عزل وتوصيف جرثومة *Listeria monocytogenes* من حالات اجهاض في النساء مع دراسة تأثيرها المرضي

ماجدة سعيد عبدالله غازي موسى الخطيب محمد جويد علوان
كلية الطب البيطري/جامعة بغداد

الخلاصة

استهدف هذا البحث عزل وتشخيص جرثومة ***L.monocytogenes*** من حالات اجهاض للنساء الحوامل في مدينة بغداد. ولتحقيق هذا الهدف تم جمع نماذج من 150 حالة اجهاض وبمختلف المدد الزمنية للحمل من موقعين مختلفين هما المستشفى التعليمي للولادة والأطفال في الحبيبية ومستشفى اليرموك التعليمي، وقد جمعت النماذج من نساء تراوحت اعمارهن بين 16 - 45 سنة . تم عزل جرثومة ***L.monocytogenes*** من ثلاث حالات اجهاض، اثنان منها في المستشفى التعليمي في الحبيبية وواحدة في مستشفى اليرموك التعليمي وكانت المدد الزمنية للحمل فيها 22 و 24 و 28 أسبوع. وقد اجري العزل الجرثومي باستخدام اوساط زرعية روتينية وخاصة وباتباع طريقتين للأغناء مع تثبيت الصفات البايولوجية والكيموحيوية للعزلات الجرثومية. كما وتم اجراء فحص الضراوة للعزلات الجرثومية باستخدام الفئران البيضاء السويسرية، حيث تراوحت التغيرات المرضية النسيجية فيها بين الألتهاب القيحي وتكون الأورام الحبيبية في الأعضاء الداخلية.

Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from aborted women with studing of its pathogenic effect.

M.S. Abdalla **G.M. AL-Khatib** **M.J. Alwan**

Summary

The isolation and identification of the bacterium ***L.monocytogenes*** among abortion in pregnant women were investigated in this research. One hundred and fifty samples including placental tissue and maternal blood were randomly collected from cases of abortion from AL-Habibia Teaching Hospital and AL-Yarmuk Teaching Hospital. These samples were taken from patients in 16 – 45 years of age. ***Listeria monocytogenes*** was isolated from three cases only, two of them

from AL-Habibia Teaching Hospital ,while the other one from AL-yarmuk Teaching Hospital. Their gestational age were 22 , 24 , and 28 weeks. Bacterial isolation was done by using routin and specific culture media and two methods for enrichment were preformed.

The biological and biochemical properties of the isolates as well as the pathogenicity of ***L.monocytogenes*** in mice were described in the original paper. Infected mice were died after 2 – 5 days post inoculation. The histopathological changes were acute suppurative inflammation in the begining ، later on chronic granulomatous reaction were developed , within internal organs.

المقدمة

تؤدي الأصابة بجرثومة ***L.monocytogenes*** الى مرض الـ ***Listeriosis*** وهو من الأمراض الخطرة التي تصيب الأنسان والحيوان ويتميز باربعة اشكال رئيسة هي التهاب الدماغ والسحايا والأجهاض و الانتان الدموي والتهاب الضرع في المجترات (1). ويعد هذا المرض من الأمراض التي تنتقل عن طريق الغذاء ويظهر بشكل حالات منفردة أو أوبئة واسعة ويؤدي الى نسبة ممات قد تتراوح بين 20 - 50% (2). تتركز الأصابة في الأنسان عند النساء الحوامل والأطفال وكبار السن وكذلك المثبطين مناعيا (3). تكون الأصابة بجرثومة ***L.monocytogenes*** أثناء فترة الحمل احيانا بدون اعراض سريرية واضحة ولكن على الأغلب تصاحب الأصابة اعراض تشبه مرض الأنفلونزا كارتفاع درجة الحرارة والصداع والرغبة في التقيء حيث تحدث هذه الأعراض في اثنان من ثلاث اصابات في النساء الحوامل وتكون نتيجة للتجرثم الدموي والذي يؤدي بدوره الى غزو الرحم والمشيمة ومن ثم الوصول الى الجنين (4). أما الأصابة الشديدة بمرض الـ ***Listeriosis*** فتكون نادرة الحدوث اثناء فترة الحمل حيث يتميز المرض بالشفاء الذاتي بعد وضع أو اجهاض الجنين المصاب (عدا حالات ارتداد المشيمة او بقاء الجنين الميت داخل الرحم وحدوث حالة الانتان الدموي)، (5). ان امراضية جرثومة ***L.monocytogenes*** في النساء الحوامل تبدأ اولا باصابة الرحم والتي تحدث اما كنتيجة للتجرثم الدموي الذي يحصل بعد تناول الأغذية الملوثة عبر القناة الهضمية أو بالأنتشار الصاعد من خلال القناة التناسلية بعد تموضع الجراثيم فيها (6). وبعد مرحلة التجرثم الدموي تصيب الجرثومة خلايا الجهاز البطاني الشبكي في الكبد والطحال (7). ثم تنتقل عبر الدم الى الرحم الحامل وتعبر المشيمة من خلال الأتصال الدموي الى الجنين مؤدية الى اصابة الأغشية الجنينية وخاصة الامنيون وحصول حالات تتمثل اما بولادة مبكرة او اجهاض تلقائي او ولادة جنين ميت او بظهور اصابة

مبكرة بالمرض في الطفل الوليد حيث تظهر اعراض المرض خلال الاسبوع الاول بعد الولادة وتؤدي الى نسبة ممات عالية تتراوح بين 15-50% من الولادات (8-9). وقد تظهر اصابة متأخرة في الوليد أي بعد الأسبوع الأول من الولادة كنتيجة لأنتقال الجرثومة اليه من القناة التناسلية اثناء الوضع او بسبب تلوثه بافرازات الام الناقلة للجرثومة، مؤدية الى ظهور اعراض التهاب الدماغ والسحايا ومن ثم موت الوليد. ولقد لوحظ ان نسبة الممات في الأصابة المتأخرة تتراوح بين 10-20%. ومن هنا نلاحظ ان امراضية الجرثومة وشدة المرض ووقت ظهور الأعراض في الأصابة المتقدمة والمتأخرة تعتمد بالأساس على طرق اصابة الجنين والتي تحدث أما داخل الرحم أو عبر مروره بالقناة التناسلية أثناء الوضع (4-10).

المواد وطرائق العمل

اولاً : الأوساط الزرعية المستخدمة :

1. الأوساط الزرعية الروتينية :

- وسط اساس اكار الدم Blood Agar Base - BA
- وسط مرق نقيع القلب والدماغ Brain Heart Infusion Broth - BHIB
- وسط اكار نقيع القلب والدماغ Brain Heart Infusion Agar - BHIA
- وسط ألاكار المغذي Nutrient Agar - NA
- وسط المرق المغذي Nutrient Broth - NB
- وسط اكار التربتكيزسويا Trypticase Soy Agar - TSA
- وسط مرق التربتكيزسويا Trypticase Soy Broth - TSB

حضرت جميعا حسب تعليمات الشركة المنتجة وعقمت بالموصدة.

2. الأوساط الزرعية الخاصة :

- وسط اساس اكار اللستريا Listeria Agar Base - LAB

حضر حسب تعليمات الشركة المنتجة وعقم بالموصدة.

- وسط التنشيط الخاص باللستريا Listeria Enrichment Broth - LEB

حضر بحسب ما ورد في (11).

- وسط McBride Medium - MM

حضر بحسب ما ورد في (12).

ثانياً : الأوساط الزرعية المستخدمة في الفحوصات الكيموحيوية:

- وسط إختزال النترات
- وسط اليوريا
- وسط المثيل الأحمر والفوكس بروسكاور

- وسط تخمر الكربوهيدرات
- الوسط شبه الصلب SIM
- وسط تحلل الجيلاتين
- وسط Triple Sugar Iron - TSI

حضرت جميعا كما ورد في (13).

ثالثا :

1. النمـاذج :

تم جمع نماذج من 150 حالة اجهاض في النساء وقد اشتملت على مايلي :

- نسيج المشيمة : 150 نموذج
- دم الأم : 150 نموذج

حفظت النماذج في حاويات نظيفة ومعقمة ونقلت مبردة الى المختبر .

2. تحضير النماذج :

- **نسيج المشيمة** : تم سحن هذا النسيج في جفنة خزفية معقمة مع اضافة القليل من الرمل المعقم وكمية مناسبة من NB ثم زرع على الأوساط الزرعية الخاصة بطريقتين الأولى تم فيها نقل ملىء الناقل الجرثومي من النسيج المسحون وزرعه مباشرة على سطح LAB أو MM وحضنه بدرجة حرارة 37م لمدة 48 ساعة والثانية تم فيها نقل كمية مناسبة من النسيج المسحون الى وسط التنشيط LEB وحضنها بطريقتين الأولى في الحاضنة بدرجة 37م لمدة 48 ساعة والثانية في الثلاجة بدرجة 4م لمدة اسبوعين على الأقل.
- **نموذج الدم** : تم زرع نماذج الدم بطريقتين، الأولى نقل فيها ملىء الناقل الجرثومي وزرع على سطح الأوساط الصلبة LAB أو MM مباشرة وحضن بدرجة حرارة 37م لمدة 48 ساعة والثانية تم فيها نقل كمية مناسبة بحدود 3 ملم من الدم الى وسط التنشيط LEB وحضنها بدرجتي حرارة مختلفتين وكما جاء في تحضير نماذج نسيج المشيمة.

رابعا : عزل وتشخيص جرثومة *L.monocytogenes* :

بعد حضن النماذج على وسط LEB تم نقل 0.1 ملم من الزرع الجرثومي ونشره على سطح الأوساط BA و BHIA ثم حضن بدرجة حرارة 37م لمدة 48 ساعة، ودرست صفات المستعمرات الجرثومية الظاهرة وبعدها تم نقل المستعمرات المشكوك بها الى وسط BHIB لدراسة صفاتها البايولوجية و الكيموحيوية.

خامساً : فحص الضراوة في الفئران :

بعد التأكد من الصفات البايولوجية والكيموحيوية للعزلات الجرثومية تم زرعها على وسط TSB و BHIB وحضنها بدرجة حرارة 37م لمدة 48 ساعة ثم اخذ

0.5 ملم من العالق الجرثومي النامي وحقن تحت الجلد في الفئران البيضاء السويسرية، حيث تم استخدام 10 فئران ذات أوزان تراوحت بين 20-25 غرام ومن كلا الجنسين ووضعت في اقفاص معقمة وغذيت بالعلف المركز مع توفير مصدر للمياه. روقبت الفئران لعدة ايام بعد حقنها وسجلت مدد هلاكها مع ملاحظة التغيرات المرضية العيانية الظاهرة على الأعضاء الداخلية. ثم اخذت عينات من هذه الأعضاء بسمك 1×1 سم وحفظت في محلول الفورمالين الدارت المتعادل تركيز 10% لمدة لاتقل عن 48 ساعة . وقد اتبعت الخطوات الموصوفة من قبل (14) لتحضير الشرائح النسيجية وصبغها.

النتائـــج

ظهرت نتائج العزل الجرثومي من حالات الأجهاض كما موضح في الجدول رقم (1)

الجدول رقم (1) :

نوع النموذج	العدد	العزل الجرثومي		مدد الحمل / اسبوع
		+	-	
1. المشيمة	150	3	147	22 ، 24 ، 28
2. دم الأم	150	1	149	28

عزلت الجرثومة من نسيج المشيمة من ثلاث حالات فقط وواحدة من هذه الحالات الثلاث والتي كانت مدة الحمل فيها 28 أسبوع قد أعطت نتيجة موجبة من دم الأم بالأضافة الى المشيمة.

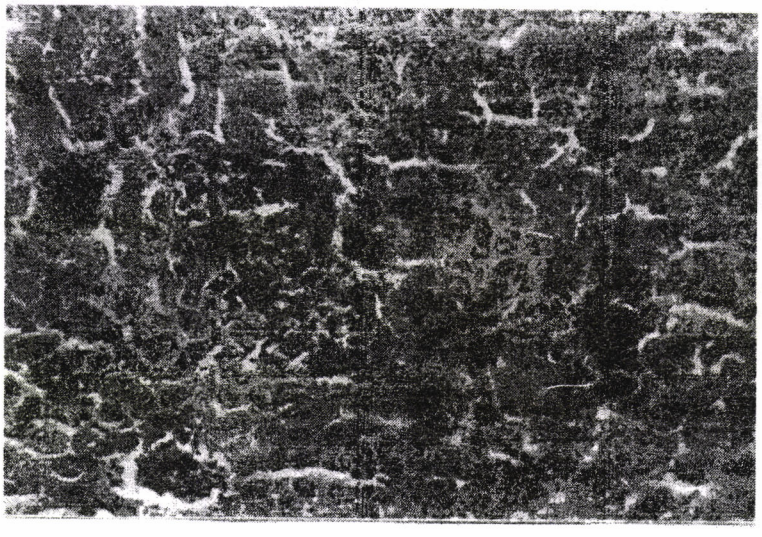
أما نتائج الفحوصات البايولوجية والكيموحيوية فظهرت كما موضحة في الجدول رقم (2)

الجدول رقم (2) : + تعني ايجابية الفحص و - تعني سلبية الفحص

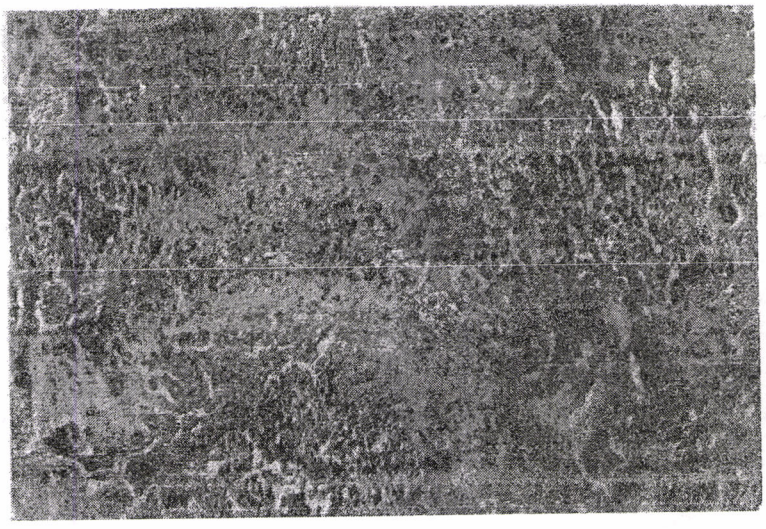
	الفحص		***L.monocytogenes***
1	شكل المستعمرة على وسط BA		دائرية، ذات حواف ملساء، بشكل قطرات الندى
2	تحلل الدم		محللة الدم من نوع بيتا
3	لون المستعمرة على NA		الأخضر المزرق
4	شكل الجرثومة في المسحات		عصيات قصيرة الى عصيات مكورة
5	ترتيب الجرثومة في المسحات		مفردة او ثنائية او بشكل سلاسل قصيرة او على هيئة الحروف V و Y
6	صبغة كرام		+
7	صبغة Acid fast		-
8	وجود المحفظة		-
9	تكوين الأبواغ		-
10	فحص الحركة بطريقة القطرة المعلقة		متحركةبالحركةالبهلوانية بدرجة 22°م
11	النمو هوائيا بدرجة 4°م و 37°م		+
12	انتاج أنزيم الكاتليز		+
13	انتاج أنزيم الأوكسديز		-
14	انتاج الأندول		-
15	انتاج غاز H2S		-
16	المثيل الأحمر والفوكس بروسكاور		+
17	تحلل اليوريا		-
18	تحلل الجيلاتين		-
19	وسط TSI		+
20	اختزال النترات		-
21	تخمر الكربوهيدرات	تخمر الكلوكوز	+ / انتاج حامض بدون غاز
		اكسدة الكلوكوز	+
		تخمر المانتول	-
		تخمر الرامنوز	+ / انتاج حامض بدون غاز
		تخمر D- Xylose	+ / انتاج حامض بدون غاز

أما نتائج فحص الضراوة في الفئران، فقد أظهرت هلاك الفئران المحقونة بالعزلات الجرثومية في مدة تراوحت بين 2-5 يوم بعد الحقن وبدت التغييرات المرضية العيانية في الأعضاء الداخلية للفئران المصابة بشكل بقع نخرية متعددة، بيضاء اللون ومختلفة الأحجام والأشكال على الكبد والطحال بالأخص مع وجود بقع نزفية على الرئتين وكذلك احتقان اغشية السحايا والدماغ. ولوحظ ايضا هلاك الأجنة داخل الرحم في الأناث الحوامل مع اصابتها بالنزف الشديد.

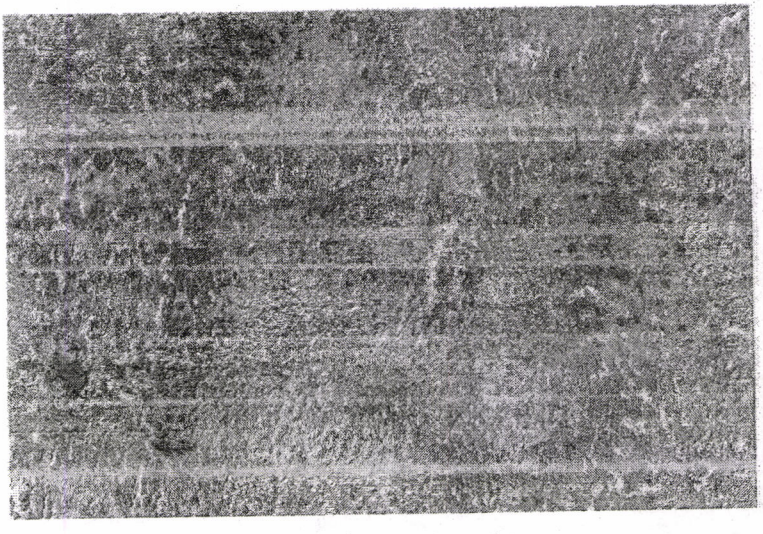
أما التغيرات النسيجية فتمثلت بوجود العديد من الخراجات الدقيقة في الكبد (صورة-1) والتي تطورت لاحقا الى خراجات كبيرة (صورة-2) ثم الى اورام حبيبية (صورة-3) . وفي الطحال ظهرت مناطق نفاذ لمفي في مناطق Periarteriolar Lymphoid (PALS) Sheaths (صورة-4) ثم تحولت لاحقا الى نخر شديد شمل جميع جسيمات الطحال مع ارتشاح هائل للخلايا الالتهابية المزمنة مثل الخلايا اللمفية والبلازما والبلاعم الكبيرة (صورة-5) وفي الدماغ لوحظ ظهور انزفة شديدة مع ارتشاح كثيف للخلايا الدبقية. وكانت الأصابة الرئوية شديدة تميزت بوجود خراجات متعددة ضمن المتن الرئوي مع ارتشاح العدلات وخلايا الألتهاب المزمن. اما في الكلى فلوحظ تواجد المستعمرات الجرثومية ضمن المتن الكلوي ومحاطة باعداد كبيرة من الخلايا الألتهابية مع وجود تغيرات تنكسية ونخرية ضمن النبيبات الكلوية وكذلك تنخر النسيج الدهني المحيط بها.



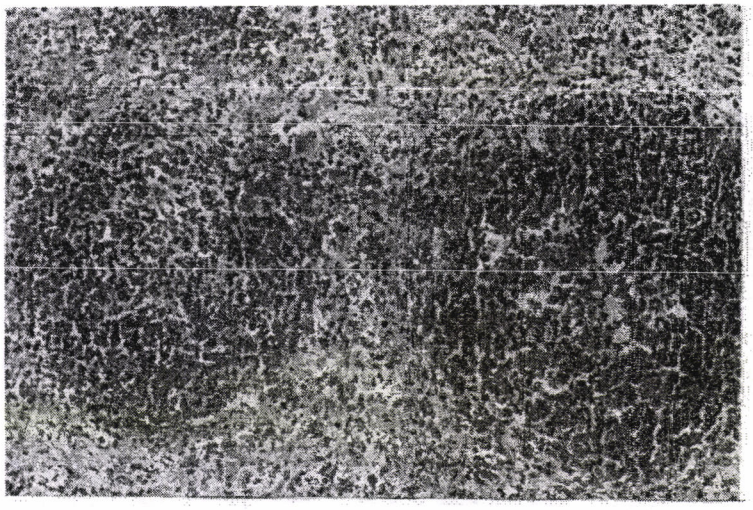
صورة رقم 1 : مقطع في كبد احد الفئران المحقونة بجرثومة ***L.monocytogenes*** يبين تكون الخراجات الدقيقة في متن الكبد (H&E X250).



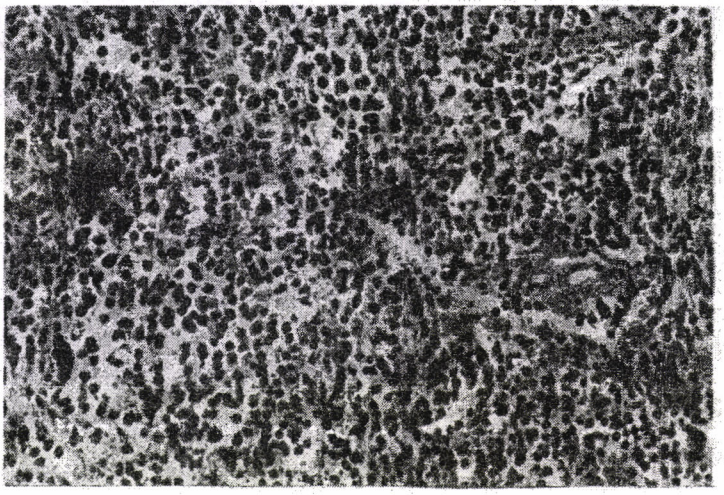
صورة رقم 2 : مقطع في الكبد يوضح تكون خراج كبير ذو مركز من النخر الأماعي ومحاط بخلايا العدلات (H&E X250).



صورة رقم 3 : مقطع في الكبد يظهر تواجد الورم الحبيبي الحاوي على مركز من النخر الأماعي ومحاط بأعداد هائلة من العدلات وخلايا الألتهاب المزمن (H&E X100).



صورة رقم 4 : مقطع في طحال أحد الفئران المحقونة يوضح النفاذ اللمفي في مناطق PALS حول الشرين المركزي (H&E X125).



صورة رقم 5 : مقطع في الطحال يبين النخر الشديد في المتن بسبب ارتشاح اعداد هائلة من العدلات وخلايا الألتهاب المزمن خصوصاً خلايا البلازما والبلاعم الكبيرة مع اختفاء معالم جسيمات الطحال (H&E X250).

المناقشة

كثر الأهتمام بجرثومة ***L.monocytogenes*** في السنوات الأخيرة لتسببها في حدوث العديد من الأوبئة بمرض الـ ***Listeriosis*** في مختلف دول العالم (15). حيث سجلت العديد من الدراسات الوبائية وابحاث عزل الجرثومة من منتجات الحليب واللحوم بانواعها المبردة والمجمدة وكذلك الأغذية المصنعة والطبيعية (16-17). وبما ان هذه الجرثومة تنتقل عبر الغذاء لذلك تتأتى اهميتها في احداث الأصابة ونشرها من خلال الغذاء الملوث وبهذا تعد من المشاكل الرئيسة في مجال الصناعات الغذائية في الوقت الحاضر (18). لقد وضع Baird-Parker،(1994) المصطلح YOPI والذي يعني Young، Old ، Pregnant ، Immunocompromised ليرمز الى الأشخاص الأكثر تعرضا للأصابة بالأمراض التي تنتقل عن طريق الغذاء ومنها مرض الـ ***Listeriosis*** (19) ومن هنا يلاحظ بأن الأنثى الحامل تتعرض بشدة للأصابة بسبب انخفاض مستوى المناعة الناتج من التغيرات الفسيولوجية والهرمونية لديها خلال فترة الحمل حيث وجد ان ارتفاع مستوى البروجستيرون خلال اشهر الحمل يؤدي الى انخفاض مستوى المناعة الخلوية التي تلعب دورا كبيرا في القضاء على جراثيم داخل الخلية ومنها جرثومة ***L.monocytogenes*** (4-20). لقد اثبتت الدراسات التجريبية بان شدة الأصابة تزداد في الأناث الحوامل عنه في الأناث غير الحوامل وذلك لعدم استطاعة الأولى السيطرة على المرض وتقليل اعداد الجراثيم في الكبد والطحال مما يعرضها للهلاك بنسبة كبيرة (21). اضافة الى اصابتها بالأجهاض أو حدوث ولادة ميتة (22). لقد اثبتت نتائج العزل الجرثومي ان نسبة الأصابة بلغت 2% وهي نسبة قليلة قياسا لعدد العينات وهذا ما يؤيد تقارير **WHO** وما جاء ذكره من قبل (23) من ان مرض الـ ***Listeriosis*** من الأمراض نادرة الحدوث الا ان نسبة الممات فيها عالية جداً. لقد اثبتت العديد من الدراسات السابقة في النساء الحوامل ان لجرثومة ***L.monocytogenes*** اماكن تفضيل في الأصابة تتمثل في انسجة المشيمة والجنين كما وتحدث الأصابة غالبا في الثلث الأخير من مدة الحمل وبصورة اقل في النصف الثاني ونادراً في الثلث الأول (9) وهذا يؤيد نتائج بحثنا هذا ، حيث تم الحصول على حالتين في الثلث الأخير وحالة واحدة في نهاية الثلث الأوسط من مدة الحمل. وقد تم العزل الجرثومي في هذه الحالات الثلاث من نسيج المشيمة بينما اعطت حالة واحدة نتيجة موجبة من دم الأم بالأضافة الى نسيج المشيمة مما يعني تموضع الجراثيم في انسجة المشيمة باعتبارها من اماكن التفضيل للجرثومة بعد انتهاء مرحلة التجرثم. لقد اكدت العديد من الدراسات السابقة بأن ظهور مرض الـ ***Listeriosis*** في النساء الحوامل يكون احيانا بدون ظهور اعراض سريرية واضحة ولكن على الأغلب تصاحب الأصابة اعراضا تشبه مرض الأنفلونزا التي تحدث كنتيجة للتجرثم الدموي والذي يؤدي بدوره الى وصول الجرثومة الى المشيمة ثم الجنين (4) وهذا يؤيد ماجاء في البحث حيث لوحظ ظهور اعراضا سريرية واضحة تشبه مرض الأنفلونزا في احدى هذه الحالات والتي كان عمر الحمل فيها 28

أسبوعاً كنتيجة لتواجد الجراثيم في الدم ومما يؤيد ذلك نتائج العزل الجرثومي الموجبة من دم الأم. بينما لم تظهر الحالتين الأخرتين اعراضاً سريرية واضحة عدا ارتفاع طفيف في درجة الحرارة واصابة احداها بالأسهال وكانت نتائج العزل الجرثومي من دم الأم سالبة مما يشير الى انتهاء مرحلة التجرثم الدموي وتموضع الجراثيم في المشيمة. أما بالنسبة الى نتائج فحص الضراوة في الفئران فقد اظهرت هلاك الفئران المحقونة تجريبياً في مدة تراوحت بين 2-5 يوم بعد الحقن. وان جميع التغيرات المرضية العيانية المتمثلة بالبقع النزفية والنخرية والتغيرات النسيجية المتمثلة بالألتهابات القيحية وتكون الأورام الحبيبية في الأعضاء الداخلية فقد جاءت متطابقة مع العديد من الدراسات التجريبية السابقة في الفئران (24-25-26-27) . كما ان تكون هذا النوع من الآفات المرضية وخصوصاً الأورام الحبيبية وارتشاح خلايا الألتهاب المزمن ومنها البلاعم الكبيرة وبأعداد هائلة يعزى سببها الى ضراوة الجرثومة العالية والتي سببت ارتشاح هذا النوع من الخلايا ذات الكفاية العالية للقضاء على المسببات المرضية (28). ان هذه التغيرات المرضية تشابه وبصورة كبيرة جداً التغيرات المرضية الناجمة عن مرض ***Listeriosis*** او ما يسمى ***"Granulomatosis infantiseptica"*** في الأطفال حديثي الولادة أو في الأجنة المجهضة وكذلك مع ما سجل سابقاً في الأنسان (29-30).

References

1. Radostits، O.M. ; Blood، D.C. ; and Gay، C.C. (1997). Listeriosis . In : VeterinaryMedicine ، A Textbook of the Diseases of Cattle ، Sheep ، Pigs ، Goats and Horses . 8th (ed). The Sanders. PP : 660 - 665.
2. Rocourt ، J. ; and Bille، J. (1997) . Foodborne Listeriosis. In : Document WHO/HPP/FOS. World Health Organization Geneva. PP : 67 - 72.
3. Bartt، R. (2000). Listeria and atypical presentations of Listeria in the central nervous system. Seminars in Neurology . 20 : 361 - 373.
4. Smith، J.L. (1999). Foodborne infection during pregnancy : Review. J. of Food Protection . 62 : 818 - 829.
5. Sirry، H.W. ; George، R.H. ; and Whittle ، M.J. (1994). Meningoencephalitis due to *Listeria monocytogenes* in pregnancy. Br. J. Obstet. Gynaecol. 101 : 1083 – 1084.

6. Lober، B. (1990) . Clinical Listeriosis – implication for pathogenesis. In : Miller، A.J. ; Smith ، J.L. ; and Somkuti ، G.A. (eds) : Foodborne Listeriosis . Elsevier ، New York. PP : 41 – 49.
7. Schwarzkoph، A. (1996). *Listeria monocytogenes* : aspects of pathogenicity. Pathol. Biol. Paris. 44 : 775 - 782.
8. Farber، J.M. ; and Peterkin، P.I. (1991). *Listeria monocytogenes* : a Foodborne pathogen. Microbiol. Rev. 55 : 476 - 511.
9. Bortolussi، R. ; and Schelch، W.F. (1995). Listeriosis. In : Remington، J.S. ; and Klein، J.o. (eds). Infections diseases of the fetus and newborn infant. Saunders، W.B. CO. philadelphia. PP : 1055 - 1073.
10. Lamont، R.J. Postlethwaite، R. ; and MacGowan، A.P. (1988). *Listeria monocytogenes* and its role in human infection. J. Infect. 17 : 7 - 28.
11. Lovett، J. ; Prancis. D.W. ; and Hunt، J.M. (1987). *Listeria monocytogenes* in raw milk : detection ، incidence ، and pathogenicity. J.Food Prot. 50 : 188 - 192.
12. Pini، P.N. (1988). Isolation of *Listeria monocytogenes* from food – Food Hygiene Laboratory، Central Puplic Health Labroatory، 61 Colindale Avenue ، London ، N.W.9 ، 5 H.T.
13. Ralovich، B. (1984). Listeriosis Research : Present Situation and Perspective. Akademiai kido ، Budapest ، Hungary.
14. Luna، L.G. (1968). Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd . ed. Mcgrow – Hill Book Company. New York : USA.
15. Schlech، W.F. (2000) . Epidemiology and clinical manifestations of *Listeria monocytogenes* infection. American Society for Microbiology. Washington، D.C. PP: 473 - 479.
16. Khalil، N.GH. ; and Bastawrows، A.F. (1997). Isolation of Listeria species from raw milk and some dairy products. Assiut Vet. Med. J. 36 : 193 - 202.
17. Rocourt، J. (1999). *Listeria monocytogenes*. In : Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to puplic

health. (ed) : European Commission. Health and Consumer Protection Directorate – General.

18. Rocourt، J. ; Jacquet، Ch. ; and Reilly، A. (2000). Epidemiology of human Listeriosis and seafoods. International Journal of Food Microbiology 62 : 197 - 209.
19. Baird – Parker ، A.C. (1999). Foods and microbiological risks. Microbiology . 140 : 687 - 695.
20. Schlech. W.F. (1996). Pathogenesis and immunology of *Listeria monocytogenes*. Pathol. Biol. Paris. 44 : 775 - 782.
21. Klink. M. ; and Rudnicka،W. (1995). *Listeria monocytogenes* infection in pregnant mice: abnormalities in the function of non-adherent accessory light density dendritic cells. FEMS Immnnol. Microbiol. 12 : 143 - 152.
22. Menudier، A.. ; Bosgiraud، C. ; and Nicolas، J.A. (1994). Listeriosis : Virulence de *Listeria monocytogenes* sur des souris gestantes . pathol. Biol. 42 : 510 - 520.
23. Rouquette، C. ; and Berche، P. (1996). The pathogenesis of infection by *Listeria monocytogenes*. Microbiologia 12 : 245 - 258.
24. Marco. A.J. ; Altimira، J. ; Prats،N. ; Lopez.S. ; Dominguez، L. ; Domingo، M. ; and Briones، V. (1997). Penetration of *Listeria monocytogenes* in mice infected by the oral route. Microbiol.Pathogenesis 23 : 255 - 263.
25. Marco، A-J. Domingo، M.; Prats، M. ; Briones، V. ; Pumarola، M. ; and Dominguez، L. (1991). Pathogenesis of lymphoid lesion in murin experimental listeriosis. J. Comp. Path. 105 : 1 - 15.
26. Marco، A.J. ; Prats، N. ; Ramos، J.A. ; Briones، V.; Balnco، M. ; Dominguez، L. ; and Domingo. M. (1992). Amicrobiological ، histopathological ; and immunhistological study of the intragastric inoculation of *Listeria monocytogenes* in mice . J. Comp. Path. 107 : 1-9.
27. Marc.، L. ; Pournin، S.V. ; Lefort، J. ; Hnerre، M; Gounon، P. ; Dupny ،C. ; Babinet، Ch. ; and Cossart، P. (2001). A transgenic

model for Listeriosis : Role of internalin in crossing the intestinal barrier. Science. Mag. 292 : 1722 - 1725.

28. Adam، D.O. (1976). The granulomatous inflammatory response. Am. J. Path. 84 : 164 - 191.
29. Gebauer، K. ; Hall، J.C. ; Donlon، J.B. ; Herrmann، R. ; Rofe، S. ; and Platell، C. (1989). Hepatic involvement in Listeriosis. Aust. NZ. J. Med. 19 : 486 - 487.
30. Schuchat، A.; Swaminathan، B. ; and Broome، C.V. (1994). Epidemiology of human Listeriosis. Clin. Microbiol. Rev. 4 : 169 - 183.