عزل وتشخيص جرثومة اللستيريا المستوحدة *Listeria Monocytogenes*. من الانسان والحيوان في محافظة القادسية

*ا.م.هدى عبد الهادي علي النصراوي حسين عمران كريم ألعابدي

*وحدة بحوث الامراض المشتركة / كلية الطب البيطري /جامعة القادسية

كلمات المفتاحية: اللستيريا المستوحدة ، العزل الجرثومي،الانسان، الحيوان

الملخص Abstract

يعد مرض Listeriosis من الأمراض المشتركة البكتيرية المهمة التي تسبب العديد من المشاكل الصحية في الانسان كما تؤدي الى حدوث خسائر اقتصادية كبيرة في الحيوانات وتعتبر جرثومة *L.monocytogenes* هي أحد المسببات المهمة لهذا المرض التي تنتشر بشكل واسع في البيئة حيث تنتقل عن طريق السلسلة الغذائية إلى الإنسان والحيوان مما تؤدي الى حدوث اوبئة او حالات اصابة فردية . والهدف من هذه البحث هو التحري عن الاصابة بجرثومة *L.monocytogenes* في الانسان و الحيوان، وقد تم استخدام وسط زرعي اختياري لجرثومة اللستيريا Oxford Listeria agar ولغرض عزل الجرثومة وقد اضيف اليه المعزز الخاص لنموالجرثومة لتحديد نوع اللستيريا ، كما تم تشخيص عزلات جرثومة اللستيريا باستخدام الفحص المجهري والاختبارات الكيميوحيوية فضلا عن زرع العزلات الجرثومية على وسط Blood agar لتشخيص التحلل الدموي نوع β-heamolysis كفحص تاكيدي للعزلات .

وقد جريت هذه الدراسة خلال الفترة من تشرين الثاني 2014 الى نيسان 2015 اذ تم جمع العينات من النساء التي تعاني من حالات الإجهاض والأطفال المصابين في مستشفى الولادة والاطفال التعليمي في محافظة القادسية وقد جمعت العينات تحت اشراف الطبيب المختص وكان عدد العينات المأخوذة من النساء (65) عينة واما عدد العينات التي جمعت من الاطفال المصابة فبلغت(32) عينة ، في حين العينات التي جمعت من الحيوانات فقد تضمنت عينات مرارة جمعت من مجزرة الديوانية وبلغت (100) عينة من الاغنام و(100) عينة من الابقار، كما تم جمع (200) عينة من الحليب بواقع (100) عينة لكل من الاغنام والابقار من مناطق ريفية مختلفة في محافظة القادسية .

واظهرت النتائج (9) عزلات لجرثومة *L.monocytogenes* تم عزله من عينات الانسان وبنسبة بلغت 9.27% من المجموع الكلي للعينات التي جمعت من الانسان وكانت نسبة العزل في النساء المصابات بالإجهاض 4.61 % بينما كانت نسبة عزل جرثومة اللستيريا بنسبة اعلى في الاطفال المصابة بالتهاب السحايا اذ بلغت 18.75 %. اما نسب عزل الجرثومة من العينات التي جمعت من الاغنام فكانت بمقدار 4% و 7 % من عينات الحليب والمرارة على التوالي ،اما في الابقار فبلغت نسبة عزل الجرثومة من عينات الحليب والمرارة بمقدار 2 % و3 % على التوالي.، وقد تباينت نتائج عزل وتشخيص جرثومة اللستيريا المستوحدة خلال اشهر الدراسة في الانسان والحيوان اذ سجلت اعلى نسب عزل للجرثومة في الاشهر الباردة من السنة. ونستنتج من نتائج بحثنا ان نسب الاصابة بجرثومة *L. monocytogenes* كانت مرتفعة في الانسان الى حد ما في محافظة القادسية وهذا يشير الى خطورة انتشار الامراض والمشاكل الصحية التي تسببها هذه الجرثومة وكما تضمنت النتائج عزل الجرثومة من عينات الحليب والمرارة للاغنام والابقار والتي يمكن ان تكون مصدر لانتقال الاصابة الى الانسان عن طريق تلوث اللحوم والحليب ومشتقاته .

Isolation and identification of *Listeria .Monocytogenes* from human and animal in Al- Qadissiya province

***Assist. Prof. Huda Abd Al-hadei alnasrawi Hussien Omran Al-Abbidee**

***College of Veterinary Medicine/ Al-Qadissiya University**

Key words: Isolation, *Listeria*, human, animal

Abstract:

Listeriosis is the most common Zoonotic diseases that cause many health problems in humans and lead to significant economic losses in animals and one of the important causes of this disease is *L.monocytogenes* which is widespread in the environment where it moves through the food chain to humans and animals, which lead to epidemics or individual cases of infection. The aim of this research is detection of infection with *L.monocytogenes* in human and animal in Al-Qadissiya province, where, Oxford Listeria Selective agar was used for isolating *L.monocytogenes* from human and animal samples and the isolates were confirmed by microscopical examination and biochemical tests.

This study was carried during the period from November 2014 to April 2015. Samples were collection from infected woman and children in maternal and children's hospital in Al- Qadissiya province. (65) samples were collected from infected woman with abortion and the number of samples collected from the children infected with meningitis was (32) CSF samples ,while the samples collected from animals included gallbladder samples were collected randomly from sheep (100) and cattle (100) samples. As well as, (100) samples of milk were collected from sheep and (100) milk samples from cattle.

The results showed (9) isolates have been isolated from human samples and percentage was 9.27% .where, the infection rate in woman was 4.61% while the percentage higher in children was 18.75 %. The results of the investigation of *L.monocytogenes* in sheep samples were 4% and 7% for milk and gallbladder respectively and in cattle samples were 2% and 3% for milk and gallbladder respectively. The *L.monocytogenes* isolates were obtained separately during the study period. Where, the percent of *L.monocytogenes* isolates from human and animales were high in cold months of year.

The present research concluded the percent of infection with *L.monocytogenes* inhuman was high in Al- Qadissiya province .as the gallbladder and milk of sheep and cattle may play a role in meat and milk products contamination and establishment of human infections.

المقدمة :

تعد جراثيم *listeria monocytogenes المسببه* لمرض Listeriosis بكتريا انتهازيه مشتركة وخطره على صحة الانسان والحيوان مسببه وفيات ولا سيما في الاشخاص الاكثر عرضه للاصابه وهم النساء الحوامل وحديثو الولادة والمسنين والاشخاص ذو المناعة الضعيفة او غير السوية (Quinn *et al*,2006) . الاعراض السريريه لهذا المرض تكون متباينه من الشكل تحت السريري الى الاعراض الشديده والمتضمنه التهاب الدماغ والسحايا(cephalomeningitis) في الإنسان البالغ وكبار الحيوانات ،والتهاب الرحم والإجهاض (Metritis and abortion) في الإناث الحوامل، والإنتان الدموي (Septicaemia) في الأطفال حديثي الولادة وصغار الحيوانات، والتهاب الضرع (Mastitis) في المجترات (Robinson,2002) ، ويتواجد هذا المرض بصور اخرى ثانوية تتمثل بالتهاب المعدة والأمعاء (Gastroenteritis) ، خراجات الكبد والكلى وتحت الجلد ، إلتهاب قرنية وقزحية العين (Keratoconjunctivitis)، التهاب نخاع الحبل الشوكي Spinal cord myelitis) و إلتهاب المفاصل (Arthritis)(Polnau, et al., 2001) .

تعد جراثيم *L. monocytogenes* ممرضة لمدى واسع من الحيوانات في الطبيعة حيث أمكن عزلها من أكثر من خمسين نوعاً من الحيوانات الداجنة والبرية بضمنها الطيور وتلعب المجترات وخصوصا الاغنام والابقار والماعز دورا مهما للمحافظة على بقاء الحرثومة في الطبيعة عن طريق التربة والعلف الملوث لاسيما السايلج ذي النوعية الرديئة والفضلات الملوثة (Mohammed etal.,2010) ، ان العديد من الحيوانات تكون عرضة للإصابة بمرض الليستيريا وهناك نسبة كبيرة من الحيوانات المصابة التي لا تضهر اعراض مرضية واضحة ولكنها تطرح الجرثومة مع البراز ويمكن أن يحدث مرض اللستيريوسز في الحيوانات بشكل متقطع أو بشكل وبائي و غالبا ما يؤدي إلى الشكل القاتل من التهاب الدماغ وهناك عدة اشكال سريرية لمرض اللستريوسز Listeriosis في الحيوانات هي التهاب السحايا والدماغ Meningeoencephalitis والانتان الدموي Septicemia والاجهاض Abortion وخصوصا في الثلث الاخير من الحمل، ان حدوث المرض في الحيوان يختلف عن الانسان لكون الحيوانات وتلعب الحيوانات المجترة دوراً أساسيا في تلويث البيئة (الماء ،التربة ، الخضراوات، مختلف الاغذية) وادامة الجرثومة في الطبيعة عن طريق انتقال الجرثومة من الفضلات الملوثة إلى الفم (Moshtaghi etal.,2003)، وفي المجترات تنتقل الإصابة عادة عن طريق تلوث السايلج اذ أن هذه الجراثيم تتكاثر فيه بسرعة مما يؤدي إلى حصول ثورة مرضية في القطعان (Vazquez-Boland et al.,2001; Wanger etal.,2005

جراثيم *listeria monocytogenes* موجبه لصبغة كرام هوائيه داخل خلويهintracellular لها القدره على النمو والتكاثر بدرجات حراره منخفضة (0-8) وخصوصا عند درجة حرارة الثلاجه 4م° لكونها ذات طبيعة وراثيه محبه للبروده (psycrotroph) وهذه الدرجه تثبط نمو العديد من الاحياء المجهريه وهذا يتيح لها الفرصه على المنافسه على الماده الغذائيه المشتبه بتواجد الجرثومه فيها (Content,2005) . وقد تم عزل جراثيم اللستيريا المستوحده من اماكن مختلفة كالتربه والحليب والمراره gallbladder وسائل الحبل الشوكي cerebrospinal flud والنساء المجهضات vaginal soap (Gasanov etal.,2005)

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1- جمع العينات من الانسان

جمعت العينات من 65 حالة إجهاض (Abortion) وولادة مبكرة (Preterm labor) وبصورة عشوائية في خلال الفترة من نوفمبر 2014 –ابريل 2015 من نساء تراوحت أعمارهن بين 16 - 45 سنة من مستشفى الولادة والاطفال التعليمي وتضمنت 35 نموذج من نسيج المشيمة (Placental tissue) و 30 نموذج من دم الأم (Maternal blood). كما تم جمع 32 عينة من سائل النخاع الشوكي CSF من الاطفال المصابة وقد جمعت العينات تحت إشراف الطبيب المختص . وتم زرع العينات مباشرة على وسط اكار دم الاغنام Sheep blood agar حيث لقح طبقين من كل عينة وتم حضنها في درجة حرارة 37 م° ولمدة 24 ساعة في مختبرات المستشفيات المذكورة اعلاه ثم تم نقل الاطباق الحاوية على المستعمرات الجرثومية في صندوق مبرد الى المختبر لغرض زرعها على اوساط اختيارية لتنمية جرثومة اللستيريا .

2- جمع العينات من الحيوانات Samples collection from animals

تم جمع عينات في خلال الفترة من نوفمبر 2014 –ابريل 2015 و تضمنت عينات المرارة من الحيوانات (ابقار واغنام) المذبوحة في مجزرة الديوانية وكان مجموع العينات 200 عينة من المرارة توزعت بين 100 عينة من الاغنام و100 عينة من الأبقار . وجميع العينات وضعت في حاويات لجمع العينات معقمة Sterile container . وقد تم جمع 200 عينة حليب توزعت بين 100 عينة من الاغنام و 100 عينة من الابقار حيث جمعت العينات من مناطق مختلفة من المحافظة، مقداراعينة الحليب (250-500) مل جمعت بواسطة اكياس نايلون معقمة ونظيفة وغير نفاذة سعة (0.5-1) لتروووضعت في صندوق يحتوي على الثلج ونقلت العينات الى مختبر وبعد ذلك وضعت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م ° لمدة (2-3) يوم ثم وضعت عينات الحليب في انابيب معقمة وتم وضعها في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / 15 دقيقة ثم تم زراعة الراسب الجرثومي على الاوساط الزرعية الخاصة مباشرة حسب طريقة (Robinson,2002) .

3- عزل جرثومية اللستيريا المستوحدة: *Listeria monocytogenes* isolation

ولغرض عزل جرثومة *Listeria monocytogenes* من العينات الماخوذة من النساء المجهضات و سائل الحبل الشوكي CSF تم زراعة المستعمرات الجرثومية النامية على وسط اكار دم الأغنام بنشرها على وسط اكار Oxford Listeria Selective agar وحضنت في درجة حرارة 37 م° ولمدة 24 . وقد تم اسخدام Internatinal Diary Federation(IDF) في عزل وتشخيص جرثومة اللستيريا *Listeria monocytogenes* والمذكورة في OIE(2008) حيث اخذ 1 مل من عالق المرارة ثم اضيف اليها 9 مل من وسط اغناء اللستيريا السائل Listeria enrichment broth ومن ثم تم حضنها بدرجة حرارة 30 م° لمدة 48 ساعة وبعد ذلك تم اخذ 0.1 مل من وسط اللستيريا السائل وتم نشره على وسط Oxford Listeria Selective اماعينات الحليب فقد عوملت بطريقة الزراعة غير المباشرة باستخدام وسط انعاش انتقائي للجرثومة هو TSB-YE ثم بعد ذلك تزرع على وسط Oxford Listeria Selective agar حسب ما ذكره الباحث (Dongyou,2008) . وبعدها وضعت جميع الأطباق التي تم الزرع الجرثومي عليها في الحاضنة عند درجة حرارة 37 م°لمدة 24-48 ساعة ، سوف يسمح هذا الوسط الانتقائي بالسماح لنمو جرثومة *Listeria monocytogenes* .

4- اختبارات تشخيص عزلات جرثومة *Listeria monocytogenes* :

ا - الفحوص المجهري Microscopic Examination :

حضرت مسحات من المستعمرات المعزولة والنامية على وسط اللستيريا الاختياري على شريحة زجاجية وتم تصبيغها بصبغة كرام وفحصت مجهريا لملاحظة اشكال الخلايا وطبيعة اصطباغها وترتيب واصطفاف الخلايا حسب طريقة Quinn etal (2006) .

ب- فحص الحركة Motility Test (Hanging drob method) :

اجري اختبار فحص الحركة لجرثومة *Listeria monocytogenes* المعزولة حسب طريقة Koneman etal (1997) عن طريق اخذ مستعمرات قياسية للجرثومة من سطح الاوساط الزرعية الانتقائية ثم زرعت على وسط مرق نقيع القلب والدماغ ومن ثم حضنت بدرجة (22-25) م° لمدة (2-4) ساعة وبعدها تم نقل قطرة من المستنبت الزرعي الى شريحة زجاجية خاصة تحتوي في وسطها على تقعر(اختبار القطرة المعلقة) ثم وضعت قطرة زيت ووضع غطاء الشريحة وبعدها تم فحص حركة الجراثيم تحت المجهر الضوئي وملاحظة الحركة المتقلبة لجرثومة *Listeria monocytogenes* .

ج- اختبار تحلل الدم : Hemolysis

تم اخذ مستعمرة قياسية من الاوساط الزرعية الاختيارية لجرثومة اللستيريا وزرعت على وسط اكار دم الاغنام ثم حضنت بدرجة حرارة 37 م° لمدة (24-48) ساعة ، وان ظهور نطاق واضح وضيق حول المستعمرات يدل على ان التحلل هو β-haemolysis ،بينما ظهور اللون الأخضر يدل على ان التحلل هو à-haemolysis (McFaddin, 2000) .

5-الاختبارات الكيموحيوية: Biochemical Test

ا- اختبار الاوكسيديز Oxidase Test

تم وضع (2-3) قطرة من محلول كاشف الاوكسيديز على ورقة ترشيح معقمة موضوعة داخل طبق بتري معقم ثم أخذت مستعمرة من النمو الجرثومي بواسطة قضيب زجاجي ومررت على ورقة الترشيح المبللة بالكاشف وأن ظهور اللون الأرجواني الغامق خلال فترة (5-10) ثانية يدل على النتيجة الموجبة. (MacFaddin, 2000).

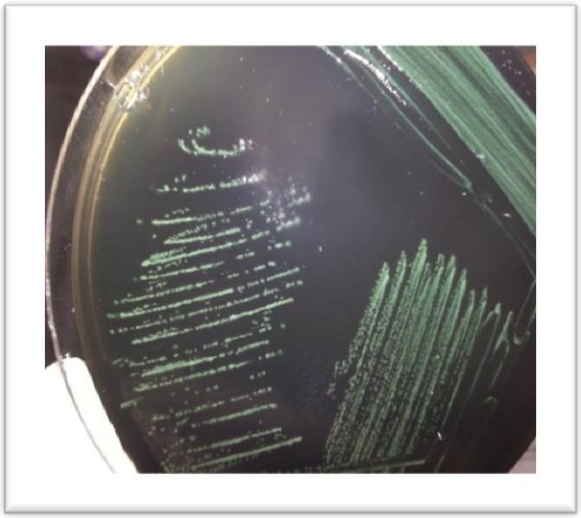
ب -اختبار الكاتليز : Catalase test

أضيفت قطرات من محلول مائي 7% بيروكسيد الهيدروجين على مواقع عدة من النمو الجرثومي على وسط الاكار المغذي وبظهور فقاعات غاز خلال ثواني قليلة يدل على النتيجة الموجبة (MacFaddin,2000) .

النتائج : Results

1- نتائج عزل جرثومة اللستيريا المستوحدة *L.monocytogenes* من الانسان

بينت نتائج العزل الجرثومي ان من المجموع الكلي للعينات التي جمعت من الانسان والتي بلغت (97) عينة اعطت 9 عينات نتيجة موجبة وبنسبة اصابة بلغت (9.27%) وذلك بعد زرعها في وسط اختياري لجرثومة اللستيريا (Oxford) حيث ظهرت المستعمرات الجرثومية بعد (24–48) ساعة تشبه قطرات الندى Dew–droplike بقطر يتراوح بين (0.5–1.5) ذات لون اخضر بني محاط بنطاق اسود، دائرية مرتفعة بحواف منتضمة ملساء وبشكل نقطي وكما موضح في الصورة رقم (1) .حيث تم عزل الجرثومة من ثلاث عينات من مجموع (65) عينة جمعت من النساء المجهضات وبنسبة اصابة بلغت (4.61%)، بينما من مجموع (32) عينة من سائل النخاع الشوكي Cerebrospinal fluid (CSF) والذي جمع من الاطفال المصابين تم عزل الجرثومة من (6) عينات وبنسبة اصابة بلغت (18.75%) وقد لوحظ ان نسبة العزل لجرثومة اللستيريا المستوحدة من عينات سائل الحبل الشوكي من الأطفال هي اعلى من نسبة العزل من العينات المأخوذة من النساء التي تعاني من الاجهاض مع وجود فرق معنوي مهم احصائيا عند مستوى احتمالية $P< 0.05$ وكما موضح في الجدول (1) .



صورة (1): توضح شكل مستعمرات جرثومة L.monocytogenes على وسط Oxford Listeria Selective agar بعد 24-48 ساعة .

جدول (1) يبين نتائج عزل جرثومة L.monocytogenes من الانسان.

نوع العينة	عدد العينات	العينات الموجبة	النسبة المؤية%
نساء مجهضات	65	3	a (%4.61)
سائل الحبل الشوكي CSF	32	6	b (%18.75)
المجموع	97	9	(%9.27)

*** تشير الحروف المختلفة الى وجود فروقات مهمة احصائيا تحت مستوى احتمالية P< 0.05 .**

2 –نتائج العزل الجرثومي من الحيوانات Bacterial isolation from Animals

اظهرت نتائج العزل لجرثومة اللستيريا من الاغنام التي اعطت (11) عينة نتيجة موجبة من مجموع 200 عينة من الحليب والمرارة من الاغنام وبنسبة بلغت (5.5%) من المجموع الكلي للعينات وقد توزعت بين (4) عينات موجبة للجرثومة من اصل 100 عينة حليب وبنسبة اصابة بلغت (4%) و(7) عينات موجبة للجرثومة من مجموع 100 عينة مرارة جمعت من الاغنام وبنسبة اصابة كانت بمقدار (7%) ولوحظ ان نسبة عزل الجرثومة من عينات المرارة هي اعلى من نسبة عزل الجرثومة من عينات الحليب مع عدم وجود اي فرق مهم احصائيا كما موضح في الجدول (2) .

جدول (2) : نتائج عزل جرثومة L.monocytogenes من عينات الحليب و المرارة للاغنام.

نوع العينة	عدد العينات	العينات الموجبة	نسبة الاصابة%
حليب	100	4	a (%4)
مرارة	100	7	a (%7)
المجموع	200	11	(%5.5)

*** تدل الحروف المتشابهة على عدم وجود فروقات مهمة احصائيا تحت مستوى احتمالية P< 0.05 .**

اما بالنسبة لنتائج عزل جرثومة اللستيريا من الابقار فقد اعطت (5) عينات نتيجة موجبة من مجموع 200 عينة من الحليب والمرارة من الابقار وبنسبة اصابة بلغت (2.5%) وقد توزعت بين (2) عينة اعطت نتيجة موجبة من مجموع 100 عينة من الحليب وبنسبة (2%) ، اما بالنسبة لعينات المرارة التي جمعت من الابقار

فقد اعطت (3) عينات نتيجة موجبة من مجموع 100 عينة من المرارة وبنسبة (3%) حيث كانت نسبة العزل من عينات المرارة هي اعلى من نسبة العزل من عينات الحليب مع عدم وجود اي فرق مهم احصائيا وكما موضح في الجدول (3) .

جدول (3) نتائج عزل وتشخيص جرثومة L.monocytogenes من عينات الحليب المرارة في الابقار .

نوع العينة	عدد العينات	العينات الموجبة	نسبة الاصابة%
حليب	100	2	a (%2)
مرارة	100	3	a (%3)
المجموع	200	5	(%2.5)

*** تدل الحروف المتشابهة على عدم وجود فروقات مهمة احصائيا تحت مستوى احتمالية P< 0.05 .**

3-نتائج التحري عن جرثومة اللستيريا في الانسان والحيوان حسب اشهر الدراسة

بينت نتائج تشخيص المرض في الانسان خلال موسم الدراسة والتي امتدت من شهر كانون الثاني (November) للعام 2014 وحتى نيسان (April) للعام 2015 ان عدد العينات التي اعطت نتيجة موجبة والتي تم جمعها من الاشخاص المصابين كانت 9 عينات من المجموع الكلي للعينات والبالغ 97 عينة حيث كانت نسبة العزل خلال شهر تشرين الثاني(November) بمقدار (6.6%) وبمعدل حالة واحدة ، اما في شهر كانون الاول (December) تم تشخيص حالة واحدة وبنسبة (5%) وفي شهر كانون الثاني(January) شخصت اربع حالات اصابة وبنسبة (20%) اما في شهر شباط (February) فقد كانت هناك حالتين وبنسبة (16.6%) وفي شهر اذار (March) فقد كانت النسبة (6.6%) حيث شخصت حالة اصابة واحدة ، ولم يتم تشخيص اي حالة اصابة من مجموع العينات التي جمعت خلال شهر نيسان (April). وقد لوحظ ان اعلى نسبة تشخيص الاصابة بجرثومة اللستيريا كان في شهر كانون الثاني وشباط مع وجود فرق مهم احصائيا عند مستوى احتمال P< 0.05 بين نسب التشخيص في هذين الشهريين مع اشهر الدراسة الاخرى كما موضح في جدول (4) .

الجدول (4) :نتائج تشخيص الاصابة بجرثومة اللستيريا في الانسان خلال اشهر الدراسة

اشهر الدراسة والسنة	عدد العينات	عددالعينات الموجبة	نسبة الاصابة %
تشرين الثاني(November) 2014	15	1	a6.6
كانون الاول (December)2014	20	1	a 5
كانون الثاني (January)2015	20	4	b20
شباط (February) 2015	12	2	b 16.6
شهر اذار (March) 2015	15	1	a6.6
شهر نيسان (April) 2015	15	0	c0
المجموع	97	9	9.27

*** تشير الحروف المتشابهه الى عدم وجود فروقات مهمة احصائيا في حين تدل الحروف المختلفة الى وجود فروقات مهمة احصائيا تحت مستوى احتمالية P< 0.05 .**

وبينت نتائج تشخيص المرض في الاغنام خلال اشهر الدراسة ان مجموع العينات الموجبة كانت (11) عينة توزعت بين عينة واحدة موجبة وبنسبة (3.7%) في شهر تشرين الثاني (November) وفي شهر كانون الاول (December) تم الحصول على عينتين اعطت نتيجة موجبة وبنسبة بلغت (6.25%) اما في شهر كانون الثاني (January) بلغت نسبة (10%) وبمعدل 4 عينات موجبة اما في شهر شباط (February)تم تشخيص عينتين موجبتين وبنسبة بلغت (4.5%) اما في شهر اذار (March) كانت نسبة الاصابة (5.4%) وبمعدل عينتين موجبتين ولم يتم تشخيص اي حالة اصابة بجرثومة اللستيريا من مجموع العينات التي جمعت من الاغنام خلال شهر نيسان (April) وكانت اعلى نسبة لتشخيص الجرثومة في شهر كانون الثاني وكما موضح في جدول (5) .

الجدول (5) : نتائج تشخيص المرض في الاغنام خلال اشهر الدراسة في محافظة القادسية.

اشهر الدراسة والسنة	عدد العينات	عدد العينات الموجبة	نسبة الاصابة %
تشرين الثاني(November) 2014	27	1	ab3.7
كانون الاول (December)2014	32	2	a6.25
كانون الثاني (January)2015	40	4	a10
شباط (February) 2015	44	2	a4.5
شهر اذار (March) 2015	37	2	a5.4
شهر نيسان (April) 2015	20	0	b0
المجموع	200	11	5.5

*** تشير الحروف المتشابهه الى عدم وجود فروقات مهمة احصائيا في حين تدل الحروف المختلفة الى وجود فروقات مهمة احصائيا تحت مستوى احتمالية P< 0.05 .**

اما بالنسبة لنسب تشخيص الاصابة بجرثومة اللستريا في الابقار حسب اشهر الدراسة كانت عدد العينات الموجبة (5) عينات توزعت بين عينة واحدة موجبة في شهر كانون الاول (December) وبنسبة اصابة بلغت (1.8%) اما شهر كانون الثاني (January) و شهر شباط (February) فكانت نسبة الاصابة (4.2%) و (7.4%) على التوالي وبمعدل عينتين لكلا الشهريين مع عدم وجود اي فرق معنوي عند مستوى احتمال P< 0.05 بين هذين الشهرين اما في شهر تشرين الثاني (November) و شهر اذار (March) و شهر نيسان (April) على التوالي لم يتم تسجيل نسبة اصابة خلالها واعلى نسبة لتشخيص الجرثومة من الابقار كانت في شهر شباط مقارنة مع بقية اشهر الدراسة مع وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال P< 0.05 بين نسبة تشخيص الجرثومة في هذا الشهر عن نسب التشخيص في اشهر الدراسة الاخرى عدا شهر كانون الثاني وكما موضح في الجدول (6) .

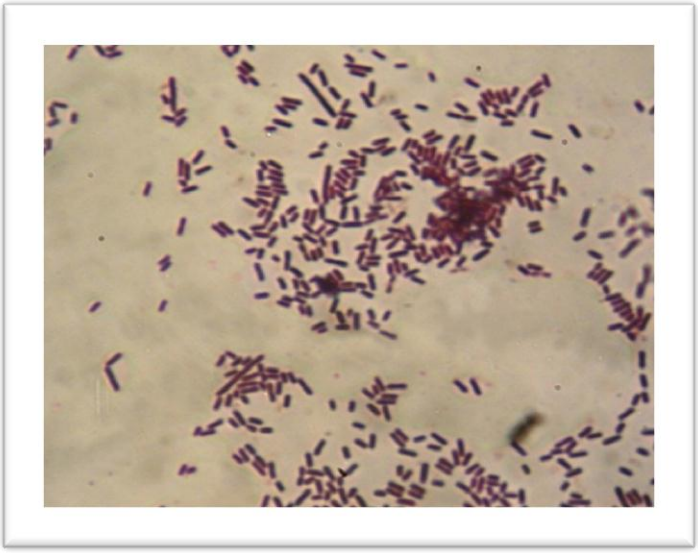
الجدول (6): نسب نتائج تشخيص الاصابة بجرثومة اللستيريا خلال اشهر الدراسة في الابقار

اشهر الدراسة والسنة	عدد العينات	عدد العينات الموجبة	نسبة الاصابة %
تشرين الثاني(November) 2014	30	0	a 0
كانون الاول (December)2014	53	1	ab 1.8
كانون الثاني (January)2014	47	2	b 4.2
شباط (February) 2015	27	2	b 7.4
شهر اذار (March) 2015	25	0	a 0
شهر نيسان (April) 2015	18	0	a 0
المجموع	200	5	2.5

***تشير الحروف المتشابهه الى عدم وجود فروقات مهمة احصائيا في حين تدل الحروف المختلفة الى وجود فروقات مهمة احصائيا تحت مستوى احتمالية $P< 0.05$.**

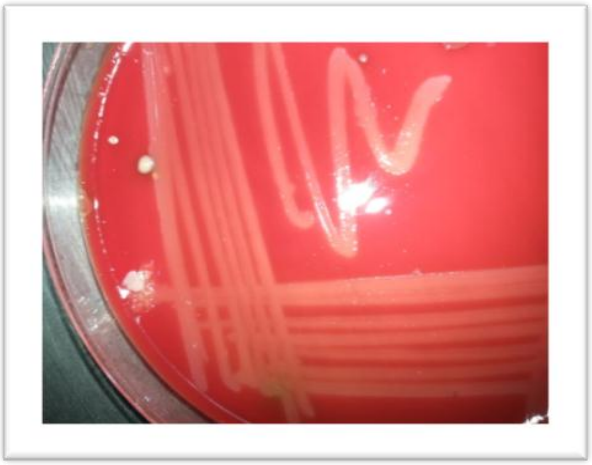
2- نتائج التشخيص التاكيدي لعزلات جرثومة L.monocytogenes من الانسان والحيوان

تم تشخيص جميع عزلات جرثومة L.monocytogenes وهي(25) عزلة باستخدام صبغة كرام ولوحظ ان الجراثيم المعزولة كانت موجبة لصبغة كرام وبشكل عصيات صغيرة وكبيرة تشبه الاحرف الصينية مع اشكال كروية وعصوية كروية وتترتب بشكل مميز بهياة احرف V و Y وتوضح الصورة (2) الفحص المجهري لجرثومة ***Listeria monocytogenes*** .

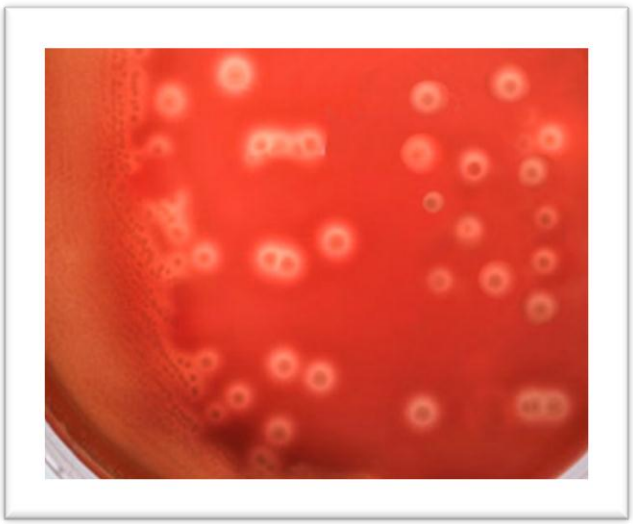


صورة (2): توضح شكل جراثيم اللستيريا المعزولة بعد تصبيغها باستخدام صبغة الكرام وفحصها تحت المجهر الضوئي (10X) .

اظهرت جميع عزلات جرثومة ***L .monocytogenes*** (25) عزلة بعد زرعها على وسط Blood agar كما موضح في الصورة (3) وعند زراعة مستعمرات مفردة لوحظ وجود مناطق تحلل الدم بشكل نطاق شفاف (Clear zone) ضيق من التحلل الدموي β–haemolysis حول المستعمرات.كما موضح في الصورة (4)



صورة رقم (3) نمو مستعمرات جرثومة L.monocytogenes على Blood agar



صورة (4) التحلل الدموي الكامل β-haemolysis لجرثومة *L.monocytogenes*

وقد لوحظ بعد زرع عزلات جرثومة اللستيريا على وسط TSB-YE تكون عكرة خفيفة خلال (18-24) ساعة وبعد عدة ايام من الزرع تكون راسب دبق وسميك وملتصق بقعر الانبوبة وبعد رج الانبوبة تحرك الزرع بهياة لولب حلزوني اعصاري الشكل (Corck-Screw) وهي ظاهرة مميزة لعائلة اللستيريا . وبينت نتائج فحص الحركة لجرثومة اللستيريا المعزولة من الانسان والحيوان بعد اخذ قطرة من الوسط السائل TSB-YE الذي تم تنمية جميع عزلات جرثومة اللستيريا فيه بدرجة حرارة (22-25) م لمدة (18-24) ساعة ونقلها الى

شريحة زجاجية خاصة تحتوي في وسطها على تقعر وتم فحصها تحت المحهر الضوئي ولوحظ حركة التقلب Tumpling الخاصة والمميزة لجرثومة الليتيريا .

اما نتائج التشخيص التاكيدي لجرثومة اللستيريا المعزولة بعد زرعها على وسط TSA-YE المقر دوليا من قبل ISO و FDA بدرجة حرارة 35 م° لمدة 24 ساعة فقد بينت ظهور نمو لجراثيم اللستريا على سطح الوسط بهياة مستعمرات ملساء محدبة وشفافة (Translusant) ذات حواف دائرية كاملة ذات قوام مائي يشبه قطرات الندى (Dew-Drop Apperance) وبعد تعريضها الى اضاءة بشكل مائل ظهر انعكاس ضوئي ازرق (Blue) الى ازرق فاتح (Azure) . واعطت جراثيم اللستيريا المعزولة من الانسان والحيوان وهي (25) عزلة نتيجة موجبة في اختبار الCatalase حيث ظهرت فقاعات وبعد عدة ثوان من اضافة بيروكسيد H2O2 بتركيز3% على مستعمرات الجرثومة ، وعند اجراء اختبار oxidase فان جميع عزلات الجرثومة كانت سالبة للاختبار حيث لوحظ عدم حدوث اي تغير في لون الكاشف.

المناقشة:

لغرض عزل وتشخيص Lisreia monocytogenes وتفريقها عن الانواع الاخرى التابعة للعائلة اللستيرية Listeria spp استخدام الوسط الزرعي (Oxford Listeria Selective agar) لاحتواء هذا الوسط على مواد تثبط نمو الجراثيم السالبة لصبغة كرام والموجبة الاخرى لاحتواءه على مادة Lithium chloride التي تكبح نمو العديد من الجراثم الموجبة وكذلك لاحتوائه على criflavine الذي يثبط نمو الجراثيم الموجبة و Cefotetan وFosfomycin الذي يثبط نمو المكورات المسبحية والعنقودية والعائلة المعوية و Cyclohexamide والذي له دور مهم في ثبيط بناء البروتين في الفطريات وان هذه المواد تساعد على تثبيط نمو الانواع الاخرى من جنس اللستيريا.

وقد تم الحصول على 25 عزلة من جراثيم اللستيريا المستوحدة من الانسان والحيوان حيث ظهرت المستعمرات الجرثومية بعد 24-48ساعة تشبه قطرات الندى Dew-droplike بقطر يتراوح بين (0.5-1.5) ذات لون اخضر بني محاط بنطاق اسود، دائرية مرتفعة بحواف منتضمة ملساء وبشكل نقطي ذات نسيج ذو سطح ناعم عند امرار الضوء عليها بشكل منحرف وهذه الخاصية تعد صفة مميزة لجثومة *Listeria monocytogenes* وان سبب اللون الاخضر البني هو نتيجة استهلاك Aesculin وتحلله من قبل اللستيريا للحصول على الكلوكوز فينتج مركب وسطي هو Aesculitin والذي بدوره يتحد مع املاح الحديد في الوسط الزرعي مولدا راسب اسود حول المستعمرة وهذا يتفق مع ما ذكره (Hitchin,2003)

وعند تصبغ العزلات الجرثومية باستخدام صبغة كرام Gram stain وفحصها بالمجهر الضوئي ظهرت الجراثيم موجبة لصبغة كرام بشكل عصيات صغيرة وكبيرة تشبه الاحرف الصينية مع اشكال كروية وعصوية كروية وتترتب بشكل مميز بهياة احرف V و Y كما موضح في الصورة (2) ، وهذا يتفق مع ما اشارت اليه الكثير من الدراسات والبحوث الى وجود البروتين السطحي Act-A حيث يعمل على الالتصاق بالخلية الثانية من جهة القطب المحتوي على البروتين Act-A بسبب التجاذب المغناطيسي او قد يعود الى اختلاف الشحنات الكهربائية في الخلايا الجنسية الذكرية والانثوية والتي تكون متعاكسة في ترتيب شحناتها السطحية وبالتالي تنجدب النهايات بعضها الى البعض (Anonymous,2008:Koneman *etal*.,1997) . اما بالنسبة الى نتائج الزرع على وسط اكار الدم وانتاج مناطق التحلل الدم فقد ظهرت نتائج الدراسة الحالية ان جرثومة *Listeria monocytogenes* لها القدرة على انتاج مناطق تحلل للدم من نوع β-haemolysis وكما موضح في الصورة رقم (4) وهي صفة تشخيصية تفريقية مهمة لتميز جرثومة L.monocytogenes عن باقي العائلة اللستيرية وسبب قدرة الجرثومة على تحلل الدم ناتج عن تاثير عامل تحلل الدم اللستيري Listerolysin O والذي يعتبر احد جينات الضراوة الرئيسية لجرثومة *Listeria monocytogenes* والذي له وظائف متعددة ومنها تحليل اغشية كريات الدم الحمر للانسان والحيوان ويعمل عامل التحلل الدموي Listerolysin O على احداث ثقوب pores في عشاء الخلايا البلعمية وبذلك فان عملية التحلل هذه تعتبر من اهم طريق التفريق بين اللستيريا المستوحدة وبقية انواع العائلة اللستيرية غير المحللة للدم (Schmidt and Hensel,2004) .

اما عند زرع عزلات جرثومة اللستيريا على وسط TSA-YE المقر دوليا من قبل ISO و FDA لغرض تاكيد تشخيصها بدرجة حرارة 35 م° لمدة 24 ساعة ظهر على سطحه نمو مميز لجراثيم اللستيريا يختلف عن النمو لباقي الجراثيم الاخرى حيث تظهر المستعمرات بهياة ملساء محدبة وشفافة (Translusant) ذات حواف دائرية كاملة ذات قوام مائي يشبه قطرات الندى (Dew-Drop Apperance) والتي عند تعرضها الى اضاءة بشكل مائل يظهر انعكاس ضوئي ازرق (Blue) الى ازرق فاتح (Azure) ويعود سبب ذلك الى حدوث ظاهرة الاستطارة في الضوء عند مرور اشعة الشمس في جدار الخلية اللستيرية . وان جميع العزلات الجرثومية اعطت نتيجة موجبة اي ان لها القدرة على انتاج انزيم الكاتليز والذي يتفاعل مع بيروكسيد الهيدروجين والذي يظهر على شكل فقاعات وهي صفة تشخيصية مهمة لتميزها عن المسبحيات والمكورات العنقودية والوتديات وغيرها ، اما بالنسبة لاختبارOxidase فان جميع عزلات جرثومة كانت سالبة في هذا الاختبار وهذا يتفق مع ما اشار اليه (Quinn etal.,2006)

اظهرت نتائج فحص الحركة لعزلات جرثومة اللستيريا وجود مميزة تشبه بهلوان السرك التقلبية (Tumbling Movement) نتيجة عدم توزع الاسواط (Flagella) بشكل متجانس حول الجرثومة ، اما عند حضن الجراثيم المزروعة بدرجات حرارية اعلى من 30 م° فعند درجة حرارة 37 م° لوحظ انها تكون غير متحركة ويعزى سبب ذلك الى ان قابليتها على انتاج الاسواط تضعف واحيانا تختفي بسبب تثبيط الجينات المسؤولة عن تكوين وافراز الاسواط لا سيما الجين MogR والذي يؤثر على دور flaA gene وبقية الجينات المسؤلة عن الحركة عن طريق الارتباط مع هذا الجين وتقليل التعبير الجيني له ، حيث ان ارتفاع درجات الحرارة يؤدي الى توقف عمليات استنساخ هذه الجينات وخصوصا عند درجة الحرارة 37 م° (Quinn etal.,2006: Wong and Freitag,2004) .

اظهرت نتائج التحري عن الاصابة بجرثومة *L.monocytogenes* في الانسان تم عزل الجرثومة من ثلاث حالات اجهاض لنساء حوامل وبنسبة اصابة بلغت 4.61 % وكما موضح في الجدول (1) وبهذه النتيجة يمكن ان تعد جرثومة *L.monocytogenes* من المسببات المهمة للاجهاض في العراق وبالرغم من كون النسبة قد تكون قليلة نوعا ما الا ان هذه النسبة قد اتفقت مع تقارير منظمة الصحة العالمية (WHO) (Rocourt etal.,1997) وما جاء ذكره من قبل الباحث Hof(2003) من ان مرض listeriosis من الامراض الخطرة التي تسبب وفيات بنسبة عالية، وقد يعزي السبب في حدوث الاجهاض للنساء الحوامل وخصوصا في الثلث الاخير من الحمل الى الانخفاض في مستوى المناعة ولاسيما في الاستجابة المناعية الخلوية جراء التغير الكبير في مستوى الهرمونات (Estradiaol, Progesreron, Esraiol) والتي لها دور في تثبيط الاستجابة المناعية الخلوية وهذا يؤدي الى زيادة مقاومة الجراثيم التي تعيش داخل الخلايا وان تكامل انسجة الجنين والمشيمة تعد من الاماكن المفضلة لنمو الجرثومة لاحتوائها على مادة Erythritole المفيدة في تغذيتها وتكاثرها (Anonymons,2003) .ان نسبة الاصابة بالجرثومة في بحثنا كانت اعلى بقليل من نتيجة الدراسة التي اجراها (Kaur etal.,2007) حيث سجل نسبة اصابة بلغت 3.3 % وكذلك الدراسة التي اجرتها (الجليلي،2002) التي شخصت الجرثومة بنسبة اصابة بلغت 3.2 % 1.25 % من نساء عقيمات ونساء مصابات بالتهاب عنق الرحم والمهبل على التوالي في محافظة نينوى ،وكما ان نتائج هذه الدراسة لم تتفق مع ما توصل الية (Motamedi etal.,2015) من نسب اصابة جرثومة L.monocytogenes لنساء حوامل في الشهر السابع والثامن وبنسبة اصابة بلغت 14% و20.5 % على التوالي وكذلك الدراسة التي اجريت من قبل Abd-Elhaffiz (2010) على نساء مجهضات وبنسبة اصابة بلغت 8.3 % وايضا لم تتفق نتيجة الدراسة الحالية مع النتيجة التي توصل اليها AL-Juobory (2008) حيث توصل الى نسبة اصابة بالجرثومة في نساء محهضات بلغت 24 % . ان الاختلاف في نسب الاصابة قد يعزى الى الاختلاف في طرق الاصابة والتلوث الذي يعد سببا مهما لانتشار المرض في الانسان وكذلك الى الاختلاف في طرق العزل والتشخيص . قد يعزى سبب انتشار المرض في الانسان الى ضعف المناعة وخصوصا في النساء الحوامل والاطفال الصغار (Gillespie etal.,2006) ، بالإضافة المدى الواسع من الاغذية التي يتناولها الانسان والتي لها علاقة قوية في احداث الاصابة حيث يلعب الغذاء دورا مهما في المحافظة على الجرثومة وتكاثرها كما تنتقل في الاغذية المجمدة (Dawson etal.,2006) ، ويمكن ان يعزى سبب الاصابة الى ان الجرثومة ممكن ان تنتقل عن

طريق المستشفيات ذات المستوى الصحي الرديء وعن طريق الاحتكاك المباشر مع المرضى والعاملين في المستشفى لاسيما نظافة الايدي او عن طريق تلوث الملابس والمعدات والادوات الصحية (Wilkinson,2006)

تعد جرثومة L.monocytogenes هي من المسببات الشائعة لالتهاب السحايا عند الاطفال حديثي الولادة (Segreti and Harris,1996) .فقد اظهرت نتائج عزل وتشخيص الجرثومة من عينات سائل النخاع الشوكي للاطفال المصابة في دراستنا ارتفاع في نسبة الاصابة بلغت 18.75 % من العدد الكلي للعينات وكما موضح في الجدول (2) وهذه النتيجة اعلى من نسبة الإصابة التي توصلت اليها AL-Taii (2004) حيث كانت (7.69%) (13%) وكانت نتائج بحثنا الحالي اعلى بقليل من نتيجة الدراسة التي توصل اليها Mylonaskis etal(2002) والبالغة(17%) من عينات CSF . ان النتائج تتفق مع ما اشارت اليه المصادر العلمية ان الطريق الرئيسي لانتقال الجرثومة الى الانسان والحيوان هو السلسة الغذائية وفي الانسان الناقل الرئيسي للجرثومة هو الحليب اما في الحيوان الناقل الرئيسي هو السايلج (Dongyou,2008) . كما ان اللحوم المصابة بالجرثومة وكذلك طريقة تعامل المجازر مع الذبيحة ونزع حوايا الذبيحة مما يؤدي الى تلوث اللحوم وذلك لعدم اتباع الطرق الصحية الصحيحة في التعامل مع اللحوم اضافة الى تناول الانسان الغذاء من مصادر مختلفة والتي تلعب دور مهما في انتقال المرض الى الانسان (Lunden etal.,2003a,2003b) . وكذلك تعد جرثومة اللستيريا المستوحدة واحده من اهم المسببات المرضية المشتركة المهمة المنتقلة عن طريق السلسلة الغذائية الى الانسان (Ryser,1999) . قد يعزى سبب انتشار المرض الى ان التوزيع الوبائي للمرض يختلف من منطقة الى منطقة اخرى وهذا يعتمد على طرائق انتقال الجرثومة والمستوى الصحي والعمر وغيرها (Dongyou,2008). وسبب الارتفاع في نسب الاصابة بالجرثومة في بلدنا تعود الى قلة برامج التوعي الصحي وتردي الواقع الصحي في البيئة وانتشار المخلفات وانخفاض العناية الصحية في المستشفيات التي تعد من العوامل المهمة لانتشار الامراض الخطيرة في الانسان

وقد بينت نتائج التحري عن الاصابة بجرثومة اللستيريا المستوحدة في الحيوان عزل جرثومة L.monocytogenes من عينات الحليب للأغنام بنسبة بلغت (4%) وهذه النتيجة مقاربة الى اما توصل اليه Muraoka etal (2003) حيث سجلوا نسبة اصابة بلغت (4.9%) في حليب الاغنام بينما كانت اعلى من نسبة الاصابة التي سجلها Gaya etal(1998) والتي بلغت (3.62%) ،في حين كانت نتيجة بحثنا اقل بكثير من نسبة الاصابة التي سجلها Carlos etal (2001) والبالغة (13%) . اما بالنسبة لنسبة عزل الجرثومة من عينات الحليب من الابقار فقد سجلت نتائج بحثنا نسبة اصابة بلغت (2%) وتعد هذه النسبة اعلى بقليل من نتيجة الدراسة التي اجراها Jensen etal(1996) على حليب الابقار في الدنمارك وبنسبة اصابة بلغت (1.2%) ، الا ان نتائج بحثنا كانت اقل بكثير من نتائج الدراسة التي اجراها كل من AL-Mariri etal (2013) و التي كانت (6.67%) ، بينما لم يسجل Abay etal (2012) اي نسبة عزل للجرثومة من حليب الابقار . ان نسبة عزل الجرثومة من الحليب سواء من الاغنام او الابقار تعتبر نسبة غير مقبولة مقارنة مع نسب الاصابة في الدول المتقدمة الا انها قد تكون ناتجة عن قلة في برامج الوعي الصحي في العراق وتردي نوعية الاعلاف المقدمة الى الحيوانات.

اظهرت نتائج عزل جرثومة اللستيريا المستوحدة *L.monocytogenes* من عينات المرارة في الاغنام والابقار مكم مبين في الجداول (2) و (3) ،وهذه النتائج اعلى من نسب الاصابة التي سجلها AL-Ali (2012) في محافظة النجف والتي بلغت (2%) و(0.7%) في الاغنام والابقار على التوالي وقد يعزي سبب ارتفاع نسبة الاصابة في الاغنام مقارنة بالأبقار الى طبيعة انسجة الابقار والتي تكون مقاومة للإصابة اضافة الى نوع البيئة الموجودة فيها هذه الحيوانات بينما كانت نتائج الدراسة الحالية اقل من النتيجة التي توصل اليها AL-Zubaidi (2006) حيث سجل نسبة اصابة بلغت (20%) في الاغنام ولم يسجل اي نسبة اصابة في الابقار ،. قد يعزى سبب ارتفاع نسبة الاصابة في الاغنام مقارنة في الابقار الى التأقلم الوراثي للجرثومة في انسجة الاغنام لاسيما منطقة كيس الصفراء (Gallbladder) او وجود عوامل نمو حيوية في حليب النعاج تفضلها اللستيريا لاسيما نوع الدهون المفسفرة لا سيما Sphingolipids والى نوع البيئة المتحركة والاعتماد في تربية الاغنام على نظام الرعي المفتوح على العكس مما في الابقار (Robinson,2000) . ان جرثومة اللستيريا المستوحدة لها القابلية على العيش والتكاثر داخل كيس الصفراء وان قابلية تحملها لاملاح الصفراء تعتبر واحدة من اهم عوامل

الضراوة لدى الجرثومة (Merritt etal.,2010) . ان جرثومة اللستيريا تمتلك ميكانيكة خاصة تمكنها من مقاومة املاح الصفراء منها امتلاكها الى جينات متصلة مع بعضها (operon) ومنها bile tolerance locus E(bile) والذي يمنع وصول املاح الصفراء الى سايتوبلازم الخلية للجرثومة عن طريق التشفير encodes الى انزيمات تحلل الصفراء والتي تؤدي الى تحويل الصفراء الى قليلة السمية . بالاضافة الى وجود الجين prfA والذي هو عبارة عن واحد من جينات التي تعمل ضد املاح الصفراء bile tolerance gene (Begley etal.,2005) .

وقد بينت نتائج التحري عن الاصابة بجرثومة اللستيريا في الانسان خلال اشهر الدراسة ان اعلى نسبة اصابة كانت في الاشهر الباردة وكما موضح في الجدول (4) حيث سجلت اعلى نسبة اصابة في الانسان في شهري كانون الثاني وشباط والتي بلغت (20%) و(16%) على التوالي وقد اضهرت هذه النسب فرقا معنويا مقارنة ببقية نسب الاصابة خلال الاشهر الاخرى من الدراسة ، وفي الاغنام كانت نسب الاصابة خلال الاشهر الباردة والمعتدلة عالية مقارنة بالاشهر الحارة من السنة ولم تظهر هذه الاشهر فرقا معنويا فيما بينها في نسب الاصابة الا انها اظهرت فرقا معنويا واضحا عن الاشهر الحارة خلال فترة الدراسة كما موضح في جدول (5) ، اما بالنسبة للأبقار فقد لوحظ من خلال قراءة النتائج الى ان نسبة الاصابة في الاشهر الباردة قد اظهرت فرقا معنويا واضحا بالنسبة الى نسب الاصابة في الاشهر الاخرى كما موضح في جدول (6) . يتبين من خلال الدراسة الحالية وملاحظة نسب انتشار المرض في الانسان والحيوان (الابقار والاغنام) خلال اشهر الدراسة ان نسب عزل الجرثومة كانت عالية خلال الاشهر الباردة من الدراسة وقد يعزى سبب ذلك الى طبيعة الاجواء الباردة والرطوبة النسبية وتزايدها والذي يكون متوافق وراثيا مع طبيعة الجرثومة المحبة للبرودة وهذه النتيجة جاءت مطابقة الى النتيجة التي اشار اليها الباحثون Bonardi etal (2002) والذي اشار الى ان جميع العزلات الموجبة لجرثومة L.monocytgenes قد جمعت خلال الاشهر البارده من السنة وقد تم الاستفادة من خاصية كون الجرثومة محبة للبرودة ولها القابلية على النمو والتكاثر بدرجة حرارة (1-8) م° حيث تم حفظ العزلات الموجبة للجرثومة بعد اسبوع من تنميتها على المرق المغذي لللستريا عند درجة حرارة 4 م ويستدل من ذلك ان الجرثومة لها القابلية على النمو حتى عند الدرجات الحرارية المنخفضة وان هذه الخاصية تسهل من عملية عزل الجرثومة من خلال تنميتها على الاوساط الاختيارية وحفظها بدرجة 4 م° مما يسهل نمو الجرثومة فقط مما يسهل عدم الحصول على ثلوث بجراثيم اخرى وهذا ما اكده الباحثين (Mauro etal.,2007) الذي سجل في دراسته (4) عزلات كانت موجبة لجرثومة اللستيريا المستوحدة بعد حفضها عند درجة 4 م° لمدة 21 يوم.

تشير الدراسة الحالية وكما موضح في الجداول رقم (2) و (3) الى ان نسبة الاصابة في الاغنام كانت اعلى من نسبة الاصابة في الابقار وهذه النتيجة كانت متفقة مع ما توصل اليه AL-Zubaide (2006) والذي اكد ان نسبة الاصابة في الاغنام كانت اعلى من نسبة الاصابة في الابقار وقد يعزى سبب ذلك الى عدة اسباب منها وراثية الى كون الابقار اقل حساسية للإصابة بالجرثومة مقارنة بالاغنام (AL-Dughaym etal.,2001) . وقد يعزى ايضا الى ان الصفراء في الابقار تحتوى على عدد من الاحماض اكثر مما هو موجود في الانسان و الاغنام مثل saprocholic ,citrolic,litholic اما في الانسان والاغنام فانها تحتوي على cholic acid and genodeoxy cholic فقط (Begley etal.,2005)ونستنتج مما تقدم ان الحليب والمرارة في الاغنام والابقار تعتبر من مصادر مهمة للاصابة بجرثومة اللستيريا المستوحدة L.monocytogenes وانتقالها الى الانسان في محافظة القادسية .

المصادر: Reference

1-Quinn, P.J.;Markey, B.K.; Carter, M.E.; Donnelly, W.J. and Leonard, F.C. (2006) . Veterinary Microbiology and microbial disease. Printed and bound in Great Britain by international Ltd . Pad stow-Cornwall.

2- **Robinson, R.K . (2002) .** Handbook of Dairy Microbiology. 3rd ed., Wily interscince Comp.,USA.

3- **Polnau, U.; Braun, M.G.; Van. Den. Boom, H.; and Becker- Capeller, D. (2001).** Listeria arithritis in chronic polyarthritis during low dose prednisolone and methotrexate thereapy. Case report and review of the literature. Z-Rheumatol. 60: 41-46.

4- **Mohammed, H. O., Atwill, E., Dunbar, L., Ward, T., McDonough, P., Gonzalez, R. and Stipetic, K. (2010).** The risk of *Listeria monocytogenes* infection in beef cattle operations. J. Appl. Microbiol., 108: 349-356.

5- **Moshtaghi, H., Garg, S.R., and Mandokhot, U.V.(2003) .** Prevalence of Listeria in soil, Indian J. Exp. Biol., 41,1466.

6- **Vazquez-Boland, J. A., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T. et al., (2001).**Listeria pathogenesis and molecular viurlence determinants. Clin. Microbiol Rev., 14:584-640.

7- Wagner M. et al.,(2005). Outbreak of clinical listeriosis in sheep: Evaluation from possible contamination routes from feed to raw produce and humans, J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health, 52, 278,

8- **Gasanov, U., Hughes, D. and Hansbro, P. M. (2005).** Methods for the isolation and identification of Listeria spp. and Listeria monocytogenes: a review.FEMS Microbiol. Rev. 29: 851-875.

9- **Graves, L. M., Helsel, L. O., Morey, R. E., Steigerwalt, A. G., Roof, S., et al.(2009).** Listeria marthii sp. nov.: a new species of Listeria isolated from natural environment. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., DOI10.1099/ijs.,0.014118-0.

10- **OIE Terrestrial Manual, (2008)**. Listeria monocytogenes.

11- **Dongyou Liu (2008`).** Identification ,subtyping and virulence dtermination of listeria monocytogenes , animportant Foodborne pathogene .J.Med.Microbiol.,55:645-659.

12- **Koneman, E.W.; Allen, S.D.; Janda W.M.; Schreck enberger , P.C. and Winn, W.C. (1997).** Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott–Raven publisher, Philadelphia, USA. pp. 664-668, 1330.

13- **McFaddin, J.F. (2000).** Biochemical tests for identification of medical bacteria. 1st Ed. The Williams and Wilkins. Baltimore, USA.

14- **Hitchins, A.D.(2003) .**Detection and Enumeration of Listeria monocytogenes in Foods. Chapter 101. In: Jackson , G.J. (coordinator). Bacteriological Analytical manual . 10th ed. , Revision A., AOAC Int., Gaithersburg M.D., USA.

15-**Anonymous (2008):** Microbiology Laboratory Guidebook, Chapter 8, Revision 3, 2006; US Department of Agriculture; Accessed: 1 January 2008.vailableat:http://www.fsis.usda.gov/Science/Microbiological_Lab_Guidebook

16- **Schmidt, H. and Hensel, M. (2004)**. Pathogenicity Islands in bacterial pathogensis .Clin. Microbiol. Rev., 17:14-56.

17- **Wong, K. K. and Freitag, N. E. (2004).** A novel mutation within the central*Listeria monocytogenes* regulator PrfA that results in constitutive expressionof virulence gene products. J. Bacteriol., 186:6265–76.

18- **Rocourt, J.; Jacquet, Ch., and Bille, J. (1997).** Human Listeriosis, 1991/1992. WHO/ FUN/FOS/ 97.1. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

19- Hof, H. (2003). History and epidemiology of Listeriosis. FEMS. Immunol. Med. Microbiol. 35: 199-202

20- Anonymous, (2003). Public health dispatch: outbreak of Listeriosis … Northeastern United States. MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep. 51: 950-951.

21- **Kaur, S., Malik, S. V. S., Vaidya, V. M. & Barbuddhe,S. B. (2007).** Listeria monocytogenes in spontaneousabortions in humans and its detection by multiplexPCR. Journal of Applied Microbiology, 103, 1889–1896.

22- الجليلي ، اسلام مؤيد جلال الدين (٢٠٠٢) . دراسة مناعية ، بكتريولوجية ، وبائية عن حالات العقم عند النساء في محافظة نينوى . اطروحة دكتوراه ، جامعة الموصل.

23- **Motamedi, F.; Mehrabadi, J.F.; Sabokbar, A. (2015).** Discovery of Listeria monocytogenes High Prevalence in pregnant Woman who referred to the Tehran Refernce Hospital by Real Time PCR Method . Journal of Applied Biological Sciences 9 (1): 54-56 .

24- **Abd-Elhaffiz, A .S.(2010) .** Comparison of polymerase chain reaction and conventional methods for diagnosis of Listeria monocytogenes isolated from different clinical specimens and food stuffs. Medical Microbiology & Immunology, Faculty of Medicine, Zagazig University, Egypt.57: 919-924.

25-AL-Joubory, I.A.(2008). Biotyping and using of ELISA for detection of Listeria monocytogenes isolated from poultry and women .Department of veterinary puplic health ,College of Veterinary Medicine ,Mosul University

26- Gillespie, I. et al., (2006). Changing pattern of human listeriosis in England and Wales, 2001–2005, *Emerg.Infect. Dis.*, 12, 1361.

27- Dawson, S.J. et al.,(2006.) *Listeria* outbreak associated with sandwich consumption from a hospital retail shop,United Kingdom, *Euro Surveill.*, 11, 89,

28- Wilkinson, P.J.(2006) . Listeriosis in Oxford Textbook of Medicine. 4¬th ed., Bailliere, Tindall Comp. UK.

29- Segreti, J. and Harris , A. (1996). Acute bacterial meningitis , Infect . Dis. Clin. 10: 797-809 .

30- AL-Taii, M. (2004). Some physiological and pathological cases of *Listeria monocytogenes* isolated from clinical cases in Mosul, Msc, science College, Mosul University, Iraq.

31- Mylonakis, E.; Paliou, M.; Hohmann, E.L.; Calderwood , S.B. and Wing, E.J. (2002). Listeriosis during pregnancy, a case series and review of 222 cases. Medicin. 81: 260-269.

32- Lundén, J., Autio, T., Sjöberg, A. M., and Korkeala, H. (2003b). Ecology of persistet and nonpersistent *Listeria monocytogenes* strains in meat and poultry processing plants. J. Food Prot. In Press.

33- Ryser, E.T. (1999). Foodborne listeriosis , Pp: 299-358. In:Ryser , E.T. and Marth , E.H. (ed). Listeria , Listeriosis and Food Safety . 2nd ed ., Marcel Dekker Inc., New York, USA.

34- Muraoka ,W. ;Gay, C.; Knowles , D. and Borucki , M. (2003) . Prevalence of Listeria monovytogenes Subtypes in Bulk Milk of the Pacific Northwest. Journal of Food Protection , Vol 66 .8 :1413-1419.

35- Gaya, P., J. Sanchez, M. Medina & M. Nuñez, 1998. Incidence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in raw milk produced in Spain. *Food Micr*.

36- Carlos, V. S., R. S. Oscar & Q. R. E. Irma,(2001). Occurrence of *Listeria* species inraw milk in farms on the outskirts of Mexico city. *Food Microbiology*, **18**, 177–181.

37- Jensen, N. E., F. M. Aarestrup, J. Jensen & H.C. Wegener, 1996. *Listeria monocytogenes*in bovine mastitis. Possible implicationfor human health. *International Journalof Food Microbiology*, **32**, 209–216.

38- Al-Mariri, A., A. Abou Younes & L. Ramadan, 2013. Prevalence of *Listeria* spp. in raw milk in Syria. *Bulg. J. Vet. Med.*, **16**, No 2, 112−122.

39- Al-Ali, H.J. (2012).Molecular detection of some virulence and serotypes genes of *Listeria monocytogenes* isolated from cattle and sheep in najaf slaughterhouse . master thesis, **College of Veterinary Medicine. Al-Qadisiya University.**

40- **AL-Zubaidi, (2006).** Natural and experimental study for the localization of the *Listeria monocytogenes* in some of the internal and its role in the spread of the disease.

41- **Merritt, R.W., Walker, E. D., Small, P. L., Wallace, J. R., Johnson, P. D.,Benbow, M. E. and Boakye, D. A. (2010).** Ecology and transmission of Buruli ulcer disease: A systematic review. PLoS Negl. Trop. Dis., 4: 911-911.

42- **Begley, M., Sleator, R. D., Gahan, C. G., and Hill. C. (2005).** Contribution ofthree bile-associated loci, *bsh*, *pva*, and *btlB*, to gastrointestinal persistence and bile tolerance of *Listeria monocytogenes*. Infect Immun 73:894–904.

43- **Bonardi, M. *et al*.,(2002).** High specific activity radioactivity tracers: a powerful tool for studying very low level and long term exposure to different chemical forms of both essential and toxic elements: Microchem J 73:153- 166.

44- Mauro, C., Domenico, P., Vincenzo, D'Orio., Alberto, V., Adriana, I. (2007). Antimicrobial susceptibility of Listeria monocytogenes isolated from food and food-processing environment**,** Dipartimento di Produzioni Animali,Biotecnologie Veterinarie,

45- **Al-Dughaym, A.M., Fadl Elmula, A., Mohamed, G. E., Hegazy, A. A.,Radwan, Y. A., Housawi, F. M. T. and Gameel, A. A. (2001).** Firstreport of an outbreak of ovine septicaemic listeriosis in Saudi Arabia.Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 20:777–783.