جداسازی سالمونلا از مزارع و خوراک مرغ مادر گوشتی ایران

منصور میاحی[1*]، فروغ طلازاده[2]، رمضانعلی جعفری[3]، وحید کشاورز زمانیان[4]

۱- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۲- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۳- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
٤- دانشجوی دکترای تخصصی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
* نویسنده مسئول مکاتبات: mansoormayahi@scu.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۵/۱۲/۲۲ پذیرش نهایی: ۹٦/۸/۱۷)

چکیده

آلودگی طیور با باکتری‌های جنس سالمونلا یکی از مسائل مهم در زمینه سلامت انسان و طیور محسوب می‌شود و ماکیان نقش مهمی در انتشار و شیوع سالمونلوز در انسان دارند. هدف این مطالعه جداسازی سالمونلا از مزارع و خوراک مرغ مادر گوشتی ایران می‌باشد. بدین منظور از ٦۲ گله مرغ مادر گوشتی و خوراک آن‌ها در ۲۱ استان کشور در محدوده زمانی یک‌ساله نمونه‌برداری صورت گرفت و با استفاده از روش کشت مرسوم شامل مراحل پیش‌غنی‌سازی، غنی‌سازی و کشت در محیط‌های اختصاصی و تفریقی، تعداد ۱۸ جدایه سالمونلا تشخیص داده شد. جهت تأیید هویت سالمونلای تشخیص داده شده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه استفاده شد و ۱۲ جدایه سالمونلا تأیید گردید که ۷ جدایه (۵۸/۳۳ درصد) مربوط به *سالمونلا انتریتیدیس* در استان‌های قزوین، مازندران و مرکزی، ۳ جدایه (۲۵ درصد) مربوط به *سالمونلا اینفانتیس* در استان‌های کردستان و جنوب خراسان و ۲ جدایه (۱٦/٦٦ درصد) مربوط به *سالمونلا تایفی‌موریوم* در استان‌های فارس و لرستان مشخص گردید. تمامی نمونه‌های خوراک از نظر آلودگی به باکتری‌های جنس سالمونلا منفی بودند. نتایج این مطالعه نشان داد تعدادی از مزارع مرغ مادر ایران به باکتری سالمونلا آلوده می‌باشند و سالمونلای غالب در مزارع مرغ مادر گوشتی ایران به ترتیب *سالمونلا انتریتیدیس*، *سالمونلا اینفانتیس* و *سالمونلا موریوم* می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: جداسازی سالمونلا، مرغ مادر گوشتی، خوراک.

مقدمه

سالمونلوز یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی مشترک بین انسان و حیوان است که در اثر عفونت با باکتری‌های جنس سالمونلا ایجاد می‌شود. بر اساس گزارش مرکز آمار کنترل و پیش‌گیری از بیماری‌ها، سالانه نزدیک به یک میلیون نفر در ایالات متحده به سالمونلاهای پاراتیفوئید مبتلا می‌شوند که تقریباً بیست هزار نفر از آن‌ها در بیمارستان بستری شده و حدود ٤٠٠ نفر فوت می‌کنند (Scallan *et al*., 2011). عفونت سالمونلوز در پرندگان در چند روز اول پس از تفریخ می‌تواند باعث کاهش قابل توجه رشد و حتی مرگ‌ومیر شود. وجود بیماری‌های دیگر یا عوامل استرس‌زا ممکن است طیور را مستعد بیماری شدید سالمونلوز کند. از طرفی دیگر، آلودگی به سالمونلا می‌تواند پرنده را مستعد درگیری با بیماری‌های دیگر نیز نماید. آلودگی طیور بالغ به سالمونلا به دلیل اقدامات کنترلی که برای جلوگیری از انتقال به نتاج و انسان انجام می‌شود، هزینه‌های مختلفی را به تولیدکننده تحمیل می‌کند (Morales and McDowell, 1999). با وجود این‌که بسیاری از عوامل بیماری‌زا در طیور صنعتی تحت کنترل قرار گرفته‌اند، اما هنوز سالمونلوز به‌عنوان تهدیدی جهانی برای گله‌های صنعتی طیور محسوب می‌شود. سالمونلوز طیور یکی از بزرگ‌ترین مشکلات اقتصادی صنعت مرغداری در سطح بین‌المللی است که از نقطه نظر اقتصادی، از مسائل عمده این صنعت به شمار می‌رود. انتقال عمودی سالمونلا از گله‌های آلوده به نتاج در اثر آلودگی داخلی یا خارجی تخم‌مرغ رخ می‌دهد. پوسته تخم‌مرغ می‌تواند در حین عمل تخم‌گذاری به مدفوع آلوده گردد. نفوذ سالمونلا به داخل پوسته و غشاهای پوسته سبب آلودگی مستقیم جنین در حال رشد و یا آلودگی در زمان نوک زدن جوجه به پوسته در زمان هچ گردد. *سالمونلا انتریتیدیس* می‌تواند در محتویات تخم‌مرغ حتی قبل از زمان تخم‌گذاری رسوب کند. انتقال داخل تخمدانی آلودگی به نتاج از ویژگی‌های *سالمونلا انتریتیدیس* است (Gast, 2013). سالمونلاهایی که در داخل یا روی تخم‌مرغ قرار دارند، به‌صورت گسترده‌ای در هچری پخش می‌شوند. زمانی‌که جوجه ماکیان یا پولت بوقلمون به پوسته تخم‌مرغ نوک می‌زنند، سالمونلاها در هوا آزاد شده و در قفسه‌های هچری به گردش درمی‌آیند. جوجه‌های تازه هچ‌شده فاقد میکروفلور حفاظتی روده‌ای هستند. زمانی که تخم‌مرغ‌های آلوده به *سالمونلا تایفی‌موریوم* تفریخ می‌شوند، جوجه‌های متولدشده از تخم‌مرغ‌های غیرآلوده را آلوده می‌کنند (Lister and Barrow, 2008). انتقال افقی نیز به طروق مختلف در سالن و بین مزارع پرورشی انجام می‌پذیرد. آلودگی به‌صورت مستقیم از پرنده بیمار به پرنده سالم و یا بلع دان، آب، مدفوع یا بستر آلوده صورت می‌گیرد. سالمونلا به‌سرعت در بین جوجه‌های پرورشی بر روی بستر، از طریق کارکنان، تجهیزات، آئروسل و گردوغبار انتشار می‌یابد. *سالمونلا انتریتیدیس* به مدت حداقل یک سال در گردوغبار سالن‌های خالی طیور حتی پس از پاک‌سازی و ضدعفونی دوام می‌یابد. انتقال از طریق هوا به کمک گردوغبار هم صورت می‌پذیرد. میزان حضور *سالمونلا* در هوا به میزان *سالمونلا* در بستر بستگی دارد (Lister and Barrow, 2008). سالمونلاهای بیماری‌زای پرندگان شامل سروارهای غیرمتحرک (*سالمونلا پلوروم و سالمونلا گالیناروم*)، پاراتیفوئیدها و

آریزوناها است. *سالمونلا پلوروم* و *سالمونلا گالیناروم* بیماری‌زاترین سالمونلاهای پرندگان هستند که عمدتاً ماکیان و بوقلمون‌ها را مبتلا می‌کنند، درحالی که سالمونلاهای پاراتیفوئیدی طیف وسیعی از میزبانان از جمله پستانداران، پرندگان (ماکیان بومی و صنعتی، بوقلمون، قناری، مرغ عشق، پرندگان حیات‌وحش و ...)، خزندگان، دوزیستان، ماهی‌ها و بی‌مهرگان را مبتلا می‌کند (Barua *et al*., 2012). عفونت‌های پاراتیفوئیدی در پرندگان اغلب بدون نشانه‌های درمانگاهی است ولی گاهی اوقات سبب بروز نشانه‌های بالینی در جوجه‌های خیلی جوان می‌شود که در جوجه ماکیان و جوجه بوقلمون‌ها به‌صورت افتادگی بال‌ها، ژولیدگی پرها، تجمع در کنار منبع حرارتی سالن، بی‌اشتهایی، سستی، لاغری، اسهال آبکی شدید، کوری، لنگش، افزایش تشنگی و نشانه‌های عصبی مشاهده می‌گردد (Barua *et al*., 2012). سالمونلاهای پاراتیفوئیدی ممکن است از طریق مصرف غذاهای آلوده به‌ویژه گوشت پرندگان صنعتی و تخم آن‌ها، گوشت گاو، گوشت گوسفند و خوک به انسان منتقل شوند (Barua *et al*., 2012).

عوامل مختلفی در آلودگی مزارع مرغ مادر گوشتی به این باکتری، از جمله وجود جوندگان در مزارع، سن، جمعیت گله، عدم اجرای سیاست ورود و خروج هم‌زمان، نوع سیستم پرورش، روش تهیه مواد غذایی، آب و بهداشت تغذیه نقش دارند. میزان وقوع در گزارش‌های مختلف در سراسر دنیا بسیار متفاوت است. در بررسی آرسنال و همکاران در سال ۲۰۰۷ ، میزان وقوع عفونت سالمونلایی در گله‌های بوقلمون، ۵۴-۱۶ درصد اعلام شده است (Arsenaul *et al*., 2007). بررسی‌های اخیر دامنه وقوع عفونت‌های سالمونلایی در گله‌های ماکیان گوشتی را ۵۷-۹ درصد بیان کرده است (Le Bouquin *et al*., 2010). وقوع آلودگی از کشوری به کشور دیگر و حتی در داخل یک منطقه جغرافیائی و حتی از سالی تا سال دیگر متفاوت است (Zahraei Salehi, 1999). در مطالعه‌ای میزان وقوع سالمونلا در طیور تخم‌گذار در کشورهای مختلف متنوع (۶۵-۱۲ درصد) ذکر گردید و تنها ۱۰ درصد از سروتیپ‌های سالمونلاهای پاراتیفوئید در طیور گزارش شد (Gast, 2013). انتشار سروتیپ‌های سالمونلایی از منابع طیوری، از نظر مناطق جغرافیائی متنوع بوده و در هر زمانی تغییر می‌کند، گرچه چندین سروتیپ خاص همواره میزان وقوع بالایی دارند. در کشورهای مختلف دنیا این عوامل مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، ولی وضعیت بیماری سالمونلا در مزارع مرغ مادر کشورمان به‌طور کامل و دقیق مشخص نیست. لذا، خسارات اقتصادی این بیماری و جنبه بهداشت عمومی آن و تعیین وضعیت موجود در کشور، ارائه راهکارهای مناسب جهت مبارزه و کنترل این بیماری را ضروری ساخته است. هدف این مطالعه جداسازی و تعیین هویت سالمونلا در بین گله‌های مرغ مادر گوشتی صنعتی کشور و خوراک آن‌ها می‌باشد، تا ضمن تعیین وضعیت این بیماری در مزارع پرورش مرغ مادر گوشتی، راهکارهای کنترل این بیماری مورد بررسی قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

– **نمونه‌گیری:** از ۶۲ گله مرغ مادر گوشتی فعال کشور در دوره زمانی ۱۲ ماهه از بهمن ۹۴ الی بهمن ۹۵ نمونه‌برداری انجام گردید. در این بررسی ۱۸۶ نمونه

سواب چکمه‌ای شامل سه سواب از هر گله مرغ مادر و ٦٢ نمونه خوراک از واحدهای پرورش مرغ مادر گوشتی کشور از استان‌های مختلف اخذ و به آزمایشگاه ارسال گردید.

- **روش نمونه‌برداری:** با هدف برخورداری از بالاترین حساسیت در نمونه‌برداری و ارجح بودن روش سوآب چکمه‌ای نسبت به سایر روش‌ها در جداسازی سالمونلا در گله‌های مرغ مادر و بوقلمون، نمونه‌برداری از بستر با استفاده از روش سوآب چکمه‌ای انجام شد. در این روش با پوشیدن چکمه و قرار دادن کاور کفش (سواب چکمه‌ای) روی چکمه در نقاط مختلف سالن به شکل ضربدری در طول و عرض سالن قدم زده و در نتیجه بستر به ته سواب چکمه‌ای می‌چسبید و در پایان به دقت روکش چکمه برداشته شد و نمونه‌های بستر درون کیسه دولایه استریل قرار داده شد و در اسرع وقت تحت شرایط استریل به آزمایشگاه تشخیص سازمان دامپزشکی کشور منتقل گردید (Mueller-Doblies, 2009).

- **روش نمونه‌برداری از خوراک طیور:** نمونه‌برداری از خوراک مرغ مادر گوشتی بر اساس استاندارد ملی کشور و دستورالعمل نمونه‌برداری از خوراک دام، طیور و آبزیان سازمان دامپزشکی کشور از دان داخل هاپر و قبل از انتقال دان به سالن انجام شد. بدین منظور بر اساس استاندارد ملی ایران از سطح و عمق هاپر موجود در سر سالن‌ها نمونه دان آماده مصرف برداشته شد و پس از مخلوط نمودن، مقدار دو کیلوگرم از آن برداشته شده و تحت شرایط استریل به آزمایشگاه تشخیص سازمان دامپزشکی کشور ارسال شد و در آزمایشگاه مقدار ٥٠٠ گرم به‌عنوان نمونه آزمایشگاهی استفاده شد (Iranian National Standards, 44/32673-85/7/5).

- **حمل و آماده‌سازی نمونه‌ها:** نمونه‌های اخذشده شامل سواب چکمه‌ای و دان در همان روز اخذ به آزمایشگاه ارسال شدند و حداکثر ظرف ٤٨ ساعت آزمایش شدند و تا قبل از آزمایش در یخچال نگه‌داری شدند. نمونه‌های هر بستر کاملاً مخلوط شده و یک نمونه ٢٥ گرمی برای کشت از آن‌ها تهیه شد (Iranian National Standards, 44/32673-85/7/5).

- **جداسازی باکتری سالمونلا:** نمونه‌های بستر به‌خوبی مخلوط شده، سپس ٢٥ گرم از هر نمونه برداشت و در ٢٢٥ میلی‌لیتر آب پپتونه بافری (Buffered Peptone Water; BPW) (نسبت بستر و آب پپتونه ١ به ١٠) هم‌دما با دمای اتاق اضافه شد. BPW همراه با نمونه به مدت ٢٤-١٨ ساعت در انکوباتور٣٧ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس ٠/١ میلی‌لیتر از آن با ١٠ میلی‌لیتر محیط غنی‌کننده انتخابی راپاپورت واسیلیادیس مخلوط شده و در دمای ٤١ درجه سلسیوس انکوبه گردید. پس از ٢٤ ساعت، یک لوپ از محیط راپاپورت برداشت شده و روی ژلوز SS (Salmonella Shigella agar) و XLD (Xylose Lysine Deoxycholate agar) برای ٢٤ ساعت در دمای ٣٧ درجه سلسیوس کشت داده شد. پس از کشت در محیط‌های TSI (Triple Sugar Iron agar) و LD (Lysine Decarboxylase) برای اطمینان از خالص بودن جدایه‌های مشکوک به سالمونلا، از ژلوز خون‌دار استفاده گردید (Waltman and Gast, 2008). نمونه‌هایی که تا این مرحله مظنون به سالمونلا بودند، بر اساس روش‌های استاندارد باکتریولوژی و با استفاده از آزمایش‌های تفریقی (واکنش در محیط‌های سیمون

سیترات، محیط حرکت، اوره و MR-VP (Methyl Red and Voges-Proskauer broth) تعیین هویت گردیدند (Waltman and Gast, 2008). جدایه‌های تأییدشده، برای یک شب در محیط TSB (Tryptic Soy Broth) با دمای ۳۷ درجه سلسیوس کشت داده شدند. سپس در داخل کرایوتیوب به همراه ۲۵ درصد گلیسرول استریل برای انجام مراحل بعدی تحقیق در فریزر ۷۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شدند.

- **تعیین گروه سرمی:** برای تعیین گروه سرمی سالمونلاهای جدا شده، از آنتی‌سرم‌های O و H شرکت Mast Assure Bacterial MAST GROUP REF 60898/ LOT jgrkit- Agglutinating Antisera 14 خریداری شده از شرکت فناوران راین استفاده شد. بدین منظور، ابتدا نمونه‌ها از فریزر ۷۰- درجه سلسیوس خارج و در محیط ژلوز مغذی در دمای ۳۷ درجه سلسیوس کشت داده شدند.

بعد از ۱۸ ساعت یک پرگنه تک انتخاب گردیده و دوباره برای ۲٤ ساعت به محیط ژلوز خون‌دار تلقیح شد. شیرابه غلیظی با سرم فیزیولوژی ۰/۸۵ درصد روی یک لام تمیز تهیه کرده و پس از کنترل اتوآگلوتیناسیون، یک قطره از سرم چند ارزشی O (پلی والان O) S – A روی آن قرار داده شد و با هم مخلوط گردید.

نتیجه در برابر چراغ و در زمینه سیاه قرائت شد. در صورتی که آگلوتیناسیون در کمتر از ۲ دقیقه مشاهده شود واکنش مثبت تلقی می‌گردد که در این حالت بایستی آزمایش را با آنتی سرم مربوط به هرکدام از گروه‌های موجود در آنتی سرم چند ارزشی تکرار نمود، تا گروه سرمی سالمونلای جدا شده مشخص گردد. به همین دلیل از آنتی سرم‌های O2، O4، O5، O7، O8، O9 و O12 برای تشخیص گروه استفاده شد.

در مرحله بعدی برای تعیین سروتیپ در داخل گروه، باید پادگن‌های تاژکی، مورد شناسایی قرار گیرند. بنابر دستورالعمل کارخانه سازنده آنتی‌سرم‌ها از محیط کشت نیمه جامد TSB برای تعیین آنتی‌ژن تاژکی به روش آگلوتیناسیون روی لام استفاده شد و در موارد پاسخ منفی برای دقت و اطمینان بیشتر به نتیجه آزمایش از روش آگلوتیناسیون داخل لوله بر اساس توصیه کارخانه سازنده استفاده شد.

آنتی سرم‌های تاژکی موجود H2 ،H6 ،HL و Hgm بودند که برای تعیین جدایه‌ها قابل استفاده بودند. در سایر موارد شناسائی جدایه‌ها فقط محدود به تعیین گروه سرمی O گردید (Waltman and Gast, 2008). جدایه‌های سالمونلا برای مراحل بعدی مطالعه، انتخاب و نگه‌داری شدند.

- **Multiplex PCR:** در این آزمایش برای تأیید باکتری‌های *سالمونلا موریوم* و باکتری *سالمونلا انتریتیدیس* در مزارع مرغ مادر به‌علت اهمیت آنها از نظر سالمونلاهای متحرک، *سالمونلا موریوم* (ATCC-14028) و *سالمونلا انتریتیدیس* (ATCC-13076) به‌عنوان کنترل مثبت و آب مقطر استریل به‌عنوان کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت.

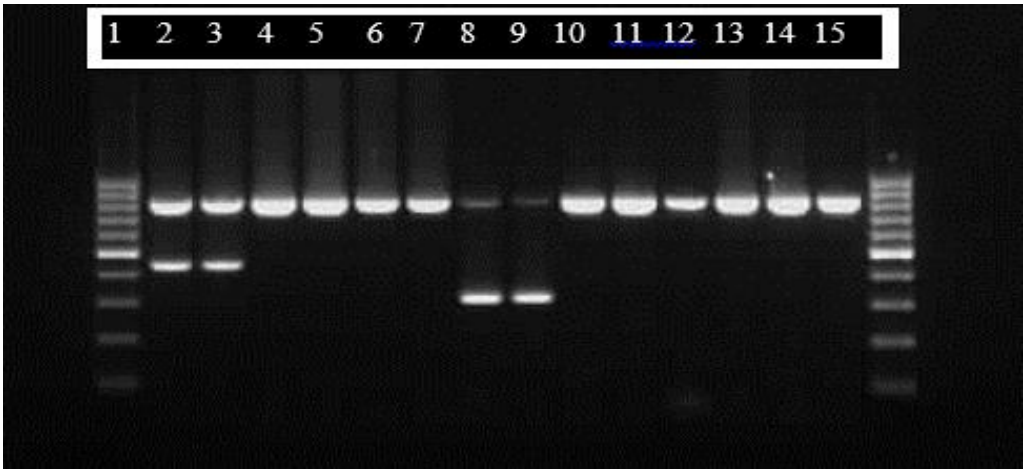
از کلنی‌هائی که در روش کشت مرسوم به‌عنوان باکتری سالمونلا مورد شناسائی قرار گرفته بود، پس از کشت در بافر پپتون واتر برای ۱۸ ساعت در دمای ۳۵±۲ درجه سلسیوس، یک میلی‌لیتر از این محیط کشت در ۱٤۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد، سپس با یک میلی‌لیتر محلول سالین ۰/۹ درصد در ورتکس به‌صورت معلق درآمد، سپس لوله‌ها در ۱٤۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی با دقت دور ریخته

شد و پلت‌ها دوباره به‌وسیله ورتکس در ۰/۵ میلی‌لیتر تریتون X-100 (۰/۱ درصد) معلق شد، سپس سوسپانسیون سلولی در حمام آب جوش به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد تا سلول‌ها لیز شوند، سپس به مدت ۵ دقیقه در ۱٤۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد.

محلول رویی به لوله‌های میکروسانتریفیوژ منتقل شد و ٤ میکرولیتر از آن به‌عنوان template DNA با روش استخراج طبق دستورالعمل کیت ROCH کشور آلمان و بر اساس مراحل توصیه شده در دستورالعمل مزبور در آزمایش Multiplex PCR مورد استفاده قرار گرفت (Paiao *et al*., 2013).

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت تشخیص جنس سالمونلا و سرووارهای موریوم و انتریتیدیس (Paiao *et al*., 2013)

پرایمر (کروموزومی)	توالی نوکلئوتیدی ´۳ ←´۵	طول (base)	اندازه محصول (base pair)
Inv-A forward	CGG TGG TTT TAA GCG TAC TCT T	۲۲	۷۹٦
Inv-A reverse	CGA ATA TGC TCC ACA AGG TTA	۲۱	–
IE-1 forward	AGT GCC ATA CTT TTA ATG AC	۲۰	۳۱٦
IE-1 reverse	ACT ATG TCG ATA CGG TGG G	۱۹	–
Flic-C forward	CCCGCTTACAGGTGGACTAC	۲۰	٤۳۲
Flic-C reverse	AGCGGGTTTTCGGTGGTTGT	۲۰	–



شکل ۱- ژل مربوط به تشخیص جنس سالمونلا سرووارهای *سالمونلا تایفی موریوم* و *سالمونلا انتریتیدیس* به روش مولتی پلکس پی سی آر

است که پرایمرهای مربوط به جنس سالمونلا (invA) دارای وزن مولکولی ۷۹٦ bp یعنی بالاترین باند و پرایمرهای مربوط به سروار *سالمونلا تایفی موریوم* در شکل ۱ از سه جفت پرایمر invA، fliC و IE جهت تشخیص به ترتیب جنس سالمونلا، سروار *سالمونلا موریوم* و سروار *سالمونلا انتریتیدیس* استفاده شده

یافته‌ها

در این بررسی در نمونه‌های مدفوع بستر در ۱۲ مزرعه مرغ مادر، باکتری سالمونلا جدا گردید که نمونه‌های جدا شده با استفاده از آنتی سرم‌های O و H، تعیین سروتیپ گردید که بر اساس نتایج حاصل، آلودگی دو مورد (۱۶/۶۶ درصد) به *سالمونلا موریوم* در استان‌های فارس و لرستان، سه مورد (۲۵ درصد) به *سالمونلا اینفانتیس* در استان‌های کردستان و جنوب خراسان و ۷ مورد (۵۸/۳۳ درصد) به *سالمونلا انتریتیدیس* در استان‌های قزوین، مازندران و مرکزی مشخص گردید و از نمونه‌های خوراک طیور باکتری سالمونلا جدا نگردید.

برای تأیید باکتری‌های *سالمونلا موریوم* و باکتری *سالمونلا انتریتیدیس* در مزارع مرغ مادر به‌علت اهمیت آنها از نظر سالمونلاهای متحرک، به *روش* Multiplex PCR مورد بررسی قرار گرفتند که بر اساس نتایج حاصل از این آزمون، نمونه‌های مثبت *سالمونلا موریوم* و *سالمونلا انتریتیدیس* مورد تأیید قرار گرفت.

(fliC) دارای وزن مولکولی ٤٣٢ bp یعنی باند وسط و پرایمرهای مربوط به سرووار انتریتیدیس (IE) دارای وزن مولکولی ٣١٦ bp یعنی پایین‌ترین باند می‌باشد.

شکل ۱ از سمت چپ به راست به این شرح می‌باشد:

۱- ستون اول و آخر مربوط به خط‌کش ۱۰۰bp می‌باشد.

۲- ستون ۲ و ۳ مربوط به کنترل مثبت سرووار *سالمونلا تایفی‌موریوم* می‌باشد که هم دارای باند مربوط به جنس سالمونلا (invA =bp ٧٩٦) و هم دارای باند مربوط به سرووار *سالمونلا تایفی‌موریوم* (fliC =٤٣٢bp) می‌باشد.

۳- ستون‌های ٤-٥-٦-٧-١٠-١١-١٢-١٣-١٤-١٥ مربوط به فقط جنس سالمونلا می‌باشند که فقط دارای یک باند مربوط به جنس (invA =bp ٧٩٦) می‌باشند.

٤- ستون‌های ۸ و ۹ مربوط به سرووار *سالمونلا انتریتیدیس* می‌باشند که هم دارای باند مربوط به جنس (invA =bp ٧٩٦) و هم دارای باند مربوط به سرووار *سالمونلا انتریتیدیس* (IE =٣١٦) می‌باشند.

جدول ۲- نتایج جداسازی سالمونلا از گله‌های مرغ مادر گوشتی

ردیف	کشت	تعیین سروتیپ (آنتی سرم)	تأیید سروتیپ (مولکولی)
۱	+	*S. infantis*	انجام نشد
۲	+	*S. typhimurium*	*S. typhimurium*
۳	+	*S. enteritidis*	*S. enteritidis*
٤	+	*S. typhimurium*	*S. typhimurium*
٥	+	*S. enteritidis*	*S. enteritidis*
٦	+	*S. enteritidis*	*S. enteritidis*
۷	+	*S. enteritidis*	*S. enteritidis*
۸	+	*S. infantis*	انجام نشد
۹	+	*S. enteritidis*	*S. enteritidis*
۱۰	+	*S. enteritidis*	*S. enteritidis*
۱۱	+	*S. infantis*	انجام نشد
۱۲	+	*S. enteritidis*	*S. enteritidis*

بحث و نتیجه‌گیری

مدت‌هاست که ثابت شده است گله‌های مرغ مادر از نقش حیاتی در کنترل انتشار عفونت سالمونلا برخوردارند. میزان وقوع، انتشار گروه‌های سرمی و سروتیپ‌های سالمونلائی از منابع طیوری، در مناطق جغرافیائی و مقاطع زمانی مختلف، متنوع بوده و ممکن است حتی در داخل یک منطقه جغرافیائی نیز متفاوت باشد. به نظر می‌رسد در طیور، چرخشی بین سروتیپ‌های مختلف وجود دارد و در دوران خاصی، سروتیپی جایگزین سروتیپ دیگر می‌شود (Zahraei Salehi, 1999)، گرچه چندین سروتیپ خاص، همواره میزان وقوع بالائی دارند (Gast *et al.*, 2013). این بررسی نشان داد عمده سالمونلا در مزارع مرغ مادر گوشتی ایران به ترتیب *سالمونلا انتریتیدیس*، *سالمونلا اینفانتیس* و *سالمونلا موریوم* می‌باشد. در مطالعه حاضر، شایع‌ترین سروتیپ، *سالمونلا انتریتیدیس* با ۵۸/۳۳ درصد بوده که در استان‌های قزوین، مازندران و مرکزی مشاهده گردید. در مطالعه اکبرمهر و همکاران در سال ۲۰۱۰ از سالمونلاهای جدا شده از روده و کبد ماکیان در آذربایجان-شرقی، سروتیپ غالب *سالمونلا انتریتیدیس* (٥۳/٤ درصد) بوده است. نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر در خصوص سروتیپ غالب جداشده هم‌خوانی دارد (Akbarmehr *et al.*, 2010).

در مطالعه عزت‌پناه و همکاران در سال ۱۳۹۲ از سالمونلاهای جداشده از کلواک ماکیان گوشتی در شهر اراک، سروتیپ غالب *سالمونلا انتریتیدیس* (٤٥/۳۳ درصد) اعلام گردیده است. نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر در خصوص سروتیپ غالب جداشده هم‌خوانی دارد (Ezatpanah *et al.*, 2013).

مرشد در سال۱۳۹۲ گزارش کرد که *سالمونلا انتریتیدیس* (٦٦ درصد) به‌عنوان سروتیپ غالب در

گله‌های گوشتی در شهرستان آمل می‌باشد. نتایج این تحقیق نیز با مطالعه حاضر در خصوص سروتیپ غالب جداشده هم‌خوانی دارد (Morshed, 2013).

در مطالعه اکبریان و همکاران در سال ۱۳۹۱ از سالمونلاهای جدا شده از گله‌های ماکیان صنعتی کشور و مکان‌های مرتبط با آن‌ها مانند جوجه‌کشی‌ها و کشتارگاه‌ها در استان‌های تهران، البرز، اصفهان، آذربایجان‌شرقی، قزوین، مازندران، قم و سمنان نشان داده شد که سروتیپ غالب، *سالمونلا انتریتیدیس* (٥٦ درصد) بوده است. نتایج این تحقیق هم با مطالعه حاضر در خصوص سروتیپ غالب جدا شده هم‌خوانی دارد (Akbarian, *et al*., 2012).

سروتیپ *سالمونلا انتریتیدیس* به‌عنوان شایع‌ترین عامل جداشده از انسان در مسمومیت‌های غذایی مطرح است. در سال‌های اخیر، این سروتیپ مسئول بیش‌ترین درصد ابتلاء به عفونت‌های انسانی سالمونلا در ایران بوده است. از این‌رو ارتباط بین عفونت‌های سالمونلائی در انسان با مصرف گوشت ماکیان و بوقلمون و نیز تخم حاصل از آن‌ها مطرح می‌گردد. بدین ترتیب، شناسایی *سالمونلا انتریتیدیس* به‌عنوان سروتیپ غالب پاراتیفوئیدی در طیور و انسان، خود موید این ادعاست که منبع اکثر عفونت‌های انسانی سالمونلا، فرآورده‌های طیوری هستند (Morshed *et al*., 2010).

مرشد و همکاران در سال ۲۰۱۰ آلودگی گله‌های صنعتی طیور به *سالمونلا انتریتیدیس* را با استفاده از روش‌های سرولوژیک روی ۸۲۰۸ نمونه سرمی از ۱۷۱ گله طیور صنعتی کشور (پولت، تخم‌گذار تجاری، مادر گوشتی، مادر تخمگذار، گوشتی و اجداد گوشتی) با استفاده از آزمایش آگلوتیناسیون روی لام و الایزا مورد مطالعه قرار دادند. کلیه نمونه‌ها در آزمایش آگلوتیناسیون منفی بودند ولی حدود ٤٥ درصد از کل نمونه‌ها (مربوط به ۱۱۲ گله)، در آزمایش الایزا حضور پادتن علیه *سالمونلا انتریتیدیس* را نشان دادند. مثبت بودن حدود ٤٥ درصد نمونه‌ها نشان از آلودگی گله‌های طیور حداقل در یک مقطع از دوره پرورش گله به *سالمونلا انتریتیدیس* می‌باشد. نتایج این مطالعه که برای اولین بار به این گستردگی در ایران انجام گرفت، برای تعیین میزان درگیری طیور صنعتی کشور با *سالمونلا انتریتیدیس* و برنامه‌ریزی برای کنترل آن می‌تواند حائز اهمیت باشد. نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر در خصوص سروتیپ غالب جدا شده هم‌خوانی دارد (Morshed *et al*., 2010).

در کشورهای مختلف جهان مطالعات بسیاری به بررسی عوامل خطر مرتبط با این بیماری پرداخته‌اند. در بعضی مطالعات نشان داده شده که سیستم قفس یک عامل خطر برای ابتلا به سالمونلا است (Mueller-Doblies, 2009; Gast, 2013). در مطالعاتی دیگر، مشاهده شده است که سیستم قفس برای پیش‌گیری از سالمونلوز در شرایطی مناسب‌تر است (Garber, 2003; Mollenhorst, 2005). ضعف بهداشت، حضور جوندگان و حشرات در مرغداری، پاک‌سازی ناکافی بین دوره‌های پرورش، آلودگی غذا و آب مصرفی، نگه‌داری مرغ‌ها در فضای آزاد، گله‌های غیرهمسن، سن و اندازه گله از عوامل خطر این بیماری هستند (Garber, 2003; Mollenhorst, 2005; Van Hoorebeke, 2010). موش‌ها ۲ تا ۵ ماه بعد از آلودگی به سالمونلا این باکتری را در ترشحات خود دفع می‌کنند ولی از آنجا که بیشتر مرغداری‌ها برنامه‌هایی

علیه جوندگان دارند، بعضی محققان این مورد را دیگر به‌عنوان یک عامل خطر در نظر نمی‌گیرند. شرایط آب و هوایی سرد و مرطوب و تهویه پایین در زمستان هم به‌نظر می‌رسد عامل خطری برای دفع و گسترش سالمونلا باشد (Van Hoorebeke, 2010). در بریتانیا نشان داده شد که جمعیت بیش از ۳۰ هزار پرنده مهم‌ترین عامل خطر برای گسترش سالمونلا است. موجود بودن یک فضای پارکینگ تمیز دور از سالن‌های پرورش، استفاده از منابع غذایی مستقل یا غیر شرکتی، فاصله بیش از یک کیلومتر از نزدیک‌ترین مزرعه، اداره مجموعه به‌صورت all in/all out و عدم حضور سگ و گربه در مرغداری باعث کاهش ریسک ابتلا به سالمونلا در گلّه‌های تخم‌گذار می‌شود (Van Hoorebeke, 2010).

خوراک یک ناقل عمده بالقوه برای انتقال میکروارگانیسم‌ها به بدن طیور محسوب می‌شود. پیشنهاد شده است که وقوع آلودگی سالمونلا در خوراک و در تولید آن ممکن است به دلیل سالمونلای انتقال‌یافته از پرندگان وحشی و جوندگان باشد. پلت و دان آردی با مواد تشکیل‌دهنده با منشا جانوری با بالاترین میزان وقوع آلودگی، از دیرباز به‌عنوان شاخصه‌ای جهت آلودگی سالمونلا در سیستم‌های تولید و پرورش مرغ به رسمیت شناخته شده است. بنابراین، خوراک به‌عنوان یک عامل در کنترل سالمونلا محسوب می‌شود. در سال‌های اخیر بررسی‌های دقیقی در ارتباط با آلودگی‌های باکتریایی تولیدات طیور به‌عمل آمده است. تمامی روش‌های متداول برای کنترل میکروارگانیسم‌های موجود در خوراک مؤثر نیستند. مطالعه حاضر حاکی از آن است که نمونه‌های خوراک از حیث آلودگی به سامونلا منفی بودند. یکی از دلائل منفی شدن نمونه‌های خوراک، عدم وجود پودر گوشت و پودر استخوان در خوراک می‌باشد، زیرا پودر گوشت و پودر استخوان به‌عنوان راه‌های ورود آلودگی به خوراک محسوب می‌شوند.

در سال ۱۹۶۱ در یک بررسی، ۵۹ سروتیپ مختلف سالمونلا در ۷۰۰ نمونه از ۵۷۰۰ نمونه اجزاء محصولات فرعی حیوانی مورد آزمایش، جدا گردید (Morehouse and Wedman,1961). نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر در خصوص جداسازی سالمونلا از خوراک، مطابقت ندارد.

در سال ۱۹۶۷ در آزمایشی که در یک کارخانه خوراک دام و طیور انجام شد، نشان داده شد که ۲ درصد اجزاء مواد خوراکی وارده به کارخانه آلوده به سالمونلا هستند. با این حال وقتی که پودر گوشت از داده‌ها حذف شد، درصد آلودگی به ۲ نمونه در ۳۰۰ نمونه (۰/٦٦ درصد) کاهش یافت. در همان زمان این محققین پیشنهاد نمودند که تنها راه‌حل ممکن برای از بین بردن سالمونلا در خوراک، استفاده از جیره‌های غذایی تهیه‌شده بر اساس منابع پروتئینی گیاهی می‌باشد، درحالی‌که امروزه از چنین جیره‌هایی فقط در شرایط خاصی استفاده می‌شود. به نظر می‌رسد سالمونلا در منابع پروتئینی حیوانی می‌تواند از طروق مختلفی چون فرآوری، ذخیره و انتقال، افزایش یابد (Crane *et al.*, 1967). نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر در خصوص جداسازی سالمونلا از خوراک، مطابقت ندارد.

در سال ۱۹٦۷، ۱۳۰۰۰ نمونه از ۷۰۰ کارخانه تهیه دان برای وقوع سالمونلا در آنها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که ۵ درصد خوراک‌های

طیور نمونه‌برداری‌شده برای سالمونلا مثبت بودند، اگرچه میزان وقوع سالمونلا در محصولات فرعی حیوانی، ۳۱ درصد گزارش شد (Allred *et al.*, 1967). نتایج این تحقیق نیز با مطالعه حاضر در خصوص جداسازی سالمونلا از خوراک، مطابقت ندارد.

در این رابطه، پژوهشی نشان داد که پودر ماهی اغلب آلوده به سالمونلا می‌باشد و حیواناتی که از آن تغذیه می‌کنند، آلوده می‌شوند. در این زمینه این محققین مشاهده نمودند، وقتی‌که نمونه‌های تازه ماهی زنده در نقطه مبدأ عاری از سالمونلا شدند، نمونه‌های پودر ماهی وارده به ایالات متحده امریکا اغلب آلوده به سالمونلا بودند. آنها همچنین سالمونلا را از آب کنار اسکله بارگیری پودر ماهی جدا نمودند (Morris *et al.*, 1970).

این بررسی نشان داد عمده سالمونلا در مزارع مرغ مادر گوشتی ایران به ترتیب *سالمونلا انتریتیدیس*، *سالمونلا اینفانتیس* و *سالمونلا موریوم* می‌باشد. همچنین نمونه‌های خوراک، همگی منفی بودند.

با توجه به نتایج مطالعه اخیر، موارد ذیل به‌عنوان پیشنهاد در راستای کاهش موارد آلودگی به سالمونلا در گله‌های مرغ مادر گوشتی پیشنهاد می‌گردد:

۱- اجرای دقیق برنامه امنیت زیستی در مزارع پرورشی مرغ مادر

۲- انجام مطالعات بیشتر در رابطه با امکان استفاده از واکسن سالمونلا در گله‌های مرغ مادر گوشتی کشور

۳- اجرای برنامه پایش و نمونه‌گیری مستمر و برنامه-ریزی‌شده در واحدهای مرغ مادر گوشتی

٤- مبارزه وسیع و همه‌جانبه در مزارع پرورشی طیور با جوندگان.

سپاسگزاری

نویسندگان وظیفه خود می‌دانند از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که این مطالعه را حمایت مالی نمودند، تشکر و قدردانی نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

- Akbarian, R., Peighambari, S.M., Morshed, R. and Yazdani, A. (2012). Survey of Salmonella infection in Iranian poultry flocks. Iranian Veterinary Journal, 8(3): 5-10. [In Persian]
- Akbarian, R., Peighambari, S.M. and Barin, A. (2009). Serologic profile of Salmonella enteritidis in poultry flocks of Iran. Journal of Veterinary Research, 64(2): 109-113. [In Persian]
- Akbarmehr, J., zahraei Salehi, T. and Nikbakht, Gh. (2010). Identification of salmonella isolated from poultry by MPCR technique and evaluation of their hsp groEL gene diversity based on the PCR-RFLP analysis. African Journal of Microbiology Research, 4(15): 1599-1604.

- Allred, J.N., Walker, J.W., Beal, V.C. and Germaine, F.W. (1967). A survey to determine the salmonella contamination rate in livestock and poultry feeds. Journal of American Veterinary Medical Association, 161: 1857-1860.
- Arsenault, J., Letellier, A., Quessy, S., Normand, V. and Boulianne, M. (2007). Prevalence and risk factors for Salmonella spp. and Campylobacter spp. caecal colonization in broiler chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada. Preventive Veterinary Medicine, 81(4): 250-264.
- Barua, H., Biswas, P.K., Olsen, K.E. and Christensen, J.P. (2012). Prevalence and characterization of motile Salmonella in commercial layer poultry farms in Bangladesh. PLoS ONE, 7: e35914.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. and Truck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. The American Journal of Clinical Pathology, 45(4): 493-496.
- Buhr, R.J., Richardson, L.J., Cason, J.A.N.A. and Fairchild, B.D. (2007). Comparison of four sampling methods for the detection of salmonella in broiler litter. Poultry Science, 86: 21-25.
- Carrique-Mas, J.J. and Davies, R.H. (2009). Sampling and bacteriological detection of salmonella in poultry and poultry premises. Revue Scientifique et Technique. International Office of Epizootics, 27(3): 665-677.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). Performance standard for antimicrobial susceptibility testing. 22nd informational supplement, M100-S22, 32(3): 1-40.
- Crane, F.M., Hansen, M. and Schugel, L. (1967). Salmonella in feedstuffs. Feedstuffs 8 July, pp: 22.
- Ezatpanah, E. Moradi Bidhendi, S. Khaki, P. Ghaderi, R. Seyedan Jasbi, E. and Moghtadaee Far, S. (2013). Isolation, serotyping and antibiotic-resistance pattern of isolated salmonella from chicken of Arak. Iranian Veterinary Journal, 9(2): 88-96. [In Persian]
- Garber, L. (2003). Salmonella enterica serotype enteritidis in table egg layer house environments and in mice in US layer houses and associated risk factors. Avian Diseases, 47(1): 134-142.
- Gast, R.K. (2013). Paratyphoid infections. In: Diseases of Poultry. Swayne, D.E., Glisson, J.R., Mcdouglad, L.R., Nolan, L.K. and Suarez, D.L. editors. 13th ed., John Wiley and Sons, Inc. Publication, pp: 673-736.
- Huneau-Salaün, A. (2009). Risk factors for Salmonella enterica subsp. enterica contamination in 519 French laying hen flocks at the end of the laying period. Preventive Veterinary Medicine, 89(1): 51-58.
- Iranian National Standards Organization, Instruction for sampling animal feeding stuffs. Iran Veterinary Organization, number: 44/32673-85/7/5.
- Iranian National Standards Organization, Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of salmonella. Standard number: 1810, third revise 2002: 2-22.
- Iranian National Standards Organization, Microbiology of food and animal feeding stuffs-sampling. Standard number: 7570.
- Jamshidi, A., Kalidari, G.A. and Hedayati, M. (2010). Isolation and identification of Salmonella enteritidis and Salmonella typhimurium from the eggs of Retail stores in Mashhad-Iran using conventional culture method and multiplex PCR assay. Journal of Food Safety, 30: 558-568.
- Le Bouquin, S., Allain, V., Rouxel, S., Petetin, I., Picherot, M., Michel, V., *et al*. (2010). Prevalence and risk factors for Salmonella spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. Preventive Veterinary Medicine, 97(3): 245-251.
- Lister, S.A. and Barrow, P. (2008). Enterobacteriaceae. In: Poultry Diseases. Pattison, M., McMullin, P., Bradbury, J.M. and Alexander, D. editors. 6th ed., Elsevier Ltd, pp: 115-142.
- Mitchell, L.C. (1992). Epidemiology of drug resistance, implications for a post-antimicrobial era. Science, 257(5073): 1050-1055.
- Mollenhorst, H. (2005). Risk factors for Salmonella enteritidis infections in laying hens. Poultry Science, 84(8): 1308-1313.

- Morales, R.A. and McDowell, R.M. (1999). Economic consequences of Salmonella enterica serovar Enteritidis infection in humans and the US egg industry. Salmonella enterica serovar enteritidis in humans and animals. USA: Ames Press, Iowa State University, pp: 271-290.
- Morehouse, L.G. and Wedman, E.E. (1961). Salmonella and other disease producing organism in animal byproducts: a survey. Journal of American Veterinary Medical Association, 139: 989-994.
- Morris, G.K., Martin, W.T., Shelton, W.H., Wells, J.G. and Brachman, P.S. (1970). Salmonella in fish meal plants: relative amounts of contamination at various stages of processing and a method of control. Applied Microbiology, 19: 401-408.
- Morshed, R. (2013). Bacteriological study of broiler flocks (Salmonella contamination) in Amol city. Veterinary Journal, 25(4): 23-28. [In Persian]
- Morshed, R. and Peighambari, S.M. (2010). Salmonella infections in poultry flocks in the vicinity of Tehran. International Journal of Veterinary Research, 4(4): 273-276.
- Mueller-Doblies, D., Sayers, A.R. Carrique-Mas, J.J. and Davies, R.H. (2009). Comparison of sampling methods to detect Salmonella infection of turkey flocks. Journal of Applied Microbiology, 107: 635-645.
- Namata, H. (2008). Salmonella in Belgian laying hens: An identification of risk factors. Preventive Veterinary Medicine, 83: 323-336.
- Paiao, F.G., Arisitides, L.G.A., Murate, L.S., Vilas-Bôas, G.T. and Shimokomaki, M. (2013). Detection of Salmonella spp, Salmonella enteritidis and typhimurium in naturally infected broiler chickens by a multiplex PCR-based assay. Brazilian Journal of Microbiology, 44(1): 37-41.
- Rasschaert, G. (2007). Molecular epidemiology of Salmonella and Campylobacter contamination of poultry during transport and slaughter. Thesis submitted in the fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Veterinary Science (Ph.D), Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University.
- Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.A., Roy, S.L., *et al*. (2011). Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens. Emerging Infectious Disease, 17(1).
- Snow, L. (2010). Investigation of risk factors for Salmonella on commercial egg-laying farms in Great Britain, 2004-2005. The Veterinary Record, 166(19): 579.
- Soumet, C. (1999). Identification by a multiplex PCR-based assay of Salmonella typhimorium and Salmonella entritidis strain from environmental swab of poultry houses. Letter in Applied Microbiology, 29: 1-6.
- Van Hoorebeke, S. (2010). Determination of the within and between flock Prevalence and Identification of risk factors for Salmonella infections in laying hen flocks housed in conventional and alternative systems. Preventive Veterinary Medicine, 94(1): 94-100.
- Waltman, W.D. and Gast, R.K. (2008). Sallmonellosis. In: A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens. Dufour-Zavala, L., Swayne, D.E., Glisson, J.R., Pearson, J.E., Reed, W.M., Jackwood, M.W. and Woulcock, P.R. editors. American Association of Avian Pathologists, Athens, GA, pp: 3-10.
- Zahraei Salehi, T. (1999). Salmonella. 1st ed. Iran: University of Tehran, pp: 1-97. [In Persian]
- Zahraei Salehi, T., Mahzounieh, M. and Saeedzadeh, A. (2005). The isolation of antibiotic-resistant Salmonella from intestine and liver of poultry in Shiraz province of Iran. International Journal of Poultry Science, 4(5): 320-322.

Isolation of Salmonella from Iranian broiler breeder farms and feed

Mayahi, M.[1*], Talazadeh, F.[2], Jafari, R.A.[3], Keshavarz Zamanian, V.[4]

1- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
4- PhD Student, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
*Corresponding author's email: mansoormayahi@scu.ac.ir
(Received: 2017/3/12 Accepted: 2017/11/8)

Abstract

Contamination of poultry by *salmonella* spp. is an important issue both in the field of public health as well as in the poultry industry and poultry have a significant role in transmission and incidence of human salmonellosis. The aim of the present study was isolation and identification of *Salmonella* spp. in Iranian broiler breeder farms and their feed. Samples from Sixty two broiler breeder farms and their feed from 21 states of Iran were collected during one year. All samples were cultured in different conventional media, including pre-enrichment, enrichment, selective plating and 18 Salmonella isolates were identified. Salmonella identification was confirmed by multiplex PCR and 12 isolates were confirmed. Out of positive samples, seven samples (58.33%) were *Salmonella enteritidis* in Ghazvin, Mazandaran and Markazi provinces, three samples (25%) were *Salmonella infantis* in Kordestan and southern Khorasan provinces, and two samples (16.6%) were *Salmonella typhimurium* in Fars and Lorestan provinces. All feed samples were negative. The results of this study showed that some breeder farms in Iran are contaminated with Salmonella and the most prominent Salmonella in broiler breeder farms are *Salmonella enteritidis, Salmonella infantis*, and *Salmonella typhimurium* respectively.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Salmonella isolation, Broiler breeder farms, Feed, Multiplex PCR.