تاثير اصابة دجاج البيض تجريبيا بجرثومة *Listeria monocytogenes* في عزل الجرثومة من الاعضاء الداخلية ومكونات البيض

***فارس عبد علي العبيدي **ميثاق غالب الربيعي**

مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي العراقي – جامعة بغداد. * كلية الطب البيطري – جامعة بغداد

تأريخ القبول 16/2/2009

الخلاصة

هدف البحث دراسة طبيعة انتقال جرثومة *Listeria monocytogenes* داخل جسم الدجاج ودور هذه الطيور في نقل الجرثومة وتحديد أثر جرعة إصابة دجاج البيض تجريبيا عن طريق الفم بهذه الجرثومة على انتقالها إلى البيض ومكوناته واعضاء الجسم الداخلية . وزعت 45 دجاجة بياضة على ثلاث معاملات وكل معاملة الى ثلاث مكررات (15 طير / 3مكررات) حيث شملت T_1 : مجموعة سيطرة سالبة وخالية من الاصابة ، اما المعاملتين T2 و T3 فقد اصيب الدجاج فيهما بالجرثومة الضارية فمويا وبالجرعتين $1x10^5$ و $1x10^{10}$ خلية / مل / دجاجة .

اشارت نتائج العزل الجرثومي لجرثومة *L.monocytogenes* الى عزل الجرثومة من اعضاء المبيض وقناة البيض والرحم والمعدة الغدية والقانصة والقلب والكبد والطحال والأمعاء والأعورين بعد 3 و 6 و 9 و 15 و 21 يوم من الأصابة التجريبية وكانت ادنى نسب العزل قد سجلت للأعضاء المأخوذة من دجاج T2 مقارنة بمعاملة T3 ، كما تم عزل الجرثومة من القشرة الخارجية ومن غشائي القشرة ومن بياض البيض المنتج من الدجاج المصاب تجريبيا بالجرعتين الواطئة والعالية T2 و T3 بعد 3 و 6 و 9 أيام لتنخفض شدة العزل وبصورة تدريجية في المكونات الثلاثة للبيض المنتج من الدجاج المصاب تجريبيا بعد 15 يوم في حين تم عزل الجرثومة من كل من غشاء الصفار وسائل الصفار والخلية الجنسية بعد اليوم السادس من الاصابة التجريبية وأنخفضت شدة العزل مع مرور الوقت وبشكل تدريجي من مكونات الصفار الثلاثة بعد 21 يوم من الاصابة.

*** البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني**

Effect of experimentally infection layer chickens with *listeria monocytogenes* in isolation of bacteria from organs and egg components

***Faris A. Al-Obaidi , ** Methaq G. Al-Rubaiey and**

***Iraq Natural History Research Center & Museum / University of Baghdad.**

****College of Vet. Med.- Baghdad University – Baghdad -Iraq**

Summary

The object of this study was focused on transmission of *Literia monocytogenes* through layer body , the role of this birds in the spread of this bacteria and the effect of experimentally infection dose of the layer orally on bacteria

transmitted to eggs ,egg components and internal organs . A total of 45 layer were distributed into three groups and each group to three replicates (15 layer per replicate) cosnsisted of T1 (control group free of infection(, T2 and T3 were orally experimentally infected by $1x10^5$ and $1x10^{10}$ (CFU \ ml \ hen of *L. monocytogenes* .

Results indicated that .*L. monocytogenes* were isolated from ovary, oviduct, uterus, proventiculous, gizzard, heart, liver, spleen, intestine and cecum after 3, 6, 9, 15and 21 days of experimentally infection and the lowest isolated rate from T2 group compared with T3 group .Also , the bacteria were isolated from egg shell , shell membrane and egg albumen of eggs produced from T2 and T3 group layers after 3, 6, 9, days and the isolation rate decreased gradually from the three components of the egg after 15 days ,when as the isolation from yolk membrane , yolk fluid and germinal cell after 6 days of infection and decreased gradually after 21 days .

المقدمة

تعد جراثيم *Listeria monocytogenes* من الجراثيم المشتركة عالية الضراوة وواسعة الانتشار في الطبيعة تصيب الإنسان والحيوانات اللبونة وأكثر من أربعين نوعا من الدواجن والطيور، وتعد أحد أسباب المشاكل الرئيسة في عمليات التصنيع الغذائي وخاصة صناعة منتجات الدجاج وتشتمل على البيض واللحم وتسببت في حدوث أكثر من 2500 حالة إصابة سنويا (1) .

تعد منتجات الدواجن من البيض واللحوم المصنعة من الاغذية الحاملة لجرثومة *L.monocytogenes* وخاصة تلك المخزونة بالتبريد والتجميد وقد عزلت هذه الجرثومة من هذه المنتجات ومن العديد من أنواع اللحوم المصنعة كما تعد هذه الجراثيم من المشاكل المهمة في مجال الصناعات الغذائية لما تسببه من حالات التسمم الغذائي حيث أن هذه الجراثيم واسعة الانتشار في الطبيعة ولها القدرة على العيش والتكاثر في مدى واسع من درجات الحرارة و تحت أس هيدروجيني وضغط أوزموزي متباينان(2 ,3) ، وقد لوحظ زيادة مضطردة في تلوث اللحوم ومنتجات الدجاج المبرد بجراثيم *L.monocytogenes* (2) ، كما عزلت الجرثومة من البيض الطازج وسببت حدوث حالات مرضية باللستريوسز بالإضافة إلى عزل الجرثومة من البيض الكامل بقشرته ومنتجاته المصنعة وأشتملت على البيض السائل والبيض المسلوق والبيض المجفف (4 و 5 و 6) ، مما يشير الى وجود تاثير ودور مهمل للدجاج في نقل الاصابة باللستيريا ولقلة الدراسات في إصابة الدجاج بجراثيم *L. monocytogenes* وطبيعة انتقال الجرثومة داخل جسم الدجاج ودور هذه الطيور في نقل الجرثومة لذا يهدف هذا البحث إلى معرفة تأثير جرعة الإصابة التجريبية بجرثومة *L. monocytogenes* على انتقال الجرثومة إلى اعضاء الجسم المختلفة والبيض ومكوناته الداخلية .

المواد وطرق العمل

اجري البحث في بيت الحيوان في كلية الطب البيطري / جامعة بغداد باستخدام 45 دجاجة بياضة بعمر 50 اسبوع وتم الحصول عليها من احد الحقول المحلية في مدينة بغداد / أبو غريب ، بعد وصول الدجاج تم توزيعها على المعاملات المختلفة بصورة عشوائية داخل قاعة مخصصة لتربية الدجاج تحوي على 15 قن متساوية الأبعاد 1 X 1 متر وجهزت بالمناهل والمعالف بحيث خصص لكل قن منهل ومعلف واحد . تم تغذية الدجاج على عليقة دجاج بياض تجارية تجهز 20 % بروتين وطاقة ممثلة 2900 كيلوسعرة لكل كيلوغرام علف ، وكان العلف يقدم بصورة حرة أمام الدجاج .

الجرثومة المستخدمة :

تم الحصول على عترة جرثومة *L. monocytogenes* من وحدة الامراض المشتركة/ كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد.

تحضير جرعة الاصابة التجريبية لجرثومة *L.monocytogenes :*

لغرض تحضير جرعة الأصابة لهذه الجرثومة فقد زرع مليئ عروة الناقل في 100 ملل من وسط مرق اللستيريا المغذي Enrichment Listeria Broth, Modified (ELBM) وحضنت بدرجة 37 م ° لمدة 48 ساعة , أجريت سلسلة من تخافيف عشرية لمحتويات الوسط وذلك بأخذ 1 ملل من الوسط وأضافته الى محلول 9 ملل محلول .P.B.S ليعطي التخفيف الأول 10^{-1} ثم أستمرت سلسلة التخافيف الى التخيف العاشر بعد ذلك تم زرع من كل تخفيف بنقل 0.1 ملل من كل تخفيف ونشرت على سطح طبق (Trypticase (TSA Soy Agar ونشرت على سطح الاطباق بواسطة الناشر (Spreader) وبصورة جيدة بحيث شمل كل سطح الطبق ثم حضنت الاطباق بدرجة 37 ° م لمدة 24 ساعة ، بعدها تم عد المستعمرات في الطبق الذي يحتوي على (30–300) مستعمرة وحسب التخفيف على اساسها مع مراعاة زرع طبقين لكل تخفيف ثم استخراج المعدل وحسب طريقة Surface Viable Count by Spreading Method (7) .

اصابة الدجاج :

أعطيت الدجاجات الجراثيم بطريقة التجريع الفموي (Orally) ، والجرعة 1 مل بتركيزين هما 10^{5} و10^{10} خلية / 1 مل للمعاملتين الثانية والثالثة على التوالي بعد حسابها مسبقاً يوم التجريع.

قتل الدجاج :

تم قتل دجاجتين من كل مجموعة بمدد زمنية متعاقبة في التجربة حيث تم القتل في اليوم الثالث والسادس والتاسع والخامس عشر والحادي والعشرين والخامس والثلاثين والثاني والأربعين .

العزل الجرثومي :

أخذت عينات وبطريقة معقمة من الأعضاء الداخلية التي شملت الكبد و الطحال و المعدة الغدية والقانصة والرئتين و القلب و الكلى والمبيض وقناة البيض والأمعاء والأعورين وزرعت على أوساط زرعية روتينية لغرض العزل الجرثومي وأجراء بعض الفحوصات الكيموحيوية للعزلات الناتجة وتثبيت خواصها البايولوجية لغرض التشخيص.

النتائج

يتضح من الجدول (1) أن العزل الجرثومي لجرثومة *L.monocytogenes* كان موجبا من اعضاء المعدة الغدية والقانصة والقلب والكبد والطحال والأمعاء والأعورين وكانت نسبة العزل لهذه الجرثومة على أشده في عينات المعدة الغدية والقانصة والأمعاء والأعورين وبنسبة عزل اقل من القلب والكبد والطحال (بعد 6 أيام من الأصابة التجريبية) وفي كلا معاملتي الأصابة التجريبية . وأستمرت ايجابية العزل على نفس المنوال بعد 9 أيام من الأصابة التجريبية أي في القتلة الثالثة لتنخفض نسبة العزل الجرثومي في جميع العينات في القتلة الرابعة أي بعد 15 يوم من الأصابة التجريبية وكانت ادنى نسب العزل قد سجلت للأعضاء المأخوذة من الدجاج المصاب تجريبيا بالجرعة الواطئة مقارنة بالجرعة العالية لتنخفض نسب العزل بتقدم العمر الى القتلة الخامسة أي بعد 21 يوم حيث لم تعزل الجرثومة من أعضاء المعدة الغدية والقانصة وكذلك القلب لدجاج معاملتي الأصابة T2 وT3 وعزلت الجرثومة من الكبد والطحال والأمعاء والأعورين ، ولم تعزل الجرثومة من أي عضو من الاعضاء المدروسة بعد 35 يوم من الاصابة التجريبية . أما نتائج العزل الجرثومي لجرثومة *L.monocytogenes* من

المبيض وقناة البيض والرحم موضحة بالجدول (2) حيث تم عزل الجرثومة من عينات المبيض وقناة البيض والرحم لدجاج المعاملتين T2 وT3 بعد 3 أيام من الأصابة وكانت شدة العزل الجرثومي أكثر من نفس الأعضاء وللمعاملتين T2 وT3 بعد 6 ايام من الأصابة لتعود وتنخفض من جديد بعد 9 أيام من الأصابة التجريبية واستمر الأنخفاض تدريجيا في عينات المبيض وقناة البيض والرحم لدجاج المعاملتين T2 وT3 بعد 15 و21 يوم من الأصابة التجريبية ، في حين كانت عينات المبيض وقناة البيض والرحم المأخوذ من دجاج المعاملتين T2 وT3 سالبة لعزل الجرثومة عند القتلة السادسة والتي صادفت بعد مرور 35 يوم من الأصابة التجريبية للدجاج .

يتضح من الجدول (3) أن جرثومة *L.monocytogenes* تم عزلها من القشرة الخارجية ومن غشائي القشرة ومن بياض البيض المنتج من الدجاج المصاب تجريبيا بالجرعتين الواطئة والعالية T2 و T3 وبكثافة معتدلة (++) بعد 3 أيام من الأصابة التجريبية وأزدادت شدة العزل الجرثومي بعد 6 أيام (+++) في كل من المعاملتين T2 و T3 وبدون فروق ، وتكررت نفس الحالة بعد 9 أيام ما عدا عينات البياض الذي شهد انخفاضا في العزل الجرثومي مقارنة بالقشرة وغشائي القشرة لتنخفض شدة العزل وبصورة تدريجية في المكونات الثلاثة للبيض المنتج من الدجاج المصاب تجريبيا بعد 15 و 21 يوم ولم تعزل هذه الجرثومة بعد 35 و42 يوما من الأصابة التجريبية.

جدول (1): العزل الجرثومي من الأعضاء الداخلية للدجاج المصاب تجريبيا بجراثيم*L.monocytogenes*

أيام القتل	الأعضاء	المعدة الغدية	القانصة	القلب	الكبد	الطحال	الأمعاء	الأعورين	الكليتين
3 أيام	T1	–	–	–	–	–	–	–	–
	T2	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++
	T3	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++
6أيام	T1	–	–	–	–	–	–	–	–
	T2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	T3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
9أيام	T1	–	–	–	–	–	–	–	–
	T2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	T3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
15يوم	T1	–	–	–	–	–	–	–	–
	T2	+	+	+	++	++	+	++	++
	T3	++	++	++	++	++	++	++	++
21 يوم	T1	–	–	–	–	–	–	–	–
	T2	–	–	–	+	+	+	+	++
	T3	–	–	–	+	++	+	+	++

35 يوم	T1	–	–	–	–	–	–	–	–
	T2	–	–	–	–	–	–	–	–
	T3	–	–	–	–	–	–	–	–
42 يوم	T1	–	–	–	–	–	–	–	–
	T2	–	–	–	–	–	–	–	–
	T3	–	–	–	–	–	–	–	–

T1 = معاملة رقم (1) ، T2= معاملة رقم (2) ، 3T = معاملة رقم (3)

– : لا يوجد نمو جرثومي . + : نمو جرثومي قليل (1-10 مستعمرة).

++ : نمو جرثومي متوسط (10-20 مستعمرة). +++ : نمو جرثومي كثيف (21 مستعمرة فأكثر).

جدول (2): العزل الجرثومي من الأعضاء الداخلية للدجاج المصاب تجريبيا بجراثيم *L. monocytogenes*

أيام القتل	الأعضاء	المبيض	قناة البيض	الرحم
3 يوم	T1	–	–	–
	T2	++	++	++
	T3	++	++	++
6 يوم	T1	–	–	–
	T2	+++	+++	+++
	T3	+++	+++	+++
9 يوم	T1	–	–	–
	T2	++	++	++
	T3	++	++	++
15يوم	T1	–	–	–
	T2	+	+	+
	T3	+	+	+
21يوم	T1	–	–	–
	T2	+	+	+
	T3	+	+	+
35يوم	T1	–	–	–
	T2	–	–	–
	T3	–	–	–
	T1	–	–	–

42 يوم	T2	–	–	–
	T3	–	–	–

T1= معاملة رقم (1)، T2=معاملة رقم (2)، T3=معاملة رقم (3)

– : لا يوجد نمو جرثومي . + : نمو جرثومي قليل (1-10 مستعمرة).

++ : نمو جرثومي متوسط (10-20 مستعمرة). +++ : نمو جرثومي كثيف (21 مستعمرة فأكثر) .

جدول (3): العزل الجرثومي من محتويات البيض للدجاج المصاب تجريبيا بجراثيم *L. monocytogenes*

الأعضاء / أيام القتل		القشرة الخارجية	غشائي القشرة	البياض
3 يوم	T1	–	–	–
	T2	++	++	++
	T3	++	++	++
6 يوم	T1	–	–	–
	T2	+++	+++	++
	T3	+++	+++	++
9 يوم	T1	–	–	–
	T2	++	++	+
	T3	++	++	+
15يوم	T1	–	–	–
	T2	+	+	+
	T3	+	+	+
21 يوم	T1	–	–	–
	T2	+	–	–
	T3	+	–	+
35 يوم	T1	–	–	–
	T2	–	–	–
	T3	–	–	–
42 يوم	T1	–	–	–
	T2	–	–	–
	T3	–	–	–

T1= معاملة رقم (1)، T2=معاملة رقم (2)، T3=معاملة رقم (3)

– : لا يوجد نمو جرثومي . + : نمو جرثومي قليل (1-10 مستعمرة).

++ : نمو جرثومي متوسط (10-20 مستعمرة). +++ : نمو جرثومي كثيف (21 مستعمرة فأكثر)

نتائج العزل الجرثومي لجرثومة *L.monocytogenes* من مكونات الصفار الثلاثة والتي شملت غشاء الصفار وسائل الصفار والخلية الجنسية موضحة بالجدول (4) حيث لم تعزل الجرثومة من مكونات الصفار الثلاثة بعد 3 ايام من الاصابة التجريبية ، لكن تم عزل الجرثومة وبشدة متوسطة (++) من كل من غشاء الصفار وسائل الصفار في حين كانت شدة العزل أقل في الخلية الجنسية (+) بعد 6 أيام من الأصابة التجريبية . وفي العينات المأخوذة بعد 9 و 15 أيام من الأصابة التجريبية لوحظ زيادة في العزل الجرثومي لجرثومة *L.monocytogenes* في مكونات الصفار الثلاثة على الرغم من بقاء شدة العزل الجرثومي أقل في الخلية الجنسية مقارنة بغشاء الصفار وسائل الصفار. وأنخفضت شدة العزل مع مرور الوقت وبشكل تدريجي من عينات الصفار الثلاثة للبيض المنتج من الدجاج المصاب تجريبيا بعد 21 و 35 و 42 يوما .

المناقشة

لا يعطي مرض Listeriosis في الدجاج علامات مرضية واضحة بل يتميز باحداثه افات داخلية مثل تنخرات الكبد والقلب والطحال والكلى والتهاب الاكياس الهوائية وتشير اغلب الدراسات الى صعوبة تشخيص المرض في الدجاج كونه ليس مرض قطيع ، و الحالات المسجلة للمرض منخفضة نسبياً (8) . ان الدجاج قد يحمل جراثيم *L.monocytogenes* في محتويات القناة الهضمية ثم يطرحها في البراز الذي يلوث الفرشة والبيئة ومن ثم انتقالها الى الحيوان والانسان (9) الا ان عزل الجرثومة من الاعضاء الداخلية للدجاج وبمدة زمنية قصيرة بعد التجريع بجرعة الجرثومة الضارية الواطئة او العالية في هذا البحث يمكن أن يعزى سببه الى الانتقال السريع للجرثومة الى الدم وحصول حالة التجرثم الدموي (Bacteremia) ، إذ أن جرثومة *L.monocytogenes* لها القدرة على اختراق الخلايا والانتقال من خلية الى أخرى داخلياً وبسرعة عالية جداً (2 و 10) وأيضاً بامكانها اختراق أنواع متعددة من الخلايا بضمنها الخلايا المبطنة للاوعية الدموية (Endothelial cells) مما يسهل عملية انتقالها ووصولها الى أهدافها عبر الدم وإحداث تأثيرها المرضي السريع وهذا يتفق مع الباحثين Mandel and Cheers, (11) اللذين لاحظا استقرار (localization) الجرثومة في الكبد خلال الساعات الثلاث الاولى بعد الاصابة ومع الباحثين Marco *et.al.*, (12) الذين سجلوا وصول الجرثومة الى الطحال خلال الساعات الاربع الاولى والى العقد اللمفية المساريقية خلال الساعات الست الاولى بعد الاصابة. اما بالنسبة للعزل الجرثومي من اعضاء الجسم الداخلية كافة فيلاحظ ارتفاعاً معنوياً في اعداد جراثيم اللستريا لدجاج المعاملة T_3 بعد 3 و 6 و 9 أيام من الاصابة مقارنة بدجاج المعاملة T_2 ويرجع ذلك الى جرعة الاصابة التجريبية العالية .

جدول (4): العزل الجرثومي من مكونات صفار بيض للدجاج المصاب تجريبيا بجراثيم *L. monocytogenes*

الأعضاء / أيام القتل		غشاء الصفار	سائل الصفار	الخلية الجنسية
3 يوم	T1	–	–	–
	T2	–	–	–

	T3	–	–	–
6 يوم	T1	–	–	–
	T2	++	++	+
	T3	++	++	+
9 يوم	T1	–	–	–
	T2	+++	+++	++
	T3	+++	+++	++
15 يوم	T1	–	–	–
	T2	++	++	+
	T3	++	++	+
21 يوم	T1	–	–	–
	T2	+	+	+
	T3	+	+	+
35 يوم	T1	–	–	–
	T2	–	–	–
	T3	–	–	+
42 يوم	T1	–	–	–
	T2	–	–	–
	T3	–	–	–

T1= معاملة رقم (1)، T2=معاملة رقم (2)، T3=معاملة رقم (3)

- : لا يوجد نمو جرثومي . + : نمو جرثومي قليل (1-10 مستعمرة).
- ++ : نمو جرثومي متوسط (10-20 مستعمرة). +++ : نمو جرثومي كثيف (21 مستعمرة فأكثر)

بينت نتائج العزل الجرثومي للمبيض وقناة البيض والرحم ان الجرثومة تستطيع غزو هذه الاعضاء حالها حال بقية اعضاء الجسم وتم عزل الجرثومة في اليوم الثالث من الاصابة التجريبية وبالجرعتين الواطئة والعالية مما يشير الى ضراوة الجرثومة المستخدمة ، في حين لم تعزل هذه الجرثومة من مكونات صفار البيض التي شملت غشاء الصفار وسائل الصفار والخلية الجنسية الا بعد اليوم السادس من الاصابة ويعزى سبب ذلك الى ان صفار البيض بمكوناته الثلاثة يحتاج الى عشرة ايام لينضج ويكتمل وتحدث له اباضة (Ovulation) لينزل من المبيض الى قناة البيض حيث يكتمل تكوين بياض البيض واغشية القشرة ثم القشرة الكلسية في الرحم (13 و 14) وبهذا لم يتاح الوقت للجرثومة للوصول الى صفار البيض الناضج في المبيض الا بعد ستة ايام وان استمرار انتاج بيض حاوي على الجرثومة حتى بعد انقطاع عزلها من المبيض وقناة البيض فيفسر ايضا بنفس التفسير السابق من ان صفار البيض قد اصيب بالجرثومة مسبقا اثناء تكوينه قبل اختفاء الجرثومة من اجزاء المبيض وقناة البيض . وبسبب وجود البروتينات ذات المقاومة البايولوجية في مكونات بياض البيض تجاه

الجراثيم وخاصة الموجبة لصبغة كرام وخاصة بروتين اللايسوزايم فقد لوحظ ان العزل الجرثومي من بياض البيض كان منخفض نسبيا مقارنة بالعزل الجرثومي من القشرة واغشية البيضة .

المصادر

1. York Schlech WF (2000). Food borne Listeriosis . Clin Infec Dis. 31: 770-775.
2. Liu D (2008). Handbook of *Listeria monocytogenes* . CRC Press Taylor & Francis Group 6000 Broken Sound Parkway NW USA.
3. Farber JM and Peterkin PI (1991). *Listeria monocytogenes* , a foodborne pathogen. Microbiol Rev. 55: 476-511.
4. Muriana PM Hou HY Singh RK(1996). A flow injection system for studying heat inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis* in liquid whole egg. J Food Protect.59: 121-126.
5. Clair B James PS Wassim EL-Khoury Cayouette B Ngadi M Blanchfield B and JohnW(2004).Challenge studies with *Listeria monocytogenes* and *Clostridium botulinum* in hard-boild eggs packaged under modified atmospheres.Food Microbiol. 21:131-141.
6. Bracktt RE Beuchat LR (1991).Survival of *L. monocytogenes* in whole egg and egg yolk and in liquid whole eggs . Food Microbiol. ; 8:331-337.
7. Miles A A Misra SS and Irwin JO (1938). The estimation of bactericidal power of blood. J Hyg. 38: 732-749.
8. Berrange ME North JK Smith DP Lyon GE (2000). Incidence of *L. monocytogenes* on pre-scald and post –cill chicken carcasses .J Appl. Poult Rese.
9. Acha PN Szyfres B(2003) . Zoonoses and communicablemycoses .3rd ed .Washington DC PAHO Scientific and Techical publication No.580 Listeriosis ;P.168-179.
10. Hof H Nichterlein T and Kretschmar M (1997). Management of Listeriosis Clin Microbiol Rev. 10: 345-357.
11. Mandel TE and Cheers C (1980). Resistance and susceptibility of mice to bacterial infection: histopathology of Listeriosis in resistant and susceptible strains Infect Immun. 30: 851-861.
12. Marco AJ Domingo M Prats M Briones V Pumarola M and Dominguez L(1991). Pathogenesis of lympoid lesion in murine experimental Listeriosis.
13. North MO (1984). Commercial Chicken Production Manual. 3rd ed. Avi Publishing Company . Inc West Port.
14. Stadelman WJ and Cotterill OJ (1995). Egg Science and Technology . 4th ed. Food products press An mprint of the Haworth press Inc New London.