

بررسی توانایی تولید بیوفیلیم در سالمونلا تیفی موریوم جدا شده از نمونه های گوشت انواع طیور

مرضیه نظری مقدم^۱، ابراهیم رحیمی^{*}، امیر شاکریان^۱، حسن ممتاز^۲

۱- گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران

۲- گروه میکروبیولوژی دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۲

چکیده

سالمونلا یکی از شایع ترین عوامل بیماری های منتقله از راه غذا می باشد. فرآورده های حاصل از طیور رایج ترین محصولات غذایی از جمله گوشت و تخم مرغ هستند که در شیوع سالمونلوز انسان نقش دارند. تشکیل بیوفیلیم یکی از عوامل بیماری زایی باکتری سالمونلا به ویژه در صنایع غذایی محسوب می شود که به باکتری امکان اتصال به سطوح مختلف را می دهد. این مطالعه با هدف بررسی توانایی ایجاد بیوفیلیم از سالمونلاهای جدا شده از گوشت انواع طیور (مرغ، بوقلمون، بلدرچین، کبک، اردک و غاز) انجام گرفته است. ۴۴۰ نمونه گوشت طیور مختلف از نواحی مختلف کشور جمع آوری و توسط تست های میکروبی و بیوشیمیایی اختصاصی و با استفاده از آزمون PCR باکتری سالمونلا شناسایی گردید. به منظور بررسی توانایی تولید بیوفیلیم از روش تیتراسیون در میکروپلیت استفاده شد. در مطالعه حاضر، در مجموع ۳۶ ایزوله سالمونلا از انواع گوشت طیور جداسازی شد که همه موارد سالمونلا تیفی موریوم شناسایی شدند. داده های به دست آمده از دستگاه الیزا ریدر نشان داد که همه جدایه ها (۳۶ ایزوله سالمونلا) قادر به تولید بیوفیلیم به درجات مختلف بودند. که در این میان ۵۲/۰۲ درصد توانایی اتصال قوی، ۳۴/۱۵ درصد توانایی اتصال متوسط و ۱۳/۸۳ درصد توانایی اتصال ضعیف را در تولید بیوفیلیم نشان دادند. نمونه های کبک، در بین سایر نمونه ها دارای بیشترین توانایی اتصال (۹۲/۶) بودند. با توجه به توانایی ایجاد بیوفیلیم سالمونلاهای جدا شده از مواد غذایی، گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی آن ها و از طرفی افزایش روزافزون گاستروانتریت های غذایی ناشی از سالمونلا لزوم مراقبت بیشتر و رعایت سطح بالاتر بهداشت در تهیه، تولید، بسته بندی و عرضه مواد غذایی در سطح جامعه به نظر می رسد.

کلمات کلیدی: سالمونلا، بیوفیلیم، بیماری های منتقله از غذا، گوشت طیور

^{*} نویسنده مسئول: ابراهیم رحیمی

آدرس: گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران

پست الکترونیک: Ebrahimrahimi55@yahoo.com

مقدمه

طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO)، بیماری‌های منتقله از غذا همچنان یک مشکل مهم در سطح جهانی مطرح می‌گردند (Ćwiek et al., 2020). سالمونلا یکی از شایع‌ترین عوامل بیماری‌های منتقله از راه غذا در سراسر دنیا می‌باشد. در گونه‌های سالمونلا/اتریکا، تنوع قابل توجهی در میان زیرگونه‌ها و سرووارهای متعدد وجود دارد. در مجموع، این‌ها میکروب‌هایی با دامنه میزبان متغیر، از گیاهی و حیوانی گرفته تا سرووارهای بسیار بیماری‌زا و اختصاصی برای انسان را، به خود اختصاص می‌دهند. با وجود این تفاوت‌ها، بسیاری از گونه‌های سالمونلا در توانایی تشکیل بیوفیلم و توانایی ایجاد بیماری حاد، نهفته یا مزمن مشترک هستند (Harrell et al., 2021). این باکتری با استفاده از فلاژل و دیگر فاکتورهای ویروالانس خود توانایی آلوده کردن سطح مواد غذایی و ایجاد بیوفیلم را دارد (Ćwiek et al., 2019). بیوفیلم‌ها جوامع پیچیده‌ای هستند که در پاسخ به محرک‌های محیطی منفی مانند تغییرات دما، اکسیژن، اسمولاریته، در دسترس بودن مواد مغذی، یا تغییرات pH تشکیل و گسترش پیدا می‌کنند. بیوفیلم‌ها ممکن است بر روی بسیاری از سطوح زنده یا غیرزنده، از جمله محیط (دریاچه‌ها، رودخانه‌ها، خاک، پوشش سنگی، گیاهان آبی و رسوبات)، غذا، خطوط لوله آب، دستگاه‌های پزشکی، تجهیزات پردازش مواد غذایی، تشکیل شوند (Aleksandrowicz et al., 2023). رشد باکتری‌ها به حالت بیوفیلم روی سطوح، انتقال آن‌ها را آسان‌تر و از بین بردنشان را مشکل می‌کند. زیرا سلول‌های بیوفیلم در مقایسه با سلول‌های آزاد، در مقابل یوسایدها و ضد عفونی‌کننده‌ها مقاومت بیشتری نشان می‌دهند (Osland et al., 2023). از طرفی توانایی تشکیل بیوفیلم موجب افزایش مقاومت ذاتی

باکتری به آنتی بیوتیک‌ها می‌گردد، تشکیل بیوفیلم، حساسیت به درمان‌های ضد میکروبی را کاهش می‌دهد که در نهایت هزینه‌های درمانی بالایی برای بیماران به دنبال خواهد داشت (Abebe et al., 2020). توانایی باکتری در اتصال به سطوح بیجان و تشکیل بیوفیلم دغدغه بسیاری از صنایع از جمله فرآوری محصولات گوشتی است. در این صنایع، پاکسازی ناقص سطوح منجر به تجمع مواد آلی و غیرآلی می‌شود و حضور آب در این نقاط، امکان تشکیل بیوفیلم را افزایش می‌دهد (Giaouris et al., 2014). رشد بیوفیلم‌ها روی تجهیزات فرآوری غذا، باعث ایجاد آلودگی میکروبی در محصول فرآیند شده و در نتیجه منجر به کاهش مدت زمان نگهداری محصول و افزایش شیوع بیماری‌های ناشی از غذا به ویژه مربوط به لیستریامونوسیتوز و سالمونلا می‌شود. این بیوفیل‌ها شامل میکروارگانیزم‌های مولد فساد یا پاتوژن هستند (Sirdani and Soltan, 2018).

با توجه به اهمیت اقتصادی و بهداشتی موضوع و از آنجاکه که اطلاعات اندکی در رابطه با تشکیل بیوفیلم سالمونلا تیفی موریوم در فراورده‌های غذایی در کشورمان وجود دارد، هدف از این تحقیق، بررسی تشکیل بیوفیلم سالمونلا تیفی موریوم در گوشت انواع طیور در نظر گرفته شد.

مواد و روش کار

سویه‌های باکتری

مطالعه حاضر که از نوع تصادفی ساده است در سال ۱۳۹۹ بر روی ۴۴۰ نمونه گوشت طیور مختلف جمع آوری شده از مناطق شمال، جنوب و مرکز کشور شامل ۸۰ نمونه گوشت مرغ، ۸۰ نمونه گوشت بلدرچین، ۸۰ نمونه گوشت کبک، ۸۰ نمونه گوشت بوقلمون، ۶۰ نمونه گوشت ارک، ۶۰ نمونه گوشت غاز انجام گرفت



به منظور جداسازی باکتری های سالمونلا از گوشت طیور، ۱۰ گرم از نمونه هموژن شده به ۹۰ سی سی محیط غنی کننده لاکتوز برات منتقل شد و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شد. پس از خروج از انکوباسیون بر روی محیط کشت جامد سالمونلا - شینگلا آگار (SSA) به صورت سطحی کشت گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند و سپس از نظر کلنی های مشکوک به سالمونلا بررسی شدند. در صورت منفی بودن نتیجه، انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت دیگر ادامه پیدا می کرد. نمونه هایی که پس از این مدت فاقد کلنی - های مشکوک به صورت رنگ پریده یا زرد با مرکزی خاکستری و سیاه بودند منفی تلقی و حذف می شدند. جهت تایید کلنی های مشکوک و تایید وجود این باکتری آزمون تشخیص و افتراق و سایر آزمایش های بیوشیمیایی از جمله کشت در آگارهای اوره، سیمون سترات و محیط متیل رد - وژپروسکویر (MR-VP) و پپتون واتر بر روی آن ها صورت گرفت. بعد از انجام آزمون تشخیصی و افتراقی بر روی پرگنه های مشکوک و تایید وجود این باکتری، نمونه های سالمونلا مثبت به منظور تشخیص مولکولی DNA آن ها استخراج گردید (Monadi et al., 2015).

به منظور بررسی های مولکولی، از کلونی های تایید شده به روش جوشاندن، استخراج DNA صورت گرفت. در ابتدا به منظور استخراج DNA، سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده در آب مقطر به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه داخل آب جوش (۹۵ درجه سانتی گراد) قرار گرفت. پس از یک مرحله سانتریفوژ به مدت ۳ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰، محلول رویی به عنوان منبع DNA برای PCR مورد استفاده قرار گرفت. در این تحقیق جدایه های سالمونلا برای تایید و تعیین سرووار مورد آزمایش PCR قرار گرفت. برای

تعیین سروتپ، از پرایمرهای ژن *fliB* *fliC* *inv* و *rfbJ* برای سالمونلا تیفی موریوم در PCR استفاده گردید (جدول ۱). پرایمر مورد استفاده، طول، اندازه محصول، ژن هدف و توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. برای کنترل منفی از آب مقطر و کنترل مثبت سوش های سالمونلا تیفی موریوم موجود در مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد استفاده گردید. برنامه سیکل حرارتی ترموسایکلر طبق منابع موجود در جدول ۱ مورد استفاده قرار گرفت (Hssanzadeh et al., 2009).

تست توانایی ایجاد بیوفیلیم با استفاده از روش تیتراسیون در میکروپلیت

بررسی توانایی ایجاد بیوفیلیم با استفاده از روش تیتراسیون در میکروپلیت بر اساس دستورالعمل بکار رفته توسط پیترز و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام گرفت (Bozorgmehri et al., 2009). پس از کشت در محیط آبگوشت TSB یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. پس از رقیق سازی در محیط TSB تازه میزان ۱۵۰ ماکرولیترا این سوسپانسیون سلولی در میکروپلیت های پلی استیرن ۹۶ خانه ای ریخته شد. پس از اینکه ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفت به آرامی سه مرتبه توسط ۲۰۰ میکرولیتر PBS شسته و به صورت وارونه قرار داده شد تا پلیت خشک گردد. جهت فیکس کردن بیوفیلیم ها از متانول ۹۹ درصد به میزان ۱۰۰ میکرولیتر استفاده گردید و پس از ۱۵ دقیقه الکل خارج و پلیت در هوا خشک گردید. به تمام خانه ها ۱۰۰ میکرولیتر رنگ کریستال ویوله ۲ درصد اضافه شده و پس از ۲۰ دقیقه پلیت ها با آب شسته شدند تا رنگ اضافی از گوده ها خارج شود. سپس رنگ های باند شده با اضافه کردن ۱۵۰ میکرولیتر از اسیداستیک ۳۳ درصد



جدول ۲. طبقه بندی توانایی تشکیل بیوفیلیم به وسیله روش میکرو تیتز پلیت

توانایی تشکیل بیوفیلیم	محاسبه میزان حد نصاب	نتایج حاصل از میانگین حداکثر جذب نوری (OD)
قوی	$OD > 4 * ODC$	$OD > 0.332$
متوسط	$2 * ODC < OD \leq 4 * ODC$	$0.166 < OD \leq 0.332$
ضعیف	$ODC < OD \leq 2 * ODC$	$0.083 < OD \leq 0.166$
عدم اتصال	$OD \leq 0.083$	$OD \leq 0.083$

چگالی نوری OD: کنترل منفی $3 * SD$ + میانگین کنترل منفی ODC:OD

جدول ۳. نتایج کشت مولکولی و توانایی تولید بیوفیلیم سالمونلاهای جداسازی شده از انواع گوشت طیور

توانایی تولید بیوفیلیم (n=۳۶)			آزمون PCR	
توانایی اتصال جدایه ها (درصد)			تعداد موارد مثبت (درصد آلودگی)	
توانایی اتصال ضعیف	توانایی اتصال متوسط	توانایی اتصال قوی	نوع نمونه	
۳۳/۳	۱۴/۳	۵۲/۴	گوشت مرغ (n=۸۰)	
۱۹/۰۸	۳۳/۳	۴۷/۶۲	گوشت بوقلمون (n=۸۰)	
۸/۴	۳۳/۳	۵۸/۳	گوشت اردک (n=۶۰)	
۲۲/۲	۳۳/۳	۴۴/۵	گوشت غاز (n=۶۰)	
-	۷/۴	۹۲/۶	گوشت کبک (n=۸۰)	
-	۸۳/۳	۱۶/۷	گوشت بلدرچین (n=۸۰)	
۱۳/۸۳	۳۴/۱۵	۵۲/۰۲	تعداد کل (n=۴۰۰)	

به درجات مختلف بودند. که در این میان ۵۲/۰۲ درصد توانایی اتصال قوی، ۳۴/۱۵ درصد توانایی اتصال متوسط و ۱۳/۸۳ درصد توانایی اتصال ضعیف را در تولید بیوفیلیم نشان دادند. نمونه های کبک، در بین سایر نمونه ها دارای بیشترین توانایی اتصال (۹۲/۶) بودند. نتایج مربوط به انواع گوشت طیور در جدول ۳ بیان شده است.

در این مطالعه همه جدایه ها (۳۶ ایزوله سالمونلا) به- دست آمده از گوشت انواع طیور توانایی ایجاد بیوفیلیم را در سطح بالایی دارا بودند، در صورتی که در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۸ توسط سیردانی و همکارش بر روی سالمونلاهای جدا شده از گوشت قرمز، مرغ، تخم مرغ و سبزی، تنها ۲ جدایه از ۸ جدایه سالمونلا توانایی تولید بیوفیلیم را داشتند (Sirdani and Soltan Dallal, 2018). در مطالعه انجام شده توسط قاسم مهدی و

در این پژوهش به منظور تجزیه و تحلیل داده های بدست آمده از انجام آزمایش، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ۱۸/۰، تست Chi-Square و آنالیز تست دو جانبه فیشر (Fisher's exact two tailed test) بررسی های آماری انجام پذیرفت و در مقادیر $P < ۰/۰۵$ تفاوتها معنا دار شناخته شدند.

نتایج

در مطالعه حاضر، در مجموع ۳۶ ایزوله سالمونلا از انواع گوشت طیور پس از کشت و آزمون PCR جداسازی شد که همه موارد سالمونلا تیفی موریوم شناسایی شدند (جدول ۳).

توانایی تولید بیوفیلیم جدایه ها

داده های به دست آمده از دستگاه الیزا ریدر نشان داد که همه جدایه ها (۳۶ ایزوله سالمونلا) قادر به تولید بیوفیلیم



همکارانش در سال ۲۰۱۵، الگوی مقاومت دارویی و تشکیل بیوفیلم *سالمونلا* تیفی موریوم مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن‌ها نشان داد بیشتر نمونه‌ها قادر به تشکیل بیوفیلم نبودند این درحالیست که نتایج حاصل از مطالعه ما میزان بالایی از تشکیل بیوفیلم را نشان داد (Ghasemmahdi et al., 2015). سیلوا و همکارانش توانایی تولید بیوفیلم گونه‌های مختلف *سالمونلا* را در طیور بررسی کردند که نتایج این مطالعه نشان داد که *سالمونلا* گالیناروم و *سالمونلا* مینوسوتا هر دو به عنوان تولیدکنندگان بیوفیلم با شدت متوسط طبقه‌بندی شدند در صورتی که *سالمونلا* تیفی موریوم توانایی تولید بیوفیلم با شدت پایین را نشان داد که مغایر با نتایج مطالعه ما بود (Silva et al., 2019). در آمریکا محققان اثر استرس اکسیداتیو ناشی از کلر بر تشکیل بیوفیلم توسط سویه‌های مختلف *سالمونلا* بر روی سطوح پلی استایرن و فولاد ضد زنگ را در سه دما (۲۵، ۳۰ و ۴ درجه سلسیوس) آزمایش کردند به غیر از دمای ۴ درجه که هیچکدام از جدایه‌ها بیوفیلم تشکیل ندادند. در دو دمای دیگر بیوفیلم قوی ایجاد نمودند (Dhakal et al., 2019). مطالعات بسیاری در مناطق مختلف جهان انجام گرفته است که نتایج آن‌ها با مطالعه حاضر نزدیکی دارد که به تفسیر بیان شده‌اند.

نتایج مطالعه تاجیک و همکاران نشان داد که *سالمونلا* تیفی موریوم توانایی تشکیل بیوفیلم در استیل زنگ زن را دارد (Tajik et al., 2019). در مطالعه انجام شده توسط بشارتی و همکارش در تهران از ۷۵ نمونه گوشت مرغ آلوده به *سالمونلا*، ۶۹ مورد (۹۲ درصد) بیوفیلم تشکیل دادند (Besharati et al., 2020). که نتایج این بررسی نزدیکی بیشتری به مطالعه حاضر دارد. در سال ۲۰۲۳ در کلمبیا محققان مطالعاتی را بر روی تشکیل بیوفیلم *سالمونلا* در توت فرنگی‌های ذخیره شده در

دمای ۴ و دمای ۷ درجه سلسیوس انجام دادند که تشکیل بیوفیلم را در همه دماها نشان داد (Pérez-Lavalle et al., 2023). در مطالعه‌ای که Ćwiek و همکارانش در سال ۲۰۲۰ انجام دادند *سالمونلا* انترتیدیس جدا شده از طیور (جوجه‌های گوشتی، جوجه‌های گوشتی بوقلمون و مرغ‌های تخمگذار) و مدفوع انسان از نظر تولید بیوفیلم بررسی شدند که هر دو مورد توانایی تولید بیوفیلم را داشتند اما سویه‌های جدا شده از رشد بیوفیلم بهتری را نسبت به سویه‌های جدا شده از انسان نشان دادند (Ćwiek et al., 2020).

در مطالعه منافی و همکارانش از ۱۲۰ نمونه گوشت (گوشت گاو و گوسفند) و سطوح تماس با گوشت در خرده‌فروشی‌ها ۲۹ نمونه *سالمونلا* شناسایی شد که ۳ جدایه *سالمونلا* تیفی موریوم و سایر جدایه‌ها متعلق به دیگر گونه‌ها در نظر گرفته شد. که بیشتر نمونه‌های *سالمونلا* توانایی تولید بیوفیلم را داشتند (Manafi et al., 2020). مطالعه‌ای در کشور نروژ بر روی سویه‌های وحشی *سالمونلا* در خوک نشان داد که این سویه‌ها توانایی تولید بیوفیلم بالایی دارند از طرفی میانگین تولید بیوفیلم سویه‌های *سالمونلا* تیفی موریوم نیز نسبت به سویه *سالمونلا* دربی تفاوت معنی‌داری دارد (Osland et al., 2023). در سال ۲۰۲۱ محققان مکزیکی نشان دادند که سروتیپ‌های *سالمونلا* می‌توانند بیوفیلم‌هایی را در محصولات غذایی تازه ایجاد کنند. ارزیابی توانایی تشکیل بیوفیلم با استفاده از روش رنگ آمیزی کریستال ویولت نشان داد که ۹۵/۶ درصد از سویه‌های *سالمونلا* تولیدکننده بیوفیلم قوی بودند (Avila-Novoa et al., 2021).

احمدپور و همکارانش در سال ۲۰۲۲ توانایی تولید بیوفیلم *سالمونلا* تیفی موریوم جدا شده از طیور را مورد بررسی قرار دادند که همه جدایه‌ها توانایی تولید بیوفیلم



را دارا بودند (Ahmadpour et al., 2022). محققان آلمانی توانایی تولید بیوفیلم سالمونلا تیفی موریوم و تاثیر ضد عفونی کننده ها در از بین بردن این باکتری را مورد ارزیابی قرار دادند که جدایه ها توانایی تولید بیوفیلم را نشان دادند (Richter et al., 2023). در ترکیه سال ۲۰۲۱ تشکیل بیوفیلم توسط سویه های سالمونلا از نظر کیفی و کمی تحت شرایط جوجه کشی مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. که گونه سالمونلا انتریتیدیس بیوفیلم های قوی تشکیل دادند (Shatila et al., 2021). بشیر و همکارانش توانایی تشکیل بیوفیلم توسط سالمونلا های پایدار در محیط کارخانجات تولید کننده غذای حیوانات خانگی را بررسی کردند و نشان دادند که همه سویه های جداسازی شده توانایی تولید بیوفیلم قوی را دارا بودند (Bashir et al., 2019).

تفاوت در شیوع سالمونلا و توانایی تولید بیوفیلم این باکتری، در کشورها و مناطق مختلف می تواند به دلیل تفاوت در شیوه های پرورش طیور، فرآوری، وضعیت بهداشتی، نحوه ضد عفونی و نظافت سطوح در ارتباط با ماده غذایی، نوع ضد عفونی کننده ها، نظارت بر فروشگاه های عرضه گوشت و همچنین به دلیل تفاوت در روش های مورد استفاده برای جداسازی سالمونلا و شناسایی تولید بیوفیلم باشد. سالمونلا یکی از عوامل مهم بیماری های منتقله از غذا می باشد که در صورت عدم درمان مناسب می تواند منجر به مرگ و میر بالایی گردد. توانایی تولید بیوفیلم توسط جدایه های سالمونلا می تواند در افزایش تهاجم و حدت آن نقش داشته باشد. این مسئله افزایش توانایی بیوفیلم در کشور ما می تواند معضلی در روند درمانی و پاسخ به درمان علی الخصوص درمان آنتی بیوتیکی به وجود بیاورد (Manafi et al., 2020).

نتیجه گیری کلی

مطالعات مختلف، توانایی بالای این باکتری را برای اتصال و تشکیل بیوفیلم روی سطوح مختلف نشان داده اند. در صنایع غذایی، اتصال باکتری های پاتوژن و فاسد کننده مواد غذایی با سطوح در تماس با مواد غذایی در فرایندهای تولید و بسته بندی آن ها و سرانجام، تشکیل بیوفیلم های میکروبی، می تواند منبع بالقوه آلودگی محصولات و فراورده های غذایی و انتقال بیماری ها باشد. رشد باکتری ها به حالت بیوفیلم روی سطوح، انتقال آن ها را آسان تر و از بین بردنشان را مشکل می کند. زیرا سلول های بیوفیلم در مقایسه با سلول های آزاد، در مقابل بیوسایدها و ضد عفونی کننده ها مقاومت بیشتری نشان می دهند (Zhang et al., 2021). و در نتیجه منجر به کاهش مدت زمان نگهداری محصول و افزایش شیوع بیماری های ناشی از غذا می شود. از طرفی درصد قابل توجهی از مقاومت دارویی بالینی و متعاقب آن شکست در درمان با تشکیل بیوفیلم مرتبط می باشد. لذا شناسایی و کنترل بیوفیلم در کشتارگاه ها و کارخانجات مواد غذایی می تواند از لحاظ اقتصادی و درمانی موثر باشد.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

منابع

1. Abebe G.M. 2020. The Role of Bacterial Biofilm in Antibiotic Resistance and Food Contamination. Int J Microbiol. 20:1-10. <https://doi.org/10.1155/2020/1705814>.
2. Ahmadpour M, Movassagh M.H, Hosseinzadeh S. 2022. Extract and Evaluation of the effect of Satureja sahendica hydroalcoholic Trisodium Phosphate on biofilm formation of Salmonella Typhimurium isolated from poultry. JFM. 9(4):74-88. (In Persian).
3. Aleksandrowicz A, Carolak E, Dutkiewicz A, Błachut A, Waszczuk W, and Grzymajlo K. 2023. Better together—



- Different Temperatures, Nutrient Conditions, and Substrates. *J Food Prot.* **82**(1):78-92. Doi: 10.4315/0362-028X.JFP-18-119. PMID: 30586327.
10. Giaouris E, Heir E, Hébraud M, Chorianopoulos N, Langsrud S, Moretro T. 2014. Attachment and biofilm formation by foodborne bacteria in meat processing environments: causes, implications, role of bacterial interactions and control by alternative novel methods. *Meat Sci.* **97**(3):298-309. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.023>. PMID: 23747091
 11. Ghasemmahdi H, Tajik H, Moradi M, Mardani K, Modaresi R, Badali A, Dilmaghani M. 2015. Antibiotic resistance pattern and biofilm formation ability of clinically isolates of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *International Journal of Enteric Pathogens.* **3** (2):4-27372.
 12. Harrell JE, Hahn MM, D'Souza SJ, Vasicek EM, Sandala JL, Gunn JS, & McLachlan JB. 2021. *Salmonella* biofilm formation, chronic infection, and immunity within the intestine and hepatobiliary tract. *Front Cell Infect Microbiol.* **10**. Doi: 10.3389/fcimb.2020.624622.
 13. Hassanzadeh, M, Emaddi Chashni, S.H, Bozorgmehri Fard, M.H, Mirzaie, S. 2009. Characterization of the *Salmonella* Isolates from Backyard Chickens in North of Iran, by Serotyping, Multiplex PCR and Antibiotic Resistance Analysis. *Archives of Razi Institute.* **64**: 77-83.
 14. Bozorgmehri Fard M.H, Hassanzadeh M, Emaddi Chashni S.H, Mirzaie S. 2009. Characterization of the *Salmonella* Isolates from Backyard Chickens in North of Iran, by Serotyping, Multiplex PCR and Antibiotic Resistance Analysis. *Archives of Razi Institute.* **64**(2):77-83. Doi: 10.22092/ARI.2009.103836.
 15. Manafi L, Aliakbarlu J, Dastmalchi Saei H. 2020. Antibiotic resistance and biofilm formation ability of *Salmonella* serotypes isolated from beef, mutton, and meat contact surfaces at retail. *J Salmonella biofilm-associated antibiotic resistance.* *Gut Microbes.* **15** (1): 2229937. Doi: 10.1080/19490976.2023.2229937 . PMID: 37401756.
 4. Avila-Novoa MG, Guerrero-Medina PJ, Navarrete-Sahagún V, Gómez-Olmos I, Velázquez-Suárez NY, Cruz-Color L, Gutiérrez-Lomelí M. 2021. Biofilm Formation by Multidrug-Resistant Serotypes of *Salmonella* Isolated from Fresh Products: Effects of Nutritional and Environmental Conditions. *Appl. Sci.* **11**(8), 3581. <https://doi.org/10.3390/app11083581>
 5. Besharati S, Owlia P. 2020. Evaluation of biofilm production capacity in *salmonella* isolated from chicken meat in Tehran municipally daily fruit and vegetable markets. *Daneshvar Medicine.* **28**(1):146. 62-67. (In Persian).
 6. Bashir A, Azeem A, Stedman Y, Hilton A. 2019. Pet Food Factory Isolates of *Salmonella* Serotypes Do Not Demonstrate Enhanced Biofilm Formation Compared to Serotype-Matched Clinical and Veterinary Isolates. *Hindawi. BioMed Research International.* Volume 2019, Article ID 8569459, 7 pages. <https://doi.org/10.1155/2019/8569459>.
 7. Ćwiek K, Korzekwa K, Tabiś A, Bania J, Bugla-Płoskońska G, & Wieliczko A. 2020. Antimicrobial Resistance and Biofilm Formation Capacity of *Salmonella enterica* Seroovar Enteritidis Strains Isolated from Poultry and Humans in Poland. *Pathogens.* **9**(8): 643. Doi: 10.3390/pathogens9080643. PMID: 32784631.
 8. Ćwiek K, Bugla-Płoskońska G, Wieliczko A. 2019. *Salmonella* biofilm development: Structure and significance. *Postepy Hig Med Dosw.* **73**: 937-943. DOI: 10.5604/01.3001.0013.7866.
 9. Dhakal J, Sharma C, Nannapaneni R, McDANIEL C, Kim T, Kiess A. 2019. Effect of Chlorine-Induced Sublethal Oxidative Stress on the Biofilm-Forming Ability of *Salmonella* at



- Microbiol. **76**(1):124-129. Doi: 10.1007/s00284-018-1599-5. PMID: 30560366.
21. Sirdani A, Soltan Dallal M. 2018. Investigating the Ability of Producing Biofilm by Isolated Salmonella from Food. AUMJ. **7**(4), 306-314. (In Persian).
 22. Shatila F, Yaşa I, Tansel Yalçın H. 2021. Biofilm Formation by Salmonella enterica Strains. Curr Microbiol. **78**(4):1150-1158. Doi: 10.1007/s00284-021-02373-4. PMID: 33609163.
 23. Tajik H, Moradi M, Alipour M, Ghasemmahdi H. 2019. Biofilm Formation of Salmonella Typhimurium on Stainless Steel in Red Meat Model and the Effect of Bacteriophage on Bacterial Biofilm. IJMM **12**(3): 179-188. (In Persian).
 24. Zhang Y, Ge H, Lin W, Song Y, Ge F, Huang X, Meng X. 2021. Effect of different disinfection treatments on the adhesion and separation of biofilm on stainless steel surface. Water Sci Technol. **83** (4):877-885. DOI: 10.2166/wst.2021.028. PMID: 33617494.
 - Food Sci. **85**(8):2516-2522. Doi: 10.1111/1750-3841.15335. PMID: 32671849.
 16. Monadi M, Kargar M, Naghiha A, Najafi A, Mohammadi R. 2015. Molecular Detection of Salmonella serovar isolated from eggs. Mljgoms. **9**(1):17-24. (In Persian).
 17. Osland A, Oastler C, Konrat K, Nesse L, Brook E, Richter A, Gosling R, Arvand M, & Vestby L. 2023. Evaluation of Disinfectant Efficacy against Biofilm-Residing Wild-Type Salmonella from the Porcine Industry. Antibiotics. **12**(7), 1189. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12071189>
 18. Pérez-Lavalle L, Valero A, Cejudo-Gómez M, Carrasco E. 2023. Fate and biofilm formation of Salmonella enterica subsp. enterica serovar Thompson on fresh strawberries stored under refrigeration and room temperatures. Food Control. **153**, 109906. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109906>.
 19. Richter A, Konrat K, Osland A, Brook E, Oastler C, Vestby L, Gosling R, Nesse L, Arvad M. 2023. Evaluation of Biofilm Cultivation Models for Efficacy Testing of Disinfectants against Salmonella Typhimurium Biofilms. Microorganisms. **11**(3):761. Doi: 10.3390/microorganisms11030761. PMID: 36985334.
 20. Silva P, Goulart L R, Reis T, Mendonça E, Melo R, Penha V, Peres P, Hoepers P, Beletti M, Fonseca B. 2019. Biofilm Formation in Different Salmonella Serotypes Isolated from Poultry. Curr



Ability to produce biofilm in *Salmonella typhimurium* isolated from poultry meat samples

Marziye Nazari Moghadam¹, Ebrahim Rahimi^{*1}, Amir Shakerian¹ and Hassan Momtaz²

¹ Research Center of Nutrition and Organic Products, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

² Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Received: 03 December 2024 Accepted: 14 October 2025

Abstract

Salmonella is one of the most common causes of foodborne diseases. Poultry products are the most common food products, including meat and eggs, which contribute to the spread of human salmonellosis. Biofilm formation is one of the pathogenic factors of *Salmonella* bacteria, especially in the food industry, which allows the bacteria to attach to different surfaces. This study was conducted with the aim of investigating the biofilm formation ability of *Salmonella* isolated from poultry meat (chicken, turkey, quail, partridge, duck and goose). 440 different poultry meat samples were collected from different regions of the country and identified by special microbial and biochemical tests and by using PCR test of *Salmonella* bacteria. In order to check the ability of biofilm production, titration method was used in microplate. In the present study, a total of 36 *Salmonella* isolates were isolated from poultry meat, and all *Salmonella Typhimurium* cases were identified. The data obtained from ELISA reader device showed that all isolates (36 *Salmonella* isolates) were able to produce biofilm to different degrees. Among them, 52.02% showed strong binding ability, 34.15% moderate binding ability and 13.83% weak binding ability in biofilm production. Quebec samples had the highest binding ability (92.6) among other samples. Due to the ability to create biofilms of *Salmonella* isolated from food, the spread of their antibiotic resistance, and on the other hand, the increasing increase in gastroenteritis. Foods caused by *Salmonella* seem to require more care and compliance with a higher level of hygiene in the preparation, production, packaging and supply of food at the community level.

Keywords: *Salmonella*, biofilm, foodborne diseases, poultry meat.

* Corresponding Author: Ebrahim Rahimi

Address: Research Center of Nutrition and Organic Products, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Email: Ebrahimrahimi55@yahoo.com

