

# بررسی مقایسه‌ای ایمونوفلوئورسانس غیرمستقیم بر روی سرم مادر و کشت مایع آمنیوتیک در موارد سقط جنین و زایمان زودرس

محمدکریم رحیمی<sup>۱\*</sup>، ژایلا امیرخانی<sup>۱</sup>، پروانه عدیمی<sup>۱</sup>، لیدا موسوی<sup>۱</sup>، زهرا طیبی<sup>۱</sup>، مژگان معصومی<sup>۱</sup>،  
طاہره فضلعلی کاظمی<sup>۱</sup>، زینب محمودی<sup>۲</sup>، پریش ابراهیمی<sup>۲</sup>، نپتون نیکانجام<sup>۲</sup>، شیده پور خلیلی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، بیمارستان امیرالمومنین، تهران-ایران  
<sup>۲</sup> مربی، گروه ایمنی شناسی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، تهران-ایران

## چکیده

**سابقه و هدف:** لیستریا مونوسیتوزن یکی از عوامل سقط، زایمان زودرس، سپتی سمی و مننژیت نوزادان است. در این مطالعه تعیین فراوانی

ابتلا به عفونت لیستریامونوسیتوزن و مقایسه دو روش ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم و کشت مایع آمنیوتیک در تشخیص این باکتری می باشد.

**مواد و روش ها:** این پژوهش، یک مطالعه تحلیلی از نوع ارزیابی تست‌های آزمایشگاهی است. در این مطالعه، سرم مادران به روش ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم از نظر آنتی‌بادی مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این، از محصولات جنین سقط شده یا زایمان زودرس (مایع آمنیوتیک و یا تکه‌ای از جفت) نمونه برداری و کشت داده شد.

**یافته‌ها:** در این مطالعه، از ۵۱۸ مورد از مادرانی که مورد مطالعه قرار گرفتند. ۲۹ مورد (۵/۵۹٪) زایمان زودرس، ۱۲۵ مورد (۲۴/۱٪) سقط تکراری و ۳۶۴ مورد (۷۰/۳۲٪) سقط برای اولین بار اتفاق افتاده بود. در ۶ مورد (۱/۱۵٪) در تست ایمونوفلوئورسانس غیرمستقیم، تیترا بالای آنتی‌بادی ۸۰۰/۱ سانتی گراد برضد لیستریامونوسیتوزن نشان داده شد و در ۵ مورد (۰/۹۶٪) کلونی‌های لیستریا در محیط‌های کشت انتخابی، شناسایی شدند.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های فوق نشان می‌دهد که تست ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم ابتلای به عفونت لیستریامونوسیتوزن را مطرح می‌کند، اما باید به روش کشت در محیط‌های انتخابی تأیید گردد. با شروع درمان ضد میکروبی امکان پیشگیری از وقوع سقط جنین و عوارض حاملگی وجود دارد، لذا انجام تست فوق در مادران پیشنهاد می‌شود. احتمالاً تیتراهای سرمی پایین مربوط به عفونت‌های قبلی یا عفونت توسط باکتری‌هایی با واکنش متقابل با لیستریامونوسیتوزن می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم، لیستریا مونوسیتوزن، سقط جنین، زایمان زودرس

## مقدمه

حیوانات سالم وجود دارد. در برخی از شرایط، بیماری زا شده و موجب بیماری شدید می شود. لیستریوز، اهمیت زیادی در حیوانات علف خوار دارد و ارتباط نزدیکی در میان علوفه و عفونت دیده می شود. تجویز واکسن موجب کاهش شیوع عفونت سالانه در حیوانات می شود (Brug et al., ۲۰۰۸). از میان ۷ گونه شناخته شده لیستریا، تنها گونه لیستریا مونوسیتوزن (*listeria monocytogenes*) در انسان شیوع دارد. این گونه در بسیاری از پستانداران، پرندگان، ماهی‌ها دوزیستان و حشرات وجود دارد، اما ترجیحاً به عنوان یک ارگانسیم ساپروفیت در خاک، رشد و تکثیر می‌کند. لیستریا مونوسیتوزن کاربرد فراوانی برای مطالعه پاسخ ایمنی پستانداران دارد، چون کشت دادن آن، ساده و بی خطر است و موجب یک عفونت قابل پیش بینی در موش آزمایشگاهی می شود. از این مدل عفونت در

لیستریا، یک باسیل کوتاه و گرم مثبت است که در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد، تحرک دارد. گونه‌های جنس لیستریا توزیع وسیعی در طبیعت دارند. از خاک، آب، بقایای گیاهی در حال فساد، علف‌های تازه، فاضلاب، علوفه حیوانات، گوشت تازه و یخ زده مرغ، انواع گوشت‌های تازه و فرآوری شده، شیر پاستوریزه نشده، سبزی‌ها، لاشه‌ی حیوانات سلاخی شده و ناقلین بدون علامت حیوانی و انسانی جداسازی شده است. لیستریامونوسیتوزن در خاک و مدفوع

آدرس نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، دانشکده ی پزشکی، گروه میکروب شناسی

Email: Mohammadkrahimi@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۸/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۷/۰۹

ضد لیستریا شناسایی می‌شوند. در روش های مرسوم قدیمی، تشخیص لیستریا براساس شکل کلونی، تخمیر و ویژگی های همولیتیک بوده است. این روش ها استاندارد طلایی هستند اما ممکن است برای آزمایش کردن مواد غذایی با طول عمر کوتاه و برخی از نیازهای بالینی، کافی نباشد. به همین علت، برخی از روش های سرولوژی اندازه گیری آنتی بادی ها (الایزا و ایمنوفلورئوسانس غیر مستقیم) یا فنون مولکولی (تست PCR یا هیبریدیزاسیون DNA) ساخته شده اند. این تست ها حساسیت برابری با روش های کشت دارند و در مدت ۲۴ ساعت جواب می دهند (Gasnov et al., 2005).

شیوع لیستریوز در جمعیت عمومی ۰/۷ در ۱۰۰۰۰۰ نفر از جمعیت است. اما در خانم‌های باردار در حدود ۱۲ در ۱۰۰۰۰۰ نفر یا در حدود ۱۷ برابر جمعیت عادی است. مادران باردار، نوزادان، سالمندان و بیماران ضعیف یا مبتلایان به نقص ایمنی بیشترین موارد ابتلا را به خود اختصاص می‌دهند (Jose et al., 2001). افزایش گزارش موارد ابتلای به لیستریوز احتمالاً مربوط به تغییرات در تولید غذا به ویژه گسترش زنجیره های سرد و توانایی لیستریا در رشد در دماهای پایین است. لیستریا مونوسیتوزن مسئول عفونت‌های فرصت طلب ترجیحاً در افرادی است که سیستم ایمنی آن‌ها کاهش یافته است، از این افراد، زنان حامله، نوزادان، سالمندان بالاتر از ۶۵ سالگی، مبتلایان به سرطان، دریافت کنندگان پیوند، مبتلایان به ایدز و دریافت کنندگان همودیالیز هستند. افزایش طول عمر و پیشرفت های علم پزشکی موجب می شود تا افرادی که ضعف ایمنی دارند، زنده بمانند و به این ترتیب شیوع لیستریوز افزایش یابد. گسترش صنعت کشاورزی- غذا، استفاده وسیع از سیستم های نگهداری در سرما و تغییر در نیازهای مصرف کنندگان موجب افزایش شانس بروز عفونت های لیستریایی منتقل شونده به توسط غذا شده است (Rocourt et al., 2000).

کشت دادن نمونه بیمار و جداسازی لیستریا، روش انتخابی و استاندارد مرجع در تشخیص بیماری است. اما گاهی دسترسی به نمونه های مناسب برای کشت وجود ندارد، لذا در این مطالعه با توجه به اهمیت عفونت‌های لیستریا مونوسیتوزن در مادران باردار و بروز سقط جنین و زایمان زودرس، بر آن شدیم که روش مناسبی برای تشخیص این عفونت‌ها را در مادران تکثت مشکل است بنابراین، روش های سرولوژی برای تعیین تیتراژ آنتی بادی در تعیین کنیم. با توجه به این که قبل از بروز سقط جنین، تشخیص عفونت به روش سرم مادر، ساده تر و سریع تر هستند، اما آیا این روش‌ها تا چه اندازه می‌توانند

موش برای مطالعه بسیاری از سیتوکین های متفاوت، گیرنده ها و مولکول های تطابق یابنده و عامل استفاده شده است (Pamer., 2004) کسانی که نقص ایمنی وابسته به سلول دارند از قبیل ایدز، لنفوم و پیوند عضو موجب مننژیت، مننگوانسفالیت و به ندرت عفونت‌های موضعی می‌شود. در دوران بار داری می‌تواند، از راه جفت از مادر به جنین منتقل شود. علاوه بر این، امکان انتقال از طریق ترشحات آلوده در هنگام زایمان وجود دارد (Schuchat et al., 1991). گونه لیستریا مونوسیتوزن در انسان و لیستریا ایوانووی (*Listeria ivanovii*) در حیوانات بیماری زا است. لیستریا مونوسیتوزن در شکل انگل اختیاری درون سلولی در بسیاری از بافت ها تهاجم نموده و رشد و تکثیر می کند. نوزادان، مادران باردار، سالمندان و افراد مبتلای به ضعف ایمنی به ویژه در معرض خطر هستند. این بیماری می تواند موجب سقط، نوزاد مرده، سپتی سمی، مننژیت، انسفالیت و احتمالاً مرگ بشود. وجود این باکتری در غذاها و توزیع وسیع آن در محیط و توانایی رشد آن در بسیاری از مواد غذایی موجب گردیده است که کنترل آن مشکل شود (Vasconcelos et al., 2008). در مادران باردار، بروز سپتی سمی و انتشار باکتری‌ها در رحم همراه با انتقال به جنین از ورای جفت می‌باشد. بیماری لیستریوز در بدو تولد یا بیماری گرانولوماتوزیس اینفنتی سپتیکا یک عفونت داخل رحمی است که موجب سقط جنین و یا مرگ نوزاد بلافاصله بعد از زایمان می‌شود. در لیستریوز نوزادی باکتری‌ها در بدو تولد از کانال زایمانی به نوزاد منتقل می‌شوند و ایجاد مننژیت و باکتری می‌کنند (Jacquet et al., 1994). تشخیص لیستریوز بر اساس جداسازی ارگانیزم از کشت خون و یا مایع مغزی نخاعی است. در موارد سقط جنین، مایع آمنیوتیک، بافت جفت، ترشحات واژن، خون و سواب از سطح پوست نوزاد، نمونه‌های مناسبی برای تشخیص هستند. به دست آوردن باکتری از محل‌های غیر استریل مثل واژن و رکتوم ارزش تشخیصی کمتری دارد چون ۵٪ از افراد سالم ممکن است ارگانیزم‌ها را در این محل‌ها داشته باشند. در مواردی که باکتری‌ها در کشت از یک منقطه استریل بدن جدا شوند عفونت مهاجم لیستریا تشخیص داده می‌شود (Picoux et al., 2009). جست و جوی آنتی بادی بر ضد باکتری‌ها و یا برضد لیستریولیزین - O در مطالعات اپیدمیولوژیک و گذشته نگر در تشخیص عفونت‌های لیستریایی استفاده شده است. در تست ایمنوفلورئوسانس غیر مستقیم از طریق مجاور کردن باکتری‌ها با سرم بیمار، آنتی بادی‌های

## Archive of SID

تیتتر سرمی آنتی بادی‌های سیتوژن اندازه‌گیری شد. برای اطمینان یافتن از دقت و صحت انجام کار، هم زمان دو مورد سرم کنترل منفی و سرم کنترل مثبت در شرایط مشابه با انجام تست بر روی سرم مادر، مورد آزمایش قرار گرفتند (Jose et al., 2001). علاوه بر این، در حدود ۰.۵-۱ mL از مایع آمنیوتیک و یا تکه‌ای از جفت با ابعاد تقریبی ۰/۵ × ۰/۵ سانتی متر در بطری‌های استریل حاوی محیط کشت غنی کننده لیستریا (مک براید) وارد شده و برای کشت به آزمایشگاه میکروبی شناسی منتقل گردید. به صورت هم زمان، یک بطری محیط کشت غنی کننده لیستریا (کنترل منفی) و یک بطری محیط کشت که به آن سوش شناخته شده لیستریامونوسیتوزن اضافه شد (کنترل مثبت) انتخاب گردیدند. در آزمایشگاه، بطری‌های فوق به همراه نمونه های سقط جنین برای مدت ۱ تا ۲ هفته در دمای یخچال ۴°C نگهداری شدند و سپس از هر کدام به صورت جداگانه (در حدود ۰/۱CC) بر روی محیط‌های کشت آگار خوندار انتقال داده شد و برای حداقل ۷۲ ساعت در دمای ۳۷°C انکوباسیون گردید (Rocourt et al., 2000). هر یک از پلیت‌های محیط کشت در فواصل ۲۴ ساعت از انکوباتور خارج شده و از نظر تولید کلونی‌های لیستریا مورد مشاهده قرار گرفتند. از موارد مشکوک، اسمیر مستقیم و رنگ آمیزی گرم تهیه شد. در صورت مشاهده باسیل‌ها یا کوکو باسیل‌های گرم مثبت، آزمون‌های دیگری از قبیل تست کاتالاز، تست کمپ، تست بایل-اسکولین و توانایی تحرک در دمای ۲۵°C انجام شد (جدول ۱).

در تشخیص ابتلای به عفونت مفید باشند، سوالی است که باید پاسخ داده شود. در این پژوهش، فراوانی عفونت‌های لیستریا مونوسیتوزن در مادرانی که به علت سقط جنین و زایمان زودرس مراجعه کرده‌اند و حساسیت باکتری‌ها در برابر آنتی بیوتیک، مشخص خواهد شد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش، یک مطالعه تحلیلی از نوع ارزیابی تست‌های آزمایشگاهی است. در این مطالعه، جامعه آماری را خانم‌هایی تشکیل دادند که به علت سقط جنین و یا زایمان زودرس به بیمارستان جواهری مراجعه کرده بودند. تعداد موارد سقط‌های قبلی، بارداری‌ها و زایمان‌های طبیعی، سن مادر، شغل، ابتلای به عفونت‌ها و یا بیماری‌های مهم در جریان بارداری و گروه خونی مادر، ثبت گردید و به عنوان متغیرهای مورد بررسی در این پژوهش در نظر گرفته شد. تعداد ۵۱۸ مورد از مادرانی که در جریان این پژوهش به علت سقط جنین و زایمان زودرس مراجعه کرده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. روش نمونه‌گیری به صورت مستمر از ابتدای تحقیق تا رسیدن حجم نمونه به تعدادی که در این پژوهش پیش بینی شده بود (۵۰۰ مورد) انجام شد. معیار انتخاب نمونه، مادرانی بودند که رضایت به همکاری (دادن نمونه خون و محصولات حاملگی) را داشتند. روش انجام کار، بدین ترتیب بود که از طریق تکمیل کردن پرسش‌نامه‌های مربوط به پرونده بیمار و انجام معاینات لازم، اطلاعات شخصی و پزشکی بیمار تهیه شد. از هر مادر ۵ mL از خون وریدی به روش استریل گرفته شد و سرم آن جداسازی گردید و رقت‌های سرمی ۱/۱۰۰، ۱/۲۰۰، ۱/۴۰۰، و ۱/۸۰۰ تهیه شد. به روش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم،

جدول ۱- تعداد و درصد موارد بارداری (G)، زایمان (P) و سقط جنین (A) در مادران مورد مطالعه

تعداد دفعات سقط (A)	تعداد دفعات بارداری (G)	تعداد دفعات زایمان (P)	تعداد دفعات سقط (A)		تعداد دفعات بارداری (G)		تعداد دفعات زایمان (P)	
			تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
A=۱	G=۱	P=۱	۲۹	۵/۵۹٪	۱۸۹	۳۶/۴۵٪	۲۰۵	۳۹/۵۸٪
A=۲	G=۲	P=۲	۳۶۴	۷۰/۳۱٪	۱۷۳	۳۳٪	۲۲۵	۴۳/۵۸٪
A=۳	G=۳	P=۳	۹۱	۱۷/۵۶٪	۹۹	۱۹/۱۱٪	۷۵	۱۴/۴۷٪
A=۴	G=۴	P=۴	۲۶	۵/۰۱٪	۴۰	۷/۷۳٪	۹	۱/۷۴٪
A=۵	G=۵	P=۵	۶	۱/۱۶٪	۱۷	۳/۲۸٪	۴	۰/۷۷٪

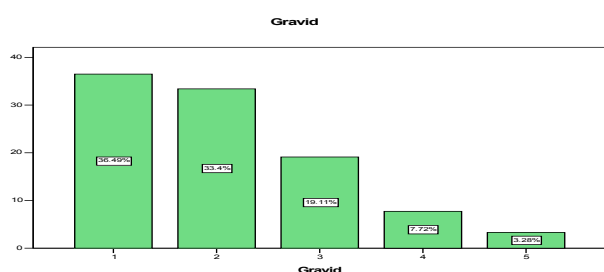
تعداد دفعات سقط (A) از هر یک از بیماران مورد سؤال قرار گرفت و داده‌های حاصل از آن در شکل یک جدول نشان داده شد (جدول ۱). و سابقه ابتلا و یا ابتلای مادر به بیماری‌های مهم در جریان بارداری و یا سابقه انجام جراحی بر روی شکم یا لگن که به نظر می‌رسید در عاقبت بارداری موثر باشند مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). در تست ایمونوفلورسانس غیر مستقیم که بر روی سرم مادران انجام گرفت تیتتر سرمی و بالاتر به عنوان مثبت و تیتترهای سرمی، به عنوان منفی در نظر گرفته شدند. نتیجه تست در ۶ مورد

## یافته‌ها

در این مطالعه ۵۱۸ مادر از گروه‌های سنی ۱۹ تا ۴۲ سالگی با میانگین سنی ۲۹/۸۳ مورد بررسی قرار گرفتند. از این تعداد، ۲۹ مورد، (۵/۵۹٪) به علت زایمان زودرس و ۴۸۹ مورد (۹۴/۴۱٪) به علت سقط مراجعه کرده بودند. مادرانی که جنین خود را سقط کرده بودند در ۳۶۴ مورد (۷۰/۳۱٪) سقط برای اولین بار و تعداد (G) در ۱۲۵ مورد (۲۴/۱٪) سقط تکراری داشتند. تعداد دفعات بارداری (G) تعداد دفعات زایمان (P) و

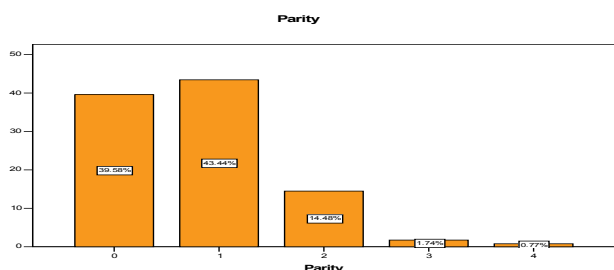
## Archive of SID

استاندارد در نظر گرفته شد. سپس اختصاصیت و حساسیت روش ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم با روش کشت مورد مقایسه قرار گرفت. با توجه به اینکه از میان ۵۱۲ مورد از سقط جنین، تعداد موارد مثبت شدن آنتی بادی ها در تست ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم نسبت به روش کشت، بیشتر بود ( ۶ مورد در مقایسه با ۵ مورد ) لذا حساسیت تست ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم در حدود ۱۰۰٪ است، اما اختصاصی بودن تست فوق نسبت به روش کشت کمتر است و بر اساس آزمون آماری (ROC (Receiver Operating Characteristic برابر ۸۷/۵٪ می باشد. تعداد موارد بارداری در هر یک از مادرانی که به علت سقط جنین مراجعه کرده بودند مورد بررسی قرار گرفت ( شکل ۱).

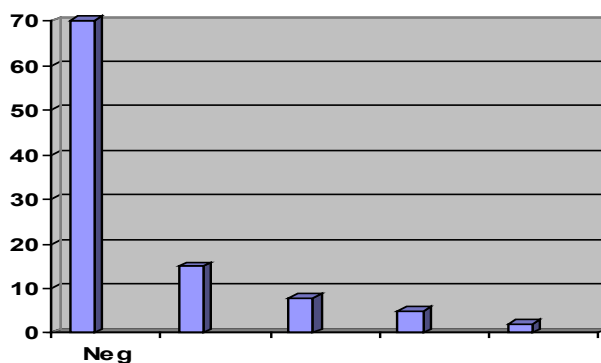


شکل ۱- نمودار تعداد موارد بارداری در مادرانی که به علت سقط جنین مراجعه کردند.

در این آزمون، روش کشت میکروبی به عنوان روش استاندارد در نظر در بیشترین موارد (۳۶/۴۹٪)، بارداری برای بار اول اتفاق افتاده بود و در کمترین موارد (۳/۲۸٪) در مادرانی بود که بارداری برای بار پنجم اتفاق افتاده بود. بارداری بار دوم، سوم و چهارم به ترتیب در ۳۳/۴٪، ۱۹/۱۱ و ۷/۷۲٪ مشاهده گردید. در مقایسه با تعداد موارد بارداری، تعداد زایمان هایی که منجر به تولد نوزاد سالم شده بود، بررسی گردید. در موارد قابل توجهی، بارداری موجب نوزاد سالم نشده بود که در حدود ۳۹/۵۸٪ از مادران مراجعه کننده را تشکیل می داد (شکل ۲).



شکل ۲- نمودار تعداد موارد زایمان در مادرانی که به علت سقط جنین مراجعه کردند.



نمودار ۱- درصد فراوانی تیتراهای سرمی متفاوت آنتی بادی بر ضد لیستریامونوسیتوزن (۱/۵۱٪) مثبت و در ۵۱۲ مورد (۹۸/۸۵٪) منفی بود (نمودار ۱)

جدول ۲- موارد ابتلای مادر به بیماری های مهم در جریان بارداری و یا سابقه انجام جراحی بر روی شکم یا لگن

درصد نسبی	فراوانی	موارد ابتلا به بیماری یا جراحی شکم
۳/۰۹٪	۱۶	پرکاری تیروئید
۳/۸۶٪	۲۰	کم کاری تیروئید
۰/۵۸٪	۳	دیابت
۰/۱۹٪	۱	پرولاکتینمی
۰/۵۸٪	۳	اکلامپسی
۰/۵۸٪	۳	لوپوس اریتماتوسیس تمیک
۱/۹۳٪	۱۰	عفونت ادراری
۰/۹۷٪	۵	واژینیت
۳/۰۹٪	۱۶	جراحی لگن یا شکم
۱/۷۴٪	۹	فیبروم رحم
۰/۳۹٪	۲	رحم دو شاخه
۲/۱۲٪	۱۱	ارتباط خویشاوندی
۸۰/۸۱٪	۴۱۹	منفی
۱۰۰٪	۵۱۸	جمع

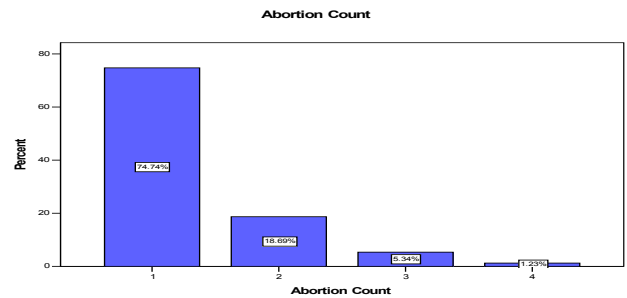
در بررسی نتایج کشت در محیط های انتخابی در ۵ مورد (۰/۹۶٪) کلونی های لیستریا در محیط های کشت انتخابی، شناسایی و به روش های بیوشیمیایی تایید گردیدند. در یک مورد علی رغم این که وجود آنتی بادی های ضد لیستریا مونوسیتوزن در تست ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم با تیترا بالا نشان داده شده بود اما رشد باکتری ها مشاهده نشد. در این آزمون، روش کشت میکروبی به عنوان روش

به ترتیب شیوع، انتروکوک ( ۲۳/۶۱٪ )، استافیلوکوک اپیدرمیدیس ( ۱۹/۴۴٪ )، دیفترئوئید ( ۱۶/۶۷٪ )، کاندیدا آلبیکانس ( ۱۱/۱۱٪ ) و اشیریشیاکولی ( ۹/۷۲٪ ) از نمونه های مایع آمینوتیک در شکل کلونی خالص جداسازی شدند. تست آنتی بیوگرام به روش انتشار در پیرامون دیسک برای هر یک از نمونه های جدا شده لیستریا مونوسیتوزن انجام گرفت. در سه مورد، مقاومت چنددارویی مشاهده گردید. در دو مورد، مقاومت نسبت به آمپی سیلین، پنی سیلین، کوتریموکسازول و سفالوتین و در یک مورد، مقاومت نسبت به آمپی سیلین، پنی سیلین، تتراسیکلین و سفالوتین یافت شد. هر سه نمونه جدا شده لیستریا نسبت به اریترومیسین و آمیکاسین حساس بودند.

### بحث

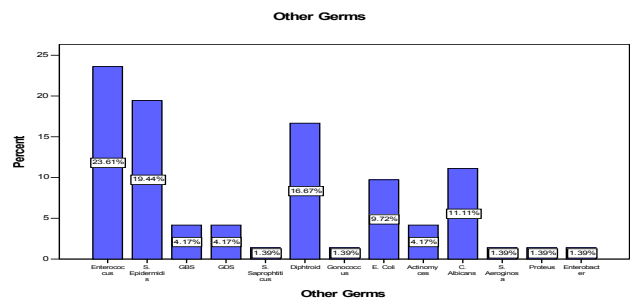
بیماری زایی در حیوان آزمایشگاهی و روش مولتی پلکس PCR از نظر شناسایی ژن های مرتبط با ویروانس مورد بررسی قرار گرفتند (Kaur et al., 2007). تنها سه نمونه ( ۴/۹۱٪ ) به عنوان لیستریا مونوسیتوزن تأیید گردید و از این تعداد، ۲ نمونه ( ۳/۲۷٪ ) تمامی ژن های بیماری زایی را حمل می کردند. در مجموع در موارد سقط های خود به خودی، میزان وقوع عفونت لیستریا مونوسیتوزن در مقایسه با مطالعه ما که در حدود ۰/۹۶٪ یافت شد، بالاتر است. در مطالعه جونز در انگلستان در حد فاصل سال های ۱۹۸۳ تا ۱۹۹۲، تعداد ۲۹ مورد لیستریوز انسانی ثبت شد و شیوع کلی بیماری ۰/۳۵ عفونت به ازای ۱۰۰۰۰۰ نفر از جمعیت در سال گزارش داده شد (Jones et al., 1994). برای سنین کمتر از یک سالگی، شیوع عفونت به میزان ۵/۲ به ازای ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال، برای سنین ۴۹-۲۰ سالگی ۰/۲۹ به ازای ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال و برای سنین بالاتر از ۸۰ سالگی ۰/۶۵ به ازای ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال محاسبه گردید. در خانمها در مجموع ۱۳ مورد ( ۴۵٪ ) در همراهی با بارداری و ۱۶ مورد ( ۵۵٪ ) در خانم های غیر باردار بود و شیوع عفونت همراه با بارداری به میزان ۱/۲۳ به ازای هر ۱۰۰۰۰ نفر (به عبارت دیگر، شیوع ۰/۱۲٪) گزارش شد. در مطالعه جونز، شیوع ۰/۱۲٪ مربوط به مادران باردار بدون در نظر گرفتن موارد منتهی به سقط می باشد این میزان با درصد فراوانی عفونت لیستریا مونوسیتوزن در موارد سقط جنین در مطالعه ما قابل مقایسه می باشد ( ۰/۱۲٪ ) در مقایسه با ۰/۹۶٪. در مطالعه اسکیدمور در ون کوور کانادا در حد فاصل سال های ۱۹۶۵ تا ۱۹۷۹، تعداد ۲۲ مورد از ابتلای به عفونت های لیستریا مونوسیتوزن که در کشت از نمونه ها اثبات شده بود مورد بررسی قرار گرفت (Skidmore et al., 1991). در این مطالعه ۱۷ مورد از ابتلای به عفونت مربوط به بالغین بود. از این تعداد، سه مورد، خانم های باردار

سابقه وقوع یک مورد زایمان طبیعی در ۴۳/۴۴٪، دو مورد زایمان طبیعی در ۱۴/۴۸٪، سه مورد زایمان طبیعی در ۱/۷۴٪ و چهار مورد زایمان طبیعی در ۰/۷۷٪ مشاهده گردید. در هر یک از مادرانی که به علت سقط جنین مراجعه کردند موارد سقط قبلی نیز مورد پرسش قرار گرفت و به تفکیک در یک نمودار ستونی در ( شکل ۳ ) نشان داده شد.



شکل ۳- تعداد موارد سقط جنین در مادران مراجعه کننده به تفکیک آورده شده است، در ۷۴/۷۴٪ موارد، سقط بار اول و در ۲۵/۲۶٪ از موارد، سقط تکراری داشتند.

بیشترین موارد مادران با سقط جنین بار اول مراجعه نموده بودند که ۷۴/۷۴٪ از موارد را تشکیل می دادند. تعداد موارد سقط تکراری در مجموع در ۲۵/۲۶٪ اتفاق افتاده بود، این تعداد در مقایسه با موارد سقط بار اول، به میزان قابل توجهی، کمتر بود. این یافته ها حکایت از این داشت که احتمالاً موارد عفونت های ما در و جنین ترجیحاً موجب سقط بار اول می شوند. در کشت از مایع آمینوتیک، علاوه بر لیستریا مونوسیتوزن، باکتری های دیگری در شکل کلونی های خالص، جداسازی شدند و به عنوان عامل احتمالی سقط جنین در نظر گرفته شدند. این موارد در یک نمودار ستونی در شکل ۴ آورده شد.



شکل ۴- باکتری های دیگری به غیر از لیستریا مونوسیتوزن که در کشت از مایع آمینوتیک جداسازی شدند.



بودند که فقط بیماری شبه آنفلوانزا را نشان دادند و از ۱۴ مورد بقیه، ۹ مورد از نظر سیستم ایمنی، ضعیف بودند و پنج مورد، ظاهراً سیستم ایمنی سالم داشتند. علاوه بر این، در مطالعه فوق، پنج شیرخوار با لیستریوز نوزادی تشخیص داده شدند که دو مورد به بیماری زود هنگام (باکتری) و سه مورد به شکل دیر هنگام (مننژیت) مبتلا شده بودند. در مجموع در این مطالعه، هفت بیمار با پنی‌سیلین به تنهایی، هفت بیمار با آمپی‌سیلین به تنهایی و هشت بیمار با پنی‌سیلین یا آمپی‌سیلین در ترکیب با کانامایسین یا جنتامایسین درمان شدند. در این مطالعه نیز عفونت در مادران باردار (۳ مورد یا ۱۳/۶۴٪)، مبتلایان به ضعف سیستم ایمنی (۹ مورد یا ۴۰/۹۱٪)، نوزادان (۵ مورد یا ۲۲/۷۳٪) یافت شد که در مقایسه با دیگر موارد ابتلا در بالغین با سیستم ایمنی سالم (۵ مورد یا ۲۲/۷۳٪) بالاتر است. علاوه بر این، در مطالعه اسکیدمور نشان داده شد که برخی از موارد عفونت‌های لیستریا مونوسیتوزن که به علت مقاومت‌های چند دارویی است نیاز به درمان‌های ترکیبی (آمپی‌سیلین به علاوه کانامایسین) دارند (Skidmore et al., 1991). لازم به یادآوری است که در مطالعه ما نیز در ۳ مورد، نمونه‌های لیستریا مونوسیتوزن مقاوم به چند دارو یافت شد که نسبت به آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین، مقاوم بودند. شیوع بالاتر عفونت در خانم‌های باردار و نوزادان نیز اهمیت توجه کردن و تشخیص به موقع و درمان در این گروه‌ها را آشکار می‌سازد. در مطالعه جورج ری، موارد گزارش شده ایالات متحده و کانادا مورد باز بینی قرار گرفت و تظاهرات عفونت لیستریوز در مادران باردار و شیر خوار بررسی شد (Ray et al., 1964). یافته‌های حاصل از این نظر داشتن عفونت‌های لیستریا مونوسیتوزن و کشت دادن سریع و تشخیص به موقع آن کاهش یابد. در این مطالعه تاکید شد که درمان با آنتی‌بیوتیک باید با توجه به تست حساسیت ضد میکروبی باشد و درمان استاندارد برای عفونت‌های سپسیس، همواره برای کاهش موارد منتهی به مرگ کافی نیست. علاوه بر این، توصیه شد که اگر در اوایل دوران نوزادی، عفونت لیستریا مورد تردید بود آنتی‌بیوتیک تتراسیکلین تجویز شود (Ray et al., 1964). در مطالعه کمپ بل در اسکاتلند، به منظور بررسی اپیدمیولوژیک لیستریوز، ۱۹۸ مورد ابتلای به لیستریوز بازبینی شد. عفونت مادر جنین، بیشترین موارد (۶۴٪) را به خود اختصاص دادند و از ۱۹۸ مورد عفونت لیستریایی، ۳۳٪ را نوزادان تشکیل دادند (Campbell., 1990). در مطالعه سالمرون انتقال پلاسمید pIP811 از انتروکوک استرپتوکوک به لیستریا نشان داده شد. این پلاسمید، در برابر کلرامفنیکل، اریترومایسین، استرپتومایسین و تتراسیکلین، مقاومت ایجاد می‌کرد

(Salmeron et al., 1990). در مطالعه ای در فرانسه، گونه‌های لیستریای مقاوم نسبت به غلظت‌های بالای کوتریموکسازول که توسط پلاسمید pIP823 کد می‌شد، نشان داده شد. این پلاسمید، قابلیت انتقال به روش کونژوگاسیون در میان لیستریا مونوسیتوزن، انتروکوک فکالیس و علامت در مادرانی نشان داده شد که حوادث متعددی را در جریان حاملگی‌های خود داشتند (Romana et al., 1989). به علت کاهش نظر ابتلای به عفونت توکسوپلاسموز، سیفلیس و غیره بررسی می‌شود ابتلای به عفونت لیستریوز نهفته با استفاده از تست ایمونوفلوروسانس بررسی شود. در مطالعه لارسون در سوئد، ۱۱۰ مورد ابتلای به لیستریوز دفاع ایمنی در مادران باردار، عفونت‌های نهفته، شعله‌ور شده و از طریق ایجاد عفونت در جنین موجب سقط، نوزاد نارس یا اختلالات مادر زادی می‌شوند. در این مادران، از شروع بارداری تشخیص لیستریوز نهفته اهمیت زیادی دارد، چون درمان ضد لیستریا در حفاظت جنین تاثیر بسزایی خواهد داشت. آنتی‌بادی‌های ضد لیستریایی به سهولت توسط تست ایمونوفلوروسانس غیر مستقیم شناسایی می‌شوند. در این مطالعه، از میان ۳۰۹ مادر، ۲۰۷ مادر، مجموعاً ۳۳۴ مورد سقط، ۶۷ مورد زایمان نوزاد نارس، ۷۵ مورد زایمان زودرس و ۴۳ مورد تولد نوزاد ناهنجار را نشان دادند. بارداری‌های جدید این مادران و مادرانی که از نظر تست ایمونوفلوروسانس غیر مستقیم، مثبت بودند توسط درمان با آنتی‌بیوتیک محافظت شدند. به این ترتیب، ۱۵۲ کودک طبیعی متولد شدند و تست ایمونوفلوروسانس لیستریا، منفی شد. با توجه به نتایجی که از این مطالعه به دست آمد، توصیه شد که در شروع هر یک از بارداری‌ها، مشابه با آن چه که از نظر ابتلای به عفونت توکسوپلاسموز، سیفلیس و غیره بررسی می‌شود ابتلای به عفونت لیستریوز نهفته با استفاده از تست ایمونوفلوروسانس بررسی شود. در مطالعه لارسون در سوئد، ۱۱۰ مورد ابتلای به لیستریوز تشخیص داده شد. ۶۴ مورد (۵۸/۱۸٪) در کودکان و بالغین، ۴۶ مورد (۴۱/۸۲٪) در مادران باردار و یا در نوزادان آن‌ها یافت شد (Larsson., 1979). در هشت مورد از مادران باردار، سقط جنین و در سه مورد، زایمان زودرس اتفاق افتاد. از میان ۳۷ نوزادی که زنده متولد شدند ۲۲ مورد، به لیستریوز زود هنگام (گرانولوماتوز اینفنتی سپتیکا) و هشت مورد به لیستریوز دیر هنگام (مننگوانسفالیت) مبتلا شدند. نوزادانی که به لیستریوز زود هنگام مبتلا شده بودند عفونت را از مادر خود کسب نموده بودند، اما نوزادان مبتلای به لیستریوز دیر هنگام، عفونت را از دیگران و ترجیحاً با منشأ بیمارستانی کسب کرده بودند. نتایج این مطالعه، مجدداً اهمیت عفونت لیستریا را در

نفر با یک میزان موارد منتهی به مرگ ۳۳٪ تشخیص داده شد (Einar et al., 2002).

در مجموع، یافته هایی که از مطالعه ما حاصل شد نشان داد که تست ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم روش مناسبی برای نشان دادن عفونت لیستریا مونوسیتوزن با حساسیت ۱۰۰٪ می باشد. اما به لحاظ این که اختصاصیت آن نسبت به روش مرجع (کشت در محیط های انتخابی)، کمتر است، لذا بهتر است در صورت امکان با استفاده از کشت از نمونه بیمار تایید گردد. با تشخیص هرچه سریع تر و شروع به موقع درمان ضد میکروبی امکان پیشگیری از وقوع سقط جنین و عوارض حاملگی وجود دارد لذا انجام تست فوق در مادران پیشنهاد می گردد. احتمالاً فراوانی عفونت لیستریا مونوسیتوزن در خانم های حامله در کشور بالاتر از یافته های مطالعه ما (۱/۱۵٪) می باشد، چون گاهی موارد سقط های غیر عفونی، به خوبی شناسایی نشده و در مطالعه وارد شده اند.

مادران باردار و نوزادان نشان داد. در مطالعه ای که توسط جمشیدی و همکاران در ایران در سال ۲۰۰۹ انجام شد یک گروه از مادران باردار (۲۵۰ مورد) که سابقه سقط جنین های مکرر داشتند و یک گروه از مادران باردار که سابقه بارداری های طبیعی را نشان می دادند (۲۰۰ مورد) مورد مطالعه قرار گرفتند

نمونه های سرم از تمامی مادران به روش ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم از نظر آنتی بادی بر ضد عفونت لیستریا مونوسیتوزن اندازه گیری شد. تعداد ۸۹ مورد (۳۵/۶٪) از گروه تست و ۳۵ مورد (۱۷/۵٪) از گروه کنترل از نظر آنتی بادی بر ضد لیستریا مونوسیتوزن مثبت شدند (Jamshidi et al., 2009). در این مطالعه پیشنهاد شد که تیتراژ سرمی آنتی بادی در مادران باردار که در معرض خطر سقط جنین هستند، اندازه گیری شود و در مادرانی که علامت دار می باشند عفونت پنهان به روش کشت میکروبی شناسایی گردد. لیستریوز، یک عفونت نادر است اما در مادران حامله نسبت به جمعیت های دیگر در حدود ۲۰ برابر، شایع تر است. مادران حامله، مسئول ۲۷٪ از تمامی عفونت های لیستریایی هستند. برای مادر، علائم خفیفی را موجب می شود اما برای جنین می تواند خطر ناک بوده و موجب بیماری شدید یا مرگ بشود. توسط رعایت کردن راهنمایی هایی که توسط مرکز کنترل و پیشگیری بیماری ها (CDC) توصیه شده است، مادران حامله می توانند احتمال خطر عفونت را کاهش دهند. بیشتر موارد همه گیری های بیماری با غذاهای ساخت کارخانه سوسیس، کالباس همراه بوده است. محصولات لبنی از قبیل پنیرهای تازه نیز با همه گیری های بیماری مشاهده شده اند. کائور و همکاران، ۵۰ نمونه سرم از مادرانی که به علت سقط جنین مراجعه نموده بودند را به روش الیزا از نظر آنتی بادی های ضد لیستریو لیزین - OLLO مورد بررسی قرار دادند. در ۱۶٪ از نمونه های سرم، آنتی بادی ها مشاهده گردیدند و لیستریا به عنوان یک عامل احتمالی برای اختلالات بارداری در نظر گرفته شد (Kaur et al., 2006). در مطالعه نصرالهی و واحدی عوامل عفونی که موجب سقط در زنان می شوند را به روش سرولوژی در سرم ۵۰ مادر باردار که در ماه های اول حاملگی، جنین خود را سقط کرده بودند مورد مطالعه قرار دادند (Nasrollahi and Vahedi., 2006). در این مطالعه، ۱۶٪ از مادران، افزایش پنج برابر در آنتی بادی بر ضد لیستریا مونوسیتوزن را نشان دادند. در مطالعه اینار و همکاران در ایسلند، موارد مبتلایان به لیستریوز در فاصله ۱۹۷۸ تا سال ۲۰۰۰ با استفاده از روش الکتروفورز پالس - فیلد مطالعه شدند. در این مطالعه، ۴۰ مورد ابتلای به لیستریوز با یک شیوع سالیانه ۶/۹ در هر میلیون

## REFERENCES

- 1- Brug J. re-Picoux; Ovine listeriosis; small Ruminant Research. Microbiol, 2008; 76 (1) 12-20.
- 2- Campbell DM. Human listeriosis in Scotland 1967-1988. J Infect, 1990; 20(3), 241-250.
- 3- Einar K. Hjaltested G, Kristin J, Karl G. Listeriosis in Iceland, 1978 – 2000: A Description of cases and Molecular Epidemiology. Scand J Infec Dis, 2002; 34 (10), 735-741.
- 4- Eleri MJ, Susan YMC, David S. A 10 year survey of the epidemiology and clinical aspects of listeriosis in a provincial English city. J Infec, 1994; 29(1), 91-103.
- 5- Gasanov U, Hughes D, Philip MH. Methods for the isolation and identification of *Listeria monocytogenes* FEMS microbiol Rev, 2005; 29(5), 851-875.
- 6- George RC, Ralph J. Wedgwood; Neonatal Listeriosis, Six case Reports and a Review of the literature. J Americ Acade pediat, 1964; 34(3), 378-392.
- 7- Jacquet CA, Migeville B, Catimel G, Huyng A and Rocourt J. La listeriose humaine en France en 1991, 1992 et 1993. Bilan partir des souches adressees aux centres nation de reference. Bull Epiderm Hebdom, 1994, 28: 123-125.
- 8- Jamshidi M, Jahromi A, Davoodian P, Amirian M, Zangeneh M, Jadcareh F. seropositivity for *Listeria monocytogenes* in women spontaneous Abortion. Taiw J Obste Gyneco l, 2009; 48(1) 46-48.
- 9- Janakiraman V. Listeriosis in Pregnancy: Diagnosis, Treatment, and Prevention. Rev Obstet Gynecol, 2008; 25-29.1: 25- 29
- 10- Jose A, Michael K, Patrick B, Trinad C, Gustavo DB. *Listeria* Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants. Clini Microbiol Revi, 2001; 14(3), 548-640.
- 11- Kalorey DR, Kurkure NV, Warke SR, Barbuddhe SB. Evaluation of Indirect and Avidina – Biotin Enzyme linked Immunosorbent Assays for Detection of anti-Listeriolysin O Antibodies in Bovine Milk samples. Zoonoses and public health, 2007; 54(8), 301-306.
- 12- Kaur S, Malik SVS, Vaidya VM and Barbuddhe SB. *Listeria monocytogenes* in spontaneous abortions in humans and its detection by multiplex PCR. J Appl Microbiol, 2007; 103 (5), 1889-1896.
- 13- Larsson S. Epidemiology of listeriosis in Sweden 1958-1974. Scand J Infect Dis, 1979; 11(1) 47-54.
- 14- Nasrolahei M and Vahedi M. Serologic Study of Bacterial and Viral causes of Abortion and fetus death in the patients referring to Imam Khomeini Hospital of Sari Northern Iran. Intr J Mol Med Advan science, 2006; 2(2): 208-210.
- 15- Pamer EG. Immune Responses to *Listeria monocytogenes*. Nat Rev Immunol, 2004; 4, 812-823.
- 16- Picoux JB. Ovine listeriosis, small Ruminant Research. Int N J Mic, 2009; 76 (1), 12-20.
- 17- Rocourt I, Jacquet C and Reilly A. Epidemiology of human listeriosis and seafoods. Inter J food Microbiol, 2000; 62 (3): 197-209.
- 18- Romana C, Salleras L, Sage M. Latent listeriosis may cause habitual abortion intrauterine deaths, fetal malformations. When diagnosed and treated adequately normal children will be born. J Acta Micro biol Hung, 1989; 36(2-3): 171-2.



- 19- Salmeron P, Carlier C, Trieu-Cuot P, Courtieu L, and Courvalin P. Transferable plasmid-mediated antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Lancet*, 1990; 335: 1422-1426.
- 20- Schuchat A, Swaminathan B and Broom CV. Epidemiology of human listeriosis. *Clin Microbiol Rev*, 1991; 4:169-183.
- 21- Skidmore AG. Listeriosis at Vancouver General Hospital, 1965-79. *Can Med Assoc J*, 1991; 125(11): 1217-1221.
- 22- Simranpreet K, Malik SVS, Vaidya VM, Gurpr K. Serological diagnosis of *Listeria monocytogenes* infection in women with spontaneous abortion. *Indian j compar Microbiol*, 2006; 27: 147-152.
- 23- Vasconcelos RM, Almeida A, Hofer E de Silva N, Marin VA. Multiplex – PCR serotyping of *Listeria monocytogenes* isolated from human clinical specimens. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2008; 103 (8): 349-355.