----- مجلة علوم الرافدين، المجلد17، العدد9، خاص بعلوم الحياة، ص 27-39، 2006-----

عزل وتشخيص جرثومة *Listeria monocytogenes* من حالات سريرية مختلفة

ميادة احمد الطائي اميرة محمود الراوي
قسم علوم الحياة
كلية العلوم
جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2005/1/5 ؛ تاريخ القبول 2005/6/13)

الملخص

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص جرثومة *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) من مسحات عنق الرحم والمشيمة لنساء لديهن حالات إجهاض وولادة مبكرة. بلغ عدد عزلات الجرثومة 20 عزلة من مجموع 150 عزلة جرثومية أي بنسبة عزل كلي قدرها (13.3%). توزعت بين 17 عزلة من مجموع 132 عزلة من عنق الرحم بنسبة (12.87%) و3 عزلات من مجموع 18 عزلة جرثومية من المشيمة بنسبة (16.7%) .ولوحظ أن 9 عزلات من مجموع 20 عزلة كانت ضمن حالات الاجهاض أي بنسبة 45% فيما بلغت النسبة 55% لحالات الولادة المبكرة بواقع 11 عزلة من مجموع 20 عزلة جرثومية. كما تم عزل الجرثومة ايضا من عينات سائل النخاع الشوكي Cerebro-Spinal Fluid (CSF) لحديثي الولادة مشكوك بإصابتهم بالتهاب السحايا القيحي وبواقع عزلتين من مجموع 26 عزلة جرثومية بنسبة (7.69%) .كما جرى وضع مقترح لمفتاح تشخيصي لجنس *Listeria* والنوع *L. monocytogenes* مساهمة في تسهيل دراسة الجرثومة صعبة العزل والتشخيص .

Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Various Clinical Cases

Mayada A. Al-Taee Amera M. Al-Rawi
Department of Biology
College of Science
Mosul University

ABSTRACT

The study involved the isolation and identification of the bacterium *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) from (132) placental and cervical swabs collected

from women with abortions and preterm labour. The isolation of this bacterium were 20 out of 150 bacterial isolates (13.3%). The 20 isolates distributed into 17 isolates from Cervix (12.87%) out of 132 and 3 isolates out of 18 placental isolates (16.7%).

The results showed that (9) out of the 20 (45%) isolated were from abortion and 11 isolates out of 20 (55%) were from preterm labour. 2 isolates out of 26 isolates (7.69%) of the bacterium were also obtained from Cerbero-Spinal Fluid (CSF) of neonates suspectedly infected with purulent meningitis . A Key for the identification of the genus *Listeria* and the species *L.monocytogenes* is suggested in this study .

المقدمة

تسبب جرثومة *L. monocytogenes* إصابات تعرف باللستريوسز Listeriosis وتحدث الاصابة عادة عن طريق تناول الاطعمة الملوثة إذ تنتقل جراثيم *L. monocytogenes* المبتلعة مع الغذاء وتصل الى اجهزة الجسم المختلفة عن طريق مجرى الدم مسببة إصابات جهازية أكثر من الاصابات المعوية ويبدو التهاب السحايا Meningitis المظهر السريري الاكثر حدوثاً في إصابات اللستريوسز (Havell et al., 1999) .

بالرغم من وجود عدة انواع تعود لجنس اللستريا إلا أن النوع *L. monocytogenes* فقط يسبب إصابات الانسان بداء اللستريوسز (Chand and Sadana, 1999; Cummins et al., 1994) .

وقد اشار الباحث Silver عام (1998) الى أن النساء الحوامل يكّن معرضات لخطر الاصابة باللستريوسز وإن الاصابة يمكن أن تنتقل الى الرحم وتقود الى مضاعفات شديدة منها التهاب الغشاء السلّي Amnionitis والولادة المبكرة Preterm labour وحالات الاجهاض التلقائي او الولادات الميتة ويمكن أن تنتقل الاصابة الى الجنين وتؤدي الى ولادة اطفال مصابين باللستريوسز .

لذا ارتأت الدراسة التحري عن وجود جرثومة *L. monocytogenes* في حالات الاجهاض والولادة المبكرة عند الحوامل والتهاب السحايا عند حديثي الولادة وتحديد نسب الاصابة بالجرثومة ودراسة العلاقة بين تكرار عزل الجرثومة مع حالات الاجهاض والولادة المبكرة ،واعتماداً على نتائج هذه الدراسة والدراسات الاخرى وضع مقترح لمفتاح تشخيص الجرثومة استناداً الى صفاتها المظهرية والفسلجية والكيموحيوية .

المواد وطرق العمل

جمعت (102) مسحة عنق الرحم الجافة من نساء حوامل لديهن حالات اجهاض أو ولادة مبكرة تراوحت اعمارهن مابين 18–45 سنة مع وجود أعراض سريرية لالتهاب المهبل وعنق الرحم مشخصة من قبل طبيبات العيادات الاستشارية لمستشفيات مدينة الموصل للفترة مابين بداية ايلول 2002 ولغاية

نهاية آذار 2003. حيث أخذت المسحة الجافة من عنق الرحم بعد إدخال منظار إلى منطقة المهبل للوصول الى عنق الرحم (عبدالله وآخرون، 2002) ، وباستخدام ماسحة قطنية معقمة وضعت بعد ذلك في الوسط الناقل Stuart's Transport medium . كما جمعت (30) مسحة للمشيمة بعد الولادة مباشرة بإستخدام ماسحة قطنية معقمة أخذت مسحة من عدة مناطق للمشيمة وضعت بعد ذلك في الوسط الناقل المذكور في اعلاه . كما تم الحصول على 41 عينة من راسب سائل النخاع الشوكي Cerebro-Spinal Fluid (CSF) للاطفال حديثي الولادة مشكوك باصابتهم بالتهاب السحايا لقحت مباشرة على الوسط الغذائي اكار دم الاغنام Sheep blood agar بواقع طبقين لكل عينة .

لقح طبقين من كل مسحة حضن أحدهما في 37 م لمدة 24 ساعة ، باستخدام Candle jar لتوفير 5 % من غاز CO_2 والاخر في 4 م لمدة 5-7 أيام مع ملاحظة ظهور النمو يومياً . اما عينات CSF الملقحة على وسط اكار دم الاغنام فقد حضنت بنفس الظروف السابقة .

شخصت جرثومة *L. monocytogenes* إعتماداً على قابليتها على النمو على الاوساط الاختيارية المتضمنة وسط Oxford Listeria Selective agar ووسط Tryptose Agar الحاوي على تليورات البوتاسيوم بتركيز 0.1% وتحليلها للدم من نوع بيتا على وسط أكار دم الاغنام (Koneman et al., 1997; Collee et al., 1996) كما حضرت مسحات من المستعمرات المشكوك بها وصبغت بصبغة كرام وفحصت مجهرياً لملاحظة اشكال الخلايا وطبيعة اصطباغها كذلك أختبرت قدرة الجرثومة على الحركة في 25 م (Koneman et al., 1997) وأجريت مجموعة من الاختبارات التشخيصية الاضافية للجرثومة تضمنت إختبار انتاج انزيمات الكتاليز و الاوكسديز واليوريز والجلاتينيز والهيبيوريكيز ومجموعة اختبارات IMVC وقابليتها على تحليل الاسكولين وتخميرها لعدد من السكريات واختبار أكسدة وتخمر الكلوكوز وفحص Christie-Atkins-Munch-Perterson (CAMP) .

واعتمد على عدد من الاختبارات الشكلية والكيموحيوية والفسلجية في وضع مقترح لمفتاح تشخيصي للجرثومة يسهل من تشخيصها .

النتائج والمناقشة

احتلت جرثومة *L.monocytogenes* نسبة (13.3%) من المجموع الكلي للعزلات البالغة (150) عزلة حيث بلغت (20) عزلة توزعت بين (17) عزلة عنق رحم وبنسبة قدرها (12.87%) من مجموع (132) عزلة جرثومية من عينات عنق الرحم و(3) عزلات من المشيمة من مجموع (18) عينة مشيمية اظهرت مزارع موجبة أي بنسبة قدرها (16.7%) فيما لم يظهر أي نمو في الـ (12) عينة الباقية.وقد بلغت نسبة عزل الجرثومة من سائل النخاع الشوكي لحديثي الولادة (7.69%) أي بواقع عزلتين من مجموع (26) مزرعة جرثومية موجبة للـ CSF .

تبين نتائج نسبة عزل الجرثومة من عنق الرحم في دراستنا انها اعلى من النتائج التي حصلت عليها الباحثة (Abdulla, 1994) حيث كانت نسبة عزل الجرثومة 5 % في دراستها. كما كانت نسبة عزل الجرثومة من نفس الموقع في دراستنا أعلى ايضاً من نسبة عزلها في الدراسة التي قامت بها (السليم ، 2001) حيث شكلت نسبة 6.4% من مجموع العزلات البالغة 220 عزلة من نساء حوامل مصابات بالتهاب المهبل الجرثومي . كما ان نسبة عزل الجرثومة من عنق الرحم في دراستنا كانت اعلى من نسبة العزل التي وجدها الباحثون (Mylonakis et al., 2002) حيث بلغت 9 % من مجموع 11 حالة للاصابة باللستريوسز من الحوامل أما نسبة عزل الجرثومة من المشيمة في دراستنا والبالغة 16.7% فكانت متقاربة مع نتائج دراستهم حيث بلغت نسبة عزلها من المشيمة في دراستهم 18 % اذ تمكنوا من عزل الجرثومة من الدم والمهبل والمشيمة والسائل الامنيوني وسائل النخاع الشوكي والادرار.

وفي دراسة محلية للباحثة (Muslih Addin, 2001) تمكنت من عزل الجرثومة من المشيمة والسائل السُلّي لنساء حوامل لديهن حالات ولادة مبكرة بنسبة 2.9 % من مجموع 35 عزلة جرثومية حصلت عليها وهذه النسبة هي اقل بكثير من النتائج التي حصلنا عليها في دراستنا.

ان وجود جرثومة *L. monocytogenes* بصورة واسعة في الطبيعة وتلويثها لمختلف انواع الاغذية وطبيعتها الانتهازية في احداث الاصابة في النساء الحوامل ضعيفات المناعة يؤدي الى رفع نسبة عزلها حيث وجد الباحث Shinomiya وجماعته عام (1986) ان المناعة الخلوية للحيوانات المختبرية تضعف اثناء الحمل وهذا يؤدي الى زيادة الحساسية للاصابة باللستريوسز، حيث تلعب الخلايا التائية T-cells الدور الرئيسي في مقاومة الاصابة باللستريوسز. كما ان ارتفاع نسبة عزلها من عينات المشيمة يرجع الى قابلية الجرثومة على التغلب على دفاعات المضيف وعبورها للحواجز الثلاثة للمضيف وهي حواجز الامعاء والدم والمشيمة عن طريق قدرتها على النمو والتكاثر داخل خلايا المضيف (Cossart, 1998) . وقد اكد الباحث Parkash وجماعته عام (1998) ان قابلية جرثومة *L. monocytogenes* على الانتقال من خلية الى اخرى تعطي فكرة كيفية حدوث الاصابة عبر المشيمة لحديثي الولادة مقارنة مع مسببات تجرثم الدم الاخرى عند الامهات.

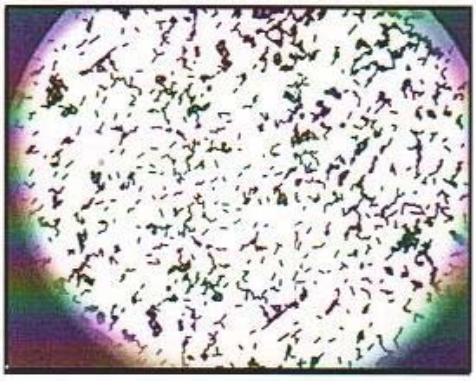
وظهرت نسبة عزل الجرثومة من حالات التهاب السحايا اقل مما وجده الباحث Dawson وجماعته عام (1999) حيث بلغت في دراستهم 13% بواقع 11 حالة من مجموع 87 اصابة بالالتهاب وكان تسلسل الجرثومة الثالث بين مسببات التهاب السحايا بعد جرثومتي Group B *Streptococcus* و *Escherichia coli* . وقد اشار الباحثون (Segreti and Harris, 1996) الى ان جرثومة *L. monocytogenes* هي من المسببات الشائعة لالتهاب السحايا القيحي عند الاطفال حديثي الولادة.

ان نسبة حدوث الاجهاض مع تواجد الجرثومة بلغت 45% اما نسبة حدوث الولادة المبكرة فبلغت 55% بواقع 9 عزلات من النساء المجهضات و 11 عزلة من الولادات المبكرة . ان نسبة حدوث الولادة

المبكرة في دراستنا كانت مقاربة لنتائج (Mylonakis et al., 2002) حيث بلغت (54.5%) أي بواقع (6) حالات ولادة مبكرة من مجموع 11 حالة ولادة لنساء مصابات باللستريوسز في دراستهم, فيما تسببت الجرثومة في اجهاض 18.2% منهم وكان هناك 3 حالات ولادة طبيعية مع اكمال فترة الحمل بنسبة 27.3%. كما شخص الباحث Lallemand وجماعته عام (1992) اصابات اللستريوسز بنسبة 3.1% ضمن حالات الإجهاض التلقائي خلال الفترة الثانية من الحمل.

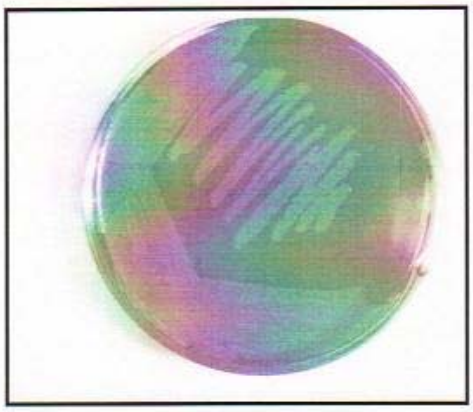
كما أشار الباحث Jobe عام (2001) الى ان الاصابة الجرثومية الحادة ولاسيما بجرثومة *L. monocytogenes* التي تعد من الجراثيم العالية الضراوة والاصابات الجرثومية الصاعدة Ascending infections الاخرى للاغشية الجنينية والسائل السلّي وحتى المشيمة والجنين تؤدي الى احداث الولادة المبكرة والاصابة العامة المؤلمة للمولود.

بينت نتائج الفحص المجهري للمسحات المحضرة من المستعمرات المشكوك فيها والناميـة على وسط اكار دم الاغنام مع إحداث تحلل كامل للدم ظهور الجرثومة بشكل عصوي مكور مرتبة بشكل ازواج موجبة لصبغة كرام وتظهر بعض الاحيان مرتبة باشكال مختلفة مثل Y و || و T و V كما في الصورة (1) .



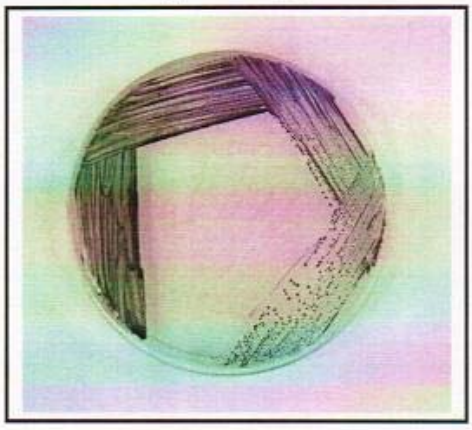
الصورة 1: الشكل المجهري لجرثومة *L. monocytogenes* قوة تكبير 1000x

توضح الصورة (2) نمو جرثومة *L. monocytogenes* على الوسط الاختياري Oxford Listeria Selective Agar حيث تظهر مستعمراتها بلون اخضر مائل الى البني وتحول لون الوسط الى اللون الاسود نتيجة تحلل الاسكولين (Curtis and Lee, 1995) .



الصورة 2: نمو جرثومة *L. monocytogenes* على الوسط الاختياري Oxford Listeria Selective medium .

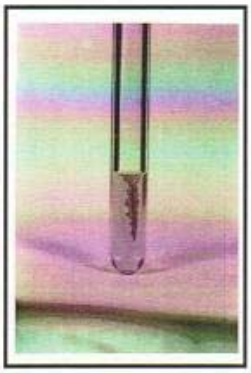
وتستطيع الجرثومة النمو على وسط Tryptose Agar الحاوي على مادة تيليورات البوتاسيوم وتظهر مستعمراتها سوداء نتيجة اختزالها لهذه المادة وانتاج مركب اسود يترسب في الخلايا (Finegold and Martin, 1982) وكما موضح في الصورة (3) .



الصورة 3: نمو جرثومة *L. monocytogenes* على الوسط الاختياري Tryptose Agar with PT

اعتمد فحص الحركة في 25 °م أيضا كفحص تشخيصي للجرثومة حيث تمتلك هذه الجرثومة القابلية على الحركة بهذه الدرجة ولا تمتلك القابلية على الحركة في 37 °م ، وتوضح الصورة (4) حركة جرثومة *L. monocytogenes* التي تشبه شجرة الميلاد بشكل مقلوب كما ذكر ذلك الباحثان Finegold

Martin و عـام (1982) . واشـار الباحـث Peel وجماعتـه عـام (1988) الـى ان جـراثيم *L. monocytogenes* المنماة في 20°م تنتج وتجمع بروتين الفلاجلين Flagellin على سطح الخليـة بكميـة كبيرة بينما الجراثيم المنماة في 37م يكون انتاجها لهذا البروتين قليلاً جـداً أي انها لا تمتلك الاسواط لذا فهي غيـر متحركة في 37°م .



الصورة 4: شكل حركة جرثومة *L. monocytogenes* التي تشبه شجرة عيد الميلاد المقلوبة في 25°م

يوضح الجدول (1) الاختبارات الكيموحيوية المعتمدة في تشخيص الجرثومة والتي جاءت مطابقة لما ورد في (Koneman et al., 1997; Collee et al., 1996) . حيث تمكنت العزلات من تحليل الاسكولين مائيا وانتاج الكلوكوز والاسكولتين Esculetin الذي يتفاعل بدوره مع ايونات الحديديك Fe^{+3} الموجودة في الوسط وينتج معقدا اسود اللون يغير لون الوسط الغذائي ويعطي مؤشراً على ايجابية الفحص.

الجدول 1: الاختبارات الكيموحيوية التشخيصية لجرثومة *L. monocytogenes*

الاختبارات	النتيجة
- النمو على وسط Oxford Listeria Selective Agar	+
- النمو على وسط Tryptose agar with PT	+
- انزيم الكاتليز	+
- انزيم الاوكسديز	-
- انزيم اليوريز	-
- انزيم الجيلاتنيز	-
- تحلل الاسكولين	+
- مجموعة اختبارات IMViC	
- الاندول I	-
- المثيل الاحمر MR	+
- فوكس بروسكور VP	+
- استهلاك السترات C	-
- انتاج غاز H_2S	-
- اكسدة وتخمير سكر الكلوكوز	*O/F
- تحلل الهيبوريت	+
- تخمير السكريات	
- كلوكوز	+
- سالسين	+
- تريهالوز	+
- زايلوز	-
- مانيتول	-
- مالتوز	+
- فحص CAMP بوجود *Staphylococcus aureus* **	+

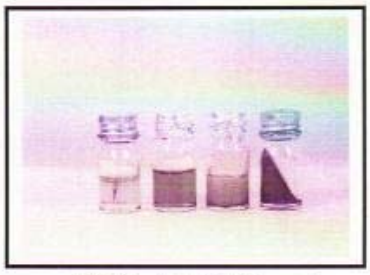
Oxidative = o*
Fermentative = F *

Christie-Atkins-Munch-Peterson = CAMP **

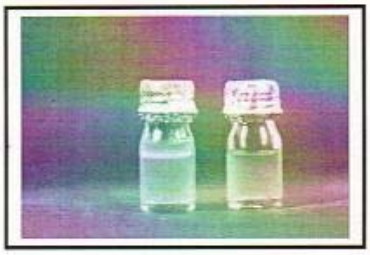
وتوضح الصورة (5) النتيجة الموجبة للفحص . كما لم تتمكن العزلات من انتاج الانـدول مـن الحامض الاميني التربتوفان لعدم امتلاكها لانزيم التربتوفانيز ولم تنتج غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S ولم تتمكن من استهلاك السترات لكنها اعطت نتيجة موجبة لفحص المثيل الاحمر كما اظهرت نتيجة موجبـة لفحص فوكس بروسكور عند استخدام طريقة باريت Barritt's method في الكشف وهذا مطـابق لمـا ذكره (Wilson et al., 1983; Cowan et al., 1974) وتوضح الصورة (6) نتيجة اختبارات IMVC . واعتمد ايضا فحص اكسدة وتخمير سكر الكلوكوز في التشخيص اذ ان هذا الفحص يعطـي خـصوصية عالية لقدرة الجراثيم على استهلاك سكر الكلوكوز بالاكسدة او التخمير أي بوجود او بدون وجود O_2 وقد ابدت الجرثومة نتيجة موجبة لاكسدة وتخمير السكر وتوضح الصورة (7) نتيجة فحص اكسدة وتخميـر الكلوكوز . كما اعطت هذه الجرثومة نتيجة موجبة لاختبار تحلل الهبيوريـت نظـرا لامتلاكهـا انـزيم الهيبوريكيز الذي يعمل على تحليل مادة هبيوريت الصوديوم التي تم الكشف عن تحللها بالطريقتين البطيئة والسريعة وتوضح الصور (8) و (9) النتيجة الموجبة للفحص بالطريقتين البطيئة والسريعة على التوالي. كما اختبرت قابلية العزلات على تخمير مجموعة من السكريات الاحادية بانتاج حامض بدون غاز حيـث اعطت نتيجة موجبة لتخمير الكلوكوز والسالسين والتريهالوز والمالتوز وسالبة لتخمير سكري المـانيتول والزايلوز.

الصورة 5: فحص تحلل الاسكولين .

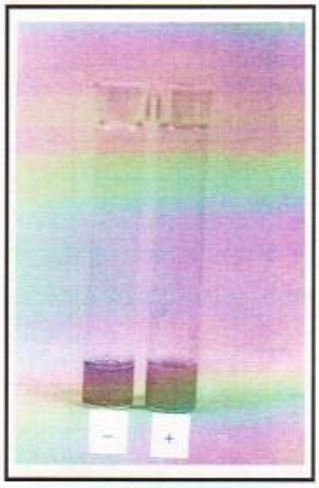
فضلاً عن ذلـك اظهـرت جميـع العـزلات نتيجـة موجبـة لفحـص CAMP مـع جـراثيم *Staphylococcus aureus* ويعد هذا الفحص من الفحوصات التشخيصية المهمة للتفريق بين انواع جنس اللستريا حيث اشار الباحثون (Koneman et al., 1997) ان فحص CAMP يستخدم لتمييـز نـوع *L. monocytogenes* عن الانواع الاخرى.



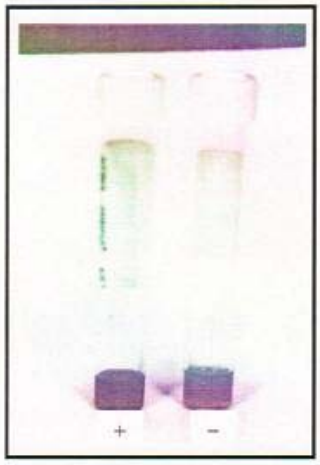
الصورة 6:إختبارات الـ IMViC .



الصورة 7:فحص أكسدة وتخمير الكلوكوز



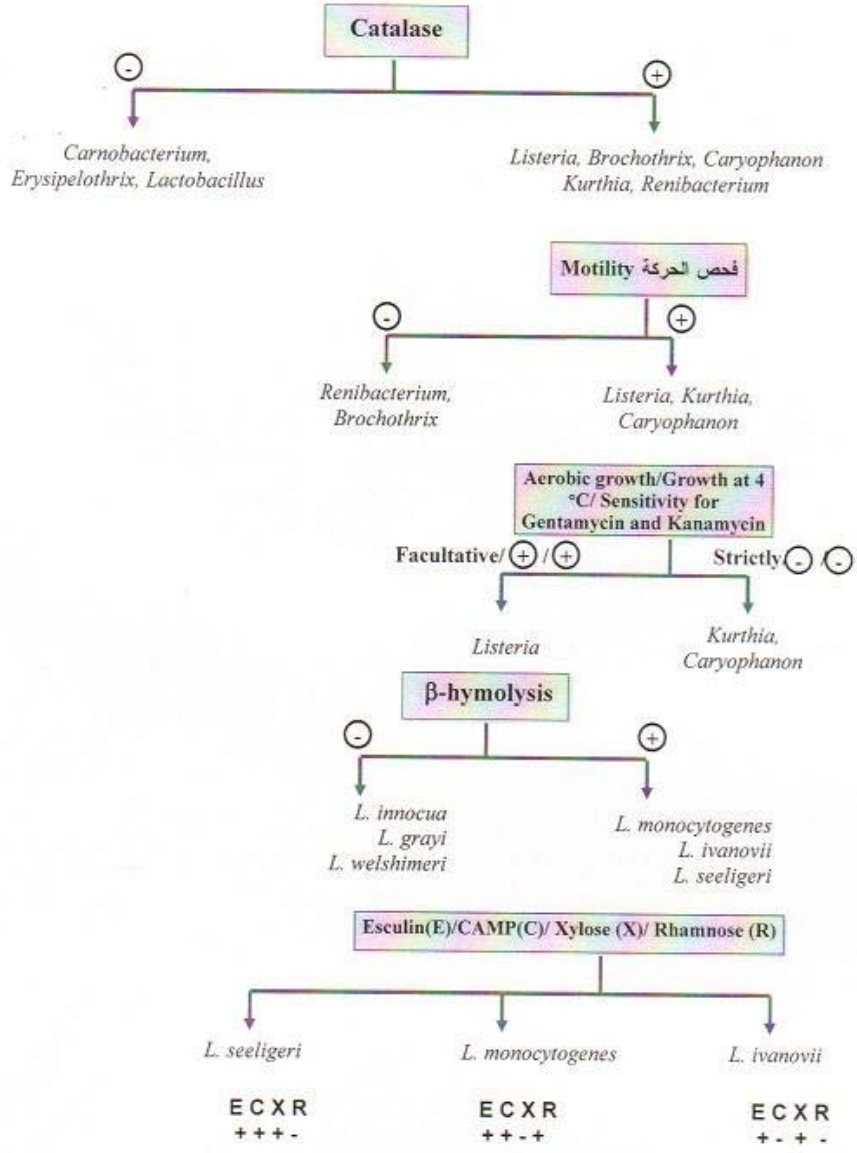
الصورة 8:فحص تحلل الهيبوريت الطريقة البطيئة



الصورة 9:فحص تحلل الهيبوريت الطريقة السريعة

واعتمد على مجموعة من الاختبارات التشخيصية الشكلية والفسلجية والكيموحيوية في إيجاد مفتاح تشخيصي سريع وسهل الوصول إلى تشخيص الجرثومة التي تعود إلى المجموعة التاسعة عشرة مجموعة العصيات المنتظمة غير المكونة للسبورات الموجبة لصبغة كرام (Holt et al., 1994) ، إذ تظهر بشكل عصيات منتظمة مع قليل من تعدد الشكل Peliomorphism وكما موضح في الشكل (6).

جراثيم عصوية موجبة لصبغة كرام غير مكونة للسبورات



الشكل 6:المفتاح التشخيصي المقترح لجنس *Listeria* والنوع *L. monocytogenes*

المصـــادر العربية

السليم، سحر لقمان حامد، 2001. دراسة لبعض الجراثيم المسببة لالتهـــاب المهبـــل الجرثـــومي ودور المايكوبلازما التناسلية وجرثومة *Streptococcus agalactiae* (GBS) في احداث التمزق المبكـــر للاغشية الجنينية والولادة المبكرة عند الحوامل. رسالة ماجستير، جامعة الموصل .

عبدالله، باسمة أحمد، الدرزي، نادية عباس و السماك، اسراء غانم حازم، 2002. انتشار وتوزيع الاحياء المجهرية في التهاب عنق الرحم والمهبل في محافظة نينوى. مجلة علوم الرافدين، 1: خاص بعلوم الحياة، ص37-48 .

المصـــادر الاجنبية

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

Chand, P. and Sadana, J.R., 1999. Out break of *Listeria ivanovii* abortion in sheep in India. Vet. Rec. 145: pp.83-84.

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.309-313.

Cossart, P., 1998. Interactions of the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* with mammalian cells: Bacterial factors, cellular ligands and signaling. Folia. Microbiol. 43: pp.291-303.

Cowan, S.T., Holt, J.G., Liston, J., Murray, R.G.E., Niven, C.F., Ravin, A.W. and Stanier, R.Y., 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th. ed. The Williams and Wilkins Company/ Baltimore. pp.593-596.

Cummins, A.J., Felding, A.K. and McLauchlin, J., 1994. *Listeria ivanovii* infection in patient with AIDS. J. Infect. 28 : pp.89-91.

Curtis, G.D.W. and Lee, W.H., 1995. Culture media and methods for the isolation of *Listeria monocytogenes* . Int. J. Food Microbiol. 26: pp.1-13 .

Dawson, K.G., Emerson, J.C. and Burns, J.L., 1999. Fifteen years of experience with bacterial meningitis. Pediatr. Infect. Dis. J. 18: pp.816-822.

Finegold, S.M. and Martin, W.J., 1982. Diagnostic Microbiology . TC. V. Mosby. USA. 635 p.

Havell, E.A., Beretich, G.R. and Carter, P.B., 1999. The mucosal phase of *Listeria* infection. Immunobiology, 201: pp.164-177 .

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and William, S.T., 1994. Board of Trustes of Bergy's Manual of Determination Bacteriology. 9th ed., Williams and Wilkins publications. London, New York., pp.565-570.

Jobe, A.H., 2001. Glucocorticoids, inflammation and the perinatal lung. Semin. Neonatal 6: pp.331-342.

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, Philadelphia, USA. pp.664-668, 1330.

Lallemand, A.V., Gaillard, D.A., Paradis, P.H. and Chippaux, C.G., 1992. Fetal listeriosis during the second trimester of gestation . Pediatr. Pathol. 12 : pp.665-671 .

Muslih Addin, S., 2001. Correlation of Chorioamnionitis with Amniotic fluid markers and prematurity in Dohuk province . MSc. Thesis , College of Medicine, Dohuk University .

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: pp.260-269.

Parkash, V., Morotti, R.A., Joshi , V., Cartun, R., Rauch, C.A. and West, A.B., 1998. Immunohishochemical detection of listeria antigens in the placenta in perinatal listeriosis . Int. J. Gynecol. Pathol. 17 : pp.343-350 .

Peel, M., Donachie, W. and Shaw, A., 1988. Temperature – dependent expression of flagella of *Listeria monocytogenes* studied by electron microcscopy, SDS– PAGE and western blotting . J. Gen. Microbiol. 134: pp.2171-2178 .

Segreti, J. and Harris, A., 1996. Acute bacterial meningitis , Infect , Dis. Clin. 10: pp.797-809 .

Shinomiya, N., Tsuru, S., Taniguch, M., Fugisawa, H., Ikeda, M., Zinnaka, Y. and Nomoto, K., 1986. Immune protective mechanisms during pregnancy. I. Cellmediated immunity against *Listeria monocytogenes* in pregnant mice. Immunology. 59: pp.373-378 .

Silver, H.M., 1998. Listeriosis during pregnancy. Obstet. Gynecol. Surv. 53 : pp.737-740

Wilson, G., Miles, A. and Parker, M.T., 1983. Topley and wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. 7 th. ed. Vol. 2. Edward Arnold publishers, Ltd. pp.53-57.