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

تاريخ الاستلام 2015/7/25 تاريخ القبول 2015/10/5

حسين عمران كريم العابدي وهدى عبد الهادي علي النصراوي

جامعة القادسية / كلية الطب البيطري / وحدة بحوث الامراض المشتركة

Hussienomran943@yahoo.com

الخلاصة

جاء الهدف من هذا البحث هو التحري عن الاصابة بجرثومة *Listeria. monocytogenes* في الانسان و الحيوان, تم استخدام وسط زرعي اختياري لجرثومة اللستيريا Oxford Listeria agar ولغرض عزل الجرثومة اضيف اليه المعزز الخاص لنمو الجرثومة 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 تأكيدي للعزلات . وقد اجريت 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 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 الحصول على(9) عزلات لجرثومة *L.monocytogenes* تم عزلها 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 للأغنام والابقار والتي يمكن ان تكون مصدر لانتقال الاصابة الى الانسان عن طريق تلوث اللحوم والحليب ومشتقاته .

Biology Classification QR 99.5

كلمات المفتاحية Keyword: اللستيريا , عزل, الأنسان, الحيوان.

البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول .

المقدمة :

تعد جراثيم *L.monocytogenes* *المسببة* لمرض Listeriosis بكتريا انتهازيه مشتركة وخطره على صحة الانسان والحيوان مسببه وفيات ولا سيما في الاشخاص الاكثر عرضه للإصابة وهم النساء الحوامل وحديثو الولادة والمسنين والاشخاص ذو المناعة الضعيفة او غير السوية (1) . الاعراض السريرية لهذا المرض تكون متباينة من الشكل تحت السريري الى الاعراض الشديدة والمتضمنة خمج الدماغ والسحايا(cephalomeningitis) في الإنسان البالغ

وكبار الحيوانات ,وخمج الرحم والإجهاض (Metritis and abortion) في الإناث الحوامل, والإنتان الدموي (Septicaemia) في الأطفال حديثي الولادة وصغار الحيوانات, وخمج الضرع (Mastitis) في المجترات (2) ، ويتواجد هذا المرض بصور اخرى ثانوية تتمثل بخمج المعدة والأمعاء (Gastroenteritis) ، خراجات الكبد والكلى وتحت الجلد، خمج قرنية وقزحية العين (Keratoconjunctivitis), خمج نخاع الحبل الشوكي (Spinal cord myelitis) و التهاب المفاصل (Arthritis)(3) . وتعد 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 الجرثومة في الطبيعة عن طريق التربة والعلف الملوث لاسيما السايلج ذي النوعية الرديئة والفضلات الملوثة (4) . 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 خمج السحايا الدماغ (Meningeoencephalitis) والانتان الدموي (Septicemia) والاجهاض (Abortion) وخصوصا في الثلث الاخير من الحمل، وتلعب الحيوانات المجترة دوراً أساسيا في تلويث البيئة وادامة الجرثومة في الطبيعة عن طريق انتقال الجرثومة من الفضلات الملوثة إلى الفم (5). وفي المجترات تنتقل الإصابة عادة عن طريق تلوث السايلج وهذه الجراثيم تتكاثر فيه بسرعة مما يؤدي إلى حصول ثورتمرضيةفيالقطعان(6) . ان جراثيم *L. monocytogenes* موجبه لصبغة كرام هوائية داخل خلويهintracellular لها القدرة على النمو والتكاثر بدرجات حراره منخفضة (0-8) وخصوصا عند درجة حرارة الثلاجة 4م° لكونها ذات طبيعة وراثيه محبه للبرودة (psycrotroph) وهذه الدرجة تثبط نمو العديد من الاحياء المجهرية وهذا يتيح لها الفرصة على المنافسة على المادة الغذائية المشتبه بتواجد الجرثومة فيها (7) وقد تم عزل جراثيم اللستيريا المستوحدة من اماكن مختلفة كالتربة والحليب والمرارة gallbladder وسائل الحبل الشوكي cerebrospinal flud والنساء المجهضات (8)

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 المدة من تشرسن الثاني 2014 –نيسان 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 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 تشرين الثاني 2014 –نيسان 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 ، مقدار عينة الحليب (250-500) مل جمعت بواسطة اكياس نايلون معقمة ونظيفة وغير نفاذة سعة (0.5-1) لترو وضعت في صندوق يحتوي على الثلج ونقلت العينات الى مختبر وبعد ذلك وضعت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م ° لمدة (2-3) يوم ثم وضعت 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 (2) .

3- عزل جرثومية اللستيريا المستوحدة *L.monocytogenes* isolation:

ولغرض عزل جرثومة *L.monocytogenes* من العينات المأخوذة 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 استخدام Internatinal Diary Federation(IDF) في عزل وتشخيص جرثومة اللستيريا *L.monocytogenes* والمذكورة في (9) 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 اما عينات 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 (10) . 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 *L.monocytogenes*

4- اختبارات تشخيص عزلات جرثومة *L.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 لخلايا وطبيعة اصطباغها وترتيب واصطفاف الخلايا حسب طريقة (1) .

ب -فحص الحركة Motility Test :

اجري اختبار فحص الحركة لجرثومة L monocytogenes المعزولة حسب طريقة (11) 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 الى شريحة زجاجية خاصة تحتوي في وسطها على تقعر(اختبار القطرة المعلقة) ثم وضعت قطرة زيت وبعدها تم فحص حركة الجراثيم تحت المجهر الضوئي ملاحظة الحركة المتقلبة لجرثومة *L.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 24-48ساعة , وان ظهور نطاق واضح وضيق حول المستعمرات يدل على ان التحلل هو β-haemolysis ,بينما ظهور اللون الأخضر يدل على ان التحلل هو α-haemolysis (12).

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. (12).

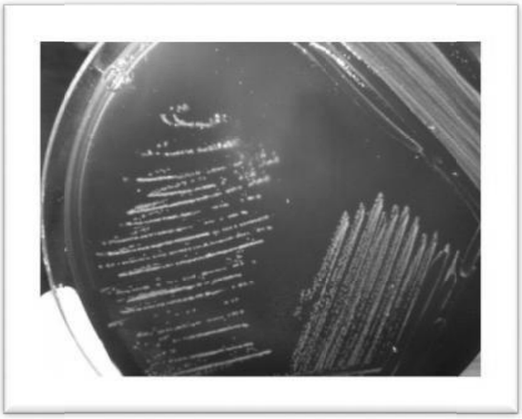
ب -اختبار الكاتليز : Catalase test

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 (12)

النتائج : Results

1- نتائج عزل جرثومة *L.monocytogenes* من الانسان :

بينت النتائج ان من المجموع الكلي للعينات التي جمعت من الانسان بلغت (97) عينة اعطت 9 عينات نتيجة موجبة وبنسبة(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 منتظمة ملساء وبشكل نقطي وكما موضح في الشكل رقم (1) . تم عزل الجرثومة من ثلاث عينات من مجموع (65) عينة جمعت من النساء المجهضات وبنسبة (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 (18.75%) و ان نسبة العزل للجرثومة من عينات سائل الحبل الشوكي من الأطفال هي اعلى من نسبة العزل من العينات المأخوذة من النساء التي تعاني من الاجهاض وكما موضح في الجدول (1) .



شكل (1): 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 من شهر كانون الثاني للعام 2014 وحتى نيسان 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 بمقدار (6.6%) وبمعدل حالة واحدة ، اما في شهر كانون الاول تم تشخيص حالة واحدة وبنسبة (5%) وفي شهر كانون الثاني شخصت اربع حالات اصابة وبنسبة (20%) اما في شهر شباط فقد كانت هناك حالتين وبنسبة (16.6%) وفي شهر اذار فقد كانت النسبة (6.6%) حيث شخصت حالة اصابة واحدة ، ولم يتم تشخيص اي حالة اصابة من مجموع العينات التي جمعت خلال شهر نيسان . ان اعلى نسبة تشخيص الاصابة بالجرثومة 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) .ان مجموع العينات الموجبة في الاغنام كانت (11) عينة توزعت بين عينة واحدة موجبة وبنسبة (3.7%) في شهر تشرين الثاني وفي شهر كانون الاول تم الحصول على عينتين اعطت نتيجة موجبة وبنسبة بلغت (6.25%) اما في شهر كانون الثاني بلغت نسبة) (10% وبمعدل 4 عينات موجبة اما في شهر شباط تم تشخيص عينتين موجبتين وبنسبة (4.5%) اما في شهر اذار كانت النسبة (5.4%) وبمعدل عينتين موجبتين ولم يتم تشخيص اي حالة اصابة بجرثومة اللستيريا من مجموع العينات التي جمعت من الاغنام خلال شهر نيسان وكانت اعلى نسبة لتشخيص الجرثومة في شهر كانون الثاني وكما موضح في جدول (5) .وكانت نسب تشخيص الاصابة بالجرثومةفي الابقار حسب اشهر الدراسة كانت عدد العينات الموجبة (5) عينات توزعت بين عينة واحدة موجبة في شهر كانون الاول وبنسبة (1.8%) اما شهر كانون الثاني و شهر شباط فكانت النسبة (4.2%) و (7.4%) على التوالي وبمعدل عينتين لكلا الشهريين مع عدم وجود اي فرق معنوي عند مستوى احتمال P< 0.05 ، اما في شهر تشرين الثاني و شهر اذارو شهر نيسان على التوالي لم يتم تسجيل نسبة اصابةواعلى 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 و اشهر الدراسة الاخرى عدا شهر كانون الثاني وكما موضح في الجدول (6) .

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

اشهر الدراسة والسنة	عدد العينات	العينات الموجبة	نسبة الاصابة %
تشرين الثاني 2014	15	1	a6.6
كانون الاول 2014	20	1	a 5
كانون الثاني 2015	20	4	b20
شهر شباط 2015	12	2	b 16.6
شهر اذار 2015	15	1	a6.6
شهر نيسان 2015	15	0	c 0
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 .

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 2014	27	1	ab3.7
كانون الاول 2014	32	2	a6.25
كانون الثاني 2015	40	4	a10
شهر شباط 2015	44	2	a4.5
شهر اذار 2015	37	2	a5.4
شهر نيسان 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 $P< 0.05$.

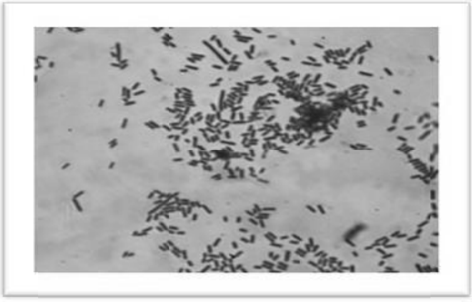
الجدول (6): نسب نتائج تشخيص الاصابة بجرثومة اللستيريا خلال اشهر الدراسة في الابقار .

اشهر الدراسة والسنة	عدد العينات	عدد العينات الموجبة	نسبة الاصابة %
تشرين الثاني 2014	30	0	a 0
كانون الاول 2014	53	1	ab 1.8
كانون الثاني 2014	47	2	b 4.2
شهر شباط 2015	27	2	b 7.4
شهر اذار 2015	25	0	a 0
شهر نيسان 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 $P< 0.05$.

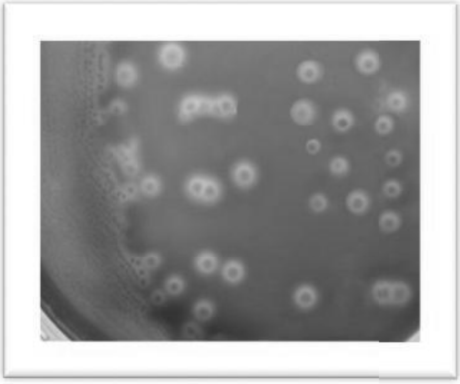
2 - نتائج التشخيص التاكيدي لعزلات جرثومة *L.monocytogenes* من الانسان والحيوان :

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 Y ويوضح لشكل (2) الفحص المجهري لجرثومة L. monocytogenes .

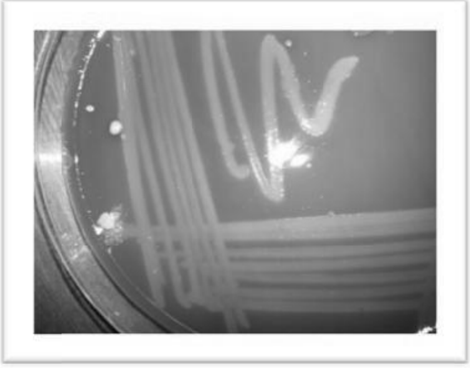


شكل (2): شكل جراثيم اللستيريا المعزولة بعد تصبيغها باستخدام صبغة الكرام وفحصها تحت المجهر الضوئي (10X) .

اظهرت جميع عزلات جرثومة L .monocytogenes (25) عزلة بعد زرعها على وسط Blood agar كما موضح في الشكل(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 الشكل (4)



شكل (3) نمو مستعمرات جرثومة
***L.monocytogenes* على Blood agar**



شكل (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 بهيأة 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 المجهر 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 H_2O_2 بتركيز3% على مستعمرات الجرثومة ، اما اختبار oxidase فان جميع عزلات الجرثومة سالبة للاختبار حيث لوحظ عدم حدوث اي تغير في لون الكاشف.

المناقشة:

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 الجرائم الموجبة وكذلك لاحتوائه على criflavine الذي يثبط نمو الجراثيم الموجبة و Cefotetan و Fosfomycin الذي يثبط نمو المكورات المسبحية والعنقودية والعائلة المعوية و Cyclohexamide والذي له دور مهم في تثبط بناء البروتين في الفطريات وان هذه المواد تساعد على تثبط نمو الانواع الاخرى من جنس اللستيريا. 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 لجرثومة *L.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 (13). 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 تنجذب النهايات بعضها الى البعض (14,11) .قد ظهرت نتائج الدراسة الحالية ان جرثومة *L.monocytogenes* لها القدرة على انتاج مناطق تحلل للدم من نوع β-haemolysis وكما موضح في الصورة رقم (4-4) 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 *L.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 (15) . 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 (1) . 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° (1) .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 للإجهاض في العراق وبالرغم من كون النسبة قد تكون قليلة نوعا ما الا ان هذه النسبة قد اتفقت مع تقارير منظمة الصحة العالمية (WHO) (16) وما جاء ذكره من قبل الباحث (17) 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 (18) .ان نسبة الاصابة بالجرثومة في بحثنا كانت اعلى بقليل من نتيجة الدراسة التي اجراها (19) حيث سجل نسبة اصابة بلغت 3.3 % وكذلك الدراسة التي اجرتها (20) 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 (21) 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 (22) على نساء مجهضات وبنسبة اصابة بلغت 8.3 % وايضا لم تتفق نتيجة الدراسة الحالية مع النتيجة التي توصل اليها (23) حيث توصل الى نسبة اصابة بالجرثومة في نساء مجهضات بلغت 24 % . قد يعزى سبب انتشار المرض في الانسان الى ضعف المناعة وخصوصا في النساء الحوامل والاطفال الصغار (24) ، 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 (25) ، 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 (26). تعد جرثومة *L.monocytogenes* هي من المسببات الشائعة لالتهاب السحايا عند الاطفال حديثي الولادة (27) . فقد اظهرت نتائج عزل وتشخيص الجرثومة من عينات سائل النخاع الشوكي للأطفال 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 (28) حيث كانت (7.69%) (13%) وكانت نتائج بحثنا الحالي اعلى بقليل من نتيجة الدراسة التي توصل اليها (29) 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 (10) . 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 (30) . وكذلك تعد جرثومة اللستيريا المستوحدة واحده من اهم المسببات المرضية المشتركة المهمة المنتقلة عن طريق السلسلة الغذائية الى الانسان (31) . 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 (10). تم عزل جرثومة *L.monocytogenes* من عينات الحليب للأغنام بنسبة بلغت (4%) وهذه النتيجة مقاربة الى اما توصل اليه (32) حيث سجلوا نسبة اصابة بلغت (4.9%) في حليب الاغنام بينما كانت اعلى من نسبة الاصابة التي سجلها (33) والتي بلغت (3.62%) ,في حين كانت نتيجة بحثنا اقل بكثير من نسبة الاصابة التي سجلها (34) والبالغة (13%) . سجلت نتائج بحثنا نسبة اصابة بلغت (2%) وتعد هذه النسبة اعلى بقليل من نتيجة الدراسة التي اجراها (35) على حليب الابقار في الدنمارك وبنسبة اصابة بلغت (1.2%) , الا ان نتائج بحثنا كانت اقل بكثير من نتائج الدراسة التي اجراها كل من (36) و التي كانت (6.67%) ، بينما لم يسجل (37) اي نسبة عزل للجرثومة من حليب الابقار . وهذه النسبة 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 *L.monocytogenes* من عينات المرارة في الاغنام والابقار مكم مبين في الجداول

(2) و (3) ,وهذه النتائج اعلى من نسب الاصابة التي سجلها (38) في محافظة النجف والتي بلغت (2%)و(0.7%) في الاغنام والابقار على التوالي بينما كانت نتائج الدراسة الحالية اقل من النتيجة التي توصل اليها (39) 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 (2).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 (40) . 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 . بالإضافة الى وجود الجين prfA والذي هو عبارة عن واحد من جينات التي تعمل ضد املاح الصفراء bile tolerance gene (41) . 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 اظهرت هذه النسب فرقا معنويا مقارنة ببقية نسب الاصابة خلال الاشهر الاخرى من الدراسة ، وفي الاغنام كانت نسب الاصابة خلال الاشهر الباردة والمعتدلة عالية مقارنة بالأشهر 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 (42) 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 -8) (1 م° وهذا ما اكده الباحثين (43) 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 (39) 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 بالأغنام (44) . 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 (41)ونستنتج مما تقدم ان الحليب والمرارة في الاغنام والابقار تعتبر من مصادر مهمة للإصابة بجرثومة *L.monocytogenes* وانتقالها الى الانسان في محافظة القادسية .

المصادر

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 interscinceComp.,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-**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.

7-**Content, J.** (2005). An Introdaction to Listeria and Listeriosis . Pdf.

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

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

10-**Dongyou Liu** (2008`). Identification ,subtyping and virulence dtermination of listeria monocytogenes , animportant Foodbornepathogene Microbiol.,55:645.

11-**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 USA. pp. 664-668, 1330.

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

13-**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.

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

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

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

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

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

19-**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.

20-الجليلي ، اسلام مؤيد جلال الدين (2002) . دراسة مناعية ، بكتريولوجية ، وبائية عن حالات العقم عند النساء في محافظة نينوى . اطروحة دكتوراه ، جامعة الموصل.

21-**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 .

22-**Abd-Elhaffiz,** A .S.(2010) . Comparison ofpolymerase 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 .

23-**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

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

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

26-**Wilkinson**, P.J.(2006) .Listeriosis in Oxford Textbook of Medicine.Bailliere,

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

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

29-**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-

30-**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 .

31-**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.

32-**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.

33-**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.*

34-**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.

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

36-**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.

37-**Abay,** S.; Aydin , F.; and Sumerkan, A.B.(2012). Molecular typing of Listeria spp. isolated from different sources*. 1Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ankara Üniv Vet Fak Derg, 59, 183-190 .

38-**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.

39-**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

40-**Merritt,** R.W., Walker, E. D., Small, P. L., Wallace, J. R., Johnson, P. D.,Benbow, M.

43-**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,

44-**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.

E. and Boakye, D. A. (2010). Ecology and transmission of Buruli ulcer disease: A systematic review. PLoS Negl. Trop. Dis., 4: 911-911.

41-**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.

42-**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.

Isolation and Identification of *Listeria .monocytogenes* From Human and Animal in Al- Qadissiya Province

Receved :25/7/2015 **Accepted :5/10/2015**

Hussien Omran Al-Abbidee and Huda Abd Al-hadei alnassrawei

College of Veterinary Medicine/ Al-Qadissiya University

Hussienoran943@yahoo.com

Abstract

The aim of this research is to detect about the infection in *Listeria.monocytogenes* germ in human and animals in Al-Qadissiya province , oxford listeria selective agar used for isolating *L.monocytogenes* germ , so the special stimulator for growth of the germ was added to it in order to determine the type of bacteria , also it diagnosed an isolates for *L.monocytogenes* germ by using the microscopical examination and biochemical tests , furthermore the germ isolates was planted on blood agar for diagnosing the blood analysis type: *B-heamolysis* as affirmative checking for the isolates .This study was carried out during the period from November 2014 to April 2015, whereas samples were collected from women that suffered of abortion and infected children in the maternal and children hospital in Al-Qadissiya province , so the samples were collected under supervising of a specialist medicine , the number of taken samples of the women is 65 samples , while the number of taken samples of children is 32 samples , so the samples that belong to animals have included a gall bladder samples were collected from Al-Diwaniya slaughterhouse were 100 samples of sheep and 100 samples of cows.in addition to collect 200 samples of milk as 100 samples for each sheep and cows from different rural zones in al- Qadissiya province. The results of the research showed 9 isolates for *L.monocytogenes* germ have been isolated from human samples in percentage 9.27% of total amount of the human samples , whereas the isolation percentage in women infected in abortion is 4.61%, while the percentage of listeria germ isolation was higher in the children that infected in meningitis whereas it was 18.75%.As for the percentage of the isolating in sheep it was 4% and 7% for milk and gall bladder respectively. in cows the isolation percentage of the germ from milk and gall bladder was 2% and 3% respectively . So the the results of isolating and diagnosing listeria germ during the study period in human and animals were disparate , whereas the highest percentage of isolation were scored in the cold months of the year. We can conclude of the research results is that the percentage of infection in *L.monocytogenes* germ was high in human in al-Qadissiya province , in which refer to the risks of the diseases and health problems spread that could be caused by *L.monocytogenes* germ , also the results included isolating the germ from milk and gall bladder samples for sheep and cows that could be a source to carry the infection to the human by contaminating the meat, milk and its derivatives'.

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

***The research is a part of on .M.Sc. in the case of the First researcher**