التحري عن جرثومة *Listeria monocytogenes* في الحليب الخام والمستورد في مدينة بغداد*

علي حسن أحمد الشمري نجم هادي نجم

كلية الطب البيطري / جامعة بغداد

تأريخ التسليم27/5/2009

تأريخ القبول28/9/2009

الخلاصة

أستهدفت الدراسة التحري عن وجود جرثومة *Listeria monocytogenes* في الحليب الخام والمستورد (Ultra Heat Treatment (UHT من خلال جمع نماذج عشوائية من مناطق مختلفة من مدينة بغداد و اطرافها ومن حيوانات مختلفة (المجترات الكبيرة والصغيرة) بواقع 68 أنموذجا (53 أنموذج حليب خام و 15 أنموذج حليب مستورد) جمعت أسبوعيا للمدة من تشرين الاول 2007 ولغاية كانون الثاني 2008 وعوملت النماذج حسب البروتوكولات القياسية المقرة دوليا في عزل وتشخيص هذه الجراثيم .

أظهرت النتائج عزل 10 عزلات من 68 أنموذجا (14.7%) بواقع 6 عزلات من نماذج الحليب الخام (11.3%) و 4 عزلات من نماذج حليب UHT (26.7%) حيث ظهرت فروقات معنوية مهمة ($P\leq0.05$) في نسب عزل الجرثومة من الحليب الخام لأناث الحيوانات المحلية (الأبقار , الجاموس,الأغنام,الماعز) لاسيما من منطقة الفضيلية حيث كانت أعلى نسبة عزل في شهر تشرين الثاني (2007) اذ بلغت 16.7% (3عزلات من 18 أنموذجا)لاسيما من الحليب الخام للنعاج بواقع عزلة واحدة من ثلاث نماذج (33.4%) تلتها الابقار ثم الجاموس ولم تعزل من أناث حليب الماعز , في حين كانت نسبة عزل الجرثومة من الحليب المستورد من خارج العراق والمعامل بالحرارة الفائقة (حليب UHT: 140مْ لمدة ثانيتين) (26.7%)وبواقع عزلتين من 5 نماذج حليب أبيض (40%) وعزلتين من 10 نماذج حليب مطعم بالشوكولاتة (20%).

نستنتج من هذه الدراسة تلوث نماذج الحليب الخام والمستورد من خارج العراق بجراثيم *Listeria monocytogenes* في مدينة بغداد وأطرافها .

*بحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الاول.

Detection of *Listeria monocytogenes* in Raw and Imported UHT Milk in Baghdad

Ali H.A. AL-Shamary Najim H. Najim

College of Vet. Med. / Baghdad University

Summary

In order to investigate the presence of *Listeria monocytogenes* in raw and imported Ultra Heat Treatment (UHT) milk, this study was done by random collection of samples from different areas in Baghdad province and

its surroundings from different animals (small and large ruminants) as 68 total samples (53 raw milk samples and 15 imported UHT samples)collected weekly from October 2007 till January 2008, and processed according to standard protocols of *Listeria monocytogenes* .

The results showed reisolation of 10 isolates from 68 samples (14.7%) as 6 isolated from raw milk samples (11.3%) and 4 isolated from UHT milk samples (26.7%) ,these revealed significant differences ($P \leq 0.05$) in isolated percentage of *Listeria monocytogenes* from raw milk of Cows, Buffalos , Ewes and Does especially from Al-Fadhyllea region , the highest isolation percentage was in November (2007) as 16.7%(3 isolates from 18 samples) especially from ewes as 1 isolate from 3 samples (33.4%) followed by cows and buffaloes with non-isolates from Does .

The percentage of isolation from UHT milk samples was 26.7% as 2 isolates from white UHT milk samples (40%) and 2 isolates from 10 chocolate UHT milk samples (20%).

We concluded from this study by contamination of raw and imported UHT milk samples by *Listeria monocytogenes* in Baghdad.

لمقدمة

تعد جراثيم *Listeria monocytogenes* من وجهة نظر العديد من الباحثين و المختصين في هذا المجال لاسيما المختصين في مجال علوم الاحياء المجهرية للأغذية أنموذجاً مهماً للدراسة (3,2,1) من حيث كونها جراثيم ذات معيشة خلوية اختيارية لها متطلبات نمو خاصة حيث يمكنها وحال دخولها جسم المضيف حثّ خلاياه على التهامها والاختباء داخلها لتجنب عوامل الدفاع الوقائية المتمثلة بالحواجز الطبيعية والاضداد ونظام المتممة وبروتينات وقائية اخرى، وتعد هذه الجراثيم طفيليات انتهازية مشتركة وخطرة على صحة الانسان والحيوان وتسبب العديد من المشاكل الصحية تحدث بشكل انفرادي بنسب قليلة ومتزايدة حيث تنتقل بشكل رئيس عن طريق السلسلة الغذائية مسببة وفيات مرتفعة (20–30)% لاسيما في الاشخاص الاكثر عرضة للإصابة بمرض Listeriosis وهم النساء الحوامل وحديثو الولادة والمسنين والاشخاص ذوو المناعة الضعيفة او غير السوية ويمكن للمرض ان يحدث ويتطور في الاشخاص الطبيعيين تحت ظروف معينة وغالباً بهيأة التهاب المعدة والامعاء الحمي (FGI) Febrile Gastroenteritisحيث ان هذه الجراثيم تسبب نمو نمط جديد من التسمم الغذائي يطلق عليه الآن بـ (Non-Classical, Notifiable (Emerging Foodborne Disease) (5,4).

يعد الحليب الخام والجبن الطري والمثلجات اللبنية واللبن من اخطر الاغذية تلوثاً بالجرثومة (6) وهذا يعتمد على مصدر الجرثومة وقابلية الحليب او نوع المنتج على حفظ الجرثومة وحدوث التلوث بعد المعاملات المختلفة للحليب ومنتجاته او نتيجة التلوث المشترك حيث يكون مصدر الجرثومة هو الحيوان المنتج للحليب نفسه بصورة مباشرة او غير مباشرة (المحيط والحلابين ومصادر اخرى) اما قابلية ونوع المنتج على حفظ الجرثومة فيعتمد على ما يحتويه من عوامل حيوية تساعد على نمو او تثبيط الجرثومة مثل الاس الهيدروجيني ودرجة الملوحة وفعالية الماء a_W ومدى تعرضه للمعاملات الحرارية الكفوءة مثل البسترة وغيرها لاسيما الاجبان الطرية المصنعة من الحليب الخام والمنتجات الاخرى غير المبسترة والتي يجب ان تتجنبها النساء الحوامل (7).

كشفت العديد من الدراسات عن وجود جراثيم *L.monocytogenes* بأعداد واطئة جداً في الحليب الخام للأبقار تقدر بأقل من خلية لستيرية واحدة لكل مل منه في الحالات الطبيعية نتيجة التلوث من المحيط الخارجي الى اعداد هائلة تقدر بـ (2000–5000) خلية لستيرية لكل مل منه في حالات التهاب الضرع اللستيري النادر الحدوث؛ في حين تواجد اللستيريا في الحليب الخام للنعاج والماعز يحدث عند انتقالها من الدم الى الغد اللبنية نتيجة تجرثم الدم اللستيري تحت السريري اكثر من التلوث من المحيط الخارجي ربما بسبب طبيعة الاختلافات الفسلجية والوراثية بين الفصائل المختلفة للتلوث او الخمج اللستيري (8).

مثل ما هو معروف لاسيما في البلدان ذات الانتاج الفائض من الحليب الخام فإن احسن وسيلة لحفظه هو تحويله الى منتجات اخرى ومنها الاجبان لاسيما الانواع الطرية لكن بعد اجراء البسترة الكفوءة له لكن هناك تباين في الطرائق الحرارية لمعاملة الحليب في مختلف دول العالم

حيث تفضل بعض المناطق لاسيما الريفية منها عدم معاملته بالحرارة وبعض المعامل تفضل معاملته بدرجات حرارية عالية ولمدة قصيرة جداً بالثواني لغرض المحافظة على الصفات الحسية له (Organoleptic) مثل النكهة Flavor (الطعم والرائحة) ولذلك أدت هذه المعاملات لاسيما البسترة السريعة والحرارة الفائقة الى عدم تحطم بعض الجراثيم المرضية بشكل كامل في الحليب مثل السالمونيلا و *L.monocytogenes* و الاشريكيا القولونية *E.coli* O157:H7 مما أدى الى بقائها فيه ومن ثم استخدام مكوناته لغرض اصلاح بنيتها الداخلية لاسيما عند حفظه بالتبريد وعند نقله لمسافات طويلة (10,9).

ولهذا هدفت هذه الدراسة عن التحري عن وجود جرثومة *Listeria monocytogenes* في الحليب الخام والمستورد من خارج العراق في مدينة بغداد وأطرافها.

المواد وطرائق العمل

أجري البحث في مختبر الالبان / قسم الصحة العامة البيطرية /كلية الطب البيطري/جامعة بغداد للمدة من تشرين الاول(2007) لغاية نهاية كانون الثاني (2008)نماذج الحليب الخام (Raw Milk) شملت معظمها (53 أنموذجاً) على نماذج حليب ابقار مع جاموس مع بعض النماذج من حليب الاغنام (النعاج) والماعز حيث جمعت من مناطق مختلفة من مدينة بغداد من حاويات الحليب(Milk-Cans) بشكل جمعي(Random Pooled Samples) وذلك لكون أعداد الجرثومة في الحليب بشكل عام قليلة وقد لا توجد في النموذج المأخوذ مباشرة من الضرع لحيوان الحليب الواحد الا في حالات نادرة من التهاب الضرع اللستيري، حجم النموذج المأخوذ (250–500) مل جمعت بوساطة اكياس نايلون خاصة معقمة ونظيفة وغير نفاذة سعة (0.5 – 1) لتر وتم نقلها مبردة الى المختبر بوساطة حافظ النماذج حيث خلطت بشكل جيد بوساطة الهاضم وبعدها تم تبريدها بوضعها داخل الثلاجة بدرجة حرارة 4 م° لمدة (2–3) أيام وهي اهم خطوات عزل الجرثومة (Critical-Step) وذلك لكونها محبة للبرودة حيث يتم خداع الجرثومة واخراجها من داخل الخلايا في النموذج لكونها جراثيم داخل خلوية حيث لا نتمكن من عزلها الا بوساطة هذه الطريقة وهذا ما تم ملاحظته في معظم البحوث والدراسات في العالم لاسيما في كندا (11) حيث زرعت بطريقة غير مباشرة باستخدام وسط انعاش انتقائي للجرثومة هو Trypton Soya Yeast Extract Broth (TSB-YE) حيث اخذ نموذج ممثل للنموذج الاصلي بمقدار (10–15) مل [الزرع غير المباشر بوساطة التبريد الاولي واوساط الانعاش السائلة ثم اكار متخصص تفريقي صباغي وبتخفيف 10:1 للنموذج مشابه للبروتوكولات القياسية الدولية Standardized-Protocols ومنها بروتوكولات FDA و FSIS المتبعة في امريكا وبروتوكول ISO المتبع في اوربا (3)] .نماذج الحليب المعامل بالحرارة الفائقة (15 أنموذجاً) والمستورد من خارج العراق (Imported-UHT-Tetrapacks) وبنوعين الاول ابيض كامل الدسم والثاني مطعم بالشوكولاتة (Chocolate Milk) حيث عوملت النماذج بالتبريد وبعدها زرعت بالطريقة غير المباشرة وكما مر سابقاً علماً ان حجم النموذج الواحد كان بين (250–1000) مل وجمعت النماذج (العبوات) من الاسواق المحلية ومن مناطق مختلفة من مدينة بغداد, بعدها تم الزرع على وسط Polymyxin Acriflavin Lethium Chloride Ceftazidime (PALCAM) Aesculin Mannitol Agar (أكار أنتقائي تفريقي صباغي حديث لعزل وتفريق جراثيم *Listeria monocytogenes*) حيث خلط المستنبت الزرعي المخفف بوساطة الهاضمة والمزروع سابقا بدرجة حرارة 30مْ لمدة 48 ساعة ثم نقل 1مل منه وزرع على وسط PALCAM حيث تم الزرع لكل نموذج على طبقين الاول باستخدام انشوطة بلاتينية معقمة (بطريقة التخفيف) والثاني باستخدام الناشر الزجاجي (L-spreader) ونقل الزرع (الاطباق) الى الحاضنة بدرجة حرارة 35م° لمدة 48 ساعة,حيث ظهرت مستعمرات الزرع على وسط PALCAM بهيئة ملساء محدبة دائرية او مسننة ذات حواف كاملة بقطر (0.5–2) ملم وذات لون رمادي–مخضر (Grayish-Green) تحيطها هالة سوداء (Black-Halo) وذات مركز منخفض (Sunken-Center) وبعد 5 أيام من الزرع يتغير لونها الى بنية–سوداء (Brown-Black) ويزداد حجم الهالة السوداء حولها مع مركز اسود (Black-Center) بقطر (3–5) ملم بهيأة تشبه عيون الثور او السمك (Bull or Fish-Eyes) مع تحول لون الوسط الصباغي الى احمر غامق (Cherry-Red) , وأجريت بعض الاختبارات الكيموحيوية مثل تخمر سكريات الرامنوز والزايلوز مع أختبار تلازن حبيبات اللاتكس وأختبار تأكيد النوع Oxoid Biochemical Identification System for L.mono. (O.B.I.S.MONO) حسب تعليمات الشركة المجهزة (Oxoidi/UK)وتم تحليل النتائج أحصائيا بأستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز SPSS(12) والمتضمن أستخدام استخدام الجداول المتداخلة (Cross Tabulation) المتضمنة اختبار مربع كاي (Chi-Square) لدراسة تطابق الاعداد المشاهدة.

النتائج

أظهرت النتائج عزل وتشخيص جراثيم *Listeria monocytogenes* من نماذج الحليب الخام والمستورد وبواقع 10 عزلات من 68 (14.7%) أنموذجا:6 عزلات من 53 أنموذجا حليب خام (11.3%) و 4 عزلات من 15 أنموذجا حليب UHT (26.7%) وظهرت فروقات معنوية مهمة($P\leq o.o5$) في نسب عزل الجرثومة من الحليب الخام لاناث الحيوانات المحلية لاسيما النعاج تلتها الابقار والجاموس ولاسيما في منطقة الفضيلية كما هي موضحة من خلال الجداول الاتية:

جدول (1) عزل جراثيم *L.monocytogenes* من نماذج الحليب الخام حسب أشهر الدراسة.

الأشهر والسنة	الحليب الخام (Raw-Milk)		
	عدد النماذج	عدد العزلات الموجبة *L.monocytogenes*	نسبة العزل %
تشرين الأول 2007	12	1	^{B}8.333
تشرين الثاني 2007	18	* 3	^{A}16.666
كانون الأول 2007	10	1	^{AB}10
كانون الثاني 2008	13	1	^{B}7.692
Total	53	6	42.691

A,B,AB : الحروف المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية بين نسب العزل المختلفة في نماذج الحليب الخام حسب الأشهر بشكل عمودي وتحت مستوى احتمالية ($P\leq0.05$).

* كانت أعلى نسبة عزل خلال شهر تشرين الثاني 2007.

جدول (2) عزل جراثيم *L.monocytogenes* من نماذج الحليب الخام حسب المنطقة.

المنطقة Region	الحليب الخام (Raw-Milk)		
	عدد النماذج	عدد العزلات الموجبة *L.monocytogenes*	نسبة العزل %
الفضيلية	18	* 3	^{A}16.666
أبي غريب	15	1	^{B}6.666
قرية المعامل	5	لا يوجد	^{C}0.00
حي العامل	6	1	^{A}16.666
اليوسفية	5	1	^{A}20
المحمودية	4	لا يوجد	^{C}0.00
Total	53	6	^{C}59.998

A,B,C : الحروف المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية مهمة بين نسب العزل من المناطق المختلفة في نماذج الحليب الخام بشكل عمودي وتحت مستوى احتمالية ($P\leq0.05$).

*كانت أعلى نسبة عزل من منطقة الفضيلية.

جدول (3) عزل جراثيم *L.monocytogenes* من نماذج الحليب الخام حسب نوع الحيوان.

نوع الحيوان	الحليب الخام (Raw-Milk)		
	عدد النماذج	عدد العزلات الموجبة *L.monocytogenes*	نسبة العزل %
أبقار	34	4	^{B} 11.764
جاموس	13	1	^{B} 7.692
نعاج	3	* 1	^{A} 33.333
ماعز	3	لا يوجد	^{C} 0.00
Total	53	6	52.789

A,B,C : الحروف المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية مهمة بين نسب العزل من الحيوانات المختلفة لنماذج الحليب الخام بشكل عمودي وتحت مستوى احتمالية($P\leq0.01$).

* كانت أعلى نسبة عزل من الحليب الخام للنعاج المحلية.

جدول (4) عزل جراثيم *L.monocytogenes* من نماذج الحليب المستورد خلال شهر كانون الأول 2007 .

نوع النموذج	حليب مستورد (Imported UHT Tetrapacks)		
	عدد النماذج	عدد العزلات الموجبة *L.monocytogenes*	نسبة العزل %
حليب أبيض	5	* 2	^{A} 40
حليب مطعم بالشوكولاتة	10	2	^{B} 20
Total	15	4	60

A,B : الحروف المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية بين نسب العزل المختلفة لنماذج الحليب المستورد UHT خلال شهر كانون الأول 2007 بشكل عمودي وتحت مستوى احتمالية($P\leq0.01$).

* كانت أعلى نسبة عزل من الحليب المستورد الأبيض (غير المطعم).

المناقشة

بشكل عام هناك العديد من العوامل المتداخلة والمعقدة (المباشرة وغير المباشرة) والتي لها الدور الرئيس في توزيع وانتشار الجرثومة في البيئة او المحيط الموجودة فيه الحيوانات لاسيما ما يتعلق بمصطلح (Good Management Practice) فطبيعة البيئة الموجودة فيها الحيوانات مع طرائق التربية والعناية الصحية بها في العراق لاسيما بعد عام 1990 رديئة(Poor-Hygienic Environment) لاسيما ما يتعلق بنوع العلف المقدم للحيوان او المياه الملوثة اضافة الى الحشرات وما تؤديه من دور مهم في نقل ونشر الجرثومة في الطبيعة اضافة الى التلوث الواسع في العراق لاسيما بعد عام 2003 وفي مختلف المناطق هذا كله أدى الى ظهور امراض قديمة والأخطر من هذه اندلاع وظهور امراض جديدة طارئة (Emerging New Diseases) لم تكن موجودة في العراق او خليط من هذه المشاكل ، ومن هذه الامراض المهمة والخطرة على صحة الانسان والحيوان هو Listeriosis ؛ حسب ما تشير اليه معظم البحوث بكون الجرثومة اكثر تأقلماً في انسجة الاغنام والابقار من الماعز والجاموس

(اختلافات فسلجية ووراثية وغيرها) الا ان الاصابة تكون اخطر في الاغنام والماعز بشكلها الحاد والقاتل من الابقار والجاموس والتي تكون فيها الاصابة مزمنة وغالباً ما تشفى الحيوانات طبيعياً وتصبح حاملة للجرثومة وان الاصابة في الجاموس تكون نادرة الحدوث حيث غالباً ما تحمل هذه الحيوانات اللستيريا في انسجتها بدون اعراض سريرية واضحة لكن ومن خلال النتائج التي توصلنا اليها كشفت الدراسة عن وجود فروقات معنوية مهمة في نسب عزل الجرثومة من الحليب الخام ومشتقاته لأناث الحيوانات المحلية وبشكل خاص من حليب النعاج ثم الابقار والجاموس, وربما يعزى السبب في عزل الجرثومة بشكل شائع من الجاموس المحلي الى طبيعة تركيب حليبه حيث ان هذه الفصيلة لها نسبة دهن مرتفعة في حليبها تصل الى 8% أي زيادة مقدار (Phospholipids) ومكونات اخرى تفضلها اللستيريا لكونها تمتلك منظومات Phospholipases المهمة ليس فقط في الضراوة وانما لتغذية الجرثومة نفسها كما ان فصيلة الجاموس تمتاز عن فصيلة الابقار بكونها لها القدرة الوراثية على تحويل الكاروتينات المتناولة مع العلف الى فيتامين–A بعكس الابقار (لاتمتلك هذه الخاصية) وبالتالي توفير مستمر لهذا العنصر الحيوي للجرثومة (لغرض معيشتها ونموها) في حين كان حليب الابقار الخام هو المستودع الرئيس للجرثومة نتيجة كونه اكثر شيوعاً وتداولاً من حليب الجاموس، اما سبب عزل الجرثومة بنسبة اعلى من حليب النعاج الخام ربما يعود الى التأقلم الوراثي (Tropism) للجرثومة في أنسجة الاغنام لاسيما منطقة كيس الصفراء (Gall-bladder) او وجود عوامل نمو حيوية (Biofactors) في حليب النعاج تفضلها اللستيريا لاسيما نوع الدهون المفسفرة لاسيما Sphingolipids (1) والى قلة النماذج المجموعة والى نوع البيئة المتحركة الموجودة فيها الاغنام حيث كما نعرف ان مربي الاغنام يعتمدون على نظام الرعي المفتوح أي تنقل الحيوانات من مكان الى آخر اثناء الرعي بشكل اكثر من الابقار والجاموس والتي غالباً ما تربى في حظائر مغلقة, اما ما يتعلق بعدم عزل الجرثومة من حليب اناث الماعز, فقد يعزى الى سببين متداخلين الاول دور الصدفة (Coincidence) في عزل الجرثومة أي كون الحيوانات المجموع منها النماذج غير حاملة او غير مصابة بالجرثومة والثاني يعود الى طبيعة التركيب الكيميائي لحليبها والذي يمتاز عن حليب الابقار بكونه يحتوي على مناسيب مرتفعة من الاحماض الدهنية قصيرة السلسلة المشبعة لاسيما الـ Butyric و Capric و Caproic و Caprylic والتي لها دور مثبط وقاتل للميكروبات وحسب ما اشارت اليه معظم البحوث في هذا المجال او عوامل اخرى (1, 13) ؛ بالنسبة لعزل الجرثومة من الحليب المعامل بالحرارة الفائقةوالمستورد من خارج العراق (Imported-UHT-Tetrapacks) (140 م° لمدة 2 ثانية) وهو الاخطر في دراستنا فهناك حزمة من الاسباب المتداخلة منها طبيعة المنتوج ونوع المعاملات الحرارية التي تعرض لها (من درجة حرارة ووقت معين) اضافة الى طرائق حفظه لاسيما عند نقله لمسافات طويلة بشكل مبرد لها دور حيوي في انعاش الخلايا المتحطمة جزئياً (Resuscitation) اضافة الى عيوب الوعاء الحافظ لهذه المنتوجات مثل تلوث بطانته الداخلية او احتوائه على ثقوب صغيرة تسهل من تلوث المنتوج عند احتكاكه مع مواد ملوثة باللستيريا لاسيما التلوث المشترك عند حفظه في الثلاجة او اثناء نقله بالمركبات المعدة لهذا الغرض أي ان السبب الاكثر واقعية هو تلوث منتوج UHT بعد المعاملات الحرارية(Post–Processing Contamination) لاسيما عند اضافة العامل الحيوي المهم في انعاش نمو هذه الجرثومة الى هذه المنتجات وهو الكاكاو (6).

نستنتج من هذه الدراسة بتلوث نماذج الحليب الخام والمستورد من خارج العراق(حليب UHT) بجراثيم *Listeria monocytogenes* .

المصادر

1- Robinson, R.K.; Batt, C.A. and Patel, P.D. (2000). Encyclopedia of Food Microbiology, San Diego, CA.

2- Todar, K. (2005). *Listeria monocytogenes* and Listeriosis. Todar's Online Textbook of Bacteriology. 2nd ed., Wisconsin University, USA.

3- Dongyou Liu (2008). Handbook of *Listeria monocytogenes*. 1st ed., CRC Press, USA.

4- Quinn, P.J.; Carter, M.E.; Markey, B. and Carter, G.R. (2004). Clinical Veterinary Microbiology. 2nd ed., Mosby Int., USA.

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

6- Robinson, R.K. (2002). Handbook of Dairy Microbiology. 3rd ed., Wiley Interscience Comp., USA.

7- Anon. (1996). Preventing foodborne illness : Listeriosis. Atlanta, Georgia. Center for Disease Control , CDC-Website, USA.

8- Radostits, O.M.; Henderson, J.A.; Blood, D.C.; Arundel, J.T. and Gay, C.C. (2007). Veterinary Medicine : A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats, and Horses. 11th ed., Bailliere, Tindall Comp. UK.

9- IFST. (1998). Food Safety and Cheese. The Institute of Food Science and Technology, Current Hot Topics. Food. Sci. Technol. Today, 12(2): 117-122.

10- NDC. (2000). Dairy facts and figures. National Dairy Council, London.

11- Pagotto, F.; Daley, E.; Farber, J. and Warburton, D. (2001). Isolation of *Listeria monocytogenes* from all food and environmental samples. MFHPB-30, Health products and food branch, HPB Method, Ottawa, Canada.

12- SPSS. (2008). Statistical Package for the Social Sciences, Version 16 and 17 (Win/Mac/Linux), User's guide SPSS Inc., Chicago III, USA. Website http://www.spss.com/.

13- Wikipedia encyclopedia (2008). *Listeria monocytogenes*