BRIEF REPORT

# *Antibiotic Resistance Pattern of Salmonella Isolated from Hamburgers and Detection of their Sensitivity to Some Essential Oils*

Reza Sharafati Chaleshtori[1],
Navid Mazroii Arani[2],
Mohsen Taghizadeh[3],
Farhad Sharafati Chaleshtori[4]

[1] Assistant Professor, Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
[2] MSc in Food Science and Technology, Food and Hygiene Control Laboratory, Deputy of Food and Drug, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
[3] Associate Professor, Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
[4] MSc in Microbiology, Medicinal Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

(Received August 31, 2016 ; Accepted February 13, 2017)

## *Abstract*

**Background and purpose:** Antibiotic resistance has prompted the use of medicinal plants with low side effects instead of common drugs. The aim of this study was to identify the contamination level of industrial hamburgers to salmonella, detecting their antibiotic resistance pattern, and their sensitivity to *Ferula gummosa*, *Citrus limon*, *Rosmarinus officinalis*, *Pelargonium roseum*, *Zataria multiflora*, *Bunium persicum*, *Mentha piperita*, *Eucalyptus globulus*, *Lavandula angustifolia*, *Rosa damascene*, *Artemisia dracunculus*, and *Ocimum basilicum* essential oils.

**Materials and methods:** In a cross-sectional study, 100 samples were randomly purchased from local markets in Kashan and evaluated for occurrence of *Salmonella* by culture media. Antimicrobial susceptibility of the isolates was evaluated using disc diffusion. Also, susceptibility of the isolates to 12 plant essential oils was evaluated by disc diffusion and microdilution methods.

**Results:** Two samples (2%) were contaminated with *Salmonella* that one was *Salmonella* serogroup C2 (antigen O8) and the other isolate was not in any serogroup. Disk diffusion method showed that the two isolates were 100% resistant to at least one antibiotic or more. The isolates were resistant to most of the antibiotics such as *chloramphenicol, kanamycin*, *ceftriaxone, ceftazidime, and amoxicillin*/*clavulanic acid*. The inhibitory effect of *Zataria multiflora* essential oil on growth of *Salmonella* was the highest with minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of 0.39 and 0.78 mg/mL, respectively, and the mean zone of inhibition growth of 23.67±1.18 mm.

**Conclusion:** Antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from hamburgers was high. The essential oils used in this study exhibited high anti-*Salmonella* properties compared to common antibiotics and could be used as a beneficial medicinal plant.

***Keywords:*** drug resistance, *Salmonella,* hamburger, essential oils

**J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27(148):136-142(Persian).**

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هفتم شماره ۱۴۸ اردیبهشت سال ۱۳۹۶ (۱۴۲-۱۳۶)

# تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سالمونلای جدا شده از همبرگر و حساسیت آن ها به تعدادی از اسانس ها

**رضا شرافتی چالشتری[۱]**
**نوید مزروعی آرانی[۲]**
**محسن تقی زاده[۳]**
**فرهاد شرافتی چالشتری[۴]**

## چکیده

**سابقه و هدف:** افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی سبب افزایش استفاده از گیاهان دارویی با اثرات جانبی کم به جای داروهای معمول شده است. هدف از این مطالعه بررسی آلودگی همبرگرهای صنعتی به سالمونلا، تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن ها و حساسیت آن ها به اسانس‌های باریجه، لیمو، رزماری، ژرانیوم، آویشن، زیره، نعنا، اکالیپتوس، لاوند، گلسرخ، ریحان و ترخون بوده است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه توصیفی مقطعی از تیر سال ۱۳۹۴ تا تیر سال ۱۳۹۵ تعداد ۱۰۰ نمونه همبرگر صنعتی به طور تصادفی از مکان‌های فروش در کاشان خریداری و میزان شیوع سالمونلا به روش کشت بررسی شد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های جدا شده به روش دیسک دیفیوژن بررسی شدند. هم‌چنین حساسیت ایزوله های جدا شده نسبت به ۱۲ اسانس به روش دیسک دیفیوژن و میکرودایلوشن بررسی شدند.

**یافته‌ها:** ۲ نمونه (۲ درصد) از همبرگرها به سالمونلا آلوده بودند. یکی از آن‌ها دارای آنتی ژن سوماتیک O8 (گروه سرمی C2) و یکی از آن‌ها در هیچ کدام از گروه های سرمی قرار نگرفت. دو ایزوله جدا شده ۱۰۰ درصد به یک یا چند آنتی‌بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن مقاوم بودند. ایزوله‌ها مقاوم به بیش‌تر آنتی‌بیوتیک‌ها هم‌چون کلرامفنیکل، آموکسی سیلین-کلاولانیک اسید، کانامایسین، سفتریاکسون و سفتازیدیم بوند. بیش‌ترین اثر مهاری رشد روی سالمونلاها توسط اسانس آویشن به ترتیب با حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی برابر ۰/۳۹ و ۰/۷۸ میلی گرم در میلی لیتر بود و میانگین قطر هاله رشد ۱/۱۸±۲۳/۶۷ میلی متر ایجاد شد.

**استنتاج:** مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلاهای جدا شده از همبرگرها بالا بود. اسانس‌های مورد استفاده دارای اثرات ضدباکتریایی بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های معمول داشتند و می‌توانند به عنوان گیاهان دارویی مفید استفاده شوند.

**واژه های کلیدی:** مقاومت دارویی، سالمونلا، همبرگر، اسانس

## مقدمه

امروزه استفاده از غذاهای آماده به مصرف رو به افزایش بوده که این نوع غذاها می‌توانند به صورت خام و یا تحت پروسه‌های حرارتی قرار گرفته و مصرف شوند. یکی از مهم‌ترین این محصولات همبرگر است

**مولف مسئول: رضا شرافتی چالشتری**- کاشان: مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک E-mail: sharafati.reza@gmail.com
۱. استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۲. کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و بهداشتی، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۳. دانشیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۴. کارشناسی ارشد میکروب شناسی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۶/۱۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۵/۶/۱۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۱۱/۲۵

که ماده اصلی تشکیل دهنده آن را گوشت گاو و یا گوساله تشکیل می‌دهد. این فرآورده پس از آماده‌سازی بدون دریافت هیچ‌گونه فرآیند حرارتی، منجمد شده و به‌صورت خام عرضه می‌شود. بنابراین به عنوان یک ماده غذایی پرمصرف ایمنی میکروبی آن مورد توجه می‌باشد(۲،۱).

باکتری سالمونلا به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل باکتریایی آلوده‌کننده مواد غذایی در سراسر جهان به شمار می‌رود. صرف انواع گوشت و فرآورده‌های گوشتی خام آلوده به این باکتری، از عوامل عمده ایجاد کننده عفونت‌های گوارشی، تب روده (حصبه) و سپتی سمی در انسان هستند(۴،۳). در بررسی‌های گذشته شیوع آلودگی سالمونلایی در گوشت‌های بسته‌بندی شده و غیر بسته‌بندی شده به ترتیب ۲۲/۳ و ۱۶/۴ درصد(۵)، آلودگی سالمونلایی همبرگر صنعتی ۶۰ درصد، گوشت ۱۸ درصد و همبرگر های دست ساز ۵۰ درصد در شهر کرمانشاه گزارش شدند(۶).

ظهور و گسترش مقاومت در این پاتوژن می‌تواند به دلیل افزایش مصرف آنتی بیوتیک‌ها در سطح مراکز پرورشی دام‌ها و مرغداری باشد که در سال‌های اخیر به یک نگرانی جدی تبدیل شده که به دلیل احتمال انتقال ژن‌های مقاومت به سایر باکتری‌های پاتوژن قابل انتقال بین حیوان و انسانی می‌باشد(۸،۷). بررسی‌های انجام شده در ایران و سایر کشورها نشان‌دهنده ایجاد الگوهای مقاومت چند دارویی و افزایش آن‌ها در سروتیپ‌های جدا شده از انواعی از مواد غذایی با منشاء خام دامی می‌باشد(۹،۴،۱).

گیاهان دارویی از منابع بالقوه‌ای هستند که از زمان‌های گذشته خواص درمانی و دارویی آن‌ها مورد توجه بوده است. اسانس‌های گیاهی به‌طور هم زمان به بخش‌های مختلفی از باکتری‌ها اثر کرده که این امر باعث اهمیت آن‌ها در درمان و عدم بروز مقاومت‌های زیاد و چشم‌گیر در آن‌ها گشته است(۱۱،۱۰). در مطالعه‌های گذشته اثر ضد باکتریایی اسانس‌های مرزه، آویشن، پونه، زیره و نعنا روی *سالمونلا*های تیفی موریوم، پاراتیفی A و B (۱۲) و لیمونن، ترانس سینامآلدهید و کارواکول روی *سالمونلا*های *هایدلبرگ* جدا شده از منابع مختلف(۱۳) گزارش شده است.

بنابراین با توجه به این که مطالعات اندکی در مورد آلودگی همبرگر به سالمونلا در ایران صورت گرفته است، اهمیت موضوع و احتمال انتقال مقاومت از طریق باکتری‌های موجود در مواد غذایی و هم چنین شناسایی منابع طبیعی جایگزین داروهای شیمیایی و ضد باکتریایی، هدف از این مطالعه بررسی آلودگی همبرگرهای صنعتی به سالمونلا، تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آن‌ها و حساسیت آن‌ها به تعدادی از اسانس‌ها بوده است.

## مواد و روش ها

در این مطالعه توصیفی مقطعی که از تیر سال ۱۳۹۴ تا تیر سال ۱۳۹۵ روی ۱۲ برند صنعتی همبرگر عرضه شده در شهرستان کاشان صورت گرفت، تعداد ۱۰۰ نمونه بر اساس فرمول محاسبه تعداد نمونه ($n= z^2 pq/d^2$) و بر اساس Z = ۱/۹۶ (۹۵ درصد)، d = ۰/۰۵ و p =۷ درصد به دست آمد. نمونه‌های همبرگر به روش تصادفی پس از جمع‌آوری از مراکز توزیع سریعاً در کنار یخ به آزمایشگاه میکروب‌شناسی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی کاشان منتقل شدند. جهت شناسایی سالمونلا از روش استاندارد ملی ایران با شماره ۱۸۱۰ استفاده شد(۱۷). پس از جداسازی نمونه‌ها، آزمون‌های بیوشیمیایی جهت تایید سالمونلا شامل TSI، اوره آز، اندل، سیترات، آزمون ONPG، آزمون MR-VP و آزمایش حرکت انجام گرفت. جهت شناسایی و تعیین گروه‌های سرمی سالمونلاها از کیت سرولوژیکی بهارافشان ساخت ایران بر اساس آنتی سرم‌های پلی‌والان O استفاده شد(۱۴،۵). جهت تعیین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های ایزوله شده از روش کربی بائر و بر اساس دستورالعمل Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) روی محیط مولر هینتون آگار (Merck, Germany) استفاده شد(۱۵). آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده تهیه شده

از شرکت‌های مدیای هند شامل تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، تری‌متوپریم- سولفامتاکسازول (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۱۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین- کلاولانیک اسید (۳۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم)، نورفلوکساسین (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم) و کانامایسین (۳۰ میکروگرم) بودند.

گیاهان باریجه (*Ferula gummosa*)، لیمو (*Citrus limon*)، رزماری (*Rosmarinus officinalis*)، ژرانیوم (*Pelargonium roseum*)، آویشن (*Zataria multiflora*)، زیره (*Bunium persicum*)، نعنا (*Mentha piperita*)، اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*)، لاوند (*Lavandula angustifolia*)، گلسرخ (*Rosa damascene*)، ریحان (*Ocimum basilicum*) و ترخون (*Artemisia dracunculus*) از یکی از مراکز فروش گیاهان دارویی در کاشان تهیه شدند و پس از تایید گیاهان در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی باریج اسانس، در مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک دانشگاه علوم پزشکی کاشان به شماره‌های ۵ تا ۱۷ کدگذاری و نگهداری شدند. برای تهیه اسانس‌ها، گیاهان در سایه خشک و آسیاب شدند و سپس توسط دستگاه کلونجر (Clevenger) اسانس‌گیری شدند(۱۶). جهت تعیین قطر هاله عدم رشد سالمونلاها از روش دیسک دیفوژن استفاده شد. به عنوان کنترل منفی، دیسک بلانک و کنترل مثبت از دیسک آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین (۱۰ میکروگرمی) استفاده شد(۱۷).

جهت تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل میزان کشندگی برای ایزوله‌های باکتری به روش میکرودایلوشن، از پلیت‌های الایزا استریل استفاده شد. ابتدا در هر چاهک، ۹۵ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث (Merck, Germany) اضافه نموده، سپس ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل لوله ۰/۵ مک فارلند به همه چاهک‌ها اضافه شد. سپس به هر کدام از چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های متوالی (serial two-fold dilutions) اسانس‌ها معادل (۱۰۰-۰/۱۹۵ میلی‌گرم در میلی لیتر) تهیه شده در حلال دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) ۲ درصد حجم به حجم اضافه شد. چاهک شماره ۱۱ صرفاً حاوی ۱۹۵ میکرولیتر محیط کشت حاوی حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) به اضافه ۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی بدون اسانس، به عنوان کنترل منفی و چاهک شماره ۱۲ حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث به اضافه ۱۰۰ میکرولیتر اسانس به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. پس از مخلوط کردن نمونه‌ها توسط شیکر ( ۲۰ ثانیه با دور ۳۰۰ rpm) آن‌ها را به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در انکوباتور ۱±۳۷ درجه قرار داده و چاهک‌ها از نظر وجود کدورت و یا عدم کدورت مورد بررسی قرار گرفتند. رقت چاهک حاوی کم‌ترین غلظت اسانس که باعث جلوگیری از رشد باکتری (عدم ایجاد کدورت) شد به عنوان میزان حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری (MIC) تعیین شد و سپس از نمونه‌های چاهک‌های بدون کدورت روی محیط کشت مولر هینتون آگار پاساژ داده و میزان حداقل غلظت کشندگی باکتری(MBC ) نیز تعیین شد(۱۶). داده‌های حاصل از سه بار تکرار در این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۱۶ (SPSS Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت مقایسه میانگین‌ها نیز از آنالیز واریانس (ANOVA) با سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ استفاده شد.

## یافته ها و بحث

بر اساس نتایج به دست آمده از تعداد ۱۰۰ نمونه همبرگر تنها ۲ نمونه (۲ درصد) آلوده به سالمونلا مثبت بودند. از ۲ نمونه سالمونلا ایزوله شده، یکی از آن‌ها دارای آنتی‌ژن سوماتیک O8 (گروه C2) و یکی از

آن‌ها در هیچ‌کدام از گروه های سرمی قرار نگرفت. سالمونلا گروه سرمی C2 نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بود و تنها به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین حساس بود و حساسیت آن نسبت به آنتی بیوتیک کوتریموکسازول (تری‌متوپریم- سولفامتاکسازول) نیز به صورت بینابینی بود. دو نمونه سالمونلای ایزوله شده، ۱۰۰ درصد دارای مقاومت چند دارویی بودند. به‌طوری که هر دو سالمونلا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، آموکسی‌سیلین- کلاولانیک اسید، کانامایسین، سفتریاکسون و سفتازیدیم مقاوم بودند. در مطالعه‌ای سالمونلاهای جدا شده از انواعی از سوسیس‌ها، پاته‌های برگر و گوشت خام در سروگروپ‌های B، C و E/G بودند که اغلب الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها مقاومت به سولفوترایید، سولفوفورازول، تتراسیکلین و کوتریماکسازول بودند. هم‌چنین بیش‌ترین مقاومت را سالمونلاهای سروگروپ B و C نشان دادند(۱۸). این در حالی است که مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، آموکسی‌سیلین-کلاولانیک اسید، کانامایسین، سفتازیدیم و به ویژه سفتریاکسون به عنوان یک داروی انتخابی در درمان سالمونلوزیس بچه‌ها مشاهده شد.

تفاوت‌های مشاهده شده در مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع، میزان و تداوم مصرف آنتی‌بیوتیک در مکان و زمان‌های متفاوت باشد(۱۹،۹). بیش‌ترین اثر ضدمیکروبی و قطر هاله عدم رشد علیه سالمونلایی که گروه سرمی مشخصی نداشت به ترتیب مربوط به اسانس زیره، آویشن، باریجه، گلسرخ و ژرانیوم بود (p<۰/۰۵). هم‌چنین بیش‌ترین قطر هاله عدم رشد علیه سالمونلایی گروه سرمی C2 به ترتیب مربوط به آویشن، زیره و ژرانیوم بود (p<۰/۰۵). اسانس‌های زیره و آویشن بیش‌ترین اثر ضد میکروبی را با ایجاد هاله عدم رشد به ترتیب علیه سالمونلایی که گروه سرمی مشخصی نداشت (۱/۵۳±۲۵/۳۳ و ۱/۰۰±۲۳ میلی‌متر) و سالمونلای گروه سرمی C2 (۰/۵۸±۲۴/۳۳ و ۱/۵۳±۲۴/۶۷ میلی‌متر) داشتند. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین اثر دو اسانس مذکور روی دو سالمونلا وجود نداشت (p>۰/۰۵). این در حالی است که سایر اسانس‌ها اثر ضد میکروبی بیش‌تری علیه سالمونلایی که گروه سرمی مشخصی نداشت نسبت به سالمونلای گروه سرمی C2 نشان دادند (p<۰/۰۵). میزان MIC و MBC به دست آمده اسانس‌ها برای هر دو سالمونلای ایزوله شده به ترتیب مقدار بین ۰/۳۹ تا ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۰/۷۸ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. هم‌چنین کم‌ترین میزان MIC و MBC به دست آمده اسانس‌ها برای دو سالمونلا مربوط به اسانس آویشن به ترتیب مقدار ۰/۳۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۰/۷۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

امروزه استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به دلیل دارا بودن انواع ترکیبات فنولی که دارای خاصیت ضد میکروبی هستند به عنوان جایگزین مناسب داروهای شیمیایی با اثرات جانبی زیاد در صنایع دارویی و غذایی پیشنهاد شده‌اند(۲۱،۲۰).

در مطالعه‌ای اثر اسانس مرزه، آویشن، نعنا، زیره و لاوند بر *سالمونلا تایفی موریوم*، *سالمونلا پاراتیفی* A و B به روش دیسک دیفیوژن بررسی شد و اثر ضد سالمونلایی آن‌ها نشان داده شد. اسانس‌های مذکور در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ درصد در مدل‌های غذایی سبب کاهش جمعیت سالمونلاهای تلقیح شده به انواع گوشت‌های گاو، جوجه و ماهی شدند(۱۲). در سایر مطالعه‌ها اثر ضد باکتریایی اسانس آویشن شیرازی بر *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، تتراسیکلین و کوتریموکسازول(۲۲)، اسانس لاوند همراه با اسانس لیمو و یا دارچین بر *استافیلوکوکوس ارئوس* جداشده از نمونه‌های کلینیکی نشان داده شدند(۲۳). نتایج این مطالعات با بررسی حاضر در اثر بخشی عصاره‌ها و اسانس‌ها روی سالمونلا هم سو بود ولی تفاوت‌ها در میزان غلظت‌های اثر بخش بر باکتری‌ها می‌تواند ناشی از نوع گیاه، روش کار متفاوت، منطقه جغرافیایی برداشت گیاه باشد(۲۵،۲۴).

## سپاسگزاری

نویسندگان از همکاران مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان کمال تشکر را دارند.

## References

1. Yang X, Huang J, Wu Q, Zhang J, Liu S, Guo W, et al. Prevalence, antimicrobial resistance and genetic diversity of *Salmonella* isolated from retail ready-to-eat foods in China. Food Control 2016; 60: 50-56.
2. Hajimohammadi B, Dehghani A, Moghadam Ahmadi M, Eslami G, Oryan A, Khamesipour A. Prevalence and species identification of *Sarcocystis* in raw hamburgers distributed in Yazd, Iran using PCR-RFLP. J Food Qual Hazards Control 2014; 1(1): 15-20.
3. Sinwat N, Angkittitrakul S, Coulson KF, Pilapil FM, Meunsene D, Chuanchuen R. High prevalence and molecular characteristics of multidrug resistant *Salmonella* in pigs, pork and humans in Thailand-Laos provinces. J Med Microbiol 2016; 65(10): 1182-1193.
4. Nguyen DT, Kanki M, Nguyen PD, Le HT , Ngo PT, Tran DN, et al. Prevalence, antibiotic resistance, and extended-spectrum and AmpC beta-lactamase productivity of *Salmonella* isolates from raw meat and seafood samples in Ho Chi Minh City, Vietnam. Int J Food Microbiol 2016; 236: 115-122.
5. Soltan Dallal MM, Sharifi Yazdi M, Mirzaei N, Kalantar E. Prevalence of *Salmonella* spp. in packed and unpacked red meat and chicken in south of Tehran. Jundishapur J Microbiol 2014; 7(4): e9254.
6. Sadeghi E, Mesgraf H, Bakhshi S, Nazari Moghadam P. The monitoring of salmonella in the hamburgers and kebab in the city of Kermanshah in 2010-11. 12th National Confrence of Environmental Health 2012; 1-5 (Persian).
7. Sharafati-chaleshtori R, Sharafati-chaleshtori F, Zamanzad B. The comparison of the antimicrobial resistance pattern (antibiotyping) of *Staphylococcus* strains isolated from orange and apple juices with the strains isolated from clinical samples, Shahrekord, Iran, 2007. J Shahrekord Univ Med Sci 2009; 11(2): 47-51 (Persian).
8. Sharafati-chaleshtori R, Sharafati-chaleshtori F, Karimi A. Antibiotic resistance pattern of *staphylococcus* strains isolated from orange and apple juices in Shahre-kord, Iran. Pak J Med Sci 2010; 26(3): 615-618.
9. Morshed R. Resistance patterns to antibiotics in *Salmonella* serovars isolated from broiler flocks in Amol, Iran. Veternary Journal 2013; 26(4)(101): 31-39 (Persian).
10. Bigos M, Wasiela M, Kalemba D, Sienkiewicz M. Antimicrobial activity of geranium oil against clinical strains of *Staphylococcus aureus*. Molecules 2012; 17(9): 10276-10291.
11. Yap PS, Yiap BC, Ping HC, Lim SHE. Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance. Open Microbiol J 2014; 8(1): 6-14.
12. Mazhar S, Aliakbari F, Karami-Osboo R, Morshedi D, Shariati P, Farajzadeh D. Inhibitory effects of several essential oils towards *Salmonella typhimurium* ,*Salmonella paratyphi* A and *Salmonella paratyphi* B. Appl Food Biotechnol 2014; 1(1): 45-54.
13. Calo JR, Baker CA, Park SH, Ricke SC.

*Salmonella Heidelberg* strain responses to essential oil components. J Food Res 2015; 4(5): 73.

14. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding stuffs Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. 4th Revision, INSO 1810. 2015: 1-38 (Persian).
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute. USA: Wayne, PA19087. 2014.
16. Sharafati Chaleshtori F, Taghizadeh M, Rafieiankopaei M, Sharafatichaleshtori R. Effect of chitosan incorporated with cumin and eucalyptus essential oils as antimicrobial agents on fresh chicken meat. J Food Process Pres 2016; 40(3): 396-404.
17. Shahbazi Y. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Mentha spicata* essential oil against common food-borne pathogenic bacteria. J Pathog 2015; 2015: 916305.
18. Mrema N, Mpuchane S, Gashe BA. Prevalence of *Salmonella* in raw minced meat, raw fresh sausages and raw burger patties from retail outlets in Gaborone, Botswana. Food Control 2006; 17(3): 207-212.
19. Sharafati-Chaleshtori R, Mardani G, Rafieian-Kopaei M, Sharafati-Chaleshtori A, Drees F. Residues of oxytetracycline in cultured rainbow trout. Pak J Biol Sci 2013; 16(21): 1419-1422.
20. Sharafati-Chaleshtori R, Rokni N, Razavilar V, Rafieian Kopaei M. The evaluation of the antibacterial and antioxidant activity of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) essential oil and its chemical composition. Jundishapur J Microbiol 2013; 6(9):e7877.
21. Sharafati Chaleshtori R, Rafieian Kopaei M, Rokni N, Mortezaei S, Sharafati Chaleshtori A. Antioxidant activity of *Zataria multiflora* hydroalcoholic extract and its antibacterial effect on *Staphylococcus aureus*. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 22(1): 88-94 (Persian).
22. Dallal M, Bayat M, Yazdi M, Aghaamiri S, Mashkani M, Mohtasab T, et al. Antimicrobial effect of *Zataria multiflora* on antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from food. J Kurdistan Univ Med Sci 2012; 17(2): 21-29 (Persian).
23. de Rapper S, Kamatou G, Viljoen A, van Vuuren S. The in vitro antimicrobial activity of *Lavandula angustifolia* essential oil in combination with other aroma-therapeutic oils. Evid Based Complement Alternat Med 2013; 2013.
24. Sharafati-Chaleshtori R, Rafieian-Kopaei M, Salehi E. Bioactivity of Apium petroselinum and Portulaca oleracea essential oils as natural preservatives. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(3): e20128.
25. Sharafati Chaleshtori R, Rokni N, Rafieian Kopaei M, Drees F, Salehi E. Antioxidant and antibacterial activity of Basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil in beef burger. J Agri Sci Technol 2015; 17(4): 817-826.