Prevalence of Listeria monocytogenes isolated from pregnant women with and without history of abortion and detection of hemolysin (hlyA) gene in clinical samples

Somayeh Heidari[1],Mohammad Mahdi Soltan Dallal[2]
1. Master of Microbiology, Islamic Azad University, Science and Research branch, Tehran, Iran,Tel:087-33669068
Email:heidari.somayeh1@yahoo.com
2. Department of Food Microbiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

ABSTRACT

Background and Aim: Abortion is one of the most important medical problems which imposes a high cost on the households. Listeria monocytogenes is one of the most important causes of abortion and postpartum infection in the newborns. The aim of this study was to determine the prevalence of Listeria monocytogenes in the pregnant women and compare its prevalence rates between women with and without a history of abortion in Tehran and also prevalence of hlyA virulence gene.

Materials and Method: In this cross sectional study, from May 2016 to December 2016 clinical samples of vaginal discharge were taken from pregnant women with and without a history of abortion. All of the samples (100 sample) were collected from the patients referring to Arash Hospital in Tehran, by a gynecologist. The women filled out a questionnaire. The pregnant women who had received antibiotic were excluded from the study. All samples were transferred to the microbiological lab, rapidly.

Results: After culture and differential tests, among 100 sample we isolated Listeria from 7 % (7 strains) of the samples (4 strains of L .monocytogenesis and 3 strains of Listeria seeligeri).
In the samples taken from pregnant women with a history of abortion we found 3 stains of L.monocytogenes and one strain of Listeria seeligeri. In the samples obtained from pregnant women without a history of abortion one stains of L .monocytogenes and 2 strains of Listeria seeligeri were detected.

Conclusion: The results of this study showed that the prevalence of Listeria monocytogenes in the pregnant women with a history of abortion is more than that in the pregnant women without a history of abortion.
Despite the fact that this bacterium was not confirmed as a major cause of abortion in our study, but it may expose pregnant women to the risk of this problem**.**

Key words: Abortion, Listeria monocytogenes, Listeria seeligeri, Pregnancy

How to cite the article:
Somayeh Heidari,Mohammad Mahdi Soltan Dallal.Prevalence of Listeria monocytogenes isolated from pregnant women with and without history of abortion and detection of hemolysin (hlyA) gene in clinical samples.SJKU.2018;23(4):100-111.URL:http://sjku.muk.ac.ir/article-1-3586-fa.html

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBY-NC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]

بررسی فراوانی لیستریا مونوسیتوژنز جدا شده از خانم های باردار با و بدون سابقه سقط و تعیین ژن همولیزین (*hlyA*)

سمیه حیدری [۱]، **محمد مهدی سلطان دلال** [۲]

۱. کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، تلفن ثابت:۳۳۶۶۹۰۶۸-۰۰۸۷، heidarisomayeh1@yahoo.com

۲. استاد بخش میکروب‌شناسی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: سقط یکی از معضلات مهم پزشکی پیش روی جوامع هست که متحمل‌کننده ی هزینه‌های زیادی به خانوار است. لیستریا مونوسیتوژنر(L.m) ازجمله باکتری‌های بالقوه مؤثر بر سقط جنین و عفونت پس از زایمان در نوزادان است. هدف از انجام این تحقیق تعیین میزان فراوانی این باکتری در زنان باردار و مقایسه آن در زنان باردار با سابقه سقط و بدون سابقه سقط جنین در تهران و همچنین بررسی شیوع ژن ویرولانس hlyA درآن هاست.

روش بررسی: در این مطالعه که به‌صورت مقطعی انجام گردید. از اردیبهشت سال ۱۳۹۵ تا دی سال ۱۳۹۵، نمونه‌های بالینی (ترشحات واژن) زنان باردار با سابقه سقط و همچنین زنان باردار بدون سابقه سقط جمع‌آوری گردید. تمامی نمونه‌ها (۱۰۰ نمونه) از افراد مراجعه‌کننده به بیمارستان آرش (تهران) توسط پزشک متخصص زنان گرفته شد. فرم پرسشنامه توسط افراد تکمیل گردید، نمونه‌گیری از خانم‌های باردار دریافت‌کننده درمان آنتی بیوتیکی صورت نگرفت. تمامی نمونه ها در کمترین زمان به آزمایشگاه میکروبی انتقال داده شد.

یافته‌ها: از میان ۱۰۰ نمونه بالینی پس از کشت و آزمایش‌های افتراقی ۷ جدایه (۷ درصد) باکتری لیستریا جداسازی شده که ۴ جدایه لیستریا مونوسیتوژنز و ۳ جدایه لیستریا سیلیگری (L.s) بودند. در این میان جدایه هایی‌که از زنان باردار با سابقه سقط جداسازی شده بودند شامل ۳ جدایه لیستریا مونوسیتوژنز و ۱ جدایه لیستریا سیلیگری بودند و جدایه هایی‌که از زنان باردار بدون سابقه سقط جداسازی شده بودند شامل ۱ جدایه لیستریا مونوسیتوژنز و ۲ جدایه لیستریا سیلیگری بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که موارد آلوده به باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در خانم های باردار با سابقه سقط جنین بیشتر از خانم های باردار بدون سابقه سقط جنین است. علی رغم اینکه این باکتری در این مطالعه به عنوان عامل اصلی سقط مشخص نشد اما ممکن است این خطر را برای زنان باردار داشته باشد.

واژه های کلیدی: سقط جنین، لیستریا مونوسیتوژنز، لیستریا سیلیگری، بارداری

وصول مقاله:۹۶/۹/۱۹ اصلاحیه نهایی:۹۷/۶/۳۱ پذیرش:۹۷/۷/۱

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]

مقدمه

در چند سال اخیر پدیده سقط خودبه‌خودی جنین، نظر محققین زیادی را به خود جلب کرده است و باکتری‌هایی مانند *لیستریا مونوسیتوژنز*، *استرپتوکوک آگالاکتیه*، *کلامیدیا تراکوماتیس* و *مایکوپلاسما* از عوامل مهم آن به شمار می روند که در صورت عدم شناسایی، منجر به سقط مکرر و افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی خواهند شد(۱) *لیستریا مونوسیتوژنز* باکتری گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری است که از خاک، غذای حیوانات، آب، مدفوع و بافت‌های انواعی از حیوانات مهره‌دار و بی‌مهره که شامل انسان نیز می‌شود، جدا می گردد(۲). میزان لیستریوزیز در طول دهه اخیر ثابت مانده و حتی شدیدتر شده است.وجود لیستریوزیز که از سال ۲۰۰۱ گزارش شده است. توسعه و پیاده‌سازی انواع روش‌های مولکولی این فرصت را برای بهداشت عمومی و سازمان های مسئول ایجاد کرده است که سویه‌های میکرو ارگانیسم بیماری زا را ردیابی کنند.(۳)جنس لیستریا شامل ۶ گونه است که عبارت‌اند از: لیستریا مونوسیتوژنز ،لیستریا اینوکوا ، لیستریا ایوانوی ، لیستریا سیلیگری ،لیستریا ولشمیری ،لیستریا گریی. تنها *لیستریا مونوسیتوژنز* و *لیستریا ایوانوی* به علت دوز کشنده ۵۰٪ (ID :۵۰٪) در موش و توانایی رشد در کبد و طحال موش پاتوژن محسوب می‌شوند. *لیستریا مونوسیتوژنز* پاتوژن انسانی و *لیستریا ایوانوی* پاتوژن حیوانات محسوب می‌شوند(۴) . *لیستریا منوسیتوژنز* در زنان باردار معمولاً باعث بیماری باکتریمیک مشابه آنفولانزا می‌شود که اگر درمان نشود، می تواند به التهاب جفت و یا پرده آمنیوتیک و عفونت جنین و درنهایت سقط، به دنیا آمدن نوزاد مرده و یا تولد زود هنگام منجر شود، چرا که این باکتری قادر به عبور از جفت است. تشخیص زود هنگام می‌تواند با ردیابی لیستریا مونوسیتوژنز در کشت خون مادر، حین تولد، تشخیص با ردیابی ارگانیسم در مایع مغزی- نخاعی، خون، مایع آمینوتیک، ترشحات دستگاه تنفسی، سواپ های جفتی یا جلدی، آسپیره های گوارشی یا مدفوع نوزاد جدا شود.

مشاهده مستقیم باسیل‌های گرم مثبت در زیر میکروسکوپ در این نمونه ها، تشخیص زود هنگام بیماری را فراهم می کند (۵). بیماری‌های تهاجمی در طی دوران بارداری غالباً" ناشی از تهاجم باکتری به جنین از طریق جفت و توسعه به شکل کوریوآمنیونیت (التهاب کوریوآمنیون) است. نتیجه آن، سقط جنین، معمولاً" پس از پنج ماه از بارداری و یا تولد نوزاد یا جنین مرده دارای عفونت عمومی است. سندرم بالینی آن گرانولوماتوز اینفنتی سپتیکا شناخته می شود و با وجود آبسه‌های کوچک pyogranulomatous منتشر در سراسر بدن و نیز مرگ‌ومیر بالا مشخص می گردد. عفونت در مادر معمولاً" بدون علامت است و یا حدود ۲-۱۴ روز قبل از سقط جنین علائم خفیف شبیه سرماخوردگی همراه با لرز، خستگی، سردرد، درد عضلات و مفاصل وجود دارد(۶). موقعیت‌های زیادی برای آلوده شدن با *لیستریا* در طی فراوری مواد غذایی وجود دارد زیرا *لیستریا مونوسایتوژنز* در همه جا در محیط حاضر است؛به همین دلیل قرار گرفتن در معرض این باکتری اجتناب ناپذیر است(۷). پس از اینکه *لیستریا مونوسیتوژنز* به عنوان بیماری قابل انتقال از طریق مواد غذایی شناخته شد، توجه خاصی به مکانیسم‌های ویرولانس و خصوصیات *لیستریا مونوسیتوژنز* شد تا امکان تشخیص و ردیابی سریع این میکروارگانیسم فراهم شود. تعدادی از فاکتورها به‌عنوان فاکتورهای همراه با ویرولانس در *لیستریا مونوسیتوژنز* شناسایی شدند. یکی از این فاکتورها همولیزین بود که به طور اختصاصی در این میکروارگانیسم لیستریولیزین O نامیده شد. به نظر می‌رسد این پاتوژن مقاوم به سرما با از دست دادن فعالیت همولیتیک خود به یک سویه غیرپاتوژن تبدیل می‌شود. همچنین، همولیزین یک کلید مهم در شناسایی و تشخیص *لیستریا مونوسیتوژنز* محسوب می‌شود. تنها گونه های لیستریا که پاتوژن انسان و حیوانات هستند می توانند این همولیزین را تولید کنند. از آنجا که تنها *لیستریا مونوسیتوژنز* از بین سایر گونه‌های لیستریا برای انسان بیماری‌زا است، مشاهده همولیز روی

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]

آگـار خـون‌دار مـی توانـد بـه ردیـابی دقیـق‌تـر ایـن میکروارگانیسـم کمـک کنـد(۲). در مطالعـه‌ای کـه توسـط شایان و همکاران در سال ۱۳۸۸ در تهران انجام شـد، از بـین ۱۰۰ نمونـه واژن، تعـداد ۷ مـورد *لیسـتریا مونوسـیتوژنز* (۷ درصد) با استفاده از کشت جدا گردید(۸). در مطالعه‌ای که گودرزی و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام دادند، از میـان ۸۷ نمونه سواپ واژن زنان مبتلا به سقط جنین، ۵ مـورد *لیسـتریا مونوسیتوژنز* به روش کشت و ۷ مورد *لیستریا مونوسیتوژنز* از کشت های منفی به روش PCR شناسایی گردید که در ایـن مطالعه پیشنهاد می شود از روش مولکـولی جهـت شناسـایی باکتری‌های مولد سقط استفاده شود(۹).

پس از اینکه *لیستریا مونوسیتوژنز* به عنوان بیماری قابل انتقال از طریـق مـواد غـذایی شـناخته شـد، توجـه خاصـی بـه مکانیسم‌های ویرولانس و خصوصیات *لیسـتریا مونوسـیتوژنز* شد تا امکان تشخیص و ردیـابی سـریع ایـن میکروارگانیسـم فراهم شود. تعدادی از فاکتورها به عنوان فاکتورهای همـراه با ویرولانس در *لیستریا مونوسیتوژنز* شناسایی شدند. یکی از این فاکتورها همولیزین بود که بـه طـور اختصاصـی در ایـن میکروارگانیسم لیستریولیزین O نامیده شد. به نظر مـی رسـد این پاتوژن مقاوم به سرما با از دست دادن فعالیت همولیتیک خود بـه یـک سـویه غیرپـاتوژن تبـدیل مـی‌شـود. همچنـین، همولیزین یک کلیـد مهـم در شناسـایی و تشـخیص *لیسـتریا مونوسیتوژنز* محسوب می شود. تنها گونـه هـای لیسـتریا کـه پاتوژن انسان و حیوانات هستند می توانند ایـن همـولیزین را تولید کنند. از آنجا که تنها *لیستریا مونوسیتوژنز* از بین سـایر گونه های لیستریا برای انسان بیماری‌زا است، مشاهده همولیز روی آگـار خـون‌دار مـی توانـد بـه ردیـابی دقیـق تـر ایـن میکروارگانیسم کمک کند. (۲)

از آن جایی که این باکتری در همه جا یافت مـی شـود بایـد با کنترل بیشتر چرخه تولید و توزیع مواد غذایی تلاش خـود را برای پیشگیری از این عفونت افزایش دهـیم. ایـن مطالعـه برای شناسایی لیستریا مونوسیتوژنز در زنان باردار بـا و بـدون سابقه سقط و نقش همـولیزین hlyA در سـقط بـانوان انجـام می شود.

روش بررسی

در این مطالعه که به صورت مقطعی انجام گردید از اردیبهشت سال ۱۳۹۵ تا دی سال ۱۳۹۵ نمونه‌های بالینی (ترشحات واژن) از زنان باردار جمع‌آوری گردید. تمامی نمونه‌ها از افراد مراجعه کننده به بیمارستان آرش (تهران) و توسط پزشک متخصص زنان گرفته شد. فرم پرسشنامه (پیوست) توسط افراد تکمیل گردید. همچنین فرم رضایت‌نامه توسط تمامی افراد موردبررسی تکمیل شد. نمونه‌گیری از خانم‌های باردار دریافت‌کننده درمان آنتی‌بیوتیکی صورت نگرفت. تمامی نمونه‌ها در کمترین زمان به آزمایشگاه میکروبی انتقال داده شد. جامعه آماری موردبررسی این مطالعه از زنان بیمارستان آرش (تهران) بود که از این بین ۱۰۰ نفر به عنوان حجم نمونه و با روش نمونه‌گیری تصادفی انتخاب گردید. در این مطالعه زنان باردار با سابقه (۵۲ نفر) و بدون سابقه (۴۸ نفر) سقط و نمونه های بالینی (ترشحات واژن) به عنوان ورودی در نظر گرفته می‌شود، از نمونه های آزمایش شده نیز به‌عنوان خروجی ۷ جدایه (۷٪) باکتری لیستریا جداسازی شد.

جداسازی *لیستریا* از نمونه‌ها:

در ابتدا پرسش نامه همراه با سواپ و محیط انتقالی TSB (Tryptic Soy Broth)در اختیار متخصص زنان در بیمارستان قرار داده شد. بعد از جمع‌آوری نمونه ها (ترشحات واژن) آن ها را به آزمایشگاه انتقال دادیم و بعد از آن نمونه‌ها بر روی محیط غنی کننده BLEB (buffered listeria enrichment broth)انتقال داده شد و در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گردید. بعد از ۲۴ ساعت از محیط غنی کننده روی محیط های اختصاصی پالکام و اکسفورد (حاوی اسکولین) کشت داده شد و در انکوباتور در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱ روز قرار داده شد و بعد در صورت رشد باکتری و

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]

شک ما به لیستریا مونوسیتوژنز بر اساس تغییر رنگ محیط تست‌های بیوشیمیایی و فنوتیپی انجام شد.

انتخاب کلنی تیپیک

بر اساس محیط انتخابی به کار رفته کلنی‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* مشخص شدند. چند کلنی مشکوک بر روی تریپتون سوی آگارکه حاوی ۰/۶ عصاره مخمر است، کشت خطی داده شدند تا کلنی خالص به دست آید و در ۳۰ (یا ۳۵) درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴-۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردیدند. از کلنی‌های مجزای لیستریا (محدب - بی رنگ - مات – با کناره‌های یکنواخت – قطر ۱-۲ میلی‌متر) برای انجام آزمون‌های تائیدی استفاده شد.

تست‌های بیوشیمیایی

کلنی‌ها در محیط tryptic soy yeast extract broth تلقیح شدند و در ۳۵ درجه ۲۴ ساعت انکوبه کرده سپس در دمای ۴ درجه برای تست‌های بعدی نگهداری شدند. جهت شناسایی لیستریا، کلنی‌های جدا شده تحت آزمایش‌های بیوشیمیایی تأییدی قرار گرفتند. این آزمایش‌های شامل آزمون رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، اکسیداز، حرکت، تولید اسید از دکستروز، رامنوز، گزیلوز، احیای نیترات (اختیاری)، TSI و هیدرولیز اسکولین است. برای تأیید بیشتر از سایر روش‌های بیوشیمیایی مانند فعالیت همولیتیک و تست CAMP نیز استفاده شد.

پژوهشگران مختلفی برای ارزیابی همولیز و اطمینان از تفاوت واقعی بین گونه های همولیز: لیستریا مونوسیتوژنز و لیستریا سیلگری تست CAMP توصیه می‌کنند(۹).

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های لیستریای جدا شده توسط انتشار دیسک بررسی شد و در نهایت ژن hlyA توسط PCR شناسایی گردید.

آزمایش‌های انجام شده مذکور توسط نویسنده‌های این پژوهش با توجه به جدول ۱ صورت گرفته است (۱۲و۱۱).

جدول ۱: تست‌های افتراقی *لیستریا مونوسیتوژنز* و *لیستریا سیلیگری*

	لیستریا مونوسیتوژنز	*لیستریا سیلیگری*
کاتالاز	+	+
اکسیداز	–	–
SIM	+	+
همولیز	+	+
CAMP	+	+
رامنوز	+	–
دکستروز	+	+
گزیلوز	–	+
TSI	A/A	A/A
اسکولین	+	+

پس از انجام آزمایش‌های تمامی داده ها در نرم افزار SPSS v22 وارد شد و تحلیل نهایی انجام شد و نمودارهای مربوطه رسم گردید. پرایمر مورد استفاده برای تکثیر ژن *hlyA* *که ژن اختصاصی لیستریا مونوسیتوژنز است* در این مطالعه توسط نرم‌افزار GeneRunner طراحی شد.

جدول ۲: پرایمر مورد استفاده

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]

نام ژن	توالی نوکلئوتیدی	اندازه محصول
hlyA	F: GCGCAACAAACTGAAGCAA A R: TAACCTTTTCTTGGCGGCAC	۲۲۱ bp

جهت انجام تست آماری در پژوهش حاضر از رگرسیون لجستیک از سری تست های آماری تحلیل رگرسیون چند متغیره بهره گرفته شده است. رگرسیون لجستیک بدین‌صورت عمل می‌کند: در بسیاری از پژوهش‌ها متغیر وابسته تنها دو نتیجه ممکن دارد و می تواند فقط یکی از دو ارزش صفر یا یک را بپذیردکه ارزش یک به معنای وقوع حادثه و ارزش صفر به معنای دوم وقوع آن (بالعکس) است. در پژوهش حاضر، متغیر وابسته سابقه سقط که یا باسابقه یا بدون سابقه بوده و متغیر مستقل دارای گونه‌ی لیستریا سیلگیری یا مونوسیتوژنز است؛ و نرم افزار آماری مورداستفاده spss بوده است که خروجی های این نرم افزار در جداول ۳ و ۴ آمده است.

یافته ها

در این مطالعه نمونه‌ی واژن از ۱۰۰ زن باردار نمونه‌گیری شد. از این میان ۵۲ نفر دارای سابقه سقط بودند (به عنوان گروه تست) و ۴۸ نفر نیز بدون سابقه سقط جنین بودند (عنوان گروه شاهد یا کنترل). از میان این تعداد نمونه بالینی پس از کشت و آزمایش‌های افتراقی ۷ جدایه (۷ درصد) باکتری لیستریا جداسازی شده که ۴ جدایه *لیستریا مونوسیتوژنز* و ۳ جدایه لیستری سیلیگری بودند.

. در این میان جدایه‌هایی که از زنان باردار با سابقه سقط جداسازی شده بودند شامل ۳ جدایه *لیستریا مونوسیتوژنز* و ۱ جدایه *لیستریا سیلیگری* بودند. همچنین جدایه‌هایی که از زنان باردار بدون سابقه سقط جداسازی شده بودند شامل ۱ جدایه *لیستریا مونوسیتوژنز* و ۲ جدایه *لیستریا سیلیگری* بودند.

آنالیز آماری داده ها

۱-بررسی ارتباط بین جداسازی جنس لیستریا و متغیر سابقه سقط:

توسط آنالیز رگرسیون لجستیک ارتباط بین جداسازی جنس لیستریا و متغییر سابقه‌ی سقط بررسی شد. آنالیز جدول شماره ۳ نشان می دهد که ارتباط معنا داری بین سابقه ی سقط جنین و ابتلا به واژنیت لیستریایی وجود ندارد ($p>$ ۰/۰۵).

۲- بررسی ارتباط بین سابقه‌ی سقط و گونه‌ی لیستریا (در اینجا مونوسیتوژنز و سیلیگری):

به دلیل پایین بودن تعداد سویه ها (۷) امکان بررسی دقیق ارتباط بین سابقه سقط و گونه‌ی لیستریا (در اینجا مونوسیتوژنز و سیلیگری) وجود ندارد. خلاصه آنالیز با همین تعداد نمونه در جدول شماره ۴ نشان می‌دهد رابطه‌ای بین نوع گونه‌ی لیستریا و متغییر سابقه‌ی سقط وجود ندارد ($p>$ ۰/۰۵).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]

جدول ۳: آنالیزرگرسیون لجستیک داده‌ها درارتباط باجنس لیستریا

				درجه اطمینان 95درصد	
	درجه آزادی	معناداری	عدد e	کران بالا	کران پایین
گام سقط	۱	۰.۷۷۸	۱.۲۵۰	۰.۲۵۶	۵.۸۹۶
1[a]					
a: متغیرهای واردشده در گام 1:سقط					
b. معناداری					

جدول ۴: آنالیز رگرسیون لجستیک داده‌ها در ارتباط با گونه‌ی لیستریا

				درجه اطمینان 95درصد	
	درجه آزادی	معناداری	عدد e	کران بالا	کران پایین
گام سقط	۱	۰.۲۸۷	۶۰۰۰	۰.۲۲۱	۱۶۲.۵۳۱
1[a]					
a: متغیرهای واردشده در گام 1:سقط					
b. معناداری					

با توجه به خطر بالای مرگ و میر ناشی از عفونت لیستریایی، عموماً درمان توسط آنتی بیوتیک هایی همچون آمپی سلین، تتراسایکلین، صورت می‌گیرد اریترومایسین و جنتامایسن صورت می‌گیرد (۱۴)

نتایج تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار دیسک برای ۷ سویه جداشده: بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جنس لیستریا جدا شده از واژنیت در زنان باردار مقاومت مربوط به تری متوپریم (۵۷ درصد) و همچنین بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی مربوط به سیپروفلوکساسین (۸۵/۵ درصد) است که در جدول شماره ۵ و نمودار شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول ۵: پروفایل مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های لیستریا مونوسیتوژنز و لیستریا سیلیگری جداسازی شده از نمونه های بالینی

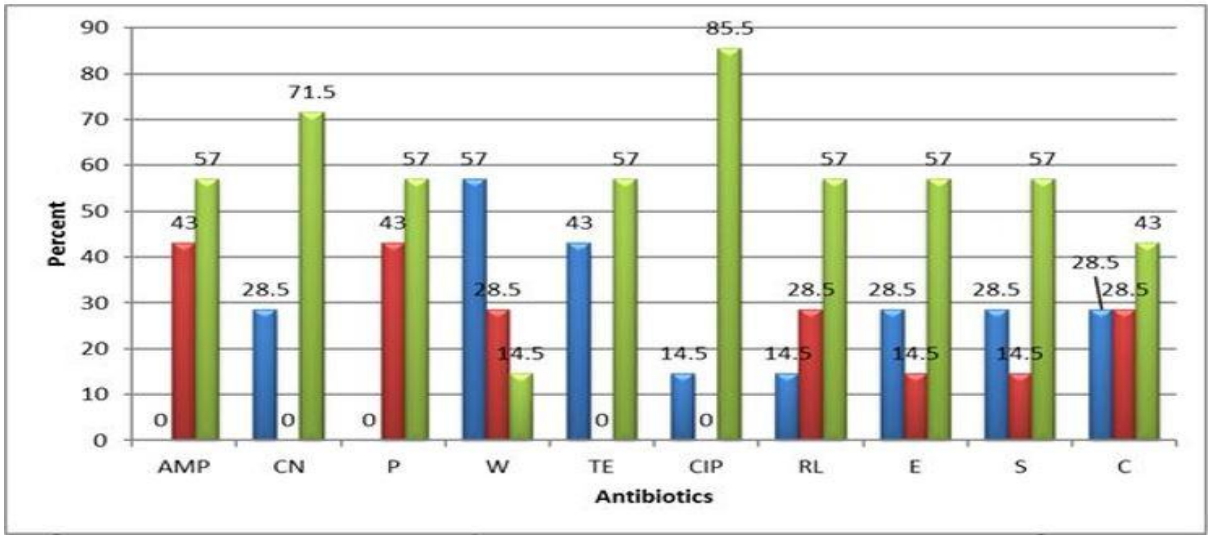
	دز µg/disc	مقاوم	نیمه مقاوم	حساس
آمپی‌سیلین	۱۰	--	(۳) ٪۴۳	(۴) ٪۵۷
جنتامایسین	۱۰	(۲) ۲۸/۵ ٪	--	(۵) ٪۷۱/۵
پنی‌سیلین G	۱۰	--	(۳) ٪۴۳	(۴) ٪۵۷
تری‌متوپریم	۵	(۴) ٪۵۷	(۲) ٪۲۸/۵	(۱) ٪۱۴/۵
تتراسیکلین	۳۰	(۳) ٪۴۳	--	(۴) ٪۵۷
سیپروفلوکساسین	۵	(۱) ۱۴/۵	--	(۶) ٪۸۵/۵

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]

		٪		
سولفامتوکسازول	۲۵	(۱) ۱۴/۵ ٪	(۲) ٪۲۸/۵	(۴) ٪۵۷
اریترومایسین	۱۵	(۲) ۲۸/۵ ٪	(۱) ٪۱۴/۵	(۴) ٪۵۷
استرپتومایسین	۱۰	(۲) ۲۸/۵ ٪	(۱) ٪۱۴/۵	(۴) ٪۵۷
کلرامفنیکل	۳۰	(۲) ۲۸/۵ ٪	(۲) ٪۲۸/۵	(۳) ٪۴۳

Antibiotics: Ampicillin,Amp; Gentamicin,CN; Penicillin G,p; Trimethoprim,w; Tetracycline,TE; Ciprofloxacin,CIP; Sulfamethoxazole,RL; Erythromycin,E; Streptomycin,S; Cloramphnicol,C

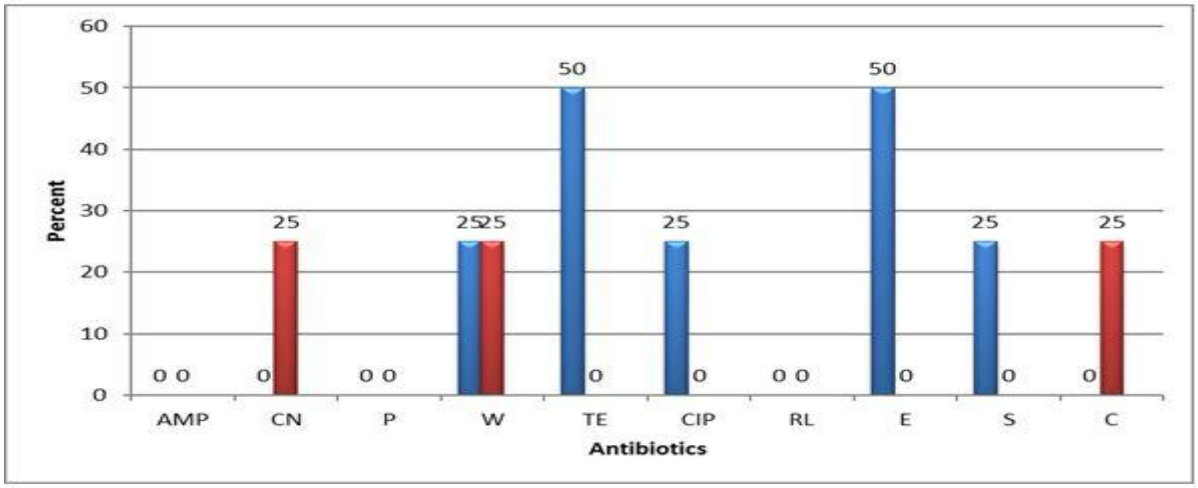


نمودار۱: پروفایل مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* و *لیستریا سیلیگری* جداسازی شده از نمونه های بالینی (آبی: مقاوم، قرمز: نیمه حساس، سبز: حساس)

بیشترین مقاومت کامل در سویه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* جدا شده از زنان باردار با سابقه سقط تتراسیکلین و اریترومایسین (هر دو ۵۰ درصد) و همچنین بیشترین مقاومت کامل آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* جدا شده از زنان باردار بدون سابقه سقط مربوط به جنتامایسین، تری‌متوپریم و کلرامفنیکل (هرکدام ۲۵ درصد) است که در نمودار ۲ نشان داده شده است.

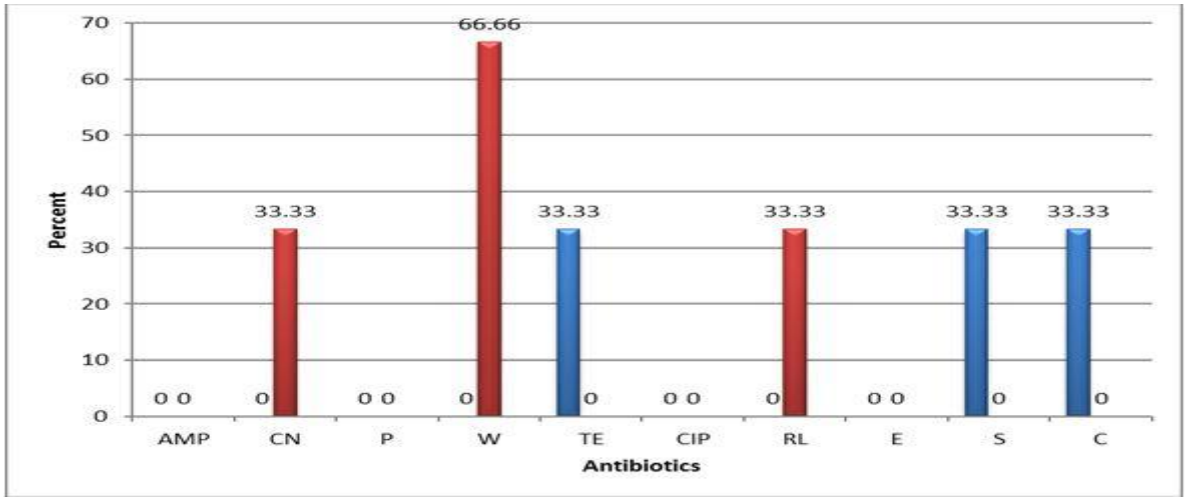
[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]



نمودار۲: پروفایل مقاومت کامل آنتی بیوتیکی سویه های لیستریا سیلیگری جداسازی شده از نمونه های بالینی از زنان باردار با سابقه سقط و بدون سابقه سقط (آبی: با سابقه سقط، قرمز: بدون سابقه سقط)

بیشترین مقاومت کامل در سویه‌های *لیستریا سیلیگری* جدا شده از زنان باردار با سابقه سقط تتراسیکلین و استرپتومایسین و کلرامفنیکل (هر کدام ۳۳/۳۳ درصد) و همچنین بیشترین مقاومت کامل آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *لیستریا سیلیگری* جدا شده از زنان باردار بدون سابقه سقط مربوط به تری‌متوپریم (۶۶/۶۶ درصد) که در نمودار ۳ نشان داده شده است.



نمودار۳: پروفایل مقاومت کامل آنتی بیوتیکی سویه های لیستریا سیلیگری جداسازی شده از نمونه های بالینی از زنان باردار با سابقه سقط و بدون سابقه سقط (آبی: با سابقه سقط، قرمز: بدون سابقه سقط)

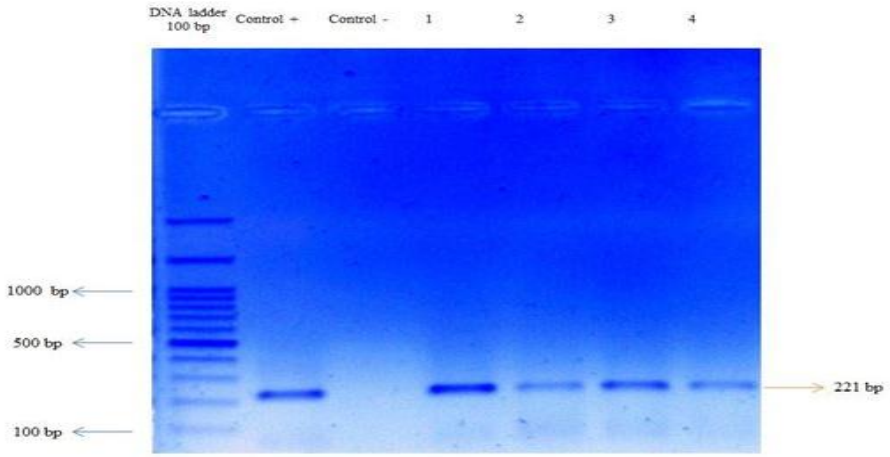
[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]

نتایج واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

ژن *hlyA* در ۴ سویه‌ی *لیستریا مونوسیتوژنز* مورد بررسی قرار گرفت که در هر ۴ سویه این ژن وجود داشت که شیوع ۱۰۰ درصدی در این سویه‌ها را نشان می‌دهد هرچند برای اثبات شیوع دقیق آن باید تعداد نمونه‌ها بیشتر باشد.

شکل۱: نتیجه الکتروفورز محصول PCR ژن *hlyA* با آنزیم Taq DNA Polymerase بر روی ژل آگارز ۱ درصد (TBE 1%)
ستون شماره ۱: مارکر مولکولی (DNA ladder ۱۰۰ bp)، ستون شماره ۲: کنترل مثبت، ستون شماره ۳: کنترل منفی، ستون‌های شماره ۱-۴: محصول PCR ژن *hlyA* (۲۲۱ bp).



بحث

نتایج تحقیق نشان می‌دهد که شیوع باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در بین خانم‌های باردار ۴ درصد (۴ سویه) بود. در این میان ۳ مورد از زنان باردار با سابقه‌ی سقط و ۱ مورد نیز از زنان بدون سابقه‌ی سقط جدا شد. همچنین نتایج درباره‌ی *لیستریا سیلیگری* به این‌گونه بود که شیوع این باکتری در بین خانم‌های باردار ۳ درصد (۳ سویه) بود. در این میان ۱ مورد از زنان باردار باسابقه‌ی سقط و ۲ مورد نیز از زنان بدون سابقه‌ی سقط جدا شد. در این مطالعه هیچ گونه رابطه‌ای بین سابقه‌ی سقط جنین و ابتلا به عفونت لیستریایی در زنان باردار یافت نشد ($p>$ ۰/۰۵). نتایج نشان که بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز*جدا شده از زنان باردار با سابقه سقط مربوط به سولفامتوکسازول و جنتامایسین (هر دو ۷۵ درصد) و همچنین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* جدا شده از زنان باردار بدون سابقه سقط نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها ۲۵ درصد بوده و فقط نسبت به جنتامایسین، کلرامفنیکل و تری‌متوپریم حساسیت نداشتند. همچنین دیده شد که بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *لیستریا سیلیگری* جداشده از زنان باردار با سابقه سقط ۳۳/۳۳ درصد بود که مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، جنتامایسین، تری‌متوپریم، سیپروفلوکساسین، سولفامتوکسازول و اریترومایسین بود و همچنین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *لیستریا سیلیگری* جدا شده از زنان باردار بدون سابقه سقط نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها ۶۶/۶۶ درصد بوده و فقط نسبت به پنی‌سیلین و تری‌متوپریم حساسیت نداشتند. نتایج PCR نشان داد که ژن *hlyA* در هر ۴ سویه‌ی *لیستریا مونوسیتوژنز* این ژن وجود داشت که فراوانی ۱۰۰ درصدی در این سویه‌ها را نشان می‌دهد هرچند برای اثبات شیوع دقیق آن باید تعداد سویه‌ها بیشتر باشد.

در این مطالعه ارتباط معنی‌داری بین آلودگی با *لیستریا مونوسیتوژنز* و سقط جنین در خانم‌های باردار دیده نشد. درعین‌حال، این ارتباط را می توان در بسیاری از مطالعات دیگر مشاهده نمود. علت این امر ممکن است نوع نمونه جمع آوری شده باشد؛ به عبارت دیگر، چنان چه نمونه

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]

های جمع‌آوری شده از خانم های با سابقه سقط، بلافاصله پس از سقط جنین جمع آوری گردند، احتمال جدا سازی تعداد نمونه های بیشتری از *لیستریا مونوسیتوژنز* بالاتر خواهد رفت؛ بنابراین در مطالعاتی که بلافاصله پس از سقط‌جنین نمونه‌گیری انجام داده‌اند *لیستریا مونوسیتوژنز* بیشتری جدا کرده و بدیهی است که در ارتباط با سقط باشد. مطالعه‌ای توسط لیدا لطف‌اللهی و همکاران در سال ۲۰۱۱ در دانشگاه تهران روی شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* در سقط های خود به خودی در انسان انجام شد. نمونه‌های کلینیکی از خانم‌های باسابقه سقط بستری‌شده در بیمارستان شریعتی تهران در طول سال ۲۰۰۹ تا ۲۰۱۰ جمع‌آوری شد. پس از انجام کشت از میان ۱۰۰ نمونه ۹ نمونه آلوده به *لیستریا مونوسیتوژنز* بود (۹ درصد) که شش ایزوله مربوط به بافت جفت و سواپ واژن و دو ایزوله مربوط به سواپ مقعدی و یک ایزوله مربوط به ادرار بوده که دلیل انتخاب نمونه های سواپ واژن در این مطالعه شیوع باکتری لیستریا در این ناحیه است(۱۲). در مقایسه‌ی نتایج آن‌ها با مطالعه‌ی حاضر می‌توان گفت که شیوع در مطالعه‌ی لطف اللهی بالاتر بوده چون در مطالعه حاضر لیستریا مونوسیتوژنز ۴ درصد شیوع داشت. دلیل اصلی این تفاوت این است که آن‌ها نمونه‌های مقعدی، بافت جفت، ادرار و واژن را بررسی کرده ولی در مطالعه‌ی حاضر فقط نمونه‌های واژن زنان باردار بررسی‌شده است.در مطالعه‌ی اسلامی و همکاران در سال ۲۰۱۴ که با عنوان شناسایی ژن *actA* و *InlB* در *لیستریا مونوسیتوژنز* جدا شده از زنان با سقط (بیمارستان‌های تهران) انجام شد. ۹۶ نمونه سواپ از واژن زنان گرفته شد و کشت اختصاصی *لیستریا مونوسیتوژنز* انجام گرفت. نتایج آن‌ها نشان می‌دهد که در کشت، ۷ نمونه از ۹۶ نمونه برای *لیستریا مونوسیتوژنز* مثبت بودند. شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* بیماری‌زا در موارد سقط ۱۲/۵ درصد بود(۱۶). در مطالعه‌ی حاضر ۵۲ فرد دارای سابقه‌ی سقط بررسی شدند که از میان آن‌ها ۳ سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* جداسازی و شناسایی شدند(۵/۷۶ درصد). اسلامی و همکاران ۱۲/۵ درصد *لیستریا مونوسیتوژنز* را از موارد سقط جدا کرده‌اند. این تفاوت شیوع می‌تواند مربوط به این باشد که آن‌ها از چندین بیمارستان در تهران نمونه‌گیری کرده‌اند اما مطالعه‌ی حاضر فقط از یک بیمارستان در تهران نمونه‌گیری انجام داده است.

در مطالعه‌ی شوکت و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مجموع ۱۴۱ نمونه بالینی برای جداسازی و شناسایی گونه‌های لیستریا استفاده شد. در نتایج چهار جدایه *لیستریا مونوسیتوژنز* مشخص شد، در حالی که ۲۴ گونه لیستریا غیر بیماری‌زا در مابقی نمونه‌ها وجود داشت. از چهار *لیستریا مونوسیتوژنز* جداشده، دو نمونه از بافت مغز جنین سقط شده (BrS10 و BrG36) جدا شده بود، درحالی‌که دوتای دیگر یکی از سواپ واژن (Vd13) و یکی سواپ رکتال (RS11) جدا شد. شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* ۲/۸۳ درصد در کل نمونه‌ها و سویه‌ی غیر بیماری‌زای لیستریا ۱۷/۰۲ درصد بود(۱۵). شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* در مطالعه‌ی شوکَت ۲/۸۳ درصد بود که کمتر از مطالعه‌ی حاضر با ۴ درصد شیوع بود. منطقه و نوع نمونه‌ها در مطالعه‌ی آن‌ها با مطالعه‌ی ما تفاوت دارد. در کل می توان با این دید به این پژوهش ها نگریست که پژوهشگران ممکن است با در نظر گرفتن موارد مختلف پژوهش هایی با عناوین و نتایج مختلف مورد بررسی قرار دهند . زیرا لیستریا مونوسایتوژنز در همه جا در محیط حاضر است، برای مثال از حیوانات اهلی، وحشی، پرندگان، حشرات، مواد غذایی و غیره، قابل انتقال است و همچنین با توجه به اینکه لیستریا مونوسایتوژنز از نمونه‌های که از جایگاه‌های استریل گرفته می‌شود به سادگی قابل جدا شدن است، جایگاه هایی مثل خون، مایع مغزی- نخاعی، مایع آمونیوتیک، جفت یا بافت بدن جنین یا از سواپهای رکتال؛ مدفوع؛ادرار و دستگاه تناسلی زنان جدا می شود. و بنابراین به دلیل تنوع در جایگاه‌های مختلف نتایج متفاوت است.

نتیجه‌گیری

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]

این باکتری در این مطالعه به عنوان عامل اصلی سقط مشخص نشد، اما ممکن است این خطر را برای زنان باردار داشته باشد، زیرا باعث آلودگی در آن‌ها می‌گردد؛ بنابراین، استفاده از یک تکنیک ساده و استاندارد جهت ردیابی سریع این باکتری از منابع مختلف سبب بهبود کیفیت نظارت بر عرضه محصولات غذایی و همچنین ارتقاء کیفی سلامت جامعه در ایران خواهد شد.

تشکر و قدردانی

در پایان از همه کسانی که ما را در این تحقیق همراهی کردند سپاسگزاریم.

Reference

1. Barkallah M, Gharbi Y, Slima AB, Elleuch F, Mallek Z, Saad RB, et al. Simultaneous detection of Waddlia chondrophila and Listeria monocytogenes in aborted ruminant samples by real-time quantitative PCR. J Microbiol Methods 2016; 125: 64-9
2. Bille J, Murray P, Baron E, Jorgensen J, Landry M, Pfaller M. Manual of clinical microbiology, Listeria and erysipelothrix. 9 nd ed, 2006; 474-84.
3. Robert L. Buchanan, Leon G.M. Gorris, Melinda M. Hayman,et al. A review of Listeria monocytogenes: An update on outbreaks, virulence,dose-response, ecology, and risk assessments. Food Control 2017; 75: 1-13.
4. Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. Differentiation of the major Listeria monocytogenes serovars by multiplex PCR. J Clin Microbiol 2004; 42: 3819-22.
5. Orndorff PE, Hamrick TS, Smoak IW, Havell EA. Host and bacterial factors in listeriosis pathogenesis. Vet Microbiol 2006; 114: 1-15.
6. Vázquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Domínguez-Bernal G, Goebel W, et al. Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 584–640.
7. Ramaswamy V, Cresence VM, Rejitha JS, Lekshmi MU, Dharsana K, Prasad SP, et al. Listeria-review of epidemiology and pathogenesis. J Microbiol Immunol Infect 2007; 40: 4-13.
8. Shayan R, Satari M, Ferozande M. Isolated and detection of listeria monocytogenes in vaginal specimens by PCR. Modares Journal of Medical Sciences (Pathobiology) 2009; 12: 51-8. [In Persian]
9. Goudarzi E HN, Yousefi J. Survey of PCR efficiency in the detection of Listeria, Brucella and mycoplasma in culture negative samples obtained from women with abortion. J Mazandaran Uni Medi Sci 2013; 23: 61-9. [In Persian]
10. Carlos Camargo A. Uncovering the Listeria monocytogenes virulence traits. [dissertation]. USA: Universidade Federal de Vicosa. 2017
11. Mérida LGR, de Salim AM, Graterol AYA, Gamboa O. Detección de Listeria monocytogenes en queso blanco criollo, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Arch Latinoam Nutr 2010; 60: 254.
12. Moura GF, de Oliveira Sigarini C, de Souza Figueiredo EE. Listeria monocytogenes in Chicken Meat. J Food Nut Res 2016;4: 436-41.
13. Lotfollahi L, Nowrouzi J, Irajian G, Masjedian F, Kazemi B, Falahat LEA, et al. Prevalence and antimicrobial resistance profiles of Listeria monocytogenes in spontaneous abortions in humans. African J Microbiol Res 2011; 5: 1990-3.
14. Santos Oliveira T, Milen Varjão L, Nunesda Silva LN, Castro Lisboa Pereira R, Hofer E, Cristina Vallimb D, Comastri de Castro Almeida R. Listeria monocytogenes at chicken slaughterhouse: Occurrence, genetic relationship among isolates and evaluation of antimicrobial susceptibility. Food control 2018; 88: 131-8.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]

15. Shoukat S, Malik S, Rawool D, Kumar A, Kumar S, Shrivastava S, et al. A study on detection of pathogenic Listeria monocytogenes in ovine's of Kashmir region having abortion or history of abortion. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biolo Sci 2014; 84: 311-6.
16. Eslami G, Samadi R, Taherpanah R, Taherpor A, Baseri N. Detection of actA and InlB genes in Listeria monocytogenes Isolated from women with Spontaneous abortions. NBM 2014; 2: 18-21. [In Persian]

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/sjku.23.5.96]