------ مجلة علوم الرافدين، المجلد 17، العدد 10، خاص بعلوم الحياة, ص115-126، 2006 ------

دراسة بعض جوانب امراضية جراثيم *Listeria monocytogenes* وتنميطها حيوياً وحساسيتها للمضادات الحيوية

ميادة احمد الطائي **اميرة محمود الراوي**

قسم علوم الحياة

كلية العلوم

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2006/1/18 , تاريخ القبول 2006/4/24)

الملخص

اختبرت قدرة 22 عزلة لجراثيم *Listeria monocytogenes* معزولة من حالات اجهـاض وولادة مبكرة وحالات التهاب السحايا لحديثي الولادة على انتاج المادة المخاطية وقابليتها على الالتـصاق علـى الخلايا الطلائية المبطنة لتجويف الفم ولوحظ ان جميع العزلات كانت منتجة للمادة المخاطيـة وتمكنـت جميعها من الالتصاق على الخلايا الطلائية المبطنة لتجويف الفم كذلك درست بعض الفعاليات الانزيميـة للجراثيم واظهرت العزلات القابلية على انتاج انزيمـات Esterase, DNase, Lecithinase, Lipase و Protease واعتماداً على النشاط الانزيمي تم اختيار ثلاث اختبارات انزيمية مختلفة لتنميط العزلات حيوياً وبينت نتائج هذا التنميط سيادة النمط الحيوي الاول على بقية الانماط ويتبعه النمط الحيوي الثالث ثم الثاني والخامس . كـذلك ابـدت جميـع العـزلات حـساسية مطلقـة للمـضادين الحيـويين Ampicillin و Chloramphenicol وكانت جميعها مقاومة للمضاد Nalidixic acid ونسبة حساسية متفاوتة لبقية انواع المضادات الحيوية.

Some Pathogenic Aspects , Biotyping and Antibiotics Sensitivity of *Listeria monocytogenes*

Mayada Ahmad Al-Taee **Amera Mahmood Al-Rawi**
Department of Biology
College of Science
Mosul University

ABSTRACT

The ability of 22 isolates of *Listeria monocytogenes* isolated from different clinical cases including abortion, preterm labours and from cases of neonates meningitis were tested for the production slime layer and adherence on the human epithelial mouth cells .

The results showed that all isolates were capable of producing slime layer and able to adhere to the human epithelial cells. Enzymatic activites were studied. The results revealed that the bacteria can produce: Protease, Lipase, Lecithinase, DNase and Esterase Depending on its enzymatic activity, three different enzymatic tests were chosen for biotyping of isolates , the results indicated the predomination of the first biotype followed by the third then the second and the fifth biotypes. The sensitivity to antibiotics was also tested. The isolates exhibited complete sensitivity to Ampicillin and chloramphenicol while it was completely resistant to Nalidixic acid and variable sensitivity to other antibiotics.

المقدمة

وصفت جراثيم *L.monocytogenes* على أنها ممرضات داخـل خلويـة اختياريـة Facultative Intracellular Pathogen تمتلك القابلية على الغزو والتكاثر ضمن انواع مختلفة من خلايا اللبائن تتسبب عن إفراز الجراثيم لنوعين من البروتينات هما Listeriolysin O وهو ذيفـان حـال للـدم و Inositol Specific Phospholipase C (Chakraborty, 1999). وتمتلك جراثيم *L.monocytogenes* نوعين من البروتينات السطحية هما Internalin A و Internalin B تلعب هذه البروتينات دوراً مهمـاً فـي عمليـة التصاق الجرثومة على الخلايا غير الالتهامية مثل الخلايا الطلائية وتساعد في اختراقهـا لهـذه الخلايـا ((Dramsi et al., 1995; Gaillard et al., 1991).

اعتمدت عدة انظمة في تنميط جراثيم *L. monocytogenes* اسـتخدمت فـي الدراسـات الوبائيـة للجراثيم تضمنت انظمة تنميط جيني بالاضافة الى التنميط المظهري المتضمن للتنميط المصلي والتنمـيط بالاستريز (Clark et al., 2000) فقد قام الباحث Ralovich وجماعته عام (1972) بايجاد تنميط مظهري للجراثيم اعتمادا على انتاجها لانزيم اللسثنيز وحالات الدم LLO.

تظهر جراثيم *L. monocytogenes* حساسية للمضادات الحيوية الحاوية على حلقة B-Lactam لذلك تكون هذه العقاقير هي الاختيار الاول للعلاج (Virella, 1997). وغالباً يفضل استخدام Ampicillin

مع Gentamicin بوصفه علاجاً لاصابات اللستريوسز (Fanos and Dall'Agnola, 1999) وبصورة عامة فإن هذه الجراثيم حساسة للعديد من المضادات الحيوية مثل Penicillin, Ampicillin, Erythomycin, Tetracycline, Gentamycin, Streptomicin, Nitrofurantion, Neomycin, Vancomycin و Chloramphenicol. وقد أظهرت بعض السلالات مقاومة لبعض المضادات مثل Oxacillin وMethicilling وبالنسب 34% و 34.4% على التوالي (Safdar and Armstrong, 2003) .

ولذلك جاءت هذة الدراسة كي تسلط الضوء على قابلية العزلات المحلية للجراثيم على انتاج المـادة المخاطية والالتصاق على الخلايا الطلائية المبطنة لتجويف فم الانسان وقدرتها على انتاج انزيمات معينة. استخدم في ايجاد تنميط حيوي لعزلات الجراثيم كذلك دراسة حساسية هذه العزلات لعدد من المـضادات الحيوية.

المواد وطرائق العمل

شملت الدراسة 22 عزلة لجرثومة *L. monocytogenes* معزولة من مسحات عنق رحمية ومشيمية لنساء حوامل لديهن حالات اجهاض و ولادة مبكرة وعينات سائل النخاع الشوكي لحديثي الولادة مصابين بالتهاب السحايا (الطائي والراوي، 2005) اجريت عليها الاختبارات التالية :

- **اختبار انتاج المادة المخاطية :**

اجري اختبار انتاج المادة المخاطية لهذه العزلات بتلقيح انابيب مرق التريبتكيز صويا بحملة لـوب من المستعمرة الفتية وحضنت الانابيب في درجة 37 م لمدة 24 ساعة واستخدمت انابيب حاويـة علـى الوسط غير ملقحة لغرض السيطرة. بعد التحضين سكبت محتويات الانابيب وأضيفت قطرات من صـبغة السفرانين وتركت لمدة دقيقة ثم وضعت بشكل مقلوب على ورقة الترشيح للتخلص من الـصبغة ويـدل اصطباغ جدران الانبوبة الداخلية على ايجابية الفحص (Christensen et al., 1982).

- **اختبار الالتصاق :**

لغرض اختبار قدرة الجراثيم على الالتصاق على الخلايا حقيقية النواة والتي تعـد اول مراحـل الامراضية حضر المعلق الجرثومي بتلقيح مرق نقيع القلب الدماغ بجراثيم *L.monocytogenes* وحضنت بدرجة 37 م لمدة 24 ساعة حضرت بعد ذلك تخافيف من المعلق الجرثومي بإستخدام محلول phsphate buffer saline (PBS) المعقم للحصول على تركيز 10^4 خلية/مل والذي تم تحديده بطريقة حساب عـدد الخلايا الحية بإتباع طريقة العد بالاطباق القياسية (Cruickshank et al., 1975).

عزلت الخلايا الطلائية الحرشفية من فم الانسان بإتباع طريقة (Ofek et al., 1986) حيث مـسحت الطبقة الطلائية للتجويف الفمي بإستخدام ماسحة قطنية معقمة ونقلت مباشرة الى انبوبـة تحتـوي علـى محلول PBS المعقم ثم غسلت الخلايا بمحلول الفوسفات المنظم PBS ثلاث مرات بإستعمال جهاز الطـرد المركزي بسرعة 5000 دورة/دقيقة لمدة عشر دقائق لكل مرة ، علق الراسب الحـاوي علـى الخلايـا

الطلائية بمحلول PBS المعقم ورشح خلال ورقة الترشيح مخلفاً وراءه الخلايا الطلائية موزعة بشكل عشوائي على سطح الورقة ، نقلت الخلايا على سطح غطاء شريحة زجاجية نظيفة بضغط الغطاء على سطح ورقة الترشيح وترك ليجف بالهواء. ثم وضع غطاء الشريحة الزجاجية الحاوي على الخلايا الطلائية في طبق بتري معقم وأضيف له 5 مل من معلق الجراثيم المحضر في الفقرة السابقة وحضنت الجراثيم مع التحريك المعتدل لمدة ساعة واحدة عند 37°م أزيلت بعد ذلك الجراثيم غير الملتصقة بالخلايا الطلائية بغسل غطاء الشريحة بمحلول PBS بعد ذلك ثبتت الخلايا الطلائية بالميثانول لمدة 15 دقيقة ثم أضيفت صبغة كمزا بتركيز 30 % لمدة 20 دقيقة ثم وغسل غطاء الشريحة بالماء المقطر لازالة الصبغة وترك ليجف بالهواء ثم وضع الغطاء بشكل مقلوب على الشريحة الزجاجية وفحصت بالمجهر الضوئي (Van-Den Bosch et al., 1980).

- **اختبار التنميط الحيوي :**

اختبرت قابلية هذه العزلات على انتاج انزيمات اللسثينيز واللايبيز بتلقيحها على اكار صفار البيض وحضنت الاطباق في درجة 37 م لمدة 24-48 ساعة لغاية ثمانية ايام ، تم الاستدلال على إنتاج انزيم اللسثينيز بتكون مناطق رائقة حول المستعمرات النامية . وللتحري على إنتاج انزيم Lipase تم غمر الوسط بكمية من محلول كبريتات النحاس المشبع لمدة 20 دقيقة ثم سكب الفائض إن ظهور لون أزرق مخضر في مواقع تحال الدهن دلالة على فعالية انزيم Lipase (Collee et al., 1996; Feresu and Jones, 1988; Cruickshank et al., 1975).

واختبرت قدرة عزلات الجراثيم على انتاج انزيم Protease حيث لقحت اطباق اكار الدم الاساس الحاوي على محلول الحليب الفرز skim milk بتركيز 10 % بمستعمرة فتية للجراثيم وحضنت بدرجة 37 م لمدة اسبوع ثم فحصت للتحري عن وجود مناطق رائقة للتحال بفعل الانزيم (Feresu and Jones, 1988). كما تم التحري عن انتاج انزيم Esterase المحال للـ 80 Tween بتخطيط اطباق اكار الدم الاساس الحاوي على80 Tween بتركيز1 % بحملة لوب من المستعمرة الفتية وحضنت الاطباق في درجة 37 م لمدة 7 أيام ثم لوحظ التحال بفحص الطبق على خلفية سوداء لملاحظة مناطق التحال التي تكون بشكل مناطق رائقة ومناطق ترسيب (Collee et al., 1996; Feresu and Jones, 1988) واعتمد على نتائج التفاعلات الانزيمية لانزيماتLecithinase, Esterase , DNase في اجراء التنميط الحيوي لاهميتها في احداث الاصابة ولوجود التباين في النتائج بين العزلات.

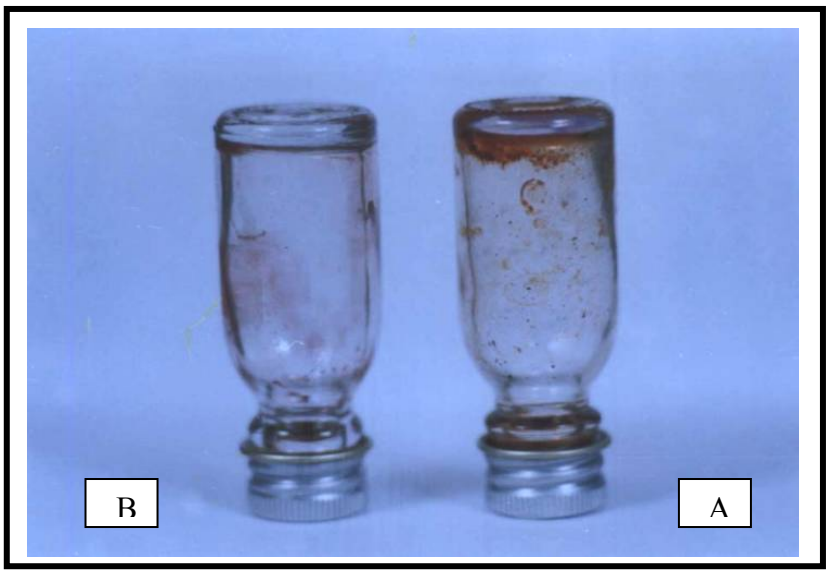
- **اختبار الحساسية للمضادات الحيوية :**

أتبعت طريقة Bauer – Kirby المحورة (Bauer et al., 1966) المعتمدة من قبل منظمة الصحة العالمية (Vandepitte et al., 1991) في اختبار حساسية العزلات لعدد من المضادات الحيوية.

النتائج والمناقشة

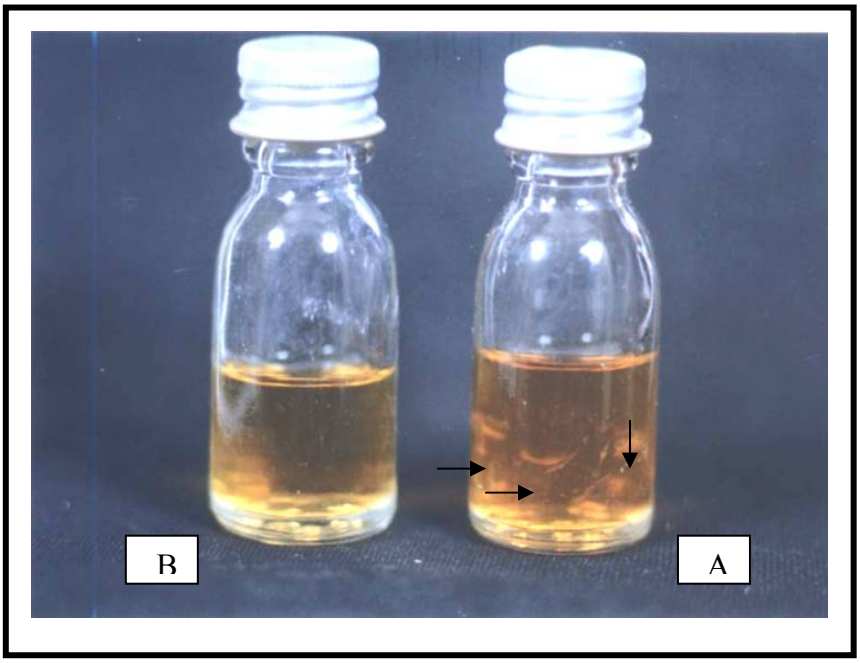
ظهر ان جميع العزلات منتجة للمادة المخاطية وتوضح الصورة (1) قابلية عزلات الجراثيم على انتاج المادة المخاطية حيث اظهرت العزلات جميعها قابلية على الالتصاق بجدران القنينة الزجاجية وتكوين طبقة من النمو التي تصطبغ بصبغة السفرانين مقارنة مع انبوبة السيطرة التي كانت تحتوي على الوسط الغذائي غير الملقح. ذكر الباحث Baker وجماعته عام (1980) ان جراثيم *L.monocytogenes* المنماة في الوسط السائل تكون ترسبات مخاطية كثيفة وعند رجها يبدو النمو بهيئة حبال Rope-like (الصورة 2) . ان الطبقة المخاطية تنتج عن قدرة الجرثومة لانتاج الغلاف السكري Glycocalyx الذي يحيط بالخلية الجرثومية وهذا الغلاف عندما يكون ترتيبه غير منظم وارتباطه بجدار الخلية بصورة هشة يعرف بالطبقة المخاطية Slime layer اما اذا كان الغلاف مكوناً من مواد اساس مرتبة ومرتبطة بجدار الخلية بقوة عندئذ يعرف بالمحفظة Capsule وهو Glycocalyx عبارة عن مواد خارج خلوية لزجة تتكون من متعدد سكريات Polysaccharide او متعدد ببتيد Polypeptide او الاثنان معا وتعمل هذه الطبقة على حماية الخلية الجرثومية من الجفاف Dehydration وفقدانه المغذيات (Tortora et al., 1998; Talaro and Talaro, 1996).

وأشار الباحث Christensen وجماعته عام (1982) ان قابلية الجراثيم على انتاج المادة المخاطية تزداد باستخدام وسط Trypticase Soy Broth (TSB) لاحتوائه على مواد تشجع على انتاج المادة المخاطية وهي الكازائين والدكستروز التي تعد مصادر غذائية مهمة.ويمكن اعتبار طبقة الغلاف السكري Glycocalyx من عوامل الالتصاق حيث تساعد في عملية تثبيت الجراثيم على السطوح في البيئة (Talaro and Talaro, 1996).



الصورة 1 : انتاج المادة المخاطية.

A – النتيجة الموجبة. B – انبوبة السيطرة.



الصورة 2 : نمو جراثيم *L. monocytogenes* بهيئة حبال.

A – النتيجة الموجبة. B – انبوبة السيطرة.

وتوضح الصورة (3) عملية التصاق جراثيم *L.monocytogenes* على الخلايا الطلائية الحرشفية المبطنة لتجويف الفم التي تعتبر اول اجزاء الجسم المعرضة للجراثيم في مرحلة الاصابة. تمتلك جراثيم *L.monocytogenes* مجموعة من عوامل الالتصاق التي تمكنها من الالتصاق على خلايا المضيف واحداث الاصابة منها انتاجها للمادة المخاطية وجدارها الخلوي الحاوي على حامض اللايبوتايكويك بالاضافة الى Internalin A الذي له دور مهم في عملية التصاق الجراثيم بالخلايا الطلائية للمضيف وذلك باتحادها بمستقبلات الـ E. cadherin في الخلايا الطلائية (Brooks et al., 1998).

الصورة 3 : التصاق جراثيم *L. monocytogenes* على الخلايا الطلائية. قوة التكبير (1000X)

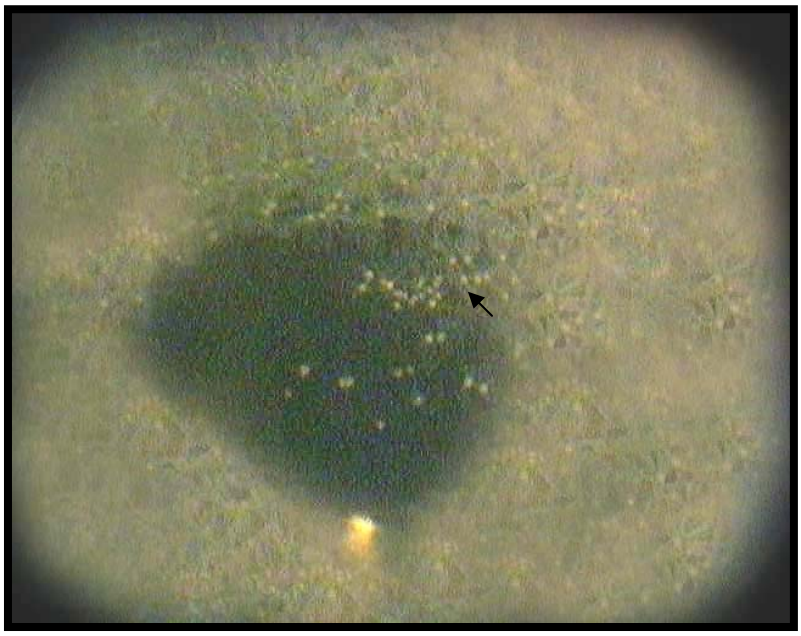
ظهر ان 90% من العزلات منتجة لانزيم Lecithinase وذلك بظهور مناطق رائقة حول المستعمرات النامية دلالة على تحال اللسثين فوسفاتديل كولين الى فوسفوريل كولين وجليسيريدات ثنائية كما في الصورة (4)، وكانت الباحثة Hayward عام (1941) اول من اكد اهمية هذا الاختبار في تشخيص جراثيم *Clostridium perfringens* واطلقت على الاختبار تفاعل ناكار Nagler reaction وهذا الاسم مازال يستخدم حتى اليوم.

كما ان جميع العزلات التي انتجت انزيم Lecithinase كانت منتجة لانزيم اللايبيز الذي استدل عليه بظهور لون ازرق مخضر في مواقع تحال الدهن. وتم التحري ايضا عن وجود الانزيم المحال للحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين واعطت 70% من العزلات نتيجة موجبة لهذا الفحص حيث ظهر وجود مناطق رائقة حول المستعمرات النامية على الوسط بعد اضافة حامض الهيدروكلوريك 1N وهذا يدل على امتلاك العزلات لانزيم DNase وهذا يتفق مع ما توصل اليه الباحثان Feresu وJones عام (1988) بوجود بعض السلالات غير المنتجة لهذا الانزيم. وكذلك جاءت نتائجنا متفقة مع هذين الباحثين في التحري عن انتاج جراثيم *L.monocytogenes* للانزيم المحال لكازائين الحليب حيث ظهرت جميع العزلات منتجة لهذا الانزيم بعد اختبار الكشف عن وجوده كما ورد في المواد وطرائق العمل إذ ان ظهور مناطق شفافة حول المستعمرات النامية دلالة على تحال كازائين الحليب الموجود في الوسط بفعل الجراثيم.

ألصورة 4 الكشف عن انتاج انزيم Lecithinase .

↖ - مناطق رائقة حول المستعمرات

كما اختبرت قابلية الجراثيم على انتاج الانزيم المحلل للـ Tween 80 والمسمى بالاستريز بالتحري عن تكون مناطق من الترسيب ومناطق رائقة حول المستعمرات الصورة(5) نتيجة لتحلل الـ Tween 80 بفعل انزيم الاستريز الذي يعد من احد انواع الانزيمات المحللة للدهون مائيا يحلل الدهون الاستـرية وينتج حامضاً دهنياً وكوليستيرول وأظهرت النتائج ان 80% من العزلات منتجة للانزيم وهذا يتفق ايـضا مع ما توصل اليه الباحثان Feresu وJones عام (1988).



الصورة 5 : الكشف عن انتاج انزيم Esterase.

↖ - مناطق الترسيب حول المستعمرات

ويوضح الجدول (1) الانماط الحيوية الناتجة باعتماد انتـاج الجـراثيم لانزيمـات Lecithinase, DNase و Esterase . وقد ونمطت 10 عزلات بنسبة مئوية قدرها 45.4 % ضمن النمط الحيـوي الاول و 6 عزلات بنسبة 26.2 % ضمن النمط الحيوي الثالث و 4 عزلات بنسبة 18.1 % ضمن النمط الحيوي الثاني وعزلتان بنسبة 9 % ضمن النمط الحيوي الخامس.

ويعتقد ان السبب في ارتفاع عدد عزلات الانماط الاول والثالث والثاني يعود الى امـتلاك اغلـب العزلات لانزيم Lecithinase الذي يعد من عوامل الضراوة لجراثيم اللستيريا وله دور خاص فـي اليـة احداث الاصابة للمضيف وهذا ما اكده الباحث Ralovich وجماعته عام (1972).

ويوضح الجدول (2) اعداد العزلات والنسب المئوية للحساسية والمقاومة للمضادات الحيوية حيـث أظهرت النتائج ان جميع العزلات حساسة للمـضاد الحيـوي Chloramphenicol والمـضاد الحيـوي Ampicillin يليهما Gentamycin والـ Kanamycin التي كانت نسبة العزلات الحساسة لهـا (90.9%) ثم Neomycin بنسبة (77.2%) والـ Erythromycin الذي كانت نسبة الحساسية له (68.1%) وكانـت العـزلات حـساسة للـ Tetracycline والـ Oxytetracycline بنـسبة (54.5%) يليـه المـضاد

Trimethoprim بنسبة (40.9%) وبلغت حساسيتها للمضادين Nitrofurantion وCloxacilling (27.2%) و(22.7%) على التوالي إلا ان جميع العزلات كانت مقاومة للمـضاد الحيـوي Nalidixic acid وذكـر الباحثان Prescott and Baggot عام (1993) ان المضاد الحيوي Nalidixic acid يستعمل فـي بعـض الاوساط الانتقائية لعزل الجراثيم التي تكون مقاومة لهذا المضاد اذ يعمل على تثبيط نمو الجراثيم الـسالبة لصبغة كرام بتاثيره على عملية بناء الحامض النووي DNA.

الجدول 1 : نتائج التنميط الحيوي لجراثيم *L. monocytogenes* .

نظام الاختبار Test system	نتائج اختبار التنميط الحيوي							
	1	2	3	4	5	6	7	8
انتاج انزيم Lecithenase	+	+	+	+	-	-	-	-
انتاج انزيم DNase	+	+	-	-	+	+	-	-
انتاج انزيم Esterase	+	-	+	-	+	-	+	-
عدد العزلات	10	4	6		2			
مصدر العزلات	سائل النخاع الشوكي ، المشيمة ، عنق الرحم	عنق الرحم	المشيمة وعنق الرحم		عنق الرحم			

الجدول 2 :حساسية جراثيم *L. monocytogenes* للمضادات الحيوية.

المضادات الحيوية	العزلات الحساسة		العزلات المقاومة	
	العدد	%	العدد	%
Chloromphenicol	22	100	0	0
Ampicillin	22	100	0	0
Gentamycin	20	90.9	2	9.1
Kanamycin	20	90.9	2	9.1
Neomycin	17	77.2	5	22.8
Erythromycin	15	68.1	7	31.9
Tetracyclin	12	54.5	10	45.5
Oxytetracyclin	12	54.5	10	45.5
Trimethoprim	9	40.9	13	59.1
Nitrofurantion	6	27.2	16	72.8
Cloxacillin	5	22.7	17	77.3
Nalidixic acid	0	0	22	100

واتفقت نتائج دراستنا مع نتائج دراسة (Feresu and Jones, 1988) في ظهور الحساسية المطلقـة للعزلات الجرثومية للمضادين الحيويين Ampicillin وChloromphenicol. وكانت مقاربة للنتيجة التـي

حصلت عليها الباحثة Abdulla عام (1994) حيث وجدت ان عزلات الجـراثيم كانـت حـساسة للـ Chloromphenicol وAmpicilling مع وجود عزلة واحدة مقاومة للـ Ampicillin من مجموع خمـس عزلات للجراثيم في دراستها.كما اظهرت عزلات جراثيم *L. monocytogenes* حساسية عالية للمضادان الحيويان Gentamycin وKanamycin وكانت نتائجنا مقاربة للنتائج التي حصل عليها الباحثان Safdar وArmstrong عام (2003) حيث وجدا ان هناك عزلتين من مجموع 52 عزلة مقاومة للـ Gentamycin وعزلة واحدة من مجموع 35 عزلة مقاومة للـ Kanamycin خلال فترة دراستهم على جرثومة اللستريا في مرضى السرطان . كما كانت مقاربة للنتائج التي حصلت عليها الباحثة الليلة عام (2000) حيث كانت العزلة الوحيدة في دراستها حساسة لهذا المضاد الحيوي ومقاومة للـ Ampicillin نتيجة لامتلاكها لانزيم β-lactamase .وهذا ما يؤكد على اهمية استخدام المـضادين الحيـويين Ampicillin و Gentamycin كاختيار اول في علاج هذه الاصابة حيث ذكر الباحثان Edwards وBouchier عام (1991) ان الاختيار الاول في علاج حالات التهاب السحايا المسببة بهذه الجراثيم والحالات الحاصـلة فـي حـديثي الـولادة والمجهولة المسبب هو Ampicillin و Gentamycin معا.

كما ان نتائجنا كانت متقاربة نوعا ما مع نتائج الباحثين Feresu وJones (1988) فـي الحـساسية للمضاد الحيوي Neomycin وهو من مجموعة Aminoglycoside التي تثبط عملية بناء البـروتين فـي الجراثيم. ومن النتائج الموضحة في الجدول (2) نلاحظ ظهور عدد من العـزلات المقاومـة للمـضادات الحيوية Tetracyclin, Erythromycin, Oxytetracyclin, Trimethoprim وNitrofurantion وهـذا اتفق مع نتائج الباحثين Facinelli وجماعته عام (1991) وCharpentier وجماعتـه عـام (1995) فـي ظهور عزلات مقاومة بنسب مختلفة للمضادات المذكورة.

يمكن ان يعزى ظهور العزلات المقاومة للمضادات الحيوية الى قابلية اكتساب الجـراثيم للعوامـل الوراثية المتحركة مثل البلازميدات المتحركة واقتـران الجينـات القـافزة Conjugative transposons (Chrpentier et al., 1995).

المصادر العربية

الليلة، ايناس عبد المنعم حسين, 2000. عزل وتشخيص الجراثيم المسببة لالتهاب الجيوب الانفية . رسالة ماجستير، جامعة الموصل.

الطائي، ميادة احمد و الراوي، اميرة محمود, 2005. عزل وتشخيص جراثيم *Listeria monocytogenes* من حالات سريرية مختلفة. مجلة علوم الرافدين. مقبول للنشر

المصادر الاجنبية

Abdulla, B.A., 1994. *Listeria monocytogenes* from vaginal swabs in Mosul. J.Ed. Sci. Vol. 17: pp.44-52.

Baker, F.J., Breach, M.R., Leichton, I. and Taylor, P., 1980. Medical Microbiological Techniques. Butter worth and Co. (publishers) Ltd , London. pp.153-290.

Bauer, A.W., Kirby, W.A.M., Sherris, J.S. and Turk, M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol. 44: pp.493-496.

Brooks, G.F., Butel, J.S. and Morse, S.A., 1998. Jawetz , Melinck and Adeler'g Medical Microbiology. 21st. ed.: Middle East Edition. Beirut, Lebanon. pp.139-962.

Chakraborty, T., 1999. Molecular and cell biological aspects of infection by *Listeria monocytogenes* .Immunobiology. 201: pp.155-163.

Charpentier, E., Gerbaud, G., Jacquet, C., Rocourt, J. and Courvalin, 1995. Incidence of antibiotic resistance in Listeria spp. J. Infect. Dis 172: pp.277-281.

Christensen, G.D., Simpson, W.A., Bison, A.L. and Beachey, E.H., 1982. Adherence of slime producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. Infect. Immun. 37 : pp.318-326.

Clark, E.E., Wesley, I., Fiedler, F., Promadej, N. and Kathariou, S., 2000. Absence of serotype-specific surface antigen and altered teichoic acid glycosylation among epidemic-associated strains of *Listeria monocytogenes*. J. Clin. Micribiol. 38: pp.3856-3859.

Collee, J.G., Franser, A.G., Marmion, B.P. and Sinmons, A., 1996. Mackie and Maccartney Practical Medical Microbiology". 4th. ed. Churchill, Livingstone, London. pp.309-913.

Cruckshank, R., Dnguid, T.P., Marmion, B.P. and Swain, R.H.A., 1975. Medical Microbiology. Vol. II. 12th ed. Churchill, Livingstone. England. 587 p.

Dramsi, S., Biswas, I., Maguin, E., Braun, L., Mastroen. P. and Cossart, P., 1995. Entry of *Listeria monocytogenes* into hepatocytes requires the expresion of InlB, a surface protein of the internalin multigene family. Mol. Microbiol. 16: pp.251-261.

Edwards, C.R.W. and Bouchier, I.A.D., 1991. Davidson's Principles and Practice of Medicine a Text Book for Students and Doctors. 16 th. ed. Churchill, Livingstone, Medical Division of Longman Group. UK. pp.883-956.

Facinelli, B., Giovanetti, E., Varaldo, P.E., Casolari, P. and Fabio, U., 1991. Antibiotic resistance in food- borne Listeria. Lancet 338: 1272 p.

Fanos, V. and Dall`Agnola, A., 1999. Antibiotics in neonatal infections: a review Drugs. 58: pp.405-427.

Feresu, S.B. and Jones, D., 1988. Taxonomic studies on Brochothrix, Erysipelothrix, Listeria and a typical Lactobacilli. J.Gen. Microbiol. 134: pp.1165-1183 .

Gaillard, J.L., Berche, P., Frehel, C., Gouin, E. and Cossart, P., 1991. Entry of *Listeria monocytogenes* into cells is mediated by internalin, are peat protein reminiscent of surface antigens from gram-positive cocci. Cell. 65: pp.1127-1141.

Hayward, N.J., 1941. Rapid identification of *Cl. Welchii* by the Nagler reaction. Br. Med. J. 1: pp.811-814 .

Ofek, I., Courtney, H.S., Schifferti, D.M. and Beachey, E.H., 1986. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay for adherence of bacteria to animal cells. J. Clin. Microbiol. 24: pp.512-516 .

Prescott, J.F. and Baggot, J.D., 1993. Antimicrobial therapy in veterinary medicine, 2nd ed., Iowa State University press Iowa. 237 p.

Ralovich, B., Emody, L. and Mero, E., 1972. Biological properties of virulent and weakly virulent *Listeria monocytogenes* strains. Acta. Microbiol. Acad. Sci. Hung. 19: pp.323-326 .

Safdar, A. and Armastrong, D., 2003. Antimicrobial Activities againnst 84 *Listeria monocytogenes* Isolates from patents with systemic listeriosis at a compreheneive Cancer center (1955-1997). J. Clin. Microbiol. 41: pp.483-485 .

Talaro, K. and Talaro, A., 1996. Foundations in Microbiology Basic Principles. 2nd. ed., Mirror Higher Education Group, USA.Inc. 295 p.

Tortora, G.J., Funke, B.R. and Case, C.L., 1998. Microbiology. An Introduduction. 6th ed. Benjamin/Cummings Publishing Company. California, USA. 975 p.

Van-Den Bosch, J.F., Ver boom–Sohmer, U., Postma, P., de Graaff, J. and MacLaren, D.M., 1980. Mannose sensitive and mannose resistant adherence to human uroepithelial cells and urinary virulence of *Escherichia coli*, Infect. Immun. 29: pp.233-296.

Vandepitte, J., Engback, K., Piot, P. and Heuck, C.C., 1991. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. WHO, Geneva Organization's Publications .

Virella, G., 1997. Microbiology and Infectious Diseases. The National Medical Series for Independent Study. 3rd ed. Williams and Wilkins Awaverly company. Paris. 879 p.