Archive of SID

مجله علمی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی
پاییز ۱۳۸۸، دوره یکم، شماره دوم، صفحه ۴۹ - ۴۵

جدا سازی برخی از باکتریهای روده ای مرغ و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی آنها

***شهلا منصوری[۱] ، ارمیتا فرهمند[۲]**

۱- بخش میکروبشناسی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۲- مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، ماهان، کرمان

* نویسنده مسؤل: دکتر شهلا منصوری، بخش میکرویشناسی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
shmansouri_1000@yahoo.com

دریافت : ۸۸/۷/۲۱ پذیرش: ۸۸/۸/۱۸

چکیده

زمینه و هدف: باکتریهای انتزیک گرم منفی مقاوم به آنتی بیوتیک ها در حال افزایش میباشند. علت این مسئله میتواند مصرف آنتی بیوتیک ها به عنوان تقویت کننده و پیشگیری از عفونت در حیوانات باشد. سویه های مقاوم از طرق مختلف قادر به انتقال به انسان هستند. وجود چنین باکتریهایی در حیوانات از جنبه های دامپزشکی, پزشکی و اقتصادی حائز اهمیت می باشد. این بررسی با هدف شناسایی و تعیین حساسیت باکتریهای روده ای نسبت داروهای ضد میکروبی در مرغها در کرمان انجام شد.

روش بررسی : نمونه توسط سواب از داخل شکم مرغهای کشتار شده گرفته شده و در محیط مناسب کشت داده شدند. باسیلهای گرم منفی تخمیر کننده گلوکز با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی شناسایی گردیدند. حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) ا توسط متد رقت در اگار نسبت به چهار آنتی بیوتیک تعیین شد.

یافته ها: فراوانی باکتریهای روده ای در مرغها به ترتیب *اشریشیاکلی* (۴۳/۷٪)، گروه *پروتئوس*، *پرویدنسیا* ، *مورگانلا* (۲۲/۴٪)، گروه *انتروباکتر*، *کلبسیلا* ، *سراشیا* (۲۱/۲٪) و گروه *سالمونلا* ، *سیتروباکتر*، *اریزونا* ،(۱۱/۵٪) بود. مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین، جنتامیسین ، کلرامفنیکل و تتراسیکلین به ترتیب۹/۱۲٪ ، ۹/۵ ٪ و ۱۱/۷۸٪ ۵۷/۸٪ تعیین گردید. مقاومت به بیش از یک دارو به طور همزمان در ۱۹/۷۸٪ جدایه ها دیده شد.

نتیجه گیری: مقاومت بالای جدایه ها نسبت به تتراسیکلین و همچنین وجود سویه های با مقاومت چند گانه در مرغهای این منطقه حائز اهمیت بوده و پیشنهاد میگردد که در مراکز پرورش طیور، افزودن آنتی بیوتیکها به غذای ماکیان مورد توجه بیشتر قرار گرفته و مصرف این داروها به خصوص تتراسیکلین در کشور ما نیز مانند بسیاری از کشورهای دیگر ممنوع گردد.

واژه های کلیدی: باکتری های روده ای ، مقاومت ضد میکروبی،تتراسیکلین، مرغ

مقدمه

باکتریهای گرم منفی روده ای فلور طبیعی روده در حیوانات و انسان هستند. این باکتریها قادر به ایجاد بیماریهای مختلفی در انسان و حیوانات بوده و معمولترین باکتریهایی هستند که در دنیا از نمونه های در ارتباط با بیماری جدا میگردند . این باکتریها به فراوانی در بسیاری ازمحیط های مرطوب مانند آب و خاک دیده شده و از جنبه های مختلف پزشکی ، دامپزشکی و اقتصادی حائز اهمیت هستند. منابع غذایی نظیر گوشت و گیاهان خام غالبا" حاوی تعداد زیادی باکتری بوده و این باکتریها می توانند در روده جایگزین گردند.در صورتیکه باکتریهای فوق به آنتی بیوتیک ها مقاوم باشند؛ قادر به انتقال این مقاومت به سایر باکتریهای مستقر در روده میگردند(۲،۱). در فاصله زمانی کوتاهی پس از استفاده درمانی از آنتی بیوتیک ها، اثرات مکمل رشد آنها بر جوجه ها کشف شد و از آن زمان تا کنون آنتی بیوتیک های متعددی مورد استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

قرار گرفته اند(۳). مکمل های رشد علاوه بر اینکه سبب افزایش رشد در حیوانات میگردند، سبب جذب بهتر مواد غذایی از روده حیوانات شده و از بروز مرگ و میر ناشی از بیماریهای با علائم بالینی و تحت بالینی در حیوانات می کاهند. اگر چه در موارد متعدد سویه هایی از باکتریهای روده ای مقاوم به آنتی بیوتیک ها از مدفوع حیوانات و انسان جدا شده اند که در تماس با آنتی بیوتیک ها نبوده اند (۴،۲)؛ لیکن در بسیاری از موارد انتقال مقاومت از سویه های حیوانی مقاوم به آنتی بیوتیک ها به انسان تائید شده است(۷،۶،۵،۱). مصرف آنتی بیوتیکها در غذای حیوانات سبب تغییر فلور طبیعی روده در این حیوانات میگردد؛ به طوریکه اگر جوجه ها با غذای حاوی تتراسیکلین تغذیه شوند؛ پس از یک هفته تمامی باکتریهای روده ای را سویه های مقاوم به تتراسیکلین تشکیل خواهند داد (۶). این باکتریهای مقاوم غالبا دارای پلاسمیدهای حاوی مقاومت به چندین دارو بوده و لذا انتقال باکتریهای مقاوم به دارو میتواند از راه های مختلف به انسان منتقل گردتد.

فواید مصرف آنتی بیوتیک در مواد غذایی به نفع تولید کننده و مصرف کننده می باشد لیکن بروز سویه های مقاوم میکروبی به خصوص در پرندگان سبب تصمیم گیریهای مهمی در زمینه کنترل و استاندارد کردن مصرف آنتی بیوتیکها در غذای ماکیان شده است. در سال ۱۹۶۰ اولین نشست در جهت کاهش مصرف این مواد در اروپا صورت گرفت (۳). در این نشست بروز سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک ها در باکتریهای گرم منفی به خصوص گونه های سالمونلا و اشریشیا کلی مطرح شد و بر اساس وجود باقیمانده آنتی بیوتیک در گوشت حیوانات که می تواند سلامت انسان را به خطر بیاندازند , لذا پیشنهاد ی مبنی بر منع مصرف داروهایی نظیر پنی سیلین, تتراسیکلین , تیلوزین و سولفامیدها به عنوان افزایش دهند های رشد در برخی کشور های اروپایی صادر شد (۳).در حالیکه در کشور هایی که این روش اجرا نمی شود ؛ منجمله ایران داروهای درمانی نظیر پنی سیلین و تتراسیکلین هنوز به عنوان مکمل غذایی به غذای حیوانات به خصوص طیور اضافه میگردد. در ایران استفاده از آنتی بیوتیکها بیشتر به منظور پیشگیری از بیماری به غذای ماکیان اضافه شده و گاها" نظارت دقیقی بر مصرف این مواد در مرغداریها نمیشود. و زمان پرهیز از مصرف نیز قبل از ارسال به کشتار گاه ها به نحو صحیح رعایت نمی گردد . این مسئله اهمیت موضوع و بروز هر چه بیشتر سویه های مقاوم را در مرغ داریها و پرسنل در ارتباط با نگهداری و پرورش مرغها نشان میدهد.زیرا پرسنل شاغل در مرغ داریها و ساکنین نواحی اطراف مرغ داریه بیشترین افرادی هستند که در معرض باکتریهای مقاوم قرار گرفته و حامل سو یه های مقاوم در جوامع میگردند (۷،۶)

تنوع باکتریهای روده ای و مقاومت آنها به داروهای ضد میکروبی در مناطق چغرافیایی مختلف متفاوت است. هدف از این بررسی شناسایی باکتریهای روده ای غالب در مرغها در کرمان و بررسی حساسیت باکتریهای جدا شده نسبت به داروهای معمول درمانی و مکمل رشد در مرغها در این ناحیه می باشد.

روش بررسی

نمونه برداری به مدت ۶ ماه از اول تیر ماه لغایت آذر ماه ۱۳۸۵انجام شد. بدین صورت که ۲۰ مرغ فروشی در نقاط مختلف شهر کرمان انتخاب کرده و نمونه گیری دو هفته ای یکبار و هر بار دو مرغ به طور تصادفی از هر فروشگاه انتخاب شد.با استفاده از سواب استریل نمونه از داخل شکم مرغهای ارسالی به مرغداریها (شکم خالی) بردا شته شد. تمامی نمونه ها به محیط های افتراقی شامل محیط های EMB و SS منتقل شده، کلنی های تک با ظاهر متفاوت از هر محیط انتخاب و جهت بررسی های بیشتر به محیط تریپتی کیس سوی برات حاوی ۴۰٪ گلیسرول منتقل و در c° ۷۰- نگهداری گردیدند.

شناسایی باکتریهای مورد بررسی: جهت تشخیص جنس باکتریهای مورد بررسی از تستهای بیوشیمیایی (تخمیر قند های گلوکز؛ لاکتوز ؛ تولید گاز ؛ تولید گاز SH_2 ؛ واکنش اینـدول ؛ استفاده از سیترات و و اکنش متیل رد – وگازپروسکور و تست حرکت استفاده شد (۸).

حساسیت باکتریهای مورد بررسی نسبت به داروهای ضد میکروبی با روش استاندارد رقت در آگار بررسی گردید (۹). به طور خلاصه آنتی بیوتیکهای تتراسیکلین، کلرامفنیکل، جنتامایسین و سیپروفلوکسازین ساخت شرکت Hi media تهیه شد. با توجه به خلوص داروها و پتانسیل دارو ؛ محلول ذخیره آنتی بیوتیک در حلال مربوطه ساخته شده و پلیت های میکروبی با غلظت نهایی مناسب از هر آنتی بیوتیک تهیه شد. پس از تهیه محلول میکروبی با غلظت معادل ۰/۵ مک فارلند ؛ از دستگاه تلقیح دستی (Hand inoculators ساخت شرکت (MAST, England برای تلقیح باکتری به سطح محیط کشت استفاده شد. اولین غلظت از آنتی بیوتیک که سبب جلوگیری کامل از رشد باکتری نموده بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد(۹).

www.SID.ir

Archive of SID

یافته ها

در این بررسی جمعاً ۲۸۴ مورد باکتری گرم منفی از نمونه های مرغ جداسازی شد که ۲۱ نمونه اکسیداز مثبت بوده و در گروه انتروباکتریاسه ا قرار نمی گرفتند. در ۲۶۳ نمونه مربوط به باکتریهای روده ای بر اساس واکنش های بیوشیمیایی انجام شده ۳۳ جدایه (۱۲/۵٪) در گروه *سالمونلا- اریزونا- سیتروباکتر* ، ۱۱۵ مورد (۴۳/۷٪) به عنوان *اشریشیا کلی* ، ۵۹ جدایه (۲۲/۴٪) در گروه *پروتئوس پرویدنسیا – مورگانلا* و ۵۶ جدایه (۲۱/۳٪) به عنوان - *کلبسیلا –انتروباکتر – سراشیا* شناسایی گردیدند.

حساسیت باکتریهای جدا شده به داروهای ضد میکروبی نشان داد که ۹۹ جدایه (۳۷/۶٪) به تمامی آنتی بیوتیک های مورد بررسی حساس بودند. بیشترین حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین و جنتامیسین بود که به ترتیب ۲۴ و۲۵ جدایه نسبت به این دو آنتی بیوتیک مقاوم بودند (جدول شماره ۱). بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک تتراسیکلین بود که ۵۷/۷۹٪ جدایه ها نسبت به آن مقاوم بوده و MIC بین ۱۶ تا ۵۱۲ ≤ میکروگرم بر میلی لیتر داشتند. بیشترین مقاومت به تتراسیکلین در جدایه های *اشریشیاکلی* (۲۰/۸ ٪) و *سالمونلا* ، *سیتروباکتر، اریزونا* ۱۶٪ دیده شد. در گروه های *پروتئوس،پرویدنسیا* و *مورگانلا* میزان مقاومت برابر با ۱۳/۷٪ بود. در گروه *کلبسیلا* ، *انتروباکتر* ، *سراشیا* ۷/۳٪، .از باکتریها به تتراسیکلین مقاوم بودند. مقاومت همزمان نسبت به دو آنتی بیوتیک در ۳۴ جدایه دیده شد و ۱۸ جدایه همزمان به سه آنتی بیوتیک مقاوم بودند (جدول شماره ۲).

بحث

مواد غذایی تهیه شده از فراورده های دامی در بهداشت و سلامت جامعه اهمیت به سزایی داشته و در کشورهای پیشرفته دنیا با وضع قوانین و استانداردهای معتبر و به روز سلامت این مواد به طور دقیق کنترل میگردد(۷،۳). استفاده از آنتی بیوتیک ها چه به صورت درمانی در انسان و چه به صورت درمانی و یا تقویت کننده رشد در حیوانات، اثر زیادی بر فلور میکروبی روده داشته و هم چنین سبب بروز سویه های مقاوم در این حیوانات گردیده است.(۷،۶،۲) . به طور کلی استقرار و تکثیر سویه های باکتریهای هوازی اختیاری حساس و یا مقاوم به آنتی بیوتیک ها در روده ماکیان بستگی به شرایط فیزیولوژیک میزبان – فاکتورهای محیطی مانند آب و هوا، نوع تغذیه ، و تقابل باکتری با روده حیوان دارد (۲). بر این اساس فراوانی جدا سازی باکتریهای روده ای از طیور در گزارشات ارائه شده از نقاط مختلف دنیا متفاوت است، لیکن *اشریشیا کلی* به عنوان معمولترین باکتری روده ای در روده ماکیان شناخته شده است(۱۱،۱۰). در بررسی حاضر نیز *اشریشیا کلی* فراوانترین باکتری جدا شده بود که ۴۳/۷٪ باکتریهای روده ای جدا شده از مرغ را تشکیل می داد.

سالمونلا یکی از بیماریهای مهم منتقله توسط گوشت مرغ در دنیا است. در آلبرتا (کانادا) فراوانی جدا سازی *سالمونلا ها* از پای مرغهای ارائه شده در فروشگاههای مواد غذایی، ۶۲٪ و در لاشهٔ مرغان در آمریکا ۳۱٪ گزارش شده است (۱۳،۱۲). درنیجریه فراوانی *سالمونلاها* از مدفوع مرغها ۳۸/۳٪ گزارش گردیده است (۱۴) ، درایران در گزارشی از کشتارگاههای شرق تهران در سال ۷۳، فراوانی *سالونلاها* در لاشه های مرغ ۷۵/۵٪ بوده است(۱۵). در حالیکه یوسفی مشعوف از همدان فراوانی *سالمونلاها* را ۸/۶٪ در سال ۱۳۷۹ گزارش نموده است (۱۶). نوع نمونه، میزان باکتری در نمونه ، زمان نمونه گیری، نوع تغذیه و داروهای ضد میکروبی مصرفی تماما" می توانند در میزان جدا سازی *سالمونلا* از نمونه های مرغ تاثیر گذار باسند. .در بررسی حاصر در کرمان گروه *سالمونلا* ۱۲/۵٪ باکتریهای روده ای جدا شده از نمونه های مرغ را تشکیل می دادند که با بررسی انجام شده در همدان هماهنگی دارد.

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتریهای روده ای جدا شده نشان دهنده حساسیت کامل ۹۹ جدایه به تمام داروهای ضد میکروبی مورد بررسی بود. همچنین حساسیت نسبت به کلرامفنیکل – سیپروفلوکساسین و جنتامایسین در بیش از ۹۰٪ جدایه ها دیده شد. محدودهٔ MIC برای جدایه های مقاوم به کلرامفنیکل – سیپروفلوکساسین و جنتامایسین به ترتیب ۱۶ تا ۶۴، ۴ تا ۸ و۱۶ تا ۳۲میکروگرم بر میلی لیتر بود. در بررسی که در سال ۱۳۸۲ در تهران بر روی نمونه های گرفته شده در مرغان کشتارگاه ها انجام شده بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی در *اشریشیا کلی* های جدا شده از مرغ نسبت به تتراسیکلین بوده ودر ۹۴٪ جدایه ها دیده شده است.تمامی این جدایه ها دارای مقاومت چند گانه نسبت به آنتی بیوتیکها بوده اند (۱۷).در این بررسی نیز بیشترین میزان مقاومت نسبت به تتراسیکلین بود که در ۵۷/۸٪ جدایه ها دیده شد. که بیشترین علت مقاومت کمتر در بررسی ما با این تحقیق می تواند در نوع نمونه باشد.به دلیل اینکه نمونه های گرفته شده در تهران مربوط به کبد و صفرا بوده و این جدایه ها در مقایسه با جدایه های گرفته شده از محتویات داخل شکم که بیشتر مربوط به مواد دفعی پرنده می باشد از مقاومت

www.SID.ir

Archive of SID

بیشتری بر خوردارند. در بررسی حاضر علاوه بر مقاومت بالا ی جدایه ها نسبت به تتراسیکلین میزان MIC نیز بالا بود به طوریکه در۲۴ جدایه MIC ≥ ۲۵۶ µg/ml بود. بیشترین میزان مقاومت هم زمان بین تتراسیکلین وکلرامفنیکل دیده شد (۶/۴۶٪). مقاومت همزمان به سه آنتی بیوتیک تتراسیکلین، سیپروفلوکساسین و کلرامفنیکل در ۱۰ جدایه (۳/۸٪) وجود داشت. بررسی گروه های مختلف باکتریها در ارتباط با مقاومت ضد میکروبی اختلاف معنی داری بین مقاومت در *اشریشیا کلی* در مقایسه با سایر گروه ها نشان داد (P value=0.00001)، *سالمونلاها* پس از *اشریشیا کلی* دومین گروه از باکتریهای مقاوم به تتراسیکلین را تشکیل (۱۶٪) می دادند.

بروز سویه های مقاوم به آنتی بیوتیکها در مدفوع پرندگان در اثر مصرف آنتی بیوتیکها رو به افزایش است. تتراسیکلین آنتی بیوتیک وسیع الطیفی است که هنوز در بسیاری از کشورهای دنیا جهت مصارف غیر درمانی در مرغ داریهای صنعتی مورد استفاده قرار میگیرد (۷). گزارش شده است که مصرف مکمل های غذایی حاوی تتراسیکلین سبب افزایش میزان اشریشیا کلی در روده پرندگان میگردند(۲). در بررسی انجام شده در امریکا *اشریشیا کلی* های مقاوم به آنتی بیوتیکها ی مصرفی در مرغداریها در کارکنان و افراد وابسته به آنها بیشتر از افراد نرمال جامعه بوده است. در مدفوع این افراد میزان جدا سازی *اشریشیا کلی* مقاوم به جنتامایسین که اولین آنتی بیوتیک مصرفی در مرغ داری بوده ۳۲ برابر و مقاومت به تتراسیکلین دو برابر بیشتر از باکتریهای جدا شده از افراد عادی بوده است (۷). مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها منجله تتراسیکلین در روده پرندگان، می تواند از طریق پلاسمیدها منتقل گردد (۱۹،۱۸،۶،۲). *اشریشیاکلی* به علت فراوانی در روده حیوانات از مهم ترین عوامل انتقال دهنده ژن های مقاومت در روده شناخته شده است و انتقال مقاومت از حیوانات به انسان به فراوانی گزارش شده است (۱۹،۷،۴،۲،۱).

اگر چه مقاومت به تتراسیکلین در فلور روده ای حیواناتی که تتراسیکلین مصرف نکرده اند ویا در کشورهایی که سالهاست از تتراسیکلین به عنوان افزایش دهنده رشد استفاده نمی شود ، دیده شده است (۲)، لیکن مقاومت نسبت این آنتی بیوتیک در میان باکتریهای جدا شده اهمیت زیادی داشته و بروز سویهای مقاوم به چند آنتی بیوتیک نیز از جنبه های مختلف حائز اهمیت می باشد. با توجه به مقاومت بالای جدایه ها ی جدا شده از مرغها نسبت به تتراسیکلین در این بررسی های مطالعات بیشتری جهت علل به وجود آمدن این مقاومت در باکتریها ضروری است. بررسی کارکنان مرغداریها و کسانی که بسته بندی و توزیع مرغها را به عهده دارند می تواند ارتباط بین انتقال مقاومت از پرندگان به انسان را تا حد زیادی مشخص کند. در نهایت با توجه به منع مصرف تتراسیکلین در بسیاری کشورها به عنوان تقویت کننده رشد، جا دارد تا در کشور ما نیز این مسئله مورد توجه قرار گرفته و کنترل بیشتری بر مرغداریهای صنتعی از جهت مصرف مکمل های رشد انجام گیرد.

نتیجه گیری

مقاومت بالای جدایه ها نسبت به تتراسیکلین و همچنین وجود سویه های با مقاومت چند گانه در مرغهای این منطقه ، پیشنهاد میگردد که در مراکز پرورش طیور، افزودن آنتی بیوتیکها به غذای ماکیان مورد توجه بیشتر قرار گیرد.

تشکر و قدر دانی

از مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان که هزینه انجام این طرح را تقبل نموده است تشکر و قدر دانی می نماییم .

جدول شماره ۱: بررسی الگوی مقاومت و میزان حداقل غلظت مهار کنندگی از رشد (MIC) در ۲۶۳ نمونه باکتری روده ای جدا شده از مرغ در کرمان نسبت به ۴ آنتی بیوتیک مورد بررسی.

نوع آنتی بیوتیک	MIC µg/ml	موارد مقاوم تعداد (درصد)
کلرامفنیکل	۱۶ -۶۴	۳۱ (۱۱/۷۸)
سیپروفلوکساسین	۴ – ۸	۲۴ (۹/۱۲)
جنتامایسین	۱۶ - ۳۲	۲۵ (۹/۵)
تتراسیکلین	۱۶ - ≤۵۱۲	۱۵۲ (۵۷/۸)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۲- مقاومت همزمان به آنتی بیوتیک ها در**۲۶۳ نمونه باکتری روده ای جدا شده از مرغ در کرمان.**

آنتی بیوتیک	موارد مقاوم : تعداد (درصد)
تتراسیکلین + جنتامایسین	۱۰ (۳/۸)
تتراسیکلین + سیپروفلوکساسین	۷ (۲/۶۶)
تتراسیکلین + کلرامفنیکل	۱۷ (۶/۴۶)
تتراسیکلین+ سیپروفلوکساسین+ جنتامایسین	۵ (۱/۹)
تتراسیکلین + سیپروفلوکساسین + کلرامفنیکل	۱۰ (۳/۸)
تتراسیکلین + جنتامایسین + کلرامفنیکل	۳ (۱/۱۴)

References

1- Fein D, Burton G, Tsutakawa R, Blenden D. *Matching of antibiotic-resistance pattern of Esherichia coli of farm families and their animals*. J infect Dis, 1974; 130 (3): 274-279.

2- Mamber SW, Katz S E. *Effects of antimicrobial agents fed to chickens on some gram negative enteric bacilli.* App. Environ. Microbiol, 1985; 50:638-648.

3- *Replacements for antimicrobials in feeds .Review meeting of research projects funded through the framework programmes for research*. Brussels. 15June 2005

4- Österblad M, Hakanen A, Manninen R, Leistevuo T, Peltonen R, Meurman O, et al. *A between –species comparison of antimicrobial resistance in enterobacteria in fecal flora*. Antimicrobiol Agents Chemother, 2000; 44 (6):1479-1484.

5- Hart WS, Heuzenroeder MW, Barton MD. *A study of the transfer of tetracycline resistance genes between Escherichia coli in the intestinal tract of a mouse and a chicken model*. J Vet Med. 2006; 53:333-340.

6- Levy SB, Fitzgerald GB, Macone AB. *Changes in intestinal flora of farm personnel after introduction of tetracycline-supplemented feed on a farm* .New Eng J Med. 1976; 295(11): 583-588.

7- Price LB, Jay P. Graham JP, Lackey LG, Roess A, Vailes R, et al. *Elevated Risk of Carrying Gentamicin-Resistant Escherichia coli among U.S. Poultry Workers.* Environ Health Perspect.2007; 115(12): 1738–1742.

8- MacFaddin J F. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*.3th Ed. . Philadelphia Lippincott Williams& Wilkins, 2000.PP:732-805.

9- Forbe BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailly & Scoots. *Diagnostic Microbiology* 12th Ed. St Louis.Baltimore. Mosby Elevier, 2007.PP:250-273.

10- Shapiro SK, Sarles WB. *Microorganisms in the intestinal tract of normal chickens*.Jacteriol. 1949; 58:531-544.

11- Winsor DK, Bloebaum AP, Mathewson JJ. *Gram –negative,aerobic, enteric pathogens among intestinal microflora of wild turkey vultures (Cathartes aura) in west central Texas,* App Environ Microbiol. 1980; 42:1123-1124.

12- Bohaychuk VM, Gensler GE, King RK, Manninen KL, Sorensen O, Wu JT, et al. *Occurrence of pathogens in raw and ready-to-eat meat and poultry products collected from the retail marketplace in Edmonton, Alberta, Canada*. J Food Prod.2006;69(9):2176-2182

13- Bailey J S,Cosby D E. *Salmonella prevalence in free-range and certified organic chickens.* J Food Prod. 2005; 68:2451-2453.

14- Orji M K, Onuigbo H C, Mbata TI. *Isolation of Salmonella from poultry droppings and other environmental sources in Awka, Nigeria*. Internationl. J Infect Disease. 2005; 9: 86-89.

15- Hadian Rasnani Z, Oghabi F, Valai N. *Poultary carcass Salmonella infection at industrial slaughterhouse and the effect suspention-cooling*. Feyz, Kashan University of Medical Sciences & Health Services .1998; 1 (4): 67-74.

16- Yousefi Mashouf R. *The study of prevalence of Salmonella in poultry carcasses for sale in the Hamadan retail market.* J. Zanjan Uni Med SciHelth Sevices.2000. 8 (33),47-51.

17- Rafiei Tabatabaei R, Nasirian A. *Isolation, Identification and Antimicrobial Resistance Patterns of E. coli Isolated from Chicken Flocks.* Iranian J Pharmaco Ther (IJPT). 2003; 2 (2):39-42.

18- Mazi W, Senok A, Al-Mahmeed A, Arzese A, Khalid Bindayna K , Botta G. *Trends in Antibiotic Sensitivity Pattern and Molecular Detection of tet(O)-Mediated Tetracycline Resistance in Campylobacter jejuni Isolates from Human and Poultry Sources.* Jpn. J. Infect. Dis,.2008;61(1):82-84.

19- Winokur PL, Vonstein DL, Hoffman LJ,Uhlenhopp EK, Doern GV. *Evidence for trasfer of CMX2 AmpC β lactamase plasmids between Escherichia coli and salmonella isolates from food, animal and humans.* Antimicrob Agents Chemother. 2001; 45: 2716-2722.

www.SID.ir