

عزل بعض الجراثيم المرضية المشتركة من الأغنام العواسية المحلية

لمياء محمد احمد

المعهد التقني/ كركوك

الخلاصة

استهدف البحث الحالي عزل بعض الجراثيم المرضية المشتركة وشملت *Listeria monocytogenes* و *Salmonella spp.* و *Brucella abortus* من أنسجة أعمار مختلفة من 73 رأس غنم من الأغنام العواسية المحلية. أخذت عينات من الكبد والكلى والدم ومن محتويات منتصف أمعاء ثلاث مجاميع عمرية من الأغنام العواسية من مجزرة الشعلة ببغداد شملت أعمار اقل من سنة واحدة وسنة إلى سنتين وأكثر من ثلاث سنوات. بينت نتائج عزل جراثيم *Listeria monocytogenes* و *Salmonella spp.* و *Brucella abortus* من كافة الأعمار إن أكثر نسبة عزل كانت للأعمار أكثر من ثلاث سنوات حيث بلغت 92 و 76 و 52 % من عينات محتويات منتصف الأمعاء و 60 و 20 و 12 % من عينات الدم و 25 و 4 و 12 % من عينات الكلى و 72 و 52 و 12 % من عينات الكبد. وكانت جرثومة السالمونيلا الأكثر نسبة عزل من بين الجراثيم المشتركة المعزولة تلتها اللستيريا ثم البروسيلا.

Isolation of some zoonotic bacteria from native awassi sheep

L. M. Ahmed

Technical Institute/ Kirkuk

Abstract

The object of this study was to isolate some of zoonotic bacteria included *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* and *Brucella abortus* from different tissues of 73 individuals of native Awassi sheep. Samples of liver, kidney, blood and content of middle intestine of native Awassi sheep from Al-Shula abattoir in Baghdad city included three ages: up to 1 year, 1-2 years and more than 3 years. Results revealed that *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* and *Brucella abortus* were isolated from all studied ages of native Awassi sheep. Sheep more than 3 years had the highest isolation percentage which were 92, 76 and 52 % of the intestine samples, 60, 25 and 12 % of blood samples, 16, 4 and 12 % of kidney samples and 72, 52 and 12 % of liver samples. *Salmonella spp.* was the highest isolation percentage among zoonotic bacterial isolation, then *Listeria monocytogenes* and *Brucella abortus*.

المقدمة

الأمراض المشتركة (Zoonotic) أو الانتقالية (Transmittable) كما يسميها البعض هي الأمراض التي تنتقل من الحيوانات سواء الحيوانات الحقلية المدجنة (Domestic) أو البرية (Wild) إلى الإنسان وبالعكس، وتشمل مجموعة من الأمراض الفايروسية والطفيلية والجرثومية وهذه الأخيرة تشمل أمراض عديدة أهمها السالمونيلا

(Salmonellosis) والليستيريا (Listeriosis) والبروسيلات (Brucellosis) وغيرها من الجراثيم التي لها أهمية صحية خطيرة على الصحة العامة (1).

مرض البروسيلات المجهضة (*Brucella abortus*) أحد الأمراض المشتركة واسعة الانتشار في الإنسان والحيوان وله أهمية اقتصادية واجتماعية لما يسببه من خسائر اقتصادية كبيرة في الثروة الحيوانية، كذلك تأثيره على الصحة العامة للإنسان ويمتاز بتعدد طرائق انتقال جرثومة البروسيلات وتعدد مضائفاها حيث يشتمل على المواشي والحيوانات البرية (2 و 3)، ونظرا لأهمية المرض البالغة ولسرعة انتشار الإصابة أجريت كثير من الدراسات لتوضيح كافة جوانبه وكشف كل ما يتعلق بوبائياته وطرق انتقاله للحد من انتشاره وتقليل خسائره (4 و 5)، فقد أجريت دراسات عالمية ومحلية عديدة للتعرف على طبيعة المرض وتعد البيئة العراقية والحيوانات المحلية بؤرة كبيرة لانتشار البروسيلات (6).

تشكل جراثيم السالمونيلا (*Salmonella spp.*) مشكلة صحية كبيرة للإنسان والحيوان كونها من الجراثيم المعوية المشتركة وتعتمد امراضيتها على عاملين مهمين هما قابلية الجرثومة على الغزو والاستيطان وإنتاج السموم المعوية، وهذا يرتبط بعوامل أخرى مهمة لحدوث المرض كالعمر والمقاومة الطبيعية وتطور الفلورا المعوية والاختلافات الفردية وتطور الجهاز المناعي الإقراري (7).

تعد جراثيم *Listeria monocytogenes* من الجراثيم المشتركة عالية الضراوة وواسعة الانتشار في الطبيعة تصيب الإنسان والحيوانات اللبونة وأكثر من أربعين نوعا من الدواجن والطيور، و تعد أحد أسباب المشاكل الرئيسية في عمليات التصنيع الغذائي لما تسببه من حالات التسمم الغذائي وقد تسببت في حدوث أكثر من 2500 حالة إصابة سنويا (8)، تظهر قابلية الجرثومة على ان تشغل مدى واسعاً في الطبيعة المقدره على التحسس والاستجابة والتكيف مع العديد من الظروف الصعبة التي تواجهها أثناء وجودها من البيئة وصولاً إلى المضيف (9). إن انتشار الجرثومة عبر مجرى الدم أو اللمف ضمن خلايا المضيف كالخلايا البلعمية سبب حصول حالة الإنتان الدموي Septicemia مما يؤدي إلى تموضع الجرثومة في أعضاء مختلفة من الجسم كالكبد والطحال والدماغ والرحم حيث يمكنها اختراق المشيمة وصولاً إلى الرحم ثم الجنين مؤدياً إلى حدوث حالة الإجهاض الليستيري (10).

يهدف البحث الحالي محاولة عزل جراثيم الليستيريا والسالمونيلا والبروسيلات من أنسجة أعمار مختلفة للأغنام العواسية المحلية.

المواد وطرائق العمل

اجري البحث للمدة من 1/ 5/ 2010 ولغاية 1/ 9/ 2010 بأخذ أنسجة مختلفة من 73 رأس من الأغنام العواسية المحلية بعد تحديد أعمارها لعزل عدد من الجراثيم المرضية المشتركة.

- الأغنام: تم اخذ عينات مختلفة من 73 رأس غنم شملت الكبد والكلية والدم ومحتويات منتصف الأمعاء من الأغنام العواسية المحلية المسوقة إلى مجزرة الشعلة في بغداد وتم اخذ العينات حسب الفئات العمرية حيث شملت ثلاث فئات عمرية اعتمادا على تقدير العمر من خلال الأسنان وكما يأتي:

1. اقل من سنة واحدة (25 حيوان).
2. سنة إلى سنتين (23 حيوان).
3. أكثر من ثلاث سنوات (25 حيوان).

- **العينات:** تم جمع 10 مل من الدم مباشرة أثناء عملية الذبح للحيوانات وتم الجمع باستخدام أنابيب زجاجية حاوية على مانع التخثر (Sodium citrate anticoagulant) وفي نفس الوقت تم اخذ 30 غم من أنسجة الكبد والكلية ومن محتويات منتصف الأمعاء من نفس الحيوانات المنبوحة ووضعت العينات داخل قناني زجاجية معقمة ونقلت خلال ساعتين إلى المختبر داخل حاويات مبردة لإجراء الفحوصات المطلوبة.
- **البروسيلا (*Brucella abortus*):** زرعت العينات الثلاثة مباشرة على الوسط الزرع السائل المعقم وسط مرق فول الصويا (Trypticase Soy Broth) TSB ووضعت بالحاضنة، وعند ظهور تعكر في الوسط الزرع بعد مرور (2-3) أيام حضن بدرجة 37م° ثم تنقل عروة مملوءة (Loop full) منه إلى الوسط الصلب (وسط أكار فول الصويا) TSA حيث حضن بدرجة 37 م° لمدة 2-3 أيام بتوفر غاز CO₂، وبدعم توفر غاز CO₂، ولمدة 3-5 أيام وأهملت الأطباق عند عدم ظهور النمو بعد هذه المدة أو التي ظهر عليها النمو بعد يوم واحد من الزرع لتظهر مستعمرات البروسيلا النموذجية التي تمتاز بصغر حجمها وحوافها المنتظمة وسطحها المحدب ولمعانها وعند حملها باتجاه مصدر ضوئي تعكس المستعمرات لوناً أزرقاً فاتحاً، ومن ثم نقلت المستعمرات المشتبه بها (*Brucella abortus like colony*) إلى قنن محكمة الغطاء (Universal tubes) من وسط أكار فول الصويا المائل (TSA-Slopes) لغرض التشخيص المجهرى كما ذكر (6) واجري التشخيص الجرثومي للخلايا النقية وشملت فحص الاوكسيديز والكاتاليز وتحويل الستريت على وسط Simone citrate وتخمير السكريات على وسط TSI واختبار الحركة وإنتاج الأندول بواسطة SIM وحسب طريقة (11).
- **السالمونيلا:** زرعت العينات الثلاثة مباشرة على الوسط الزرع السائل المعقم (Selenite Cystine) SCB ووضعت القناني بدرجة (42) م° لمدة (24-48) ساعة، ومنه زرع 1مل على الوسط الزرع المعقم على وسط BGBA (Brilliant Green Bile Agar) وحضنت بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة فظهرت مستعمرات جرثومة السالمونيلا ملساء دائرية محدبة كاملة الحواف ذات قطر (1-3) ملم لونها وردي فاتح مع تلون الوسط المحيط بها باللون الأحمر (غير مخمرة للاكتوز) وللتأكد منها انتخبت إحدى المستعمرات وزرعت على وسط MacConkey agar فظهرت مستعمرات ملساء محدبة قطرها حوالي (1-3) ملم عديمة اللون مع ميل الوسط إلى التلوث باللون ألقشي (12). وأجريت الفحوصات الكيماية إحيائية للتأكد من جرثومة السالمونيلا المعزولة وشملت تخمير اللاكتوز على وسط BGBA وتخمير اللاكتوز على وسط Macconkey وتفاعل Oxidase وتحويل الستريت على وسط Simone citrate وتخمير السكريات على وسط TSI واختبار الحركة وإنتاج الأندول بواسطة SIM ونزع الكاربوكسيل على وسط LIA (13).
- **الليستيريا (*Listeria monocytogenes*):** زرعت العينات الثلاثة مباشرة على سطح أطباق الوسط الزرع الصلب المعقم وسط مرق الليستيريا المغذي (Enrichment Listeria Broth, Modified) (ELBM) وحضنت بدرجة 37 م° لمدة 48 ساعة وحسب طريقة (14)، أجريت سلسلة من التخفيف العشرية لمحتويات الوسط وصولاً إلى التخفيف العاشر بعد ذلك تم زرع من كل تخفيف على سطح طبق (TSA) Trypticase Soy Agar ثم حضنت الأطباق بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة، بعدها عدت المستعمرات على الطبق الذي يحتوي على (30-300) مستعمرة حيث ظهرت المستعمرات ناعمة ومحدبة وملساء الحافة وذات لون معتم opaque مائل للأزرق، وتم حسب التخفيف على أساسها مع مراعاة زرع طبقين لكل تخفيف ثم استخراج المعدل وحسب طريقة (11)،

وجرى تشخيص الجرثومة بالتشخيص المورفولوجي المظهري للمستعمرات النقية بعد التصيبغ بصبغة كراما إجراء الفحوص البايوكيميائية وشملت تخمير سكريات Mannitol و D-xylose و Rhamnose وفحص الاوكسيدز والكاتليز واختبار الحركة المحور لتكوين ما يعرف بالمظلة (Umbrella formation) وفحص تحلل الدم على وسط 7 % من خلايا دم الأغنام (13).

النتائج

يبين من الجدول (1) ان عزل جرثومة السالمونيلا ن محتويات منتصف الأمعاء للأغنام العواسية قد تم من 20 حيوان من أصل 25 حيوان أخذت منها نماذج الفحص عند عمر اقل من سنة ليرتفع العدد إلى 23 حيوان حامل للجرثومة من أصل 25 حيوان للفئات العمرية 1 - 2 سنة وأكثر من 3 سنوات على التوالي، وفي نفس الوقت بلغت أعداد الحيوانات الحاملة لجرثومة الليستيريا 10 و 18 و 18 حيوان للفئات العمرية الثلاثة على التوالي كما عزلت جرثومة البروسيلا المجهضة من 8 و 9 و 13 حيوان للفئات العمرية الثلاثة قيد الدراسة للأغنام العواسية مما يشير إلى ارتفاع نسبة العزل من محتويات القناة الهضمية لهذه الجراثيم المرضية المشتركة.

العزل الجرثومي للجراثيم المرضية المشتركة من دم الأغنام العواسية وللأعمار الثلاثة موضح بالجدول (2)، حيث نلاحظ إن نسبة العزل كانت مرتفعة في الأغنام بالنسبة لجرثومة السالمونيلا مقارنة بجرثومتي الليستيريا والبروسيلا وكانت نسبة العزل تزداد مع تقدم عمر الأغنام.

جدول (1) عزل بعض الجراثيم المرضية المشتركة من محتويات أمعاء أعمار مختلفة من الأغنام العواسية المحلية

أنواع الجراثيم	الفئات العمرية	اقل من 1 سنة	1 - 2 سنة	أكثر من 3 سنوات
<i>Salmonella Spp.</i>		20/25 % 80	23/23 % 100	23/25 % 92
<i>Listeria monocytogenes</i>		10/25 % 40	18/23 % 78.3	19/25 % 76
<i>Brucella abortus</i>		8/25 % 32	9/23 % 39.1	13/25 % 52

جدول (2) عزل بعض الجراثيم المرضية المشتركة من دم أعمار مختلفة من الأغنام العواسية المحلية

أنواع الجراثيم	الفئات العمرية	اقل من 1 سنة	1 - 2 سنة	اكثر من 3 سنوات
<i>Salmonella Spp.</i>		13/25 % 52	13/23 % 56.5	15/25 % 60
<i>Listeria monocytogenes</i>		0/25 % 0	2/23 % 8.7	5/25 % 20
<i>Brucella abortus</i>		1/25 % 4	3/23 % 13.0	3/25 % 12

يوضح الجدول (3) نتائج العزل الجرثومي لجراثيم السالمونيلا والليستيريا والبروسيلا من عينات كلى الفئات العمرية الثلاثة للأغنام العواسية المحلية، حيث نجد ان عزل جرثومة السالمونيلا كان الأكبر حيث بلغت أعداد الأغنام التي عزلت منها هذه الجرثومة 1 و 4 و 4 للفئات العمرية اقل من سنة و 1 - 2 سنة وأكثر من ثلاث سنوات على التوالي مشكلة نسبة 4 و 17.4 و 16 % على التوالي، وفي نفس الوقت لم تعزل جرثومتي الليستيريا والبروسيلا من كلى الأغنام

للأعمار اقل من سنة و 1 - 2 سنة في حين بلغ عزل هاتين الجرثومتين 1 و 3 وبنسبة عزل 4 و 12% من الأغنام التي بعمر أكثر من 3 سنوات وعلى التوالي.

يتبين من الجدول (4) إن نسبة عزل جرثومة السالمونيلا من كبد الأغنام للأعمار الثلاثة المدروسة قد بلغت 60 و 65.2 و 72 % على التوالي في حين بلغت نسبة عزل جرثومة الليستيريا 8 و 30.4 و 52 % على التوالي وبلغت نسبة عزل جرثومة البروسيلا 0 و 4.3 و 12 % للفئات العمرية الثلاثة على التوالي.

جدول (3) عزل بعض الجراثيم المرضية المشتركة من كبد أعمار مختلفة من الأغنام العواسية المحلية

أنواع الجراثيم	الفئات العمرية	اقل من 1 سنة	1 - 2 سنة	أكثر من 3 سنوات
<i>Salmonella Spp.</i>		1/25 % 4	4/23 % 17.4	4/25 % 16
<i>Listeria monocytogenes</i>		0/25 % 0	0/23 % 0	1/25 % 4
<i>Brucella abortus</i>		0/25 % 0	0/23 % 0	3/25 % 12

جدول (4) عزل بعض الجراثيم المرضية المشتركة من كبد أعمار مختلفة من الأغنام العواسية المحلية

أنواع الجراثيم	الفئات العمرية	اقل من 1 سنة	1 - 2 سنة	أكثر من 3 سنوات
<i>Salmonella Spp.</i>		15/25 % 60	15/23 % 65.2	18/25 % 72
<i>Listeria monocytogenes</i>		2/25 % 8	7/23 % 30.4	13/25 % 52
<i>Brucella abortus</i>		0/25 % 0	1/23 % 4.3	3/25 % 12

المناقشة

تمثل الإصابة بجراثيم السالمونيلا مشكلة صحية كبيرة تؤدي إلى خفض الأداء الإنتاجي للحيوانات عموماً ، حيث تسبب هذه الجراثيم ضرراً كبيراً في القناة المعدية المعوية لأنها من الجراثيم الانتهازية ولها القابلية على الاستيطان وغزو بطانة الأمعاء ثم الدخول للدورة الدموية محدثة حالة تجرثم دموي وتنتشر إلى باقي أعضاء الجسم (15)، ويمكن ان تنتج سموم معوية تؤدي إلى الخمول والهزال وقلة الشهية (7) وهلاك الحيوانات، وان طرح جراثيم السالمونيلا مع البراز يكون كثيفاً وخاصة في بداية الإصابة مسبباً انتشار الجرثومة في المحيط وقد يحدث تلوث للذبائح خلال عمليات الذبح والتحضير في المجزرة وبالتالي انتقالها للإنسان مسببة التسمم الغذائي (16).

بينت نتائج البحث فحص عزل الليستيريا من الأعضاء الداخلية للأغنام يمكن أن يفسر على أساس انتقال الجرثومة عبر الدم إلى تلك الأعضاء وحصول الاستجابة النمطية الجسمية ضد الخمج الجرثومي وقد بين الباحث (17) إن ذ أولى

مراحل الإصابة بجرثومة *L.monocytogenes* تظهر في الكبد والطحال. ويعد الكبد من الأعضاء المهمة في تحديد الإصابة الجهازية بالجرثومة حيث تعمل العدلات على خفض وتحديد المستوى الجرثومي في الكبد خلال الأيام الثلاثة الأولى بعد الإصابة نتيجة الإنتان الدموي، وتتوافق هذه النتائج مع ما توصل إليه الباحثون (18) Prats و (19) Schonberg في الفئران وسبب ذلك يعود إلى أن الإصابة الكبدية بهذه الجرثومة تحصل عبر الدم، حيث تدخل الجرثومة الكبد من خلال هذه المنطقة وتؤدي إلى نخر الخلايا المجاورة لها ومن ثم تتكون الخراجات وهذا ما فسرتة العديد من الدراسات السابقة في الفئران والإنسان (20).

نتائج عزل جرثومة *Brucella abortus* من الأعضاء الداخلية للأغنام يدل على انتشار الجرثومة إلى هذه الأعضاء عبر الدم حيث إن الإصابة بهذه الجرثومة يؤدي إلى انتقالها من الخلايا اللمفاوية الموجودة في الدم ودخولها إلى الأعضاء الداخلية المختلفة كالطحال والكبد والكلية، كما إن وجود الجرثومة في كلوى ومحتويات الأمعاء أعطى التأكيد لطرح الجرثومة إلى المحيط الخارجي، وهذا يتوافق مع ما طرحه الباحث (21) Morata.

إن وجود هذه الجراثيم المرضية المشتركة في المحيط يؤدي إلى إعادة دورة انتقالها للأغنام من جديد وإصابة الحيوانات غير المصابة وهذا يفسر العزل الجرثومي الكبير من الأغنام التي بأعمار كبيرة مقارنة بالأعمار الصغيرة، فضلا على إن هذه الجراثيم من الممكن ان تهرب من الجهاز المناعي المتمثل بالخلايا البلعمية واختباءها في أنسجة الكبد والمرارة لتصبح الحيوانات حاملة أو خازنة لها ويمكن لهذه الجراثيم ان تتحمل تراكيز إفرازات كيس الصفراء لتنتسب عبر القنوات الصفراوية من جديد على فترات ثم تستقر في بطانة الأمعاء وإعادة دورة الإصابة (5 و 14 و 16 و 22).

نستنتج وجود بؤرة وبائية لجراثيم السالمونيلا والسنتيريا و البروسيلا من خلال دور الأغنام بنشر الجراثيم وبخاصة في مناطق الأرياف نتيجة عزل الجرثومة من محتويات الأمعاء.

المصادر

1. Ciampa, F.; Boelaert, B.; Helwigh, H.; Korsgaard, M.; Chriél, A.; Ammon, P. & Mäkelä. (2009). Rapid communications zoonotic infections in Europe in 2007. Eurosurveillance, 14(3).
2. Farrel, I. (1996). *Brucella* In : Mackie and McCartney, Practical Medical Microbial. 14th ed. Collee, J. Franser, A. Mamion, B. and Simmon, A., Churchill Livingstone person professional limited. New York. London. Tokyo. P.473-478.
3. McGiven, J. A.; Tucker, J. D.; Perrett, L. L.; Stack, J. A. & Brew, S. D. (2003). Validation of FPA and ELISA for the detection of antibodies of *Brucella abortus* in cattle sera and comparison to SAT, CFT and ELISA, 278:171-178.
4. Young, E. J. (1995). An overview of human brucellosis. Clin. Infect. Dis., 21:283-290.
5. Young, E. J. & Genta, R. M. (2000). Thrombocytopenic Purpura associated with brucellosis report of 2 cases and literature review. Clin. Infect. Dis., 31(4):904-909.

6. العبيدي، فارس عبد علي؛ علي، هناء صالح عبد وشهرزاد محمد الشديدي. (2009). أثر إصابة دجاج البيض تجريبياً بجرع مختلفة من جرثومة *Brucella abortus* في عزل الجرثومة من أعضاء الجسم المختلفة وتلوث البيض. 2009 وقائع المؤتمر العلمي التاسع لكلية الطب البيطري 31 / 3 - 1 / 4 / 2009 العدد 1: 221 - 227.

7. Muir, W. I.; Bryden, W. L. & Hubbard, A. J. (2000). Immunity, vaccination and the avian intestinal tract. *Develop. Comparat. Immune*, 24:325-342.
8. Schlech, W. F. (2001). Food borne Listeriosis. *Clin. Infec. Dis.*, 31: 770-775.
9. Begly, M.; Cormac, G. M. & Colin, H. (2002). Bile stress response in *Listeria monocytogenes* L028: adaptation cross-protection, and identification of genetic Loci involved in bile resistance. *App. Environ. Microbiol.*, 68 (12): 6005-6012.
10. Low, J. C. (1998). Listeriosis. In *Manual for Laboratory diagnosis of infections* abortions in small ruminants, by Radolakis, A., Nettleton, P. and Benkirane, A. Rome, 1998.
11. Miles, A.; Misra S. & Irwin J. (1938). The estimation of bacterial power of the blood. *J. Hyg.*, 38:73.
12. Bhatia, T. R.; McNabb C. D.; Wyman H. & Nayar, G. P. (1979). *Salmonella* isolation from litter as an indicator of flock and carcass contamination. *Avian Dis.*, 24(4):838-847.
13. Cruickshank, R.; Duguid, J. P.; Marmoin, B. P. & Swain, R. H. (1975). *Medical Microbiology*. 12thed. Churchill Livingstone. Edinburg, London and New York. P.403-419.
14. Liu, D. (2008). *Handbook of Listeria monocytogenes*. CRC Press Taylor & Francis Group 6000 Broken Sound Parkway NW, U.S.A.
15. Zhang-Barber, L.; Turner, A. K. & Barrow P. A. (1999). Vaccination for control of *Salmonella* in poultry. *Vaccine.*, 17:2538-2545.
16. Line, J. E.; Bailey, J. S.; Cox, N. A.; Stern, N. J. & Tompkins T. (1998). Effect of yeast supplement feed of *Salmonella* and *Campylobacter* populations in broilers. *Poultry Sci.*, 77:10-405.
17. Mackaness, G. B. (1962). Cellular resistance to infection. *J. Exp. Med.*, 116: 381-406.
18. Prats, N.; Lopez, S.; Domingo, M.; Briones, V.; Carcia, J. A.; Dominguez, L. & Marco, A. J. (1997). Prolonged persistence of *Listeria monocytogenes* after intragastric infection in corticosteroid treated mice. *Vet. Microbiol.*, 58: 79-85.
19. Schonberg, A. (1989). Method to determine virulence of *Listeria* strains. *International J. of Food Microbiol.*, 8: 281-284.
20. Heinrichs, A. J.; Jones, C. M. & Heinrichs, B. S. (2003). Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. *J. Dairy Sci.*, 86:4064-4069.
21. Moreno, E.; Cloekaert, A. & Moriyon I. (2002). *Brucella* evaluation and Taxonomy. *Vet. Microbiol.*, 90:209-227.
22. Justin, J. D.; Ingo B. & Werner G. (2000). Interaction of *Listeria monocytogenes* with the intestinal epithelium *FEMS. Microbiology Letters.*, 190: 323-328.