دراسة تشخيصية لجراثيم *Listeria monocytogenes* المعزولة من دماغ ولحوم الأغنام في مدينة الموصل

سمية ياسين عبدالله الدباغ

فرع الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(الاستلام ٧ أيار ٢٠١٨؛ القبول ٢٦ حزيران ٢٠١٩)

الخلاصة

تضمنت الدراسة جمع ١٥٠ عينة من دماغ ولحوم الأغنام المذبوحة في المجزرة ومحلات القصابة المحلية في مدينة الموصل، وبواقع ٥٠ عينة لكل من (دماغ، لحم مقطع، لحم مفروم) وذلك لغرض التحري عن جراثيم *Listeria monocytogenes*. تم العزل بالاعتماد على طريقة ISO والتي تتضمن مرحلة الإغناء الأولي والثانوي لجراثيم اللستريا وتثبيط الأنواع الأخرى من الجراثيم، وشخصت الجراثيم المعزولة بالاعتماد على الصفات الشكلية والزرعية والكيموحيوية. تم الحصول على عشر عزلات تضمنت عزلتان ٢ (٤%) من دماغ الأغنام و ٣ (٦%) من اللحم المقطع و ٥ (١٠%) من اللحم المفروم. كما وأجريت اختبارات فحص الضراوة للعزلات الجرثومية والتي تضمنت كل من اختبار اللسثنيز واللايبيز والبروتييز والاستريز والحال الدموي. بالإضافة الى ذلك فقد اجري اختبار فحص الحساسية للعزلات الجرثومية لبعض المضادات الحيوية وأظهرت النتائج حساسية جميع العزلات للمضاد الحيوي، امبيسيلين، جنتامايسين وكلورومفينكول فيما أبدت مقاومة مطلقة للمضاد الحيوي حامض الناليديكسيك وتباينت في حساسيتها للمضادات الحيوية الأخرى. وخلصت الدراسة الى إمكانية عزل جراثيم *L. monocytogenes* من دماغ ولحوم الأغنام في مدينة الموصل.

Diagnostic study for *Listeria monocytogenes* isolated from brain and meat of sheep in Mosul city

S.Y. Al-Dabbagh

Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq
sumayaaldabbagh2018@gmail.com

Abstract

This study included collect of 150 samples from brain and meat of sheep from the slaughterhouse and local butchers shop in Mosul city. 50 sample from each (brain, cutting meat, and minced meat) which used for detection of listeria monocytogenes. The International Standard Organization (ISO) methods were used for isolation. The isolated bacteria were diagnosed according to bacterial morphology, culture, and biochemical characteristics. 10 isolates were obtained, which included 2(4%) isolates from the brain of sheep, 3 (6%) isolates from cut meat and 5(10%) from minced meat. Virulence factors tests were used for bacterial isolates which include, lecithinase, lipase, protease, esterase, and hemolysin. Antibiotic sensitivity test for bacterial isolates was also used for some antibiotics. The results indicated that all isolates were sensitive to Ampicillin, Gentamycin, Chloramphenicol, and resistant to Nalidixic acid. However, they showed variant sensitivity to other antibiotics. In conclusion, this study documented that L monocytogenes can be isolated from brain and meat of sheep in Mosul city.

Keywords: Meat, Isolation, Brain, *Listeria monocytogenes*
Available online at http://www.vetmedmosul.com

المقدمة

تعد جراثيم اللستريا من الجراثيم الواسعة الانتشار بالطبيعة وهي ممرضات داخل خلوية، وهي جراثيم عصوية الى كروية، متعددة الأشكال تظهر على شكل حرف Y أو V، لا تكون محفظة وغير مكونة للسبورات، متحركة وتزداد حركتها في الأوساط السائلة، لاهوائية اختيارية ويمكنها النمو في درجة حرارة تتراوح ما بين٤- ٤٥°م وتتحمل درجة حموضة pH ما بين ٥,٥ – ٩,٦ (١-٣).

تلعب المجترات وخصوصا الأغنام والأبقار دورا مهما في المحافظة على بقاء الجرثومة في الطبيعة، عن طريق التربة والعلف الملوث وخاصة السايلج ذي النوعية الرديئة إذ يمكن لهذه الجراثيم التكاثر في هذا النوع من العلف ولاسيما عندما يكون الـ pH اعلى من ٥,٥ (٢-٤).

ويلعب البروتين السطحي دورا مهما في عملية التصاق الجرثومة على الخلايا غير الالتهامية مثل الخلايا الطلائية ويسهل من عملية اختراقها لهذه الخلايا (٦،٥،٢). ويمكن لهذه الجراثيم أن تنتشر عن طريق الدم واللمف الى مختلف الأنسجة، إضافة الى حركة الجرثومة مما يسهل من وصولها الى الأنسجة الرخوة كالدماغ والرحم (٣). بالإضافة الى امتلاكها العديد من عوامل الضراوة كالحال الدموي اللستيري Listeriolysin O، إنزيم الفوسفولايبيز واللستنيز (٧،٥).

تحدث الإصابة بجراثيم *Listeria monocytogenes* بعد تناول الحيوانات للعلف الملوث وتظهر على شكل انتان دموي وخاصة في صغار الحيوانات، التهاب الدماغ والسحايا إضافة الى الإجهاض (٨). ويعد مرض اللستريوسسز Listeriosis أو ما يسمى بمرض الدوران أحد اهم الأمراض التي تصيب الأغنام، إذ يكون على شكل التهاب بالدماغ والذي يبدأ بتشنج الرقبة وانحناء الراس الى احد الجوانب ودوران الحيوان ويفضل الاتكاء على الجدران، ويعقبه شلل أحادي جانبي للوجه بالإضافة الى شلل الفم والبلعوم واحدى الأذان وبروز اللسان وسيلان اللعاب وصعوبة البلع (٩،٨).

ويمكن أن تنتقل الإصابة الى الإنسان وخاصة المزارعين والأطباء البيطريين والقصابين، نتيجة التماس المباشر مع المواد الملوثة من الحيوانات المصابة أو الحاملة للجرثومة والتي تطرحها الى الخارج عن طريق البراز (١٠). وان استهلاك الأغذية الملوثة بهذه الجراثيم كاللحوم غير المطهية بصورة جيدة والحليب الطازج والخضراوات قد يؤدي الى إصابة الإنسان والتي تظهر على شكل التهاب السحايا والمخ وإجهاض النساء الحوامل، بالإضافة الى الأعراض العامة من صداع والم في العضلات وتصلب الرقبة (١٠،٤).

ولما لهذا المرض من تأثير كبير على الناحية الصحية للإنسان والحيوان وما يصاحبه من خسائر اقتصادية، لذا كان الهدف من هذه الدراسة هو عزل وتشخيص جراثيم *L. monocytogenes* من دماغ ولحوم الأغنام في مدينة الموصل وتحديد بعض عوامل الفوعة للعزلات إضافة الى دراسة حساسيتها لبعض المضادات الحيوية.

المواد وطرق العمل

تم جمع ١٥٠ عينة من دماغ ولحوم الأغنام المذبوحة حديثا في المجزرة ومحلات القصابة من مناطق مختلفة في مدينة الموصل، بواقع ٥٠ عينة لكل من (دماغ، لحم الغنم المقطع، اللحم المفروم). نقلت العينات بأوعية زجاجية معقمة وتحت ظروف التبريد الى مختبر الأحياء المجهرية في كلية الطب البيطري، جامعة الموصل وذلك لغرض إجراء الفحوصات المختبرية عليها.

لغرض الزرع والعزل الجرثومي تم استخدام الأوساط الزرعية الخاصة بجراثيم اللستريا والمجهزة من شركة Hi Media الهندية وبالاعتماد على طريقة International Standard Organization (ISO) والتي تتضمن مرحلة الإغناء الأولي والثانوي لجراثيم اللستريا وتثبيط الأنواع الأخرى من الجراثيم (١٢،١١). حيث تم اخذ ٢٥ غم من كل عينة بصورة معقمة ومزجها مع ٢٢٥ مل من وسط مرق صويا ومستخلص الخميرة trypton soya yeast extract broth (TSYEB) بواسطة جهاز stomacher لمدة دقيقتان. وضعت العينة الممزوجة بقناني معقمة بدرجة ٣٠ °م لمدة ٤٨ ساعة تم نقل ١مل من المزيج وإضافته الى ٩مل من وسط TSYEB وحضنت بدرجة ٣٥ °م لمدة ٢٤ ساعة. بعدها تم أخذ نقلة جرثومية بواسطة عروة الزرع من الأنابيب التي ظهر فيها النمو الجرثومي واستنبتت على كل من وسط أكار الصويا ومستخلص الخميرة TSYEA ووسط أكار الدم المضاف له nalidixic acid ٤٠ ملغم/لتر وتيلورات البوتاسيوم ٠,١%، حضنت الأطباق بدرجة ٣٧ °م لمدة ٢٤ ساعة (١١-١٣). أما باقي العينة الممزوجة فتركت بالثلاجة بدرجة حرارة ٤ °م وذلك لزيادة عدد جراثيم اللستريا التي تمتاز بنموها بهذه الدرجة الحرارية عن باقي الجراثيم الملوثة الأخرى، ومن ثم يعاد استنباتها على الأوساط الخاصة بجراثيم اللستريا أسبوعيا (١١،٩،٢).

لغرض دراسة الشكل والترتيب والتفاعل الصباغي تم إجراء الفحوصات المجهرية على العزلات والتي تضمنت صبغة كرام، صبغة المحفظة، كما تم إجراء فحص الحركة للجراثيم المعزولة بعد إعادة استنباتها على الوسط السائل TSYEB بدرجة حرارة ٢٥ و ٣٧ °م ولمدة اربع ساعات (٨،٢،١).

أجريت الفحوصات الكيموحيوية على العزلات الجرثومية والتي تضمنت فحص الكتاليز، فحص الاوكسديز، اختبار الاندول، اختبار فوكس بروس كاور VP، اختبار كبريتيد الهيدروجين H_2S واختبار اليوريز، إضافة الى اختبار تخمر السكريات والتي شملت سكر الكلوكوز، الزايلوز، الرامينوز والمانيتول (١٥،١٤،١١).

كما تم الكشف عن بعض عوامل الضراوة للجراثيم المعزولة وذلك بإجراء اختبار اللسثنيز، الاستريز، بروتييز إضافة الى الحال الدموي. اجري فحص كامب Christine-Atkins-Munch-Petersen (CAMP) لجراثيم اللستريا مع جراثيم المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* (١٦-١٨).

أجري اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية حسب ما جاء في نشرة منظمة الصحة العالمية وبطريقة الانتشار بالأقراص المحورة (١٩). تم استخدام ثمان مضادات حيوية مجهزة من شركة bioanalyse بتراكيز قياسية ampicillin AM (10µg)، gentamycin (CN 10µg)، ciprofloxacin (CIP 5µg)، chloramphenicol (Ch 30µg)، tetracycline (TE 30µg)، (COT cotrimethazol 25µg)، penicillin (P 10µg) و nalidixic acid (30µg)، وذلك من اجل تحديد فعالية هذه المضادات في القضاء على الجراثيم المعزولة.

النتائج

من خلال الفحص الجرثومي لـــ ١٥٠ عينة من دماغ ولحوم الأغنام المذبوحة في مدينة الموصل، تم الحصول على ١٠ عزلات من جراثيم *L. monocytogenes* وبنسبة ٤، ٦، ١٠ % لكل من عينات الدماغ، اللحم المقطع واللحم المفروم على التوالي، وبلغت نسبة العزل ٦,٧% من المجموع الكلي للعينات، وكما مبين في الجدول ١. بينت الاختبارات الكيموحيوية والتشخيصية لعزلات جراثيم *L. monocytogenes* نتائج موجبة وسالبة لهذه الاختبارات وكما مبين في جدول ٢. وتبين من خلال إجراء فحص الضراوة لعزلات جراثيم *L. monocytogenes* امتلاكها للعديد من عوامل الضراوة وكما مبين في الجدول ٣.

جدول ١: أعداد ونسب جراثيم Listeria monocytogenes المعزولة من دماغ ولحوم الأغنام

نوع العينة	عدد العينات	عدد العزلات	النسبة المئوية
دماغ	٥٠	٢	٤
لحم مقطع	٥٠	٣	٦
لحم مفروم	٥٠	٥	١٠
الكلي	١٥٠	١٠	٦,٧

وأظهرت نتائج فحص الحساسية للمضادات الحيوية حساسية جراثيم *L. monocytogenes* للمضادات الحيوية الامبسيلين والجنتامايسين والكلورومفنيكول ومقاومتها للمضاد الحيوي nalidixic acid، في حين تباينت في حساسيتها ومقاومتها للمضادات الأخرى وكما مبين في الجدول ٤.

جدول ٢: الاختبارات الكيموحيوية والتشخيصية لجراثيم *Listeria monocytogenes* المعزولة من دماغ ولحوم الأغنام

الاختبار	النتيجة
صبغة كرام	+
صبغة المحفظة	-
الكتاليز	+
الاوكسديز	-
فحص كبريتيد الهيدروجين	-
اختبار الاندول	-
المثيل الاحمر	+
فوكس بروسكاور(VP)	+
اليوريز	-
فحص الحركة بدرجة ٢٥ °م	+
فحص الحركة بدرجة ٣٧ °م	-
فحص كامب (CAMP)	+
اختبار تخمر السكريات	
Glucose	+
L- Rhammnose	+
D – Xylose	-
D - Mannitol	-

جدول ٣: اختبارات فحص الضراوة لجراثيم Listeria monocytogenes المعزولة من دماغ ولحوم الأغنام

الاختبار	عدد العزلات المفحوصة	الموجبة	النسبة المئوية
اختبار اللسثنيز	١٠	١٠	١٠٠
اختبار اللايبيز	١٠	١٠	١٠٠
اختبار البروتييز	١٠	٧	٧٠
اختبار الاستريز	١٠	٦	٦٠
الحال الدموي	١٠	١٠	١٠٠

المناقشة

أشارت هذه الدراسة الى الحصول على ١٠ عزلات لجراثيم *L. monocytogenes* لـ ١٥٠ عينة مأخوذة من دماغ ولحوم الأغنام. جاءت هذه النتيجة مطابقة لما سجله Azubaiby *et al.* (١٢) في أربيل اذ حصل على نسبة عزل ٤% من لحوم الأغنام، ومقاربة لما سجله Hamzah *et al.* (٢٠) أيضا في العراق إذ حصل على نسبة عزل ١,٢% لجراثيم *L. monocytogenes* من لحوم الأغنام، وسجل عروانة وفؤاد (٤) نسبة عزل ٨% من دماغ الأغنام و ٤% لكل من عينات اللحم المفروم واللحم المقطع

في سوريا، وقد يعزى السبب الى الموقع الجغرافي والتماثل البيئي وتشابه ظروف التربة والرعي بين البلدين.

جدول ٤: اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية لجراثيم *Listeria monocytogenes* المعزولة من دماغ ولحوم الأغنام

المضاد الحيوي	عدد العزلات	حساسة	متوسطة	مقاومة
Ampicillin	١٠	١٠	-	-
Gentamycin	١٠	١٠	-	-
Chloramphenicol	١٠	١٠	-	-
Tetracycline	١٠	٨	٢	-
Cotrimethazol	١٠	٧	٣	-
Ciprofloxacin	١٠	٦	٤	-
Nalidixic acid	١٠	-	-	١٠
Penicillin	١٠	٧	٣	-

بينما سجل (٢١) نسبة ١٦% من اللحم المفروم كما حصل (٢٢) نسبة ١٧,٩% في لحوم الأغنام، وسجل (١١) نسبة ٣٢,٤% من منتجات اللحوم، وهذا يعود الى الاختلاف في طرق المعاملة مع الذبائح واللحوم ومنتجاتها من دولة لأخرى. شكلت اللحوم المفرومة النسبة الأعلى ١٠% في هذه الدراسة ويعزى السبب الى تلوث أيدي وملابس العاملين إضافة الى الأدوات الملوثة في عملية الذبح والتقطيع والفرم (٢٣،٤). إن تواجد جراثيم *L. monocytogenes* في لحوم الأغنام في دماغ الأغنام يشير الى وجود إصابة بمرض الدوران وهو من الأمراض الجهازية الخطيرة التي تصيب الدماغ وتؤدي الى الشلل الأحادي لوجه للحيوان وأحيانا العمى وتصل الى الموت في غضون أيام في حين لم تتم معالجته بسرعة (٢٤،٨،٥).

ويمكن للحيوانات أن تحمل هذه الجراثيم وبدون ظهور أعراض عليها وتطرح الى الخارج مع الفضلات، وبالتالي تؤدي الى تلوث الأغذية غير المعرضة للحرارة بشكل جيد كاللحوم ومنتجاتها والحليب (٢٥)، ويمكن أن تتلوث اللحوم أيضا عن طريق تعامل الجزارين مع الذبيحة ونزع أحشائها وذلك لعدم اتباع الطرق الصحية الصحيحة في التعامل مع اللحوم (٢٦)، وبالتالي فإن تناول الإنسان للحوم الملوثة يؤدي الى إصابات خطيرة وخاصة لدى الأشخاص ضعيفي المناعة كالنساء والحوامل والأطفال (٩،٥).

أظهرت نتائج فحص الحركة لعزلات جراثيم اللستيريا وجود حركة تقلبية للجراثيم عند درجة ٢٥ °م، وذلك نتيجة عدم توزع الأسواط بشكل متجانس حول الجرثومة، أما عند حضن الجراثيم بدرجة حرارة ٣٧°م لوحظ أنها غير متحركة، ويعزى ذلك الى ضعف قابليتها على إنتاج الأسواط بسبب تثبيط الجينات المسؤولة عن تكوين الأسواط لاسيما الجين MogR والذي يؤثر على دور flaA gene وبقية الجينات المسؤولة عن الحركة، عن طريق الارتباط مع هذا الجين وتقليل التعبير الجيني له، حيث أن ارتفاع درجات الحرارة يؤدي الى توقف عمليات استنساخ هذه الجينات (٢٧).

أعطت جميع العزلات نتائج موجبة لكل من أنزيمي اللستنيز واللايبيز وبنسبة ١٠٠%، واللذان يعدان من عوامل الضراوة المهمة لهذه الجراثيم ولهما دور خاص في الية إحداث الإصابة (٥)، حيث اتفقت هذه النتائج مع الطائي والراوي (٧). بلغت نسبة العزلات المنتجة لكل من إنزيمي اللستريز والبروتييز (٦٠ و٧٠) % للإنزيمين على التوالي، وهذا يتفق أيضا مع ما توصل اليه في دراسات اخرى (١٢،٧)، بالإضافة الى هذا فقد كانت جميع العزلات محللة للدم وذلك لامتلاكها ذيفان listeriolysin O الذي يستخدم بوصفه مستضدا في الكشف عن هذه الجراثيم وذلك لدوره المهم في الغزو والانتشار داخل الخلية، اذا انه يعمل على تحليل اغشيه كريات الدم الحمر للإنسان والحيوان كما يعمل على إحداث ثقوب في غشاء الخلايا البلعمية، كما انه ينتج من هذا النوع فقط من جراثيم اللستريا (٢٦،٧،٥).

اتفقت نتائج هذه الدراسة على حساسية جميع عزلات جراثيم *L. monocytogenes* للمضادات الحيوية الامبيسلين والجنتامايسين والكلورومفنيكول وبنسبة ١٠٠% مع العديد من الدراسات المحلية والعالمية (٧، ٢٨-٣٠)، واتفقت أيضا مع كل من Hyeminoh *et al.* و Dhanashree *et al.* و Charpentier and Courvalin (٣٢،٣١،١٠) في مقاومة جراثيم *L. monocytogenes* للمضاد الحيوي nalidixic acid، إذ انه من المضادات الحيوية التي تضاف الى بعض الأوساط الزرعية الانتقائية وذلك لغرض عزل الجراثيم المقاومة له، إذ انه يعمل على تثبيط نمو الجراثيم لكونه يؤثر على تخليق الحامض النووي DNA (٣٣،٩)، ويمكن ان يعزى سبب ظهور المقاومة للمضادات الحيوية الى قابلية اكتساب الجراثيم للعوامل الوراثية المتحركة مثل البلازميدات المتحركة واقتران الجينات القافزة conjugative transposons (٣٢). في حين تفاوتت العزلات في حساسيتها للمضادات الحيوية الأخرى، ولهذا يعد الامبسلين والجنتامايسين معا الاختبار الأول في علاج حالات التهاب السحايا والدماغ (٢٤،٢٣).

شكر وتقدير

تم دعم البحث من قبل كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.

المصادر

1. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Color atlas and text book of diagnostic microbiology. 5th ed. USA: Lippincott-Raven publisher; 1997. 664-668,1330 p. http://www.scirp.org/ ReferenceID=1787397
2. Hirsh DC, Maclachlan MJ, Walker RL. Veterinary microbiology. 2nd ed. Black Well publishing. 2004. 185-189 p. https://www.barnesandnoble.com/w/veterinary-microbiology2nd-dwight-c-hirsh/1101202908

3. Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Fitzpatrick ES, Fanning F, Hartigan PJ. Veterinary microbiology and microbial disease. 2nd ed. New York: Wiey BlackWell publishing; 2011. 725-848 p. https://www.wiley.com/en- ISNB- -9781405158237

٤. عروانه، عبدالعزيز، فؤاد، قاسم.الكشف عن جراثيم اللستريا في لحوم الاغنام والابقار والجمال، المؤتمرالعالمي الاول لسلامة الغذاء٢٣-٢٥نيسان. ٢٠٠٧؛جامعة البعث، حماه، سوريا.

5. Songer JG, Post KW. Veterinary microbiology bacterial and fungal agents of animal diseases. USA: Elsevier Saunders; 2005. 8794 p. ISBN-10: 0721687172

6. Dramsi S, Biswas I, Maguin E, Braun L, Mastroen P, Cossart P. Entry of *Listeria monocytogenes* into hepatocytes requires the expression of InlB, a surface protein of the internal in multigene family. Mol Micro. 1995;16:251-261. DOI: 10.1111/j.1365-2958.1995.tb02297.x

٧. الطائي، ميادة احمد، الراوي، أميرة محمود. دراسة بعض جوانب إمراضية جراثيم *Listeria monocytogenes* وتنميطها حيويا وحساسيتها للمضادات الحيوية. مجلة علوم الرافدين. ٢٠٠٦؛ ١٧(١٠):١١٥-١٢٦.
https://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&aId=43730

8. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Veterinary microbiology and microbial disease.2nd ed. USA: Black Well publishing company; 2002. 72-75 p. www.wiley.com

٩. حداد، جاسب جاسم. علم الأحياء المجهرية البيطرية. الجزء الأول، أساسيات علم الجراثيم. الموصل: دار الكتب للطباعة والنشر،١٩٩١. ٢١١-٢١٧ ص. DDC:636,089601 242

10. Hyeminoh KIM, Soomin LEE, Heeyoung LEE, Yukyung CHO, Kyoung - HEE, Yonan Y. Prevalence and genetic characteristics of meat borne listeria monocytogenes isolates from livestock farms in Korea. Korean J food Sci anim Res. 2016;36(6):779-786. DOI: 10.5851/kosfa.2016.36.6.779

11. Hosseini AH, Sharifan A, Tabatabaes A. Isolation of Listeria monocytogenes from meat and dairy products. J Med Micro Infec Dis. 2014;2(4):159-162. http://jommid.pasteur.ac.ir.

12. Azubaiby ZM, Kakey SI, Ali JF. Isolation and identification of listeria monocytogenes by PCR from some food sources in Erbil city. Euph J Agri Sci. 2013;5(3):14-26. https://www.iasj.net/iasj?func=article&aId=79188

13. Becker B, Schuler S, Lohneis M, Sabrowski A, Curtis GD, Holzapfel WH. Comparison of two chromogenic media for detection of *Listeria monocytogenes* with the plating media recommended by EN/ DIN 11290-int. J Food Micro. 2006;109(1):127-131 DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.01.030.

14. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Diagnostic microbiology.12th ed. St Louis: Elsevier Mosby; 2007. 256,295 p. http://www.scirp.org?ReferenceID=1418907

15. Navak DN, Savalia CV, Kalyani IH, Rajeer K, Kshirsage R. Isolation, identification, and characterization of listeria spp. from various animal origin foods. Vet World. 2015;8(6):695-701. DOI: 10.14202/vetworld.2015.695-701

16. Cruckshank R, Dnguid TP. Marmion BP, Swain RHA. Medical microbiology. 12th ed. England: Churchill, Livingstone; 1975. 587 p. http://www.scirp.org/ ReferenceID=573231

17. Collee JG, Franser AG, Marmion BP, Simmons A. Mackie and maccartney practical medical microbiology. 4th ed. London: Churchill, Livingstone; 1996.245-258 p. https://www.worldcat.org oclc/35714221

18. Seeliger HPR, Jones D. Listeria. In: Holt JG. Bergey's manual of systematic bacteriology. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1987. 1235-1245. https://seafood.oregonstate.edu/sites/agscid7/files/snic/compendium/chapter-15

19. Vandepitte J, Enghak K, Piol P, Heuch CC. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. Austeria: World health organization genera; 1991. 37-42 p. ISBN 92 4 154425 2 (NLM Classification: QY 100)

20. Hamzah AM, Abbas MS, Ahmed WA. The isolation and identification of the important pathogenic bacteria from fresh meat. Iraqi J Vet Med. 2010;34:1-8. https://www.iasj.net/iasj? 2459

21. ChoYC, Cho SY, Park BK, Chung Oh DH. Incidence and characterization of *listeria* spp from food available in Korea. J food prod. 2001;64(4):554-558. DOI: 10.4315/0362-028x-64.4.554

22. AL- Mashhadany DA, BA-Salamah HA, Shatter A, AL Sanabani S, Abd AL Galil FM. Prevalence of Listeria monocytogenes in red meat in Dhamor Governorate / Yemen. Inter J Med Health Res. 2016;2(12):73-78. http://www.medicalsciencejournal.com276/2-12-25-167 .

23. Abd El-Malek AM, Ali SFH, Hassanein RM, Ahamed MA, Elsayh KI. Occurrence of *Listeria* species in meat, chicken products and human stools in Assiut city, Egypt with PCR use for rapid identification of Listeria monocytogenes.Vet World. 2010;3(8):353-359 DOI: 10.5455/vetworld.2010.353-359

24. Gebretsadika S, Kassab T, Alemayehub H, Huruya K, Kebedeb N. Isolation and characterization of *Listeria* and other *Listeria* species in foods of animal origin in Addis Ababa. Ethiopia J Inf Pup Health. 2011;4: 22-29. doi: 10.1016/j.jiph

25. Molla B, Yilma R, Alemayehu D. *Listeria monocytogenes* and other Listeria species in retail meat and milk products in Addis Ababa, Ethiopia. Ethiopia J Health Dev. 2004;18:131-212. http://dx.doi.org/10.4314/ejhd.v18i3.9962

26. Dowson SJ. *Listeria* outbreak associated with sandwich consumption from a hospital retail shop, united kingdom. Euro Sur. 2006:11,89. DOI:10.2807/esm.11.06.00632-en

٢٧. مطلك، خميس حبيب، جعفر، محمد موسى، عباس، عبدالخالق، فوزي، عمار. استخدام طريقة حديثة في الكشف عن بكتريا التسمم الغذائي *Listeria monocytogenes*. مجلة جامعة النهرين. ٢٠١٣؛ ١٦(٤): ٤٣-٤٦.
https://www.iasj.net/iasj?func=article&aId=85038

٢٨. العابدي، حسين عمران كريم، النصراوي، هدى عبدالهادي، علي. عزل وتشخيص جرثومة اللستريا المستوحدة *Listeria monocytogenes* من الإنسان والحيوان في محافظة القادسية. مجلة القادسية للعلوم الصرفة. ٢٠١٦؛٢١(٢).
https://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&aId=122425

29. Abass BA, Jaber GM. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in raw milk of ruminants in Basrah province. Iraqi J Vet Sci. 2012;26(1):47-51. DOI: 10.33899/ijvs.2012.46959

30. Gomez D, Azon E, Marco N, Carraminana J, Rota C, Arino A, Yanguela J. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* innocua from meat products and meat-processing environment. Food Micro. 2014; 42:61-65.DOI: 10.1016/j.fm.2014.02.017.

31. Dhanashree B, Otta SK, Karunasgar I. Goebel W. Incidence of *Listeria* spp. in clinical and food samples in Mangalore. India Food Micro. 2003;20:447-453.DOI:10.1016/S0740-0020(02)00140-5

32. Charpentier E, Courvalin P. Antibiotic resistance in *Listeria* spp. Anti Agents Chemo. 1999;43:2103-2018. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC89430/

33. Giguère S, Prescott JF, Baggot JD, Walker RD. Antimicrobial therapy in veterinary medicine. 4th ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa;2006. 21-41p. ISBN 0-8138- 0656-9. https://www.wiley.com/en-us/Antimicrobial

34. Morobe IC, Obi CL, Nyila MA, Gashe BA, Matsheka MI. Prevalence, antimicrobial resistance profiles of *Listeria monocytogence* from various foods in Gaborone, Botswana. African J Bio. 2009;8:6383-6387. https://doi.org/10.5897/AJB2009.000-9486