شیوع و عوامل خطر مرتبط با آلودگی به سالمونلا در مزارع طیور تخم گذار تجاری کشور در سال ۱۳۹۲

سعید بکائی[۱]، فرشته انصاری[۲]*، سید مصطفی پیغمبری[۳]، محمود محمودی[۴]، محمدحسین فلاح مهرآبادی[۵]، فرشاد زین-العابدین طهرانی[۶]، ابوالفضل رجب[۷]، سیدعلی غفوری[۸]، سید محمد مهدی طباطبائی[۸]، مریم شعبانی[۹]

۱. استاد اپیدمیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران
۲. دانشجوی PhD اپیدمیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران
۳. استاد بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران
۴. استاد آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه تهران، ایران
۵. دانش آموخته PhD اپیدمیولوژی، بخش بیماریهای ویروسی طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم-سازی رازی. کرج. ایران
۶. مدیر کل دفتر بهداشت ومبارزه با بیماری های طیور وزنبور عسل وکرم ابریشم، سازمان دامپزشکی کشور، ایران
۷. معاون دفتر بهداشت و مبارزه با بیماریهای طیور، زنبورعسل و کرم ابریشم، سازمان دامپزشکی کشور، ایران
۸. کارشناس ارشد، دفتر بهداشت و مدیریت بیماری‌های طیور، زنبور عسل و کرم ابریشم، سازمان دامپزشکی کشور، ایران
۹. کارشناس ، دفتر بهداشت و مدیریت بیماری‌های طیور، زنبور عسل و کرم ابریشم، سازمان دامپزشکی کشور، ایران

***نشانی برای مکاتبه:** تهران، میدان انقلاب، ابتدای خیابان آزادی، نبش خیابان دکتر قریب، دانشکده دامپزشکی‌دانشگاه تهران، بخش اپیدمیولوژی، تلفن : ۶۰۱۱۷۰۴، ansarif@ut.ac.ir

دریافت مقاله: تیر نود و چهار پذیرش برای چاپ: شهریور نود و چهار

چکیده

سابقه و هدف: *مصرف تخم مرغ آلوده از عوامل مهم آلودگی انسان به عفونت سالمونلای غیر تیفوئیدی محسوب می‌شود. هدف از این پژوهش تعیین شیوع آلودگی به سالمونلا و عوامل خطر این آلودگی در مزارع طیور تخم گذار کشور بود.*

روش کار: *این مطالعه توصیفی - مقطعی در سال ۱۳۹۲ و در ۲۰ استان کشور انجام شد. در این پژوهش از ۱۱۳ مزرعه طیور تخم گذار نمونه‌ی مدفوع اخذ شد و آزمون‌های باکتری‌شناسی استاندارد برای جداسازی سالمونلا روی این نمونه‌ها انجام گرفت. نمونه هایی که از نظر کشت مثبت بودند با استفاده از آزمون‌های تکمیلی سرمی و PCR تعیین سروتیپ شدند. اطلاعات مربوط مرغ داری‌های نمونه‌برداری شده با استفاده از اطلاعات ثبت شده در سیستم GIS استخراج شدند و از این اطلاعات به منظور تحلیل فاکتورهای خطر استفاده گردید.*

یافته‌ها: *از ۱۱۳ مزرعه‌ی نمونه‌برداری‌شده چهار مزرعه (۳/۵٪) به باکتری سالمونلا آلوده بودند. بالا بودن ظرفیت مرغ داری (۰/۰۲۱ > P) و تعداد سالن‌های مرغداری (۰/۰۴۴ > P) فاکتورهای خطر مهمی برای آلودگی به سالمونلا در مزارع طیور تجاری بودند.*

نتیجه‌گیری: *نتایج به دست آمده از این پژوهش بیانگر این است که بعضی از مزارع طیور تخم گذار کشور به باکتری سالمونلا آلوده هستند و احتمال آلودگی در مزارعی که ظرفیت پرورشی بالاتر و تعداد سالن‌های بیش تری دارند به مراتب بیش تر است. به نظر می-رسد لازم است برنامه‌ی نمونه‌گیری منظم از مزارع طیور تخم گذار اجرا شود و سیاست‌های مناسب در صورت آلوده بودن گلّه های تجاری اتخاذ شود تا سلامت محصولی که به دست مصرف کننده می‌رسد به طرز مناسبی تأمین‌گردد.*

واژگان کلیدی: سالمونلا، مزارع طیور تخمگذار تجاری، شیوع، فاکتور خطر

مقدمه

باکتری سالمونلا یکی از مهم ترین عوامل باکتریایی آلوده کننده مواد غذایی در سراسر جهان به شمار می‌رود. مصرف گوشت مرغ و تخم‌مرغ آلوده به سالمونلا از عوامل عمده‌ی ایجاد کننده عفونت‌های گوارشی در انسان هستند و آلودگی به سالمونلا در مزارع طیور تخم‌گذار از نظر انتقال آلودگی به زنجیره‌ی تولید و مصرف کننده از اهمیت زیادی برخوردار است(۱،۲).

مصرف مواد غذایی آلوده به سالمونلا می‌تواند عوارض بالینی مختلفی به دنبال داشته باشد. ابتلا به عفونت گوارشی، باکتریمی و تب تیفوئید از جمله این عوارض است. آمار جهانی نشان می‌دهد که سالانه حدود ۹۴ میلیون مورد گاستروآنتریت غیر تیفوئیدی در جهان اتفاق می‌افتد که منجر به مرگ ۱۵۵۰۰۰ نفر می‌شود(۳) . آلودگی به سالمونلا علاوه بر اثراتی که بر سلامت عمومی می گذارد تبعات اقتصادی نامطلوبی نیز به دنبال

دارد(۴) و می‌تواند اعتبار تولید کنندگان صنایع غذایی را نزد مصرف کنندگان مخدوش کند.

با توجه به اهمیت قابل توجه آلودگی به سالمونلا در مزارع طیور تخم گذار، مطالعات مختلفی به منظور شناسائی عوامل خطر این آلودگی انجام شده - است. آلودگی به سالمونلا معمولاً از هچری یا کارخانه‌های تولید خوراک آغاز می‌شود و آلودگی محیطی و پاک سازی و ضدعفونی کردن غیر مؤثّر بین دوره‌های پرورش منجر به پای داری عفونت در مرغ داری می‌گردد. جوندگان و بندپایان نیزمی‌توانند آلودگی را بین مزارع پرورشی مختلف منتقل نمایند (۵).

هدف از این پژوهش که به صورت هماهنگ در سرتاسر کشور انجام شده- است تعیین وضعیت آلودگی به سالمونلا و عوامل تأثیر گذار در این آلودگی در طیور تخم گذار تجاری بوده‌است. توجه به نتایج این تحقیق در امر ارزیابی خطر آلودگی مصرف کننده، تدوین برنامه‌های پیش گیری، کنترل و واکسیناسیون و سیاست‌گذاری برای امر صادرات می‌تواند حائز اهمّیت باشد.

روش‌کار

این مطالعه به صورت توصیفی- مقطعی از خرداد تا اسفند ماه ۱۳۹۲ و در ۲۰ استان کشور انجام شد. جمعیت هدف این مطالعه تمامی مزارع پرورش طیور تخم گذار فعّال کشور را شامل می‌شد. حداقل تعداد نمونه مورد نیاز بر اساس میزان شیوع مورد انتظار ۵ درصد، دقّت ۴/۵ درصد و حدود اطمینان ۹۵٪ محاسبه شد. در این پژوهش در مجموع از ۱۱۳ مرغ داری تخم گذار فعّال کشور نمونه‌برداری صورت گرفت. نمونه‌برداری به روش تصادفی طبقه‌ای و بر اساس تعداد مرغ داری‌های فعّال در هر استان انجام شد.

بعد از مراجعه به مرغ داری از هر سالن پرورشی تعداد دو نمونه ۱۵۰ گرمی مدفوع اخذ شده و ظرف ۲۴ ساعت در جوار یخ به آزمایشگاه منتقل می- شد. دو تحت نمونه ۲۵ گرمی از نمونه‌های مذکور جدا شده و هر کدام از این دو تحت نمونه با ۲۲۵ میلی‌لیتر محیط (BPW) Buffered Peptone Water مخلوط شده و BPW همراه با نمونه به مدت ۲۴- ۱۸ ساعت در انکوباتور ۳۷°C قرار می‌گرفت. سپس نمونه‌ها در محیط کشت اختصاصی و غنی‌کننده از جمله سلنیت F یا سلنیت سیستئین کشت داده شده و در دمای ۳۷° C به مدت ۴۸- ۲۴ساعت گرم خانه- گذاری می‌شدند. بعد از این مرحله برای تشخیص پرگنه‌های مشکوک به سالمونلا نمونه‌ها در محیط‌های انتخابی SS agar (-*Salmonella* *Shigella* agar) و MC agar (MacConkey agar) کشت داده شدند. سپس پرگنه‌های مشکوک به سالمونلا در محیط‌های (TSI) Triple Sugar Iron agar و اوره تلقیح شده و در مواردی که سالمونلا تشخیص داده می‌شد در محیط‌های نیترات، MR-VP و سیترات نیز جهت اطمینان کشت داده می‌شدند و سپس از لحاظ تخمیر قندهای ترهالوز، دولسیتول و مانیتول بررسی می شدند(۱۱).

برای تعیین گروه سرمی از آنتی‌سرم پلی‌والان O استفاده شد. هر پرگنه سالمونلا از کشت ۲۴ ساعته و خالص در محیط TSI با سرم فیزیولوژی ۸/۵٪ روی یک لام تمیز مخلوط می‌شد به طوری که شیرابه غلیظی به دست آید. پس از کنترل آتوآگلوتیناسیون یک قطره از سرم پلی والان O (A-S) روی آن قرار داده شده و با شیرابه باکتری مخلوط می‌شد و نتیجه در برابر چراغ و در زمنیه سیاه قرائت گردید. در صورتی که آگلوتیناسیون در کمتر از ۲ دقیقه مشاهده می‌شد واکنش مثبت در نظر گرفته می‌شد و در این حالت آزمایش با آنتی‌سرم مربوط به هرکدام از گروه‌های موجود در آنتی‌سرم پلی‌والان تکرار می‌شد تا گروه سرمی سالمونلای جدا شده مشخص شود(۱۴).

در مرحله بعدی برای تعیین سروتیپ در داخل گروه سرمی از آزمون PCR استفاده‌شد. جهت تأیید جنس سالمونلا وجود ژن‌های *invA* اختصاصی برای سالمونلا(۶)، *Flic* اختصاصی برای سالمونلا تیفی‌موریوم (۷)، *Prot 6e* اختصاصی انتریتیدیس(۸) و *fljB* اختصاصی سالمونلا اینفنتیس(۹) در آزمون PCR مورد بررسی قرارگرفت . واکنش‌ها در حجم ۲۵ میکرولیتر با هر زوج از پرایمرها به صورت جداگانه انجام گرفت. هر واکنش شامل 2/5 میکرولیتر بافر، 0/75 میکرو لیتر $MgCI_2$، 0/5میکرولیتر dNTPs، یک میکرولیتر از هر پرایمر، ۲ میکرولیتر از DNA و 0/5 میکرولیتر آنزیم *Taq* بود.

در این مطالعه هفت فاکتور خطر احتمال سالمونلا شامل سن گلّه در زمان نمونه‌برداری، ظرفیّت مرغ داری، تعداد سالن‌های مرغ داری، هم‌سن بودن گلّه (اجرای سیاست all in/ all out)، مجهّز بودن گلّه به تجهیزات جمع‌آوری کود، وجود حصارکشی مناسب دور مرغ داری و فصل انجام نمونه‌گیری بررسی شد. اطلاعات مربوط به این فاکتورها در مورد مرغ داری‌های نمونه‌برداری شده از سیستم اطلاعات جغرافیایی (GIS) کشور استخراج شد و برای تحلیل فاکتورهای خطر استفاده شد. این اطلاعات و نتیجه تست‌های تشخیصی سالمونلا برای تحلیل آماری وارد نرم افزار STATA 12 شد. مرغ داری‌هایی که نتیجه آزمون باکتری‌شناسی حداقل یکی از نمونه‌های آن‌ها از نظر سالمونلا مثبت بود به عنوان مرغ داری آلوده در نظر گرفته‌شد.

نرمال بودن توزیع متغیرهای کمّی با استفاده از آزمون آماری کولموگروف اسمیرنف بررسی شد که در مورد متغیرهای تعداد سالن‌های مرغداری و تعداد پرندگان مرغداری‌ها نرمال نبود و در این دو مورد از آزمون آماری ناپارامتریک Mann-Whitney برای آنالیز داده‌ها استفاده شد و در مورد متغیّر سن گلّه که بر اساس آزمون مذکور نرمال بود از Independent-Samples T Test برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. روابط بین آلودگی به سالمونلا و متغیرهای کیفی مورد مطالعه با استفاده از آزمون Chi-square آزمون شد. سطح معناداری تحلیل‌های آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این پژوهش در مجموع چهار مزرعه (۶/۹٪ ,۰/۰۸=C I :۳/۵٪) از نظر آلودگی به سالمونلا مثبت بودند. میانگین سن پرندگان هنگام نمونه‌برداری برابر ۱۶/۷۵±۴۸/۳۱ هفته بود. دو نمونه‌ی مثبت به گروه سرمی B تعلّق داشت و سروتیپ یکی از این نمونه‌ها سالمونلا تیفی‌موریوم تشخیص داده- شد. در مورد دو نمونه‌ی مثبت دیگر امکان تعیین گروه سرمی وجود نداشت و نتیجه آزمون PCR نشان داد که به هیچ کدام از سروتیپ‌های

سالمونلای مورد بررسی (انتریتیدیس، تیفی‌موریوم و اینفنتیس) تعلّق ندارند.

نتایج این پژوهش نشان داد که احتمال آلوده بودن مرغ داری‌هایی که تعداد پرنده بیش تر (P <۰/۰۲۱) و تعداد سالن بیش تری (P <۰/۰۴۴) دارند به طرز معناداری بیش تر است. سایر فاکتورهای مورد بررسی از جمله سن گلّه، مجهّز بودن به تجهیزات جمع‌آوری کود، وجود حصارکشی مناسب دور مرغ داری، هم‌سن بودن گلّه و فصل انجام نمونه‌برداری بین مرغ داری‌های آلوده و غیر آلوده تفاوت آماری معناداری نداشتند (جدول۱).

جدول ۱- توزیع و مقادیر P مربوط به متغیرهای بررسی شده در مزارع آلوده و غیر آلوده به سالمونلا در مزارع طیور تخم گذار کشور در سال ۱۳۹۲

نام متغیر	مزارع غیر آلوده (میانگین±انحراف معیار)	مزارع آلوده (میانگین±انحراف معیار)	مقدار P	نام متغیر	مزارع غیر آلوده (٪)	مزارع آلوده (٪)	مقدار P
سن گلّه	۴۸/۱۸±۲۴/۳۲	۵۱/۴۳±۱۸/۵۱	۰/۷۸۶	هم سن بودن گلّه	۳۰ (۲۷/۵۲)	۱ (۲۵)	۰/۹۱۲
ظرفیت مرغداری	۸۶۴۸۶/۲۸±۱۵۶۰۱۳/۲۰	۲۵۱۲۵۰/۰۰±۲۲۰۹۹۶/۸۰	۰/۰۲۱*	وجود حصار کشی مناسب اطراف گلّه	۸۷ (۸۹)	۴ (۱۰۰)	۰/۴۷۸
تعداد سالن‌های مرغداری	۳/۴۲±۳/۲۷	۷/۷۵±۶/۱۸	۰/۰۴۴*	مجهّز بودن گلّه به تجهیزات جمع‌آوری کود	۹۳ (۹۶)	۴ (۱۰۰)	۰/۶۷۹
				فصل انجام نمونه‌برداری			
				بهار	۷(۶/۴)	۱(۲۵)	-
				تابستان	۶۴(۵۹)	۲(۵۰)	۰/۲۰۰
				پاییز	۲۷(۲۵)	۰(۰)	۰/۰۶۲
				زمستان	۱۱(۱۰)	۱(۲۵)	۰/۷۶۱

بحث

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که برخی از مزارع طیور تخم گذار کشور به باکتری سالمونلا آلوده هستند.

شیوع به دست آمده در این مطالعه نسبتاً پایین است. از آنجا که پیش از این برنامه مراقبت کشوری سالمونلا در مورد طیور تخم گذار در کشور اجرا نشده‌است اطلاعات ما در مورد شیوع این آلودگی در ایران به مطالعات جزیره‌ای محدود می‌شود. در مطالعه مرشد و پیغمبری شیوع آلودگی به سالمونلا در یازده مزرعه تخم گذار بررسی شده ۹٪ (۱۰) و در مطالعه‌ی اکبریان و هم کاران در ۸۵ مزرعه‌ی مورد بررسی برابر ٪۶/۵ بوده-است(۱۱).

در مورد آلودگی تخم مرغ‌های عرضه شده به بازار نیز تا کنون مطالعات مختلفی انجام شده‌است که بیان گر آلودگی پایین تخم‌مرغ‌هایی است که به دست مصرف‌کننده می‌رسد. در یک مطالعه که روی ۲۵۰ تخم‌مرغ در شهر مشهد انجام شد ٪۱/۶ از پوسته تخم‌مرغ‌ها به سالمونلا تیفی‌موریوم آلوده بود ولی باکتری سالمونلا از محتویات داخل هیچ‌کدام از تخم‌مرغ‌ها جدا نشد(۱۲). مطالعه مشابهی که در شهرکرد روی ۱۰۰ تخم‌مرغ نشان داد که هیچ یک از تخم‌مرغ‌ها به باکتری سالمونلا آلوده نیستند(۱۳).

لازم به ذکر است که شیوع سرمی آلودگی به سالمونلا در مزارع طیور تخم گذار بسیار بالاتر از شیوع به دست آمده در مطالعاتی است که از روش‌های باکتری شناسی استفاده کرده‌اند. در یک مطالعه که در ۱۰۸ مزرعه طیور تخم گذار تجاری انجام شده‌است ۵۶/۴۸ در صد مزارع بر اساس آزمون الایزا، به سالمونلا انتریتیدیس آلوده بوده‌اند(۱۴). شایان ذکر است که پاسخ مثبت سرمی نشان گر آن است که گله در طول دوره پرورش حداقل یک بار آلودگی به سالمونلا را تجربه کرده است. در گله های طیور دفع سالمونلا معمولا به صورت متناوب صورت می گیرد.

در این مطالعه بالا بودن تعداد سالن‌های مرغ داری و تعداد بالای مرغ‌های یک مرغ داری فاکتور خطر مهمی برای آلودگی به سالمونلا بوده‌اند . سایر پژوهش‌هایی که روی فاکتورهای خطر آلودگی به سالمونلا انجام شده‌اند نیز به نتیجه‌ی مشابهی دست یافته‌اند(۱۶, ۱۵, ۵). با بالا رفتن ظرفیت مرغ داری تعداد جمعیت در معرض خطر افزایش پیدا می‌کند. بالا رفتن جمعیت در معرض خطر یکی از عواملی است که موجب پایداری آلودگی به عوامل عفونی مختلف در جمعیت‌ها می‌شود.

انجام اقدامات بهداشتی و پاکسازی سالن‌های پرورش در مرغ داری‌هایی که تعداد سالن‌های بالایی دارند مشکل‌تر است. استرس پرورش ناشی از

سیستم پرورش متراکم نیز می‌تواند حسّاسیت پرنده به عوامل عفونی را افزایش دهد.

در مورد سایر عوامل مورد بررسی تفاوت معناداری بین مزارع آلوده و غیر آلوده وجود نداشت گرچه مطالعات دیگری که در این زمینه انجام شده‌اند بالا بودن سن گلّه(۵, ۱۵) و هم‌سن نبودن گلّه(۵, ۱۵) را نیز به عنوان فاکتورهای خطر مهمی برای سالمونلا معرفی کرده‌اند و نشان داده اند که شانس جداسازی سالمونلا در زمستان بیش تر است(۱۷).

نتیجه گیری

به نظر می‌رسد که گرچه شیوع به دست آمده در این مطالعه و مطالعات مشابه پایین است ولی شیوع واقعی آلودگی به سالمونلا در مزارع طیور تخم گذار تجاری می‌تواند بیش تر از این باشد برای تضمین سلامت مصرف کننده لازم است از روش‌های حسّاس‌تری برای شناسائی این آلودگی استفاده نماییم. علاوه بر این توصیه می‌شود نمونه‌برداری از مزارع پرورشی در فواصل منظّم در طول دوره‌ی پرورش انجام شود تا در صورت آلوده شدن گلّه اقدامات پیش گیرانه مناسب به منظور جلوگیری از فروش تخم-مرغ‌های آلوده به بازار انجام شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با استفاده از اعتبار پژوهشی شماره۷۵۰۷۰۰۳/۶/۱۰ معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و اعتبارات سازمان دام پزشکی کشور و با هم کاری دفتر بهداشت و مدیریت بیماری های طیور سازمان دام پزشکی و ادارات کل دام پزشکی سراسر کشور انجام گرفت که از هم کاری آنها صمیمانه تقدیر می‌گردد.

REFERENCES

1. Bouzidi N, Aoun L, Zeghdoudi M, Bensouilah M, Elgroud R, Oucief I, et al. *Salmonella* contamination of
laying-hen flocks in two regions of Algeria. Food Research International. 2012;45(2):897-904.
2. Rasschaert G. Molecular epidemiology of *Salmonella* and Campylobacter contamination of poultry during transport and slaughter (Dissertation). Ghent: Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University; 2007.
3. Kagambèga A, Lienemann T, Aulu L, Traoré AS, Barro N, Siitonen A, et al. Prevalence and characterization of *Salmonella* enterica from the feces of cattle, poultry, swine and hedgehogs in Burkina Faso and their comparison to human *Salmonella* isolates. BMC Microbiology. 2013;13(1):253.
4. Collard J, Bertrand S, Dierick K, Godard C, Wildemauwe C, Vermeersch K, et al. Drastic decrease of *Salmonella* Enteritidis isolated from humans in Belgium in 2005, shift in phage types and influence on foodborne outbreaks. Epidemiology and Infection. 2008;136(06):771-81.
5. Snow L, Davies R, Christiansen K, Carrique-Mas J, Cook A, Evans S. Investigation of risk factors for *Salmonella* on commercial egg-laying farms in Great Britain, 2004-2005. The Veterinary Record. 2010;166(19):579.
6. Rahn K, De Grandis S, Clarke R, McEwen S, Galan J, Ginocchio C, et al. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella* typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. Molecular and cellular probes. 1992;6(4):271-9
7. Soumet C, Blivet D, Ermel G, Colin P, Salvat G. An immunoconcentration-PCR assay to detect *Salmonella* in the environment of poultry houses. International journal of food microbiology. 1999;48(3):221-4.
8. Malorny B, Bunge C, Helmuth R. A real-time PCR for the detection of *Salmonella* Enteritidis in poultry meat and consumption eggs. Journal of microbiological methods. 2007;70(2):245-51.
9. Kardos G, Farkas T, Antal M, Nógrády N, Kiss I. Novel PCR assay for identification of *Salmonella* enterica serovar Infantis. Letters in applied microbiology. 2007;45(4):421-5.

10. Morshed R, Peighambari SM. Drug resistance, plasmid profile and random amplified polymorphic DNA analysis of Iranian isolates of *Salmonella* enteritidis. The New Microbiologica. 2010;33(1):47-56
11. Akbarian R, Peighambari SM, Morshed R, Yazdani A (2012) Survey of *Salmonella* infection in Iranian poultry flocks. Iranian Veterinary Journal. 8:5-10.(Full Text in Persian)
12. Jamshidi A, Kalidari G ,Hedayati M. 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. 2010;30(3):558-68.
13. Safaei HG, Jalali M, Hosseini A, Narimani T, Sharifzadeh A, Raheimi E. The prevalence of bacterial contamination of table eggs from retails markets by *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* and *Escherichia coli* in Shahrekord, Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2012;4(4):249-53
14. Akbarian R, Peighambari SM, Barin A. Serologic profile of *Salmonella* Enteritidis in poultry flocks of Iran. Journal of Veterinary Research. 2009;64:5-10. (Full Text in Persian)

15. Huneau-Salaün A, Marianne C, Sophie LB, Françoise L, Isabelle P, Sandra R, et al. Risk factors for *Salmonella* enterica subsp. enterica contamination in 519 French laying hen flocks at the end of the laying period. Preventive Veterinary Medicine. 2009;89(1):51-8.

16. Mollenhorst H, Van Woudenbergh C, Bokkers E, De Boer I. Risk factors for *Salmonella* Enteritidis infections in laying hens. Poultry Science. 2005;84(8):1308-13.
17. Van Hoorebeke S, Van Immerseel F, Schulz J, Hartung J, Harisberger M, Barco L, et al. 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. 2010;94(1):94-100.