

< Original Article >

## 경남지역에서 분리한 *Salmonella* Enteritidis의 항생제 감수성 검사 및 random amplification polymorphic DNA (RAPD)-PCR을 이용한 유전형 분석

김은경<sup>1</sup> · 김민경<sup>1</sup> · 권현애<sup>1</sup> · 윤도경<sup>1</sup> · 구정현<sup>1</sup> · 박소연<sup>1</sup> · 이희근<sup>1</sup>  
조명희<sup>1</sup> · 하도윤<sup>1</sup> · 김철호<sup>1</sup> · 황보원<sup>1</sup> · 김상현<sup>2\*</sup>

경상남도 동물위생시험소<sup>1</sup>, 경상대학교 수의과대학 수의미생물학연구소<sup>2</sup>

### Analysis of antibiotic susceptibility of *Salmonella* Enteritidis isolated from Gyeongnam province and the bacterial genotyping by using RAPD-PCR

Eun-Gyeong Kim<sup>1</sup>, Min-Kyung Kim<sup>1</sup>, Hyun-Ae Kwon<sup>1</sup>, Do-Kyung Youn<sup>1</sup>,  
Jeong-Heon Koo<sup>1</sup>, So-Yeon Park<sup>1</sup>, Hui-Geun Lee<sup>1</sup>, Myeong-Hui Jo<sup>1</sup>,  
Do-Yun Hah<sup>1</sup>, Cheol-Ho Kim<sup>1</sup>, Bo-Won Hwang<sup>1</sup>, Sang-Hyun Kim<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Gyeongnam Veterinary Service Laboratory, Jinju 52733, Korea

<sup>2</sup>Laboratory of Veterinary Microbiology, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

(Received 8 May 2018; revised 10 September 2018; accepted 21 September 2018)

#### Abstract

*Salmonella* Enteritidis (*S. Enteritidis*) are found in animals, humans, and environment. In addition, *S. Enteritidis* draws attention to the public health concerns due to carriage of antibiotic resistance traits. For these reasons, the prevalence and antibiotic resistance patterns of *S. Enteritidis* are significant issues with regard to public health. To address this issues, a total of 24 strains of *S. Enteritidis* from 164 samples collected from several slaughterhouses in Gyeong-Nam province in order for antibiotic resistance profiles. Subsequently, we characterized the genotyping by random amplification polymorphic DNA (RAPD)-PCR. As a result, very high level of resistance to protein synthesis inhibition antibiotics and most isolates were susceptible to others. Six random primers were used for RAPD-PCR to reveal genotypes of *S. Enteritidis* isolates. One of the primer, P1245, generated 147 distinct RAPD-PCR fragments ranging from 400~3000 bp. The number of RAPD-PCR products ranged from 4 to 8 for this primer. The RAPD-PCR fragments could be placed these strains into 3 subgroups and 2 classes by UPGMA cluster analysis. Interestingly, several *S. Enteritidis* that isolated from different slaughterhouses showed same genotype. These results showed only limited genetic variation among the isolates, those were grouped into a few different patterns of antibiotic resistance.

**Key words :** *Salmonella* Enteritidis, Antibiotic resistance pattern, RAPD-PCR, Genotyping

#### 서 론

*Salmonella* Enteritidis (*S. Enteritidis*)는 사람과 동물  
의 장관에서 국소적인 장염을 일으킬 뿐 만 아니라,

\*Corresponding author: Sang-Hyun Kim, Tel. +82-55-772-2367,  
Fax. +82-55-772-2308, E-mail. [vetmicro@gnu.ac.kr](mailto:vetmicro@gnu.ac.kr)

장관을 통해 림프관 또는 혈류로 침입하여 다양한 동물에서 감염병을 일으킬 수 있는 병원성 세균이다 (Fluit AC, 2005). 사람에서 *S. Enteritidis*의 감염은 오염된 계란에 의한 전파가 가장 빈번하게 발생하고 있으며 (Byrd 등, 1999), 기타 농장동물 유래 축산물의 비위생적인 관리에 의해 식중독 위험이 있을 수 있다 (Bajaj 등, 2003a; Mrema 등, 2006). 최근 사람에서 *S. Enteritidis*에 의한 살모넬라증(Salmonellosis) 발병의 증가는 *S. Enteritidis*를 보균하는 닭에서 유래된 오염된 계란의 접촉 및 섭취 등에 의해 발생한다고 보고되었다(Baumler 등, 2000).

최근 전 세계에서 항생제 다제 내성 *Salmonella* spp.에 대한 관심이 점점 커져가고 있으며(Mikolajczyk과 Radkowski, 2002; Carraminana 등, 2004), 이에 서로 다른 식품으로부터 분리한 *Salmonella* spp.를 대상으로 항생제 내성에 관한 연구가 몇몇 보고되었다(Bajaj 등, 2003b; Carraminana 등, 2004; Mrema 등, 2006). 특히 항생제 다제 내성 미생물은 거의 모든 환경에 존재할 수 있어, 분리된 미생물을 대상으로 병원성 및 항생제 내성에 관한 역학 조사가 반드시 이루어져야만 된다.

*Salmonella* spp.의 역학 조사 분류 방법은 일반적으로 표현형과 유전형 분류법을 사용한다. 특히 형태 및 생리-생화학적 특성과 함께 Kauffmann-White법을 이용한 혈청형 분석법은 *Salmonella* spp.의 분류에 대표적으로 사용되는 방법이지만, 50 종류의 O 혈청그룹과 114 종류의 H 항원의 이용하는 것으로 그 조합이 너무나 복잡하고(Popoff 등, 2003), 혈청형의 정도 관리의 한계 및 낮은 분별력에 의해 역학적 분석 방법으로 사용하기엔 한계가 있다(McQuiston 등, 2004). 유전형 분석법은 random amplification polymorphic DNA (RAPD)을 포함하여 restriction fragment length polymorphism (RFLP), multi-locus enzyme electrophoresis (MLEE), pulse-field gel electrophoresis (PFGE) 그리고 ribotyping법 등이 있으며(Miyamoto 등, 1998), 그 중 RAPD법은 간단하고, 경제적이며, 미생물의 동정 및 구분, 특정 분자 마커 유전자 개발 등의 장점이 높아 유전형 분석법에 가장 보편적으로 사용되고 있는 방법이다.(Miyamoto 등, 1998; Mare 등, 2001; Soto 등, 2003; Betancor 등, 2004).

본 연구에서는 경남 지역의 도축장에서 164개의 검체를 대상으로 *S. Enteritidis*를 분리하고, 분리된 균주들의 항생제 감수성 패턴 분석 및 유전형의 특성을 RAPD-PCR 방법을 이용하여 조사하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 균주

2017년 3월에서 9월까지 경남 진주에 위치한 4곳의 도축장으로부터, 164개의 시료(33건의 가축 도체 및 131건의 분변)로부터 분리한 24주의 *S. Enteritidis*를 대상으로 하였다(Table 1).

### *S. enteritidis* 분리

가축 분변 및 Nasco swab액 1 mL를 9 mL의 Buffer Peptone Water (BPW)에 넣어 37°C에서 24시간 배양 후, Rappaport Vassiliadis Broth (RV)에 일정량을 분주하여 42°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후 RAMBACH 평판 배지에 도달 후 37°C에서 48시간 배양한 후, 붉은색 및 분홍색 집락을 MacConkey 평판 배지에 도달하고 37°C에서 48시간 배양한다. 배양 후 투명한 집락을 대상으로 VITEK MS™ (BioMérieux, Inc, France)으로 동정하였다.

### 항생제 감수성 검사

분리된 *S. Enteritidis*를 대상으로 디스크 확산법 (Bauer 등, 1996)을 이용하여 항생제 감수성 검사를 실시하였다. 먼저 *S. Enteritidis*를 Brain Heart Infusion (BHI)에 한천을 1.5% 되게끔 첨가하여 제조한 BHI 한천 배지에 접종하여 37°C에서 18~24시간 배양하여 단일 집락을 획득하였다. 획득된 단일 집락을 이용하여 DEN-1 densitometer suspension turbidity detector (BioSan, Latvia)로 MaFarland No. 0.5로 맞추고,

**Table 1.** *S. Enteritidis* isolated from cattle, swine and poultry feces and slaughter

Source of sample	No.	No. of <i>S. Enteritidis</i> (%)
Cattle		
Feces	-	-
Slaughter	33	7 (21.2)
Swine		
Feces	9	8 (88.8)
Slaughter	-	-
Poultry		
Feces	122	9 (7.3)
Slaughter	-	-
Total	164	24 (14.6)

Muller-Hinton 한천 배지에 도말하였다. 그 후 Antimicrobial susceptibility testing disc dispenser를 이용하여 항생제 디스크를 배지위에 올려 37°C에서 18~24시간 배양 후, 직경을 측정하여 감수성 및 내성을 판독하였다.

**RAPD를 이용한 *S. Enteritidis* 유전형의 특성 조사**

**Genomic DNA 추출:** 분리된 *S. Enteritidis*의 게놈 DNA를 추출하기 위해서 BHI 액체배지에 같은 조건으로 배양 후, 원심 시켜 침전물을 대상으로 Exgene™ Cell SV kit를 이용하여 제조사의 지침대로 실시하였다.

**RAPD-PCR:** 분리된 *S. Enteritidis* 게놈 DNA를 대상으로 RAPD-PCR을 수행하였다. RAPD-PCR에 이용한 프라이머 서열 및 annealing 조건은 Table 3에 제시하였으며, PCR 조건은 initial denaturation을 94°C에서 10분간 실시하였고, denaturation 94°C에서 1분, annealing 42°C에서 45초, extension 72°C 1분 조건으로 총 35회 실시하였으며, last extension 72°C에서 5분간 실시하였다. RAPD-PCR 증폭 산물은 1.2% 아가로스

젤에 DNA 전기영동 버퍼를 이용하여 전기영동을 실시하였으며, GelDoc (Bio-Rad, U.S.A)을 이용하여 결과를 확인하였다.

**RAPD-PCR 결과를 이용한 유전형 분석**

RAPD-PCR 증폭산물의 cluster 분석은 FreeTree 프로그램(Pavlicek 등, 1999)을, dendrogram은 Treeview 프로그램 (Page 등, 1996)을 이용하여 분석하였다.

**결 과**

***Salmonella* Enteritidis 분리**

본 시험소에서 가축 도체 및 분변 164개의 시료 (Table 1)를 대상으로 VITEK MS™을 이용하여 분리 및 동정한 결과 24균주의 *S. Enteritidis* 분리 되었다 (data not shown).

**Table 2.** Antibiotic discs for AST of *S. Enteritidis* isolates

Antibiotic	Mechanism	Cat. No	Conc.(ug)	Company
Amikacin	Protein synthesis inhibition (30S ribosome)	CT0107B	30	Oxoid
Gentamicin		CT0024B	10	
Kanamycin		CT0026B	30	
Neomycin		CT0033B	30	
Streptomycin		CT0047B	10	
Doxycycline		CT0018B	5	
Tetracycline		CT0054B	30	
Azithromycin	Protein synthesis inhibition (50S ribosome)	CT0906B	15	
Erythromycin		CT0022B	15	
Clindamycin		CT0064B	2	
Chloramphenicol		CT0013B	30	
Lincomycin	Cell wall synthesis inhibition	CT0027B	2	
Amphicillin		CT0003B	10	
Amoxicillin-Clavulanic acid		CT0223B	30	
Carbenicillin		CT0006B	100	
Cefaclor		CT0149B	30	
Cefixime		CT0653B	5	
Oxacillin		CT0159B	1	
Polymyxin B		CT0044B	300 unit	
Vancomycin	CT0058B	30		
Ciprofloxacin	DNA synthesis inhibition	CT0425B	5	
Nalidixic acid		CT0031B	30	
Novobiocin		CT0037B	5	
Rifampin	RNA synthesis inhibition	CT0207B	5	
Trimethoprim-Sulfamethoxazole	Folic acid inhibition	CT0052B	25	

### 항생제 감수성 검사

분리된 24균주의 *S. Enteritidis*를 대상으로 항생제 디스크(Table 2)을 이용하여 항생제 감수성 검사를 실시한 결과 5 그룹으로 분류되었다. 그룹 1은 13 균주가 erythromycin, clindamycin, lincomycin, oxacillin, vancomycin, novobiocin에 내성을 보였다. 그룹 2는 2 균주가 그룹 1에 내성을 보인 항생제 외에 nalidixic acid에도 내성을 나타냈다. 그룹 3은 6 균주가 그룹 2에 내성을 보인 항생제 외에 doxycycline, tetracycline에도 내성을 보였다. 그룹 4는 2 균주가 그룹 3에 내성을 보인 항생제 외에 streptomycin에 내성을 보였다. 그룹 5의 1 균주(11번 균주)는 그룹 4에 내성을 보인 항생제 외에 amikacin, gentamicin, kanamycin, neomycin, amoxicillin-clavulanic acid, carbenicillin에 내성을 보였다(Table 3).

### RAPD-PCR을 이용한 유전형 분석

분리된 24균주의 *S. Enteritidis*의 유전형을 분석하

기 위하여 RAPD 프라이머(Table 4)을 이용하여 RAPD-PCR을 수행한 결과 P1254 프라이머에 400~3000bp 크기의 8개의 RAPD-PCR 증폭산물이 나타났지만, 11번 균주가 나머지 균주에서는 증폭되지 않은 약 500bp 크기의 특이 증폭산물이 검출되었다(Fig. 1). FreeTree 및 TreeView 프로그램을 이용하여 RAPD-PCR 증폭산물을 분석한 결과 본 실험에서는 크게 2개의 class와 3개의 그룹으로 나타나는 것을 알 수 있었다(Fig. 2).

**Table 4.** Primers sequence for genotyping of *S. Enteritidis* isolates by RAPD-PCR

Primer name	Primer sequence (5'-3')	Reference
23L	CGAAGCTGC	Lin et al, 1996
OPA-4	AATCGGGCTG	
OPB-6	TGCTCTGCC	
OPB-15	GGAGGGTGTT	
OPB-17	AGGGAACGAG	
P1254	CCGCAGCCAA	

**Table 3.** Antimicrobial susceptibility pattern of *S. Enteritidis* isolates

Antimicrobial agent	No. of isolates tested	Antibiogram pattern of <i>S. Enteritidis</i>		
		Resistant (%)	Intermediate (%)	Sensitive (%)
Amikacin	24	1 (4.2)	-	23 (95.8)
Gentamicin	24	1 (4.2)	-	23 (95.8)
Kanamycin	24	1 (4.2)	-	23 (95.8)
Neomycin	24	1 (4.2)	-	23 (95.8)
Streptomycin	24	3 (12.5)	-	21 (87.5)
Doxycycline	24	8 (33.3)	-	16 (66.7)
Tetracycline	24	8 (33.3)	-	16 (66.7)
Azithromycin	24	-	-	24 (100)
Erythromycin	24	24 (100)	-	-
Clindamycin	24	23 (95.8)	-	1 (4.2)
Chloramphenicol	24	-	-	24 (100)
Lincomycin	24	24 (100)	-	-
Amphicillin	24	-	-	24 (100)
Amoxicillin-Clavulanic acid	24	1 (4.2)	-	23 (95.8)
Carbenicillin	24	1 (4.2)	-	23 (95.8)
Cefaclor	24	-	-	24 (100)
Cefixime	24	-	-	24 (100)
Oxacillin	24	24 (100)	-	-
Polymyxin B	24	1 (4.2)	-	24 (100)
Vancomycin	24	24 (100)	-	-
Ciprofloxacin	24	-	-	24 (100)
Nalidixic acid	24	2 (8.4)	-	22 (91.6)
Novobiocin	24	24 (100)	-	-
Rifampin	24	-	-	24 (100)
Trimethoprim-Sulfamethoxazole	24	-	-	24 (100)

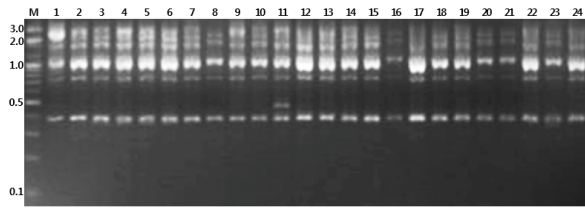


Fig. 1. 1.2% agarose gel electrophoresis of *S. Enteritidis* RAPD-PCR products by P1245 primer. M: 100 bp DNA size marker, 1~24: *S. Enteritidis* isolates 1~24, respectively.

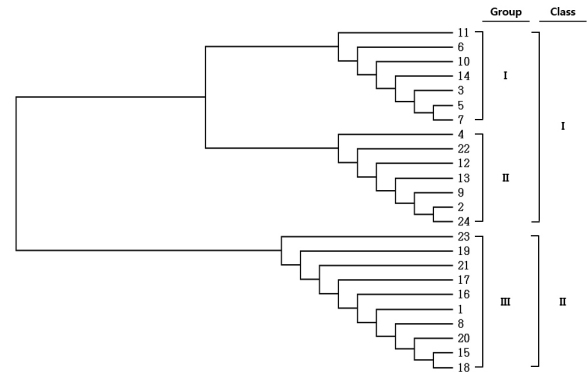


Fig. 2. UPGMA cluster analysis generated by TreeView v. 1.6.6. program based on RAPD-PCR profiling among *S. Enteritidis* isolates.

## 고 찰

항생제 내성 식중독 원인균의 위험성은 World Health Organization (WHO) 및 Centers for Disease and Prevention (CDC) 등을 포함한 많은 기관에서 그 위험성을 심각하게 생각하고 있으며, 이러한 항생제 내성 식중독 원인균의 발생 및 전파 방지에 많은 노력을 기울이고 있다(Angulo 등, 2000). 특히 인체에 위장관계 질환을 유발하며, 항생제 다제 내성률이 높은 *Salmonella* spp.는 전 세계적으로 심각한 문제를 유발하고 있음을 공통적으로 인식하고 있다(Rasschaert 등, 2005). 이에 가축 도체 및 분변에서 분리한 *S. Enteritidis*를 분리하고, 분리된 균주를 대상으로 항생제 감수성 결과 및 이에 따른 유전형의 특성을 조사하고자 하였다.

분리된 24균주를 대상으로 항생제 감수성 검사를 실시한 결과 크게 단백질 합성 억제, 세포벽 합성 억제 및 DNA 합성 억제에 사용되는 항생제에 다제 내성을 보였으며, folic acid 억제에 사용되는 항생제에는 모든 분리균주가 감수성을 보였다(Table 1, 2). 특히 16S rRNA의 50S subunit에 결합하여 단백질 합성을 저해하는 erythromycin, clindamycin, lincomycin과, 세포벽 합성 억제를 하는 oxacillin 및 vancomycin에서는 100% 내성을 보였고, 16S rRNA의 30S subunit에 결합하여 단백질 합성을 저해하는 doxycycline 및 tetracycline에 8%를, 그 외의 항생제 내성은 4% 정도로 나타났다(Table 2). 이 결과는 다른 연구 결과와 비슷하지만 Nastasi 등(2000)의 결과와 비교하였을 시 tetracycline이 59%로 본 연구의 결과 보다 상당히 높은 빈도를 보였으며, Thung 등(2016)의 결과에서는 전혀 검출되지 않은 것으로 나타나 본 연구와는 상이한 결과를 보였다. 이런 결과는 지리적, 환경적 등의 이유에 의한 차이로 발생하는 것이라 사료된다.

RAPD-PCR을 이용한 유전형 분석을 위해서 6 종류

의 RAPD용 프라이머를 사용하여 조사하였다(Table 3). 그 결과 23L 프라이머에서는 11개, OPB-4인 경우 5개, OPB-6인 경우 7개, OPB-15는 9개, OPB-17인 경우는 3개의 증폭산물이 나타났다(data not shown). RAPD-PCR 결과를 바탕으로 유전형을 조사하기 위해선 일반적으로 10~11개의 증폭산물을 대상으로 한다. 본 연구결과에서도 23L, OPB-15 프라이머들을 사용하였을 시 각각 11개, 9개의 증폭산물이 나타났지만 분리된 24균주 모두에서 유사한 결과를 보였다. 하지만 P1245 프라이머에서는 8개의 증폭산물이 나타나 유전형 분석에 매우 좋은 것은 아니지만, 분리 균주들로부터 대략 400~3000 bp 크기의 서로 다른 8 종류의 PCR 증폭산물이 생성되어 유전형 분석에 충분하였다(Fig. 1). 특히 11번 분리균주는 P1245 프라이머에만 특이적으로 500 bp 정도의 특이 증폭산물이 나타났으며 또한, 항생제 감수성 결과 aminoglycoside계열의 항생제에 모두 내성을 보였다(Table 2). Aminoglycoside계 항생제는 16S rRNA의 30S subunit에 결합하여 mRNA의 misleading 및 premature termination를 유도하여 단백질 합성을 억제하는 항생제이다. Aminoglycoside계 항생제에 내성을 가지는 원리 중 하나는 aminoglycoside modifying enzymes (AMEs)로 외부에서 미생물의 세포질 내로 들어온 aminoglycoside계 항생제에 직접 결합하여 16S rRNA의 30S subunit에 결합을 방해하여 내성을 나타내는 방법으로(Garneau-Tsokikova S과 Labby, 2016), 11번 균주에만 특이적으로 증폭된 약 500 bp 크기의 증폭산물이 AMEs에 관여하는 유전자 중 하나 일수도 있다는 판단이 들며, 이를 위해 앞으로 이 증폭산물의 유전자를 분석하고자 한다. 또한 RAPD-PCR 결과를 바탕으로 분리균주들의 유전형을 조사하기 위하여 FreeTree

와 TreeView v 1.6.6 프로그램을 이용하여 dendrogram를 구한 결과 2개의 class와 3개의 그룹으로 분류가 되었다(Fig. 2).

본 연구에서 서로 다른 4곳의 도축장으로부터 분리한 *S. Enteritidis* 대상으로 RAPD-PCR을 이용하여 유전형 분석을 해 본 결과, 서로 다른 도축장으로 부터 분리된 균주라도 같은 유전형을 가지고 있었던 반면 같은 도축장으로부터 분리된 균주라도 서로 다른 유전형을 보이고 있었으며, 축종에 따른 분리 균주 사이에서 그 어떤 유전형의 연관성은 나타나지 않았다. 게다가 분리 균주 모두 단백질 합성 억제에 관련된 항생제에 내성률이 높게 나타나는 것을 알 수 있었다. 따라서 안전한 축산물의 제공을 위해, 위생적인 축산물의 도축 및 생산 과정에 관심을 기울여야 할 것으로 판단된다.

## 결 론

경남 지역 4곳의 도축장으로부터 분리한 *S. Enteritidis*의 대상으로 항생제 감수성 결과 및 RAPD-PCR을 이용한 유전형 분석을 조사하고자 하였다. *S. Enteritidis*의 분리율은 164개의 분변 및 도체로부터 24균주가 분리되어 14.6%로 조사되었다. 분리균주를 대상으로 항생제 감수성 검사를 실시한 결과 16S rRNA의 30S 및 50S subunit에 결합하여 단백질 합성 억제를 유도하는 항생제 및 세포벽 합성 억제, 그리고 DNA 합성을 저해하는 여러 종류의 항생제에 내성을 나타내는 다제 내성균으로 나타났다. 특히 분리된 균주 중 하나는 16S rRNA의 30S subunit에 결합하는 aminoglycoside계 항생제에 모두 내성을 보였다. P1245 random 프라이머를 이용한 RAPD-PCR에서는 400~3000 bp의 크기를 나타내는 총 8개의 RAPD-PCR 증폭 산물이 나타남을 알 수 있었으며, aminoglycoside계 항생제 모두에 내성을 보인 균주는 대략 500 bp 정도 크기의 특이적인 증폭 산물이 나타남을 알 수 있었다. RAPD-PCR의 결과를 바탕으로 FreeTree 및 TreeView 프로그램을 이용하여 유전형을 분석 한 결과, 크게 2개의 class와 3 그룹으로 나누어짐을 알 수 있었다. 특히 같은 도축장 및 서로 다른 도축장에서도 유전형이 다르거나 같은 것으로 조사 되었다. 따라서 위생적인 축산물의 도축 및 생산에 보다 더 관심을 기울여야 할 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 2015년도 경상대학교 발전기금재단 재원과 경남도 동물위생시험소 연구지원으로 수행되었음.

## REFERENCES

- Angulo FJ, Johnson KJ, Tauxe RT, Cohen ML. 2000. Origins and consequences of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella*: implications for the use of fluoroquinolones in food animals. *Microb Drug Resist* 6: 77-83.
- Bajaj BK, Sharma V, Koul S, Thakur RL. 2003a. Incidence of *Salmonella* in poultry and meats and growth inhibition of *Salmonella enteritidis* by organic acids. *J Food Sci Technol* 40: 556-558.
- Bajaj BK, Sharma V, Thakur RL. 2003b. Prevalence and antibiotic resistance profiles of *Salmonella* spp. in poultry eggs. *J Food Sci Technol* 40: 682-684.
- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. 1996. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 45(4): 493-496.
- Baumler AJ, Hargis BM, Tsoilis RM. 2000. Tracing the origins of *Salmonella* outbreaks. *Science* 287: 50-52.
- Betancor L, Schelotto F, Martinez A, Pereira M, Algorta G, Rodriguez A, Vignoli R, Chabalgoity JA. 2004. Random amplified polymorphic DNA and phenotyping analysis of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolates collected from humans and poultry in Uruguay from 1995 to 2002. *J Clin Microbiol* 42: 1155-1162.
- Byrd JA, Deloach JR, Corrier DE, Vidal L, Deloach JR. 1999. Evaluation of *Salmonella* serotype distributions from commercial broiler hatcheries and grower houses. *Avian Dis* 43: 39-47.
- Carraminana JJ, Rota C, Agustin I, Herrera A. 2004. High prevalence of multiple resistance to antibiotics in *Salmonella* serovars isolated from a poultry slaughterhouse in Spain. *Vet Microbiol* 104: 133-139.
- Fluit AC. 2005. Towards more virulent and antibiotic-resistant *Salmonella*?. *FEMS Immunol Med Microbiol* 43: 1-11.
- Garneau-Tsokikova S, Labby KJ. 2016. Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: overview and perspectives. *Medchemcomm* 7(1): 11-27.
- Lin AW, Usera MA, Barrett TJ, Goldsby RA. 1996. Application of random amplified polymorphic DNA analysis to differentiate strains of *Salmonella enteritidis*. *J Clin Microbiol* 34(4): 870-876.
- McQuiston JR, Parrenas R, Ortiz-Rivera M, Gheesling L, Brenner F, Fields PI. 2004. Sequencing and comparative analysis of flagellin genes *fliC*, *fliB*, and *fliA* from *Salmonella*. *J Clin Microbiol* 42: 1923-1932.

- Mikolajczyk A, Radkowski M. 2002. *Salmonella* spp. on chicken carcasses in processing plants in Poland. J Food Protect 65: 1476-1479.
- Miyamoto T, Tian HZ, Okabe T, Trevanich S, Asoh K, Tomoda S, Honjoh K, Shoji H. 1998. Application of randomly amplified polymorphic DNA analysis for detection of *Salmonella* spp. in foods. J Food Protect 61: 785-791.
- Mrema N, Mpuchane S, Gashe BA. 2006. Prevalence of *Salmonella* in raw minced meat, raw fresh sausages and raw burger patties from retail outlets in Gaborone, Botswana. Food Control 17: 217-212.
- Nastasi A, Mammina C, Cannova L. 2000. Antimicrobial resistance in *Salmonella enteritidis*, Southern Italy, 1990-1998. Emerging Infectious disease 6(4): 401-403.
- Page R.D.M. 1996. TREEVIEW: an application to display phylogenetic trees on personal computers. Computer Applications in the Biosciences 12: 357-358.
- Pavlicek A, Hrdá S, Flegr J. 1999. FreeTree-freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. Folia Biologica. 45: 97-99.
- Popoff MY, Bockemuhl J, Gheesling L. 2003. Supplement 2001 (no. 45) to the Kauffmann-White scheme. Res Microbiol 154: 173-174.
- Rasschaert G, Houf K, Imberechts H, Grijspeerdt K, De Zutter L, heyndrickx M. 2005. Comparison of five repetitive-sequence-based PCR typing methods for molecular discrimination of *Salmonella enterica* isolates. J Clin Microbiol 42: 3615-3623.
- Soto SM, Gonzalez-Hevia MA, Mendoza MC. 2003. Antimicrobial resistance in clinical isolates of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis: relationships between mutations conferring quinolone resistance, integrons, plasmids and genetic types. J Antimicrob Chemother 51: 1287-1291.
- Thung TY, Mahyudin NA, Basri DF, Wan Mohamed Radzi CWJ, Nakaguchi Y, Nishibuchi M, Radu S. 2016. Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* in raw chicken meat at retail markets in Malaysia. Poultry Science 95: 1888-1893.
- White DG, Zhao S, Simjee S, Wagner DD, McDermott PF. 2002. Antimicrobial resistance of food borne pathogen. Microbes Infect 4: 405-412.