance genes in Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother. 2018;73(5):1121-1137. doi: 10.1093/jac/dkx488 PMID: 29370371

37. Ranjbar R, Giammanco GM, Aleo A, Plano MRA, Naghoni A, Owlia P, et al. Characterization of the first extended-spectrum beta-lactamase-producing nontyphoidal *Salmonella* strains isolated in Tehran, Iran. Foodborne Pathog Dis. 2010;7(1):91-95. doi: 10.1089/fpd.2009.0382 PMID: 19785534

38. Yu K, Huang Z, Xiao Y, Gao H, Bai X, Wang D. Global spread characteristics of CTX-M-type extended-spectrum β-lactamases: a genomic epidemiology analysis. Drug Resist Updat. 2024;73:101036. doi: 10.1016/j.drup.2023.101036 PMID: 38183874

39. Madayag M, Pavon RD, Mora JF, Balaga K, Rivera W. Surveillance of β-lactamase genes of *Salmonella* from chicken in wet markets of Metro Manila, Philippines. Biotropia. 2024;31(3):339-348. doi: 10.11598/btb.2024.31.3.2207

40. van Hoek AH, Mevius D, Guerra B, Mullany P, Roberts AP, Aarts HJ. Acquired antibiotic resistance genes: an overview. Front Microbiol. 2011;2:203. doi: 10.3389/fmicb.2011.00203 PMID: 22046172

41. Tajbakhsh M, Avini MY, Alikhajeh J, Tajeddin E, Rahbar M, Eslami P, et al. Emergence of blaCTX-M-15, blaTEM-169 and blaPER-1 extended-spectrum β-lactamase genes among different *Salmonella enterica* serovars from human faecal samples. Infect Dis (Lond). 2016;48(7):550-556. doi: 10.3109/23744235.2016.1166260 PMID: 27117981