https://bjm.ui.ac.ir/?lang=en

Journal of Microbial Biology
E-ISSN: 3060-7647
13rd Year, Vol. 13, No. 50, 2024 pp. 125-139
Received: 25/12/2023 Accepted: 16/4/2024

(Research Paper)

Investigating the prevalence of antibiotic resistance and virulence genes of *Pseudomonas* in broilers sold in Tehran, Iran

Sajad Abbasi
PhD student in food hygiene, Department of Food Hygiene, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
sajjadabbasi3931@yahoo.com
Ebrahim Rahimi *
Professor, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
ebrahimrahimi55@yahoo.com

Abstract

Pseudomonas is asignificant spoilage bacterium in poultry meat, impacting its organoleptic properties. This study investigated the prevalence of antibiotic resistance and virulence genes of *Pseudomonas* isolated from broiler poultry sold in Tehran, Iran. Over a year, 400 poultry meat samples (chichen, tukey, duck, quail, goose) were collected. Additionally, swap samples were taken vendors' hands, knives, cutting boards, and refrigerators. All samples were transferred in sterile conditions to the laboratory of the Veterinary Department of Tehran Province for testing. PCR analysis identified virulence genes (ToxA, exoS, exoU) in isolated strains. A total of 25.75% (103/400) of poultry meat samples, were contaminated with *Pseudomonas*. Contamination rates varied across poultry types (chicken: 26.67%, 1turkey: 31%, duck: 54%, quail: 2%, goose: 8%. PCR identified that 8 chicken samples, 5 duck samples, and 2 goose samples were infected with *toxA*, *exoS*, and *exoU* genes, respectively. The highest antibiotic resistance was observed for gentamicin (89%) and tetracycline (81%). Moreover, swaps from refrigerators and vendors' hands showed the highest contamination. This study highlights the high prevalence of *Pseudomonas* in Tehran's broiler poultry, with concerning levels of antibiotic resistance and virulace genes. Improved hygines practices and judicious antibiotic use in poultry production are crucial to mitigate these risks.

Keywords: Food safety, *Pseudomonas*, Antibiotic resistance, Poultry meat, Tehran

* Corresponding Author
3060-7647 © 2024 The Authors

This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).
Abbasi, S., & Rahimi, E. Investigating the prevalence of antibiotic resistance and virulence genes of Pseudomonas in broilers sold in Tehran, Iran.. *Journal of Microbial Biology*, 2024; 13 (50): 125-139..http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140196.1575

Introduction

Poultry meat, the most consumed meat globally, is a rich source of vitamins, proteins, and nutrients. It plays a significant role in supplying iron, calcium, potassium, phosphorus, selenium, and vitamins E, B complex, and K. *Pseudomonas*, one of the most abundant microorganisms in nature, is a dominant genus found in various raw food environments, including slaughterhouses, food supply centers, and processing facilities. The food chain has also been identified as a potential reservoir for antibiotic-resistant *Pseudomonas* strains. While *Pseudomonas* is a diverse geneus within the *Pseudomonadaceae* family, with common habitats including soil, freshwater, and marine environments, some species like *Pseudomonas aeruginosa* are opportunistic pathogens causing human diseases. Most strains can synthesize bacteriocins. All bacteria in this genus are rod-shaped (straight or slightly curved), gram-negative, and lack spores. They are mobile using one or more polar flagella, excepti for *Pseudomonas mallei*, which is non-motile. The high resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to various antimicrobial substances, including antibiotics like beta-lactamases, penicillins, cephalosporins, and sulfonamides, complicates treatment of infections and makes it a major medical concern. In addition, increasing reports of quinolone resistance pose further challenges. The study aimed to investigate the prevalence of antibiotic resistance and virulence genes in *Pseudomonas* species isolated from broiler chickens sold in Tehran, Iran.

Material and Methods

Over a one-year period, 400 poultry meat samples were collected. With prior approval from poultry products suppliers and adhering to ethical considerations, general contaminations samples were obtained of, from hands, knives, cutting boards, and refrigerators in the sampling locations. All samples were transferred in sterile conditions to the veterinary laboratory of Tehran province for testing. The samples were transferred under sterile conditions to the Tehran Provincial Veterinary laboratory for testing. To isolate *Pseudomonas* from the poultry meat, 25 grams of each sample was homogenized with 225 mL of peptone water culture medium. Following enrichment in the peptone water, the bacteria were densely cultured on the selective *Pseudomonas* Cetrimide agar medium. After 24 hours of incubation at 37 °C, colonies suspected to be *Pseudomonas* (green-blue pigment) were selected for further analysis. To confirm the presence of *P. aeruginosa*, biochemical tests like lactose fermentation, citrate utilization, indole production, oxidase activity, DNase activity, and hemolysis were performed on blood agar medium. Colonies exhibiting lactose-negative, citrate-positive, indole-negative, oxidase-positive, DNase-negative, and hemolytic characteristics were identified and counted as *Pseudomonas*. Finally, molecular identification of the isolated bacteria was performed using the polymerase chain reaction (PCR) method with genus and species-specific primers in a double PCR format. Genomic DNA extraction employed a boiling method, where two 16-hour bacterial colonies were suspended in 1 mL of distilled water, boiled in a water bath for 10 minutes, and then centrifuged at 1000 rpm for 5 minutes. The supernatant (5 mL) was subsequently used for PCR analysis.

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140196.1575

Discussion of Results & Conclusions

This study investigated the prevalence of *Pseudomonas* contamination in poultry meat sold in Tehran city. A total of 400 poultry meat samples were collected, including chicken (n=150), turkey (n=100), 50 duck (n=50), goose (n=50), and quail (n=50). Among these samples, 103 (25.75%) were found to be contaminated with *Pseudomonas*. The contamination rates varied by poultry type: chicken (40 samples, 26.67%), turkey (31 samples, 31%), duck (27 samples, 54%), goose (4 samples, 8%), and quail (1 sample, 2%). Statistical analysis revealed no significant correlation between *Pseudomonas* contamination and the overall poultry type ($p<0.05$). However, a significant difference ($p<0.05$) was observed between the prevalence of *Pseudomonas* in goose and quail samples compared to other poultry types. Furthermore, PCR analysis was performed to detect specific virulence genes (*toxA*, *exoS*, and *exoU*) associated with *P. aeruginosa*. Eight chicken samples, five duck samples, and two goose samples tested positive for these genes, resulting in an overall contamination rate of3.75%. Statistical analysis revealed no significant correlation between *Pseudomonas* genes isolated from poultry meat in Tehran ($p<0.05$). The highest contamination rates were found on refrigerators (80%), followed by suppliers' hands (60%), scales (55%), cutting boards (35%), and knives (25%). Antibiotic susceptibility testing showed the highest resistance to gentamicin and olendamycin, while vancomycin and cefazolin showed the lowest resistance. The 25.75% contamination rate of poultry meat with *Pseudomonas* highlights potential risks for consumers, especially when the meet is consumed raw or undercooked. The presence of this bacterium in poultry can be a source of human infection, particularly for vulnerable populations like the elderly, children, and immunocompromised individuals. Furthermore, the high prevalence of antibiotic resistance among *Pseudomonas* isolates obtained from raw poultry meat samples underlines the importance of continuous monitoring of antimicrobial resistance. The co-occurrence of virulence factors and antibiotic resistance in *Pseudomonas* strains necessitates further studies to confirm its role as a foodborne pathogen. Strict guidelines are crucial to address this issue. These guidelines should focus on preventing *Pseudomonas* contamination early in food preparation and ensuring through cooking of poultry products. Finally, due to the high level of antibiotic resistance, the use of antibiotics for treating *Pseudomonas*-caused gastroenteritis should be minimized to safeguard public health.

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140196.1575

زیست‌شناسی میکروبی
سال سیزدهم، شماره ۵۰، ۱۴۰۳، صفحه ۱۲۵-۱۳۹
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱/۲۸

مقاله پژوهشی

بررسی شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های حدت گونه‌های *سودوموناس* در طیور گوشتی عرضه شده در شهرستان تهران، ایران

سجاد عباسی: دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران sajjadabbasi3931@yahoo.com
ابراهیم رحیمی*: استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران ebrahimrahimi55@yahoo.com

چکیده

سودوموناس از باکتری‌های شدیداً پروتئولیتیک و از عوامل مهم فساد گوشت طیور است که خواص ارگانولپتیک مواد غذایی را تغییر می‌دهد و از جنبه‌های مهم آن، مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالا به آنتی‌بیوتیک‌های رایج است. مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های حدت گونه‌های *سودوموناس* در طیور گوشتی عرضه‌شده در شهرستان تهران، ایران انجام شد. تعداد ۴۰۰ نمونه گوشت طیور در مدت یک سال جمع‌آوری شد. در حین جمع‌آوری نمونه‌ها با رعایت ملاحظات اخلاقی و کسب اجازه از عرضه‌کنندگان محصولات طیور، آلودگی‌های کلی‌فرمی از نمونه‌های دست، چاقو، تخته و یخچال محل‌های عرضه سوآپ گرفته شد. نمونه‌ها در شرایط سترون به آزمایشگاه اداره دامپزشکی استان تهران، برای انجام آزمایشات انتقال داده شدند. نتایج نشان دادند از مجموع ۴۰۰ نمونه گوشت طیور، ۱۰۳ نمونه (۲۵/۷۵ درصد) به *سودوموناس* آلوده بودند. از ۱۵۰ نمونه مرغ ۴۰ نمونه (۲۶/۶۷ درصد)، از ۱۰۰ نمونه بوقلمون ۳۱ نمونه (۳۱ درصد)، از ۵۰ نمونه اردک ۲۷ نمونه (۵۴ درصد)، از ۵۰ نمونه بلدرچین ۱ نمونه (۲ درصد) و از ۵۰ نمونه غاز (۸ درصد) به *سودوموناس* آلوده بودند. نتایج PCR نشان داد ۸ نمونه مرغ، ۵ نمونه اردک و ۲ نمونه غاز به‌ترتیب به ژن‌های toxA ، exoS و exoU آلوده بودند. نتایج ارزیابی‌های آنتی‌بیوتیکی نشان دادند بیشترین مقاومت برای جنتامایسین (۸۹ درصد) و تتراسایکلین (۸۱ درصد) تأیید شد. همچنین، بیشترین آلودگی سوآپ در یخچال‌ها و کف دست عرضه‌کنندگان بود. آلودگی بالای *سودوموناس* در گوشت طیور، گویای مشکلات عدیده درزمینهٔ مصرف گوشت پرندگان را بیش‌ازپیش نمایان می‌کند و این مشکل زمانی حادتر می‌شود که این نوع محصولات به‌صورت خام یا نیم‌پز سرو شوند؛ بنابراین، ضروری است در صورت رخداد مسمومیت‌های ناشی از پسودوموناس، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها محدود شود.

واژه‌های کلیدی: ایمنی غذایی، *سودوموناس*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، گوشت طیور، تهران

مقدمه

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات

عباسی، سجاد، رحیمی، ابراهیم. بررسی شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های حدت گونه‌های سودوموناس در طیور گوشتی عرضه شده در شهرستان تهران، ایران *زیست شناسی میکروبی*. ۱۴۰۳، ۱۳ (۵۰): ۱۲۵-۱۳۹. http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140196.1575

3060-7647/ © 2024 The Authors
This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

پیش‌بینی می‌شود امنیت غذایی در دهه‌های آینده به دلیل رشد سریع جمعیت جهانی و افزایش تقاضای پروتئین حیوانی دستخوش تغییراتی قرار گیرد. تخمین زده شده است که تا سال ۲۰۵۰، جمعیت جهان به حدود ۹/۸ میلیارد نفر برسد و تقاضا برای غذا ۶۰ درصد افزایش یابد (۱)؛ بنابراین، گوشت (سفید یا قرمز) یکی از مواد غذایی مصرفی مردم در سراسر دنیا است که به دلیل گرانی گوشت قرمز در دنیا، به‌خصوص کشورهای درحال توسعه، خواه‌ناخواه گرایش مردم به مصرف گوشت پرندگان افزایش یافته است؛ زیرا در کشورهای مذهبی، محدودیت مصرف گوشت پرندگان به‌ندرت وجود دارد؛ اما در مصرف گوشت برخی حیوانات، دستورات مذهبی مانع مصرف شده است. برخی داده‌های اپیدمیولوژیک ارتباط احتمالی بین مصرف گوشت (قرمز یا سفید) و افزایش خطر ابتلا به انواع سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی و متابولیک را نشان داده‌اند؛ اما مصرف گوشت در تکامل انسان، به‌ویژه رشد مغز مهم است (۲).

در سنوات گذشته بر اثر ترویج و توسعه صنعت مرغداری، تولید گوشت پرندگان افزایش یافته است؛ اما به مسئله بازرسی گوشت پرندگان توجه کمتری شده است و متأسفانه مصرف گوشت طیور غیربهداشتی فاجعه‌آفرین شده است. در زمان حاضر در مرغداری‌های صنعتی و غیرصنعتی کشور ما، کشتار طیور بسیار بی‌رویه است و بعضاً بر مبنای اصول بهداشتی انجام نمی‌شود (۳, ۴). امروزه کیفیت و ایمنی فرآورده‌های گوشتی طیور تقریباً در تمام دنیا موضوع حائز اهمیتی است. در کشتارگاه‌های طیور، عملیات متداول فرآوری شامل جوشاندن، پرکنی، سردکردن و بسته‌بندی است. چنانچه عملیات نام‌برده به‌درستی و در شرایط مطلوب انجام نشود، سبب شیوع آلودگی‌های ناشی از پاتوژن‌های باکتریایی می‌شود (۵). از مهم‌ترین باکتری‌ها می‌توان به *اشرشیاکلای*، *سالمونلا*، *سودوموناس*، *کمپیلوباکتر*، کلی‌فرم و ... اشاره کرد که علاوه بر بروز عفونت و مسمومیت، خسارات اقتصادی چشمگیری همچون ایجاد ضایعات مواد غذایی و بی‌اعتمادی مصرف‌کننده را می‌توانند ایجاد کنند (۶). در میان باکتری‌های عامل فساد که بر کیفیت و ماندگاری گوشت طیور تأثیر می‌گذارند، جنس سودوموناس غالب است (۷, ۸).

سودوموناس‌ها یکی از مهم‌ترین جنس‌های موجود در خانواده سودوموناسه به حساب می‌آیند و ساکنان معمولی خاک، آب شیرین و محیط‌های دریایی هستند. یکی از پاتوژن‌های فرصت‌طلب *سودوموناس آئروژینوزا* است که باعث بیماری‌های انسانی می‌شود. بیشتر سویه‌ها باکتریوسین‌ها را سنتز می‌کنند (۵, ۹, ۱۰). باکتری‌های موجود در این جنس همگی میله‌ای شکل، مستقیم یا کمی منحنی، گرم منفی و بدون اسپور هستند. این باکتری‌ها توسط یک یا تعدادی فلاژل قطبی متحرک هستند؛ به استثنای گونه سودوموناس مالئی که فاقد فلاژل است (۱۱, ۱۲). *سودوموناس‌ها* قادرند کربوهیدرات‌ها را اکسید و بدون تولید گاز، اسید ایجاد کنند. این باکتری‌ها قادر به انجام واکنش‌های تخمیری یا فتوسنتیک نیستند (۹, ۱۰).

مقاومت بالای این باکتری در برابر مواد ضدمیکروبی ازجمله آنتی‌بیوتیک‌ها مانند انواع بتالاکتامازها، پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها و سولفانامیدها باعث پیچیده‌ترشدن درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری و تبدیل آن به یکی از معضلات بزرگ پزشکی شده است. علاوه بر این، مقاومت کینولون (نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و غیره) به‌طور فزاینده‌ای گزارش شده

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140196.1575

است. با توجه به اینکه این باکتری جزء باکتری‌های کم نیاز برای رشد است، می‌تواند به‌راحتی در محیط اطراف باقی بماند و به بیماران مستعد منتقل شود. طبق گزارش‌های موجود، این باکتری مقام اول ایجاد عفونت‌های بیمارستانی در مراکز درمانی سوختگی را دارد و بیشتر عفونت‌ها را در بیماران سوختگی سبب می‌شود (۱۲, ۱۳). در همین راستا، هدف از مطالعه حاضر، بررسی شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های حدت گونه‌های *سودوموناس* در طیور گوشتی عرضه‌شده در شهرستان تهران، ایران است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: تعداد ۴۰۰ نمونه گوشت طیور در مدت یک سال جمع‌آوری شد. نمونه‌ها شامل گوشت مرغ (۱۵۰ نمونه)، بوقلمون (۱۰۰ نمونه)، اردک (۵۰ نمونه)، بلدرچین (۵۰ نمونه) و غاز (۵۰ نمونه) بودند. در حین جمع‌آوری نمونه‌ها با رعایت اصول و ملاحظات اخلاقی و کسب اجازه از عرضه‌کنندگان محصولات طیور، آلودگی‌های کلی‌فرمی از نمونه‌های دست، چاقو، تخته و یخچال محل‌های عرضه سوآپ گرفته شد. نمونه‌ها در شرایط سترون به آزمایشگاه اداره دامپزشکی استان تهران، برای انجام آزمایشات انتقال داده شدند.

روش جست‌وجوی *سودوموناس*: به‌منظور جداسازی سودوموناس از نمونه‌های گوشت طیور، ۲۵ گرم از نمونه‌ها با ۲۲۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع پپتون واتر هموژن شد. در این مرحله باکتری غنی‌شده در محیط پپتون واتر به‌صورت متراکم در محیط کشت انتخابی Pseudomonase Cetrimide agar (Merck, Germany) کشت شد و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کلنی‌های مشکوک به *سودوموناس* (کلنی‌های واجد رنگدانه سبز - آبی) انتخاب شدند و به‌منظور تأیید گونه آئروژینوزا تست‌های بیوشیمیایی نظیر تخمیر قند لاکتوز، مصرف سیترات، اندول، اکسیداز، DNase و همولیز در محیط آگار خون‌دار روی آنها انجام گرفتند. کلنی‌هایی که واجد باکتری‌های لاکتوز منفی، سیترات مثبت، اندول منفی، اکسیداز مثبت، DNase منفی و همولیتیک بودند، به‌عنوان کلنی *سودوموناس* انتخاب و شمارش شدند (۱۴, ۱۵). سپس شناسایی مولکولی باکتری‌های جداسازی‌شده، به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با به‌کارگیری پرایمرهای اختصاصی جنس و گونه (جدول ۱) به‌صورت PCR دوگانه انجام شد. ژنوم آنها به روش جوشاندن استخراج شد. در این روش از دو کلنی باکتری ۱۶ ساعته استفاده شد. کلنی‌ها در یک لوله آزمایش حاوی یک میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شدند و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب، جوشانده و سپس به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوژ شدند. پنج میکرولیتر از مایع رویی برای PCR استفاده شد (۱۶).

جست‌وجوی ژن‌های حدت *سودوموناس*: در تمامی واکنش‌های PCR از دستگاه ترموسایکلر گرادیانت (اپندورف، آلمان) استفاده شد. فرایند تکثیر ژن در ۲۵ میکرولیتر مخلوط شامل ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase (Fermentas, Lithuania)، ۲۰۰ میکرومول dNTP (Fermentas, Lithuania)، ۲/۵ میکرولیتر محلول بافر x۱۰ (Fermentas, Lithuania)، ۱ میکرومول کلرید منگنز (Fermentas, Lithuania)، ۱۰ پیکومول از هرکدام از پرایمرها، ۳ میکرولیتر DNA الگو و ۲۵ میکرولیتر آب مقطر استریل انجام شد (۱۶, ۱۷). در پایان، ژل‌ها با استفاده از دستگاه Gel Documentationمشاهده و بررسی شدند.

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140196.1575

جدول ۱- لیست پرایمرهای استفاده‌شده برای ردیابی ژن‌های حدت *سودوموناس*

Table 1- List of primers used to detect virulence genes of Pseudomonas

ژن	پرایمر	اندازه باند	منبع	برنامه دمایی PCR
toxA	toxA F: CTGCGCGGGTCTATGTGCC toxA R: GATGCTGGACGGGTCGAG	۲۷۰	(۱۸)	واسرشت اولیه ۹۵°C- ۳ دقیقه واسرشت ۹۵°C- ۳۰ ثانیه اتصال پرایمر ۵۸°C- ۳۰ ثانیه طویل‌سازی ۷۲°C- ۳۰ ثانیه طویل‌سازی نهایی ۷۲°C- ۳ دقیقه
exoS	exoS F: CGTCGTGTTCAAGCAGATGGTGCTG exoS R: CCGAACCGCTTCACCAGGC	۴۴۴	(۱۸ و ۱۹)	واسرشت اولیه ۹۵°C- ۵ دقیقه واسرشت ۹۵°C- ۴۵ ثانیه اتصال پرایمر ۶۰°C- ۴۵ ثانیه طویل‌سازی ۷۲°C- ۴۵ ثانیه طویل‌سازی نهایی ۷۲°C- ۵ دقیقه
exoY	exoY F: TATCGACGGTCATCGTCAGGT exoY R: TTGATGCACTCGACCAGCAAG	۳۳۰۸	(۱۸)	واسرشت اولیه ۹۵°C- ۷ دقیقه واسرشت ۹۵°C- ۱ دقیقه اتصال پرایمر ۶۱°C- ۱ دقیقه طویل‌سازی ۷۲°C- ۱ دقیقه طویل‌سازی نهایی ۷۲°C- ۵ دقیقه

شمارش کلیفرم: ابتدا ۵ گرم از نمونه وزن شد و سپس نمونه‌ها به روش Serial dilution، رقت‌سازی و تا رقت ۵- آماده شدند. سپس دو رقت آخر به روش پورپلیت در محیط کشت VRBA (Violet Red Bile Agar)، (Mirmediam, Iran) به‌صورت خطی کشت داده شدند و پلیت‌ها در دمای ۴۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت، انکوبه و کلنی‌های نارنجی یا صورتی رنگ شمارش شدند (۲۰).

شمارش کلی (Total count): ابتدا ۵ گرم از نمونه‌ها، رقیق‌سازی و تا رقت ۵- آماده‌سازی شد و به روش پورپلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در محیط کشت پلیت‌کانت‌آگار به‌صورت خطی کشت داده و کلنی‌های رشدکرده در پلیت شمارش شدند (۲۰).

نحوه سنجش آنتی‌بیوگرام: تست آنتی‌بیوگرام به روش Disk_Diffusion انجام گرفت. بعد از تهیه سوسپانسیون میکروبی مطابق با محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند، در محیط کشت مولر - هینتون‌آگار (Italy, liofilchem) کشت داده شد و پس از آن، دیسک‌های آنتی‌بیوگرام، شامل آمپی‌سیلین (AM)، پنی‌سیلین (PEN)، جنتامایسین (GM)، سولفامتاکساوزل (SXT)، آموکسی‌کلاو (AMC)، تتراسایکلین (TE)، ونکومایسین (Va)، سفازولین (SE) و اولندامایسین (OL) روی محیط کشت قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، با تعیین قطر هاله‌های عدم رشد، میزان حساسیت جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها مشخص شد (۲۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: شیوع آلودگی به *سودوموناس* با استفاده از آزمون آماری ANOVA انجام شد. همچنین، حدود اطمینان ۹۵ درصد برای شیوع محاسبه شد. شیوع آلودگی به سودوموناس در بین انواع ابزارها با استفاده از آزمون کوکران Q مقایسه شد. برای ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، از روش نانپارامتریک

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140196.1575

فریدمن و برای تجزیه و تحلیل‌های آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ استفاده شد.

نتایج

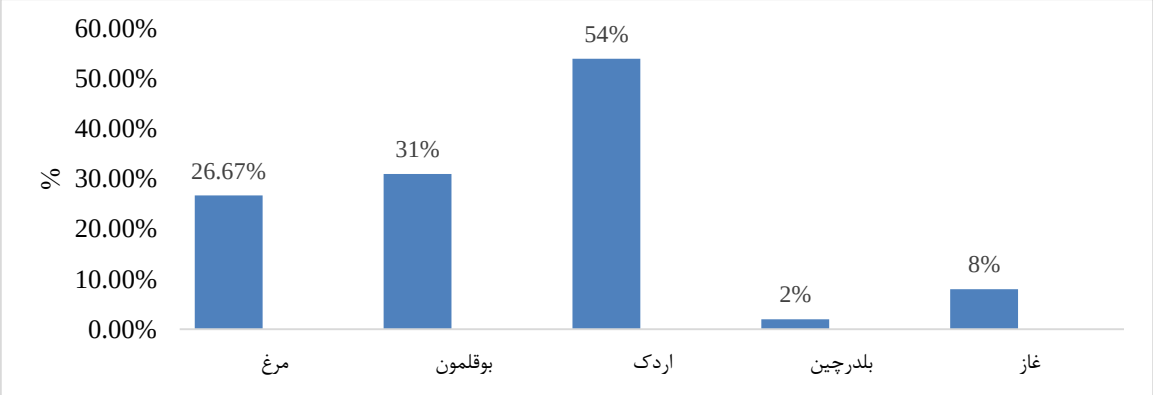
نتایج شمارش و جداسازی *سودوموناس* از نمونه‌های گوشت طیور: در جدول ۲، نتایج شمارش و جداسازی *سودوموناس* از نمونه‌های گوشت طیور آورده شده‌اند. نتایج نشان دادند از مجموع ۴۰۰ نمونه گوشت طیور، ۱۰۳ نمونه (۲۵/۷۵ درصد) به *سودوموناس* آلوده بودند. بیشترین و کمترین میزان آلودگی به‌ترتیب مرغ ۴۰ نمونه، بوقلمون ۳۱ نمونه، اردک ۲۷ نمونه، غاز ۴ نمونه و بلدرچین ۱ نمونه بود. به بیانی دیگر، از ۱۵۰ نمونه مرغ ۴۰ نمونه (۲۶/۶۷ درصد)، از ۱۰۰ نمونه بوقلمون ۳۱ نمونه (۳۱ درصد)، از ۵۰ نمونه اردک (۵۴ درصد)، ۵۰ نمونه بلدرچین ۱ نمونه (۲ درصد) و از ۵۰ نمونه غاز (۸ درصد) به *سودوموناس* آلوده بودند. نتایج نشان دادند بیشترین و کمترین درصد آلودگی به‌ترتیب برای اردک (۵۴ درصد)، بوقلمون (۳۱ درصد)، مرغ (۲۶/۶۷ درصد)، غاز (۸ درصد) و بلدرچین (۲ درصد) بود. ارزیابی‌های آماری نشان دادند بین آلودگی به *سودوموناس* و نمونه‌های طیور عرضه‌شده در شهرستان تهران، ارتباط آماری معنی‌داری وجود ندارد ($p<00/05$)؛ اما بین شیوع آلودگی به *سودوموناس* در نمونه‌های غاز و بلدرچین ارتباط آماری معنی‌دار بود ($p<00/05$).

جدول ۲- نتایج شیوع آلودگی به *سودوموناس* در گوشت طیور عرضه‌شده در شهرستان تهران

Table 2- Results of prevalence of Pseudomonas contamination in poultry meat sold in Tehran city

نوع نمونه	مجموع نمونه‌ها	آلودگی	عدم آلودگی	سطح معنی‌داری
مرغ	۱۵۰	۴۰ نمونه (۲۶/۶۷ درصد)	۱۱۰ نمونه (۷۳/۳ درصد)	۰/۰۸^{Ns}
بوقلمون	۱۰۰	۳۱ نمونه (۳۱ درصد)	۶۹ نمونه (۶۹ درصد)	
اردک	۵۰	۲۷ نمونه (۵۴ درصد)	۲۳ نمونه (۴۶ درصد)	
بلدرچین	۵۰	۱ نمونه (۲ درصد)	۴۹ نمونه (۹۸ درصد)	
غاز	۵۰	۴ نمونه (۸ درصد)	۴۶ نمونه (۹۲ درصد)	
مجموع	۴۰۰	۱۰۳ نمونه (۲۵/۷۵ درصد)	۲۹۷ نمونه (۷۴/۲۵)	-

ns: تفاوت بین آلودگی در نمونه‌های مختلف معنی‌دار نیست



نمودار ۱- نتایج شیوع آلودگی به *سودوموناس* در گوشت طیور عرضه‌شده در شهرستان تهران

Chart 1- The results of the prevalence of Pseudomonas contamination in poultry meat sold in Tehran

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140196.1575

نتایج PCR نمونه‌های گوشت طیور: نتایج PCR نشان دادند از بین ۴۰۰ نمونه گوشت طیور عرضه‌شده در شهرستان تهران، ۸ نمونه مرغ، ۵ نمونه اردک و ۲ نمونه غاز به‌ترتیب به ژن‌های ToxA، exoS و exoU آلوده بودند. مجموع آلودگی به ژن‌ها در مطالعه حاضر ۳/۷۵ درصد بود. آنالیزهای آماری نشان دادند بین ژن‌های *سودوموناس* جداشده از گوشت طیور عرضه‌شده در شهرستان تهران ارتباط آماری معنی‌داری وجود ندارد ($p<00/05$).

نتایج ارزیابی شیوع آلودگی به *سودوموناس* در ابزار عرضه‌کنندگان: نتایج نشان دادند به‌ترتیب بیشترین و کمترین شیوع آلودگی مربوط به یخچال‌ها (۸۰ درصد)، دست عرضه‌کنندگان (۶۰ درصد)، ترازو (۵۵ درصد)، تخته گوشت (۳۵ درصد) و چاقو (۲۵ درصد) بود.

جدول ۳- نتایج PCR شیوع آلودگی به ژن‌های Tox A، exoS و exoU *سودوموناس* در گوشت طیور عرضه‌شده در شهرستان تهران

Table 3- PCR results of prevalence of contamination with Tox A, exoS and exoU genes of Pseudomonas in poultry meat supplied in Tehran city

نوع نمونه	مجموع نمونه‌ها	Tox A	exoS	exoU	سطح معنی‌داری
مرغ	۱۵۰	۸	–	–	$۰/۰۱۲۸^{ns}$
بوقلمون	۱۰۰	–	–	–	
اردک	۵۰	–	۵	–	
بلدرچین	۵۰	–	–	–	
غاز	۵۰	–	–	۱	
مجموع	۴۰۰	۲ درصد	۱/۲۵ درصد	۰/۲۵ درصد	

ns: تفاوت بین آلودگی به ژن‌های مختلف، در نمونه‌های مختلف معنی‌دار نیست

جدول ۴- نتایج ارزیابی شیوع آلودگی به *سودوموناس* در ابزار عرضه‌کنندگان گوشت طیور در شهرستان تهران

Table 4- The results of evaluating the prevalence of Pseudomonas contamination in the tools of poultry meat suppliers in Tehran

نمونه‌ها	تعداد نمونه اخذشده	آلودگی به *سودوموناس*			
		تعداد موارد مثبت	شیوع *	حدود ۹۵ درصد برای شیوع	
				حد پایین	حد بالا
چاقو	۲۰	۵	^{bc}۲۵ درصد	۳۵/۳ درصد	۸۶/۲ درصد
یخچال	۲۰	۱۶	^{a}۸۰ درصد	۰/۷ درصد	۲۷/۲ درصد
تخته گوشت	۲۰	۷	^{bc}۳۵ درصد	۶۳/۷ درصد	۹۷/۱ درصد
ترازو	۲۰	۱۱	^{abc}۵۵ درصد	۲۹/۴ درصد	۷۶/۱ درصد
دست عرضه‌کنندگان	۲۰	۱۲	^{a}۶۰ درصد	۲/۹ درصد	۳۶/۳ درصد

* حروف انگلیسی متفاوت، اختلاف آماری معنی‌دار در شیوع آلودگی نشان می‌دهد.

اعداد عبارت‌اند از میانگین ± انحراف معیار a, b: محصولات با حروف لاتین متفاوت اختلاف آماری معنی‌دار دارند ($p<0.05$).

نتایج ارزیابی مقاومت جدایه‌ها به *سودوموناس* در گوشت طیور عرضه‌شده: نتایج ارزیابی‌های آنتی‌بیوتیکی (جدول ۶) نشان دادند بیشترین مقاومت مربوط به جنتامایسین و اولندامایسین و کمترین مقاومت مربوط به ونکومایسین و سفازولین بود.

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140196.1575

جدول ۵- شیوع آلودگی کلی‌فرمی در گوشت طیور عرضه‌شده در شهرستان تهران برحسب cfu/g

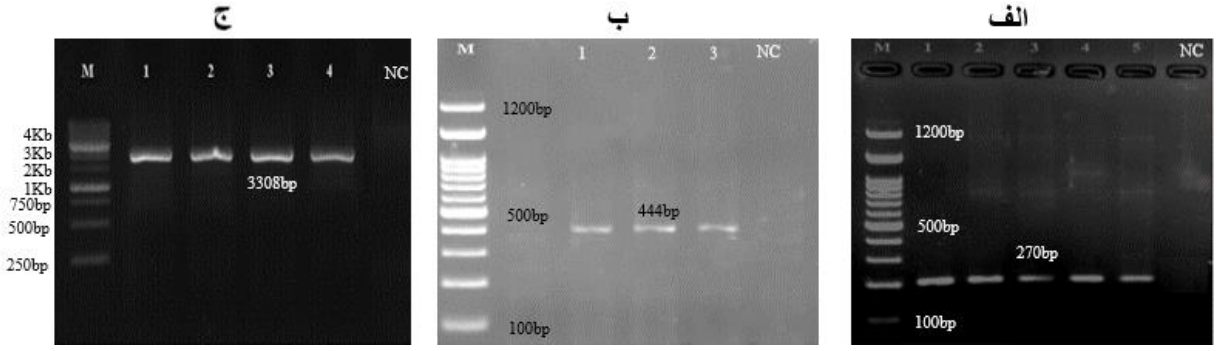
Table 5- Prevalence of coliform contamination in poultry meat sold in Tehran in terms of cfu/g.

نمونه‌ها	مجموع نمونه‌ها	آلودگی کلی‌فرمی	شمارش کلی باکتری‌ها
مرغ	۱۵۰	<۱۰۰	$^{b}\pm$ ۰/۰۱ log cfu/g ۲/۳
بوقلمون	۱۰۰	<۱۰۰	$^{b}\pm$ ۰/۰۱ log cfu/g ۲/۵
اردک	۵۰	<۱۰۰	$^{ab}\pm$ ۰/۰۱ log cfu/g ۳/۸۰
بلدرچین	۵۰	<۱۰۰	$^{ab}\pm$ ۰/۰۱ log cfu/g ۴/۱۰
غاز	۵۰	<۱۰۰	$^{ab}\pm$ ۰/۰۱ log cfu/g ۳/۹۵

جدول ۶- وضعیت مقاومت *سودوموناس* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

Table 6- Status of Pseudomonas resistance to different antibiotics

نوع آنتی‌بیوتیک	وضعیت مقاومت به *سودوموناس*
آمپی‌سیلین (AM)	۷۳ درصد
پنی‌سیلین (PEN)	۷۴ درصد
جنتامایسین (GM)	۸۹ درصد
سولفامتاکساوزل (SXT)	۷۱ درصد
آموکسی‌کلاو (AMC)	۷۳ درصد
تتراسایکلین (TE)	۸۱ درصد
ونکومایسین (Va)	۶۷ درصد
سفازولین (SE)	۶۴ درصد
اولنداماسین (OL)	۷۸ درصد



شکل ۱. ژل حاصل از الکتروفورز محصول PCR. الف: قطعه ۲۷۰ جفت‌بازی ژن *toxA* (چاهک M: مارکر ۱۰۰ جفت‌بازی سیناکلون، ایران، چاهک‌های ۱-۵ ایزوله‌های مطالعه‌شده، NC: کنترل منفی). ب: قطعه ۴۴۴ جفت‌بازی ژن *exoS* (چاهک M: مارکر ۱۰۰ جفت‌بازی سیناکلون، ایران، چاهک‌های ۱-۳ ایزوله‌های مطالعه‌شده، NC: کنترل منفی). ج: قطعه ۳۳۰۸ جفت‌بازی ژن *exoY* (چاهک M: مارکر ۱ کیلوبازی Geneaid Biotech، تایوان، چاهک‌های ۱-۴ ایزوله‌های مطالعه‌شده، NC: کنترل منفی).

Figure 1. Gel obtained from PCR product electrophoresis. A: fragment of 270 bp toxA gene (well M: 100 bp marker of Cinacloon, Iran, wells 1-5 of studied isolates, NC: negative control). B: 444 bp fragment of exoS gene (well M: 100 bp marker of Cinacloon, Iran, wells 1-3 of studied isolates, NC: negative control). C: 3308 bp fragment of exoY gene (well M: 1 kb marker Geneaid Biotech, Taiwan, wells 1-4 of studied isolates, NC: negative control)

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140196.1575

بحث و نتیجه‌گیری

سودوموناس از فراوان‌ترین میکروارگانیسم‌های موجود در طبیعت است و یک جنس غالب در بسیاری از مواد غذایی و محیط‌های مرتبط با مواد غذایی خام ازجمله کشتارگاه‌ها، مراکز عرضه مواد غذایی و مراکز فرآوری مواد غذایی است. همچنین، گزارش شده است که زنجیره غذایی یک مخزن بالقوه *سودوموناس* مقاوم به آنتی‌بیوتیک است. در همین راستا در مطالعه حاضر، از مجموع ۴۰۰ نمونه گوشت طیور، ۱۰۳ نمونه (۲۵/۷۵ درصد) به *سودوموناس* آلوده بودند که بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به جنتامایسین (۸۹ درصد)، اولندامایسین (۸۷ درصد) و کمترین مقاومت مربوط به ونکومایسین (۶۷) و سفازولین (۶۴) بود. مجموع آلودگی به ژن‌ها در مطالعه حاضر ۳/۷۵ درصد بود.

رولیر[1] و همکاران (۱۹۹۹) با مطالعه روی میزان آلودگی گوشت مرغ به *سودوموناس‌ها*، دریافتند از مجموع ۱۸۰ نمونه، ۳۶ نمونه (۲۰ درصد) به *سودوموناس‌ها* آلوده بود (۲۲) که با مطالعه حاضر همسو است. در مطالعه احمد[2] و همکاران (۲۰۱۹) روی بررسی فنوتیپ های ضدمیکروبی، فاکتورهای بیماری‌زای اصلی و ژنوتیپ مولکولی ۶۶ نمونه گوشت مرغ، ۵۹ نمونه (۸۹/۳۳ درصد) به *سودوموناس* آلوده بودند (۲۳) که بسیار فراتر از مطالعه حاضر است. سالا[3] و همکاران (۲۰۱۱) با مطالعه روی آلودگی گوشت مرغ، دریافتند ۵۰ درصد نمونه‌ها دارای آلودگی به *سودوموناس* بودند (۲۴) که مطابقتی با مطالعه حاضر ندارد. مورالز[4] و همکاران (۲۰۱۶) با مطالعه روی تعیین میزان آلودگی در گوشت مرغ به *سودوموناس*، دریافتند از مجموع ۱۴ نمونه گوشت مرغ، ۱۱ نمونه (۷۸/۵۸ درصد) به *سودوموناس* آلودگی داشتند (۲۵) که بسیار فراتر از نتیجه به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر است.

رضالو و همکاران (۲۰۲۲) با مطالعه روی شیوع، خواص مقاومت آنتی‌بیوتیکی و توزیع فاکتورهای حدت در باکتری *سودوموناس* جداشده، نشان دادند از مجموع ۳۷۰ نمونه، ۲۹ نمونه (۷/۸۳ درصد) آلوده بودند. جدایه‌ها مقاومت بالایی نسبت به آمپی‌سیلین (۸۹/۶۵ درصد)، پنی‌سیلین (۸۶/۲۰ درصد)، تتراسایکلین (۸۲/۷۵ درصد)، سفوکسیتین (۳۷/۹۳ درصد)، جنتامایسین (۳۴/۴۸ درصد) و کلیندامایسین (۳۱/۰۳ درصد) داشتند. همچنین، رایج‌ترین ژن‌های بیماری‌زای شناسایی‌شده exoS (۵۷/۸۶ درصد) و exoU (۴۰/۵۷ درصد) بودند (۲۶) که با مطالعه حاضر هیچ مطابقتی ندارد. این مطالعه ازلحاظ آلودگی فراتر از مطالعه نام‌برده است. همچنین، در خصوص مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها ارتباطی وجود ندارد؛ زیرا جنتامایسین بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی را بین جدایه‌ها داشت؛ مجموع آلودگی به ژن‌ها در مطالعه حاضر ۳/۷۵ درصد بود.

مطالعه خاکپور و بزرگ‌نیا (۱۳۹۰) روی تعیین عوامل باکتریایی موجود در پوسته و زرده تخم‌مرغ‌های با پوسته آلوده و تمیز عرضه‌شده در تبریز نشان داد از تعداد ۱۲۰ نمونه تخم‌مرغ نمونه‌گیری شده، ۸/۳ درصد به *سودوموناس‌ها* اختصاص یافت (۲۷) که مطابقتی با مطالعه حاضر ندارد. در تحقیقی در مصر روی *سودوموناس‌های* لاشه‌های مرغ و ماهی عرضه‌شده در بازار، گزارش شد که ۱۱ درصد لاشه‌های مرغ و ۱۱۱ درصد ماهی‌ها به سویه‌های *سودوموناس* آلوده بودند (۲۸) که در مطالعه حاضر میزان آلودگی به *سودوموناس* فراتر از مطالعه نام‌برده بود. هیر[5] و همکاران (۲۰۲۱)، در پژوهش روی آلودگی به *سودوموناس* در گوشت طیور، دریافتند که از مجموع ۱۷۵ نمونه، ۱۲ نمونه (۶/۸۵ درصد) به *سودوموناس* آلودگی داشتند (۲۹) که مطابقتی با مطالعه حاضر ندارد. اینات[6] و همکاران (۲۰۲۱) در

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140196.1575

مطالعه روی آلودگی گوشت به *سودوموناس* گزارش دادند که از مجموع ۴۵ نمونه گوشت طیور، ۷۰ درصد به *سودوموناس* آلوده بودند (۳۰) که با نتایج حاصل مطابقتی ندارد؛ در این تحقیق میزان آلودگی ۲۵/۷۵ درصد به *سودوموناس* وجود داشت. البهیری[۷] و همکاران (۲۰۲۲) با مطالعه روی ۳۵۰ نمونه گوشت طیور گزارش دادند که ۶۹ نمونه (۱۹/۷۱ درصد) *سودوموناس* شناسایی شدند. همچنین، تمام جدایه‌ها بیش از ۵۰ درصد به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان دادند (۳۱) که با مطالعه حاضر تا حدودی مطابقت دارد.

جاوهر[۸] و همکاران با تحقیق روی شیوع آلودگی به *سودوموناس* در گوشت مرغ عرضه‌شده دریافتند که ۲۲ درصد از نمونه‌های گوشت طیور به *سودوموناس* آلودگی داشتند و میزان مقاومت به جنتامایسین را ۹۰ درصد گزارش کردند (۱۲) که دقیقاً مطابق و همسو با مطالعه حاضر است. رضالو و همکاران در مطالعه‌ای روی آلودگی گوشت منجمد و گرم به *سودوموناس*، دریافتند میزان آلودگی از ۱۲۰ نمونه، ۱۱ نمونه (۹/۱۶ درصد) بود. همچنین، مقاومت به پنی‌سیلین ۹۰ درصد گزارش شد (۱۴) که مطابقتی با مطالعه حاضر ندارد؛ میزان مقاومت به پنی‌سیلین در مطالعه حاضر ۷۴ درصد بود.

از عمده‌ترین دلایل اختلاف مطالعه حاضر با سایر مطالعات پیشین، به خطای آزمایشگر، وضعیت بهداشتی نامناسب، نظارت ضعیف بر کنترل کیفیت گوشت طیور در کشتارگاه‌ها و محل‌های عرضه، عدم رعایت اصول ایمنی و بهداشتی از کشتار تا عرضه و عدم آموزش دست‌اندرکاران می‌توان اشاره کرد.

آلودگی ۲۵/۷۵ درصدی به *سودوموناس* در گوشت طیور، مشکلات عدیده درزمینهٔ مصرف گوشت پرندگان را بیش‌ازپیش نمایان می‌کند و این مشکل زمانی حادتر می‌شود که این نوع محصولات به‌صورت خام یا نیم‌پز سرو شوند. باید در نظر گرفت که وجود این باکتری در گوشت طیور یک خطر بالقوه برای مصرف‌کنندگان است؛ بنابراین، این محصولات را می‌توان به‌عنوان یک منبع آلودگی از پرندگان به انسان ارزیابی کرد؛ به‌ویژه برای افراد مسن، کودکان و افرادی که دارای نقص در سیستم ایمنی هستند. بیشتر جدایه‌های *سودوموناس* به‌دست‌آمده از نمونه‌های گوشت خام طیور، به عوامل ضدمیکروبی رایج مقاوم بودند که اهمیت نظارت طولانی‌مدت مداوم مقاومت ضدمیکروبی را نشان می‌دهد.

حضور هم‌زمان فاکتورهای حدت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *سودوموناس*، لزوم انجام مطالعات تکمیلی برای تأیید نقش این باکتری به‌عنوان یک پاتوژن غذازاد را افزایش می‌دهد که در همین راستا لازم است دستورالعمل‌های سختگیرانه‌ای اتخاذ شود. از این مقررات می‌توان به جلوگیری از حضور این باکتری فرصت‌طلب در مراحل اولیه تهیه غذا و همچنین پخت کامل مواد غذایی برای نابودی آن اشاره کرد. درنهایت، با توجه به مقاومت بالای جدایه‌ها به ترکیبات ضدمیکروبی، باید استفاده و تجویز از آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان گاستروانتریت ناشی از سویه‌های *سودوموناس* را به حداقل رساند تا سلامت جامعه و فرد بیش‌ازپیش در معرض خطر قرار نگیرد.

تشکر و قدردانی

بدین ترتیب از تمام همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه داشتند تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140196.1575

Refrences

(1) Orkusz A. Edible Insects versus Meat-Nutritional Comparison: Knowledge of Their Composition Is the Key to Good Health. *Nutrients*. 2021; 13(4): 1-16. https://doi.org/10.3390/nu13041207

(2) Pereira PMdCC, Vicente AFdRB. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat science*, 2013; 93(3): 586-592. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.09.018

(3) Sotodeheian M. The killing of chickens and its stages in Iranian slaughterhouses. *Professional Journal of Domestic*, 2020; 20(1): 50-53. https://domesticsj.ut.ac.ir/article_76955.html?lang=fa [In Persian].

(4) Ameri C. causes of of poultry carcass condemnations in Esphahan slaughterhouses. DVM Thesis Islamic Azad University, Shaherkord Branch, Faculty of Veterinary Medicine. 2008: 45-62. https://doi.org/10.22067/ijvst.2024.82675.1260 [In Persain].

(5) Zarei M., Rahimi S., Fazlara A., Anvari SE. High biofilm-forming Pseudomonas strains isolated from poultry slaughterhouse surfaces: Their importance in the persistence of *Salmonella enteritidis* in slaughterhouses. *International Journal of Food Microbiology*, 2023; 390(2):110-126. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110126

(6) Meiramkulova K., Temirbekova A., Saspugayeva G., Kydyrbekova A., Devrishov D., Tulegenova Z., et al. Performance of a combined treatment approach on the elimination of microbes from poultry slaughterhouse Wastewater. *Sustainability*, 2021; 13(6): 3467. https://doi.org/10.3390/su13063467

(7). Jafarzadeh H., Mirzaei H., Hanifian S., Javadi A., Shayegh J. Isolation and identification of some phenotypic features of *Pseudomonas* in poultry slaughter line. *Food Hygiene*, 2022; 12(1): 17-31. h https://doi.org/10.30495/JFH.2022.1959723.1357 [In Persian].

(8) Sib E., Lenz-Plet F., Barabasch V., Klanke U., Savin M., Hembach N., et al. Bacteria isolated from hospital, municipal and slaughterhouse wastewaters show characteristic, different resistance profiles. *Science of The Total Environment*, 2020; 746(1): 140-151. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140894

(9) Bazghandi SA., Safarirad S., Arzanlou M., Peeri-Dogaheh H., Ali-Mohammadi H., et al,. Prevalence of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in Ardabil. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*, 2020; 20(2): 280-286. http://jarums.arums.ac.ir/article-1-1909-en.html [In Persian].

(10) Taghinejad J., Hosseinzadeh M., Molayi Kohneshahri S., Javan Jasor V. *Pseudomonas aeruginosa*: A biological review. *Laboratory & Diagnosis*, 2017; 8(34): 67-82. http://labdiagnosis.ir/article-1-202-en.html [In Persian].

(11) Raposo A., Pérez E., de Faria CT., Ferrús MA., Carrascosa C. Food spoilage by *Pseudomonas spp*. An overview. *Foodborne pathogens and antibiotic resistance*, 2016: 41-71. https://doi.org/10.1002/9781119139188.ch3

(12) Jawher IM., Hasan MG. Antibiotics resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from meat at Mosul city retails. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 2023; 37(2): 363-367. 10.33899/IJVS.2022.133961.2322

(13) Zadsafar F., Zargar M. Determine the antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from raw milk. *Applied Biology*, 2013; 3(10): 60-70. https://sanad.iau.ir/journal/sjoapb/Article/524328?jid=524328&lang=en [In Persian].

(14) Rezaloo M., Motalebi A., Mashak Z., Anvar S. Prevalence, antibiotic resistance and frequency of virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from raw and frozen meat. *Journal of Food Microbiology*, 2023; 14(1): 1-11. https://www.hindawi.com/journals/jfq/2022/9899338/

(15) Ullah A., Durrani R., Ali G., Ahmed S. Prevalence of antimicrobial resistant *Pseudomonas aeruginosa* in fresh water spring contaminated with domestic sewage. *Journal of Biological and Food Science Research*, 2012; 1(2): 19-22. http://www.onlineresearchjournals.org/JBFSR

(16) Dashti AA., Jadaon MM., Abdulsamad AM., Dashti HM. Heat treatment of bacteria: a simple method of DNA extraction for molecular techniques. *Kuwait Medical Journal*, 2009; 41(2): 117-122. https://www.researchgate.net/profile/Ali-Dashti-8/publication/266888615

(17) Rahimi E., Shakerian A., Falavarjani AG. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from fish, shrimp, lobster, and crab in Iran. *Comparative Clinical Pathology*, 2013; 22(1): 59-62. https://doi.org/10.1007/s00580-011-1368-3

(18) Tartor Y., El-Naenaeey E. RT-PCR detection of exotoxin genes expression in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Cellular and molecular biology*, 2016; 62(1): 56-62. https://www.cellmolbiol.org/index.php/CMB/article/view/781

(19) Gargouti A., Ab-Rashid M., Ghazali M., Mitsuaki N., Haresh K., Radu S. Detection of tdh and trh toxic genes in *Vibrio alginolyticus* strain from mantis shrimp (Oratosquilla Oratoria). *Journal Nutrition Food Sciences*, 2015; 5(405): 41-52. https://doi.org/10.14715/cmb/2016.62.1.11

(20) Ayazi N., Heidarzadi MA., Kohneh Poushi M., Karami M., Sabzibalkhkanlo A., Gorgin Karaji K. Investigating the Amount of Microbial Contamination of Pasteurized Milk in Kermanshah City with Coliform and the Total Number of Bacteria. *Journal of Alternative Veterinary Medicine*, 2022; 5(12): 702-709. http://joavm.kazerun.iau.ir/article-1-91-fa.html [In Persian].

(21) Heidarzadi M., Rahnama M., Alipoureskandani M., Saadati D., Afsharimoghadam A. *Salmonella* and *Escherichia coli* contamination in samosas presented in Sistan and Baluchestan province and antibiotic resistance of isolates. *Food Hygiene*, 2021; 11(42): 81-90. https://sanad.iau.ir/fa/Journal/jfh/Article/968716 [In Persian].

(22) Arnaut-Rollier I., De Zutter L., Van Hoof J. Identities of the *Pseudomonas spp*. in flora from chilled chicken. *International journal of food microbiology*, 1999; 48(2): 87-96. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00038-0

(23) Bel Hadj Ahmed A., Salah Abbassi M., Rojo-Bezares B., Ruiz-Roldán L., Dhahri R., Mehri I., et al. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from various environmental niches: New STs and occurrence of antibiotic susceptible "high-risk clones". *International Journal of Environmental Health Research*, 2020; 30(6): 643-52. https://doi.org/10.1080/09603123.2019.1616080

(24) Sala C., Morar A., Colibar O., Morvay AA. Antibiotic resistance of gram negative bacteria isolated from meat surface biofilm. *Romanian Biotechnological Letters*, 2012; 17(4): 7483-92. https://www.researchgate.net/profile/Olimpia-Colibar/publication/267383780

(25) Morales PA., Aguirre JS., Troncoso MR., Figueroa GO. Phenotypic and genotypic characterization of *Pseudomonas spp*. present in spoiled poultry fillets sold in retail settings. *LWT*, 2016; 73: 609-614. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.064

(26) Rezaloo M., Motalebi A., Mashak Z., Anvar A. Prevalence, Antimicrobial Resistance, and Molecular Description of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Meat and Meat Products. *Journal of Food Quality*, 2022; 14(1): 12-20. https://doi.org/10.1155/2022/9899338

(27) Khakpoor M., Bozorgnia M. A comparative study of bacterial agents in eggs, with or without eggshell's contamination that produced in Tabriz. *Food Hygiene*, 2011; 1(2): 17-27. https://www.sid.ir/paper/222790/en [In Persian].

(28) El-Aziz A. Detection of *Pseudomonas spp*. in chicken and fish sold in markets of assiut city, Egypt. *Journal of food quality and hazards control*, 2015; 2(3): 86-9. https://jfqhc.ssu.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-1-108&sid=1&slc_lang=en&ftxt=1

(29) Heir E., Moen B., Åsli AW., Sunde M., Langsrud S. Antibiotic resistance and phylogeny of *Pseudomonas spp.* isolated over three decades from chicken meat in the Norwegian food chain. *Microorganisms*, 2021; 9(2): 207. https://doi.org/10.3390/microorganisms9020207

(30) İnat G., Sırıken B., Başkan C., Erol İ., Yıldırım T., Çiftci A. Quorum sensing

systems and related virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from chicken meat and ground beef. *Scientific Reports*, 2021; 11(1): 1-9. https://doi.org/10.1038/s41598-021-94906-x

(31) Elbehiry A., Marzouk E., Aldubaib M., Moussa I., Abalkhail A., Ibrahem M., et al. *Pseudomonas* species prevalence, protein analysis, and antibiotic resistance: An evolving public health challenge. *AMB Express*, 2022; 12(1): 1-14. https://doi.org/10.1186/s13568-022-01390-1

[1] Rollier
[2] Ahmed
[3] Sala
[4] Morales
[5] Heir
[6] Inat
[7] Elbehiry
[8] Jawher