

بررسی لیستریا مونوسیتوزنز در شیر خام و پاستوریزه در ایران

دکتر جلیل وند یوسفی و سهیلا مرادی بیدهندی / اعضای هیأت علمی موسسه تحقیقاتی رازی

خلاصه:

عامل لیستریوز که از عوامل ایجاد کننده بیماریهای زئونوز می باشد می تواند از راه مصرف مواد غذایی آلوده منجمده شیر، انسان را آلوده نماید. لذا طرحی جهت ارزیابی آلودگی شیرهای پاستوریزه و خام تهران به لیستریا مونوسیتوزنز تنظیم و پس از تصویب در بخش میکرو و بشناسی موسسه رازی به مورد اجرا در آمد. در این مقاله سعی گردیده است ابتدا راجع به خصوصیات میکرو و بشناسی لیستریاها یادآوری هائی بشود سپس نتایج انجام طرح که آلودگی شیر خام به سویه های 2a و 4b لیستریا مونوسیتوزنز (سویه های عامل ایجاد بیماری در انسان و دام در ایران) را مشخص نموده شرح داده شده است.

مقدمه:

امروزه شناخت و بررسی لیستریا مونوسیتوزنز و آسیب های ناشی از آن نه فقط برای میکرو و بشناسان جالب می باشد بلکه با توجه به مرگ و میر ناشی از آن در بین نوزادان و افراد مسن و ضایعاتی که برجای می گذارد، به عنوان يك خطر جدی تلقی می شود. انتقال عفونت از راه جفت به جنین و هم چنین انتقال آن از طریق مواد غذایی مسئله ای می باشد که پژوهشگران و همه امکانات را به تحقیق پیرامون این مطلب دعوت می کند. مواد غذایی از راههای گوناگون، در معرض آلودگی میکروبی قرار می گیرند و هم چنین بسیاری از میکروبیهای بیماریزای دیگر نیز بوسیله مواد غذایی به انسان منتقل می شوند. لیستریا مونوسیتوزنز یکی از این باکتریها می باشد که از طریق شیر خام، پاستوریزه، سبزیجات بخصوص کلم، گوشت و غیره به انسان منتقل می شود (۱۴). تا قبل از گزارش آلودگی مواد غذایی، از لیستریوز به عنوان زئونوز (Zoonosis) یعنی بیماری منتقله از جانوران به انسان نام می برد اما بعد از آن به عنوان بیماری منتقله از مواد غذایی (Food - borne) نیز نامیده شد و امروزه این مسئله بیشتر مورد توجه و اهمیت است. آلودگی مواد غذایی به لیستریا مونوسیتوزنز (Listeria monocytogenes) از سال ۱۹۴۹ شناخته شده ولی از سال ۱۹۸۱ گزارشات آن ارسال شده است و بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (۴۴). با توجه به گزارشاتی که از کشورهای مختلف دنیا در مورد حضور لیستریا مونوسیتوزنز در شیر خام و پاستوریزه

سرباز مبتلا به مننژیت جدا نمودند که این باکتری به مدت ۲۰ سال در انستیتو پاستور پاریس نگهداری شد و در سال ۱۹۴۲ معلوم گردید که لیستریا مونوسیتوزنز می باشد.

Murray (۱۹۲۶) به علت وجود عفونت در بین خرگوش ها و خوکچه ها که با مونوسیتوز همراه بود آن را باکتریوم مونوسیتوزنز نامید (۲۰).

Pirie يك باسیل مشابه را از کبد نوعی جونده بنام gerbil جدا نمود و آن را لیستریلا هپاتولیتیکا (Listerella hepatolytica) نامید. نامبرده در سال ۱۹۴۰ به افتخار لرد لیستر نام باکتری را لیستر لایمونوسیتوزنز نهاد ولی بعد به خاطر استفاده این نام در طبقه بندی گیاهی آن را به لیستریا تغییر داد (۲۰).

اولین گزارش تأیید شده عفونت لیستریایی در انسان به سال ۱۹۲۹ (Nyfeldt) برمیگردد. بطوریکه محقق نامبرده باکتری مزبور را از خون بیمارانی که مبتلا به عفونت مونونوکلئوز بودند، جدا نمود. (۲۰)

علوفه و لیستریوز:

لیستریوز در نشخوارکنندگان اغلب با تغذیه علوفه ارتباط داشته است. بطوریکه در سال ۱۹۶۰، Gray از مغز گوسفند بیمار جو دوسر که از آن تغذیه می کرده است، سرویتیک یکسان از این باکتری را جدا نموده است. Fenlon و همکاران (۱۹۸۵-۱۹۸۶) نشان داد که علوفه مانده نسبت به علوفه تازه و هم چنین علوفه حیوانی بسته بندی شده حاوی مقادیر زیادی از باکتری فوق می باشند. دکتر وند یوسفی و همکاران (۱۳۶۶) ارتباط بین غذای دام و لیستریوز را در بز و گوسفند نشان دادند (۱۳).

فاضلاب و لیستریوز:

Watkins (۱۹۸۱) باکتری را از فاضلاب، لجن فاضلاب و آب رودخانه جدا نمود. باکتری فوق در لجن فاضلاب حداقل ۱۳ ماه زنده می ماند، هم چنین پرندگان وحشی و فاضلاب به عنوان ناقل در محیط های

و هم چنین آلودگی انسان ها از طریق این فرآورده دامی ارسال شده است و نیز با بررسی هایی که صورت گرفت، معلوم گردید که در کشور ما نیز در سال های اخیر توسط دکتر وند یوسفی و همکاران بررسی های سرو لژیکی و مطالعات میکروبیولوژیکی و اپیدمیولوژیکی در نمونه های انسانی و چگونگی انتقال آن به انسان صورت و سویه های مختلف جدا و مورد تأیید جوامع بین المللی قرار گرفته و گزارش شده است. لذا برآن شدیم تا برای اولین بار به تحقیق پیرامون آلودگی شیرهای خام و پاستوریزه با استفاده از دو تکنیک کشت و ایمونوفلورسانس مستقیم بپردازیم تا از این طریق توانسته باشیم اولاً میزان آلودگی شیر به لیستریا مونوسیتوزنز ثانیاً تعیین سویه های مسئول اینگونه آلودگی ها را داشته باشیم ثالثاً در صورت وجود لیستریا مونوسیتوزنز با تعیین سویه های آن ارتباط بین سویه های جدا شده از انسان و این فرآورده دامی را پیدا کنیم.

تاریخچه:

احتمالاً لیستریا در سال ۱۸۹۱ در قطعات بافت مریضی در آلمان مشاهده شده است. ولی اولین گزارش از باکتری که امروزه لیستریا مونوسیتوزنز نامیده می شود توسط Hulphers محقق سوئدی ارائه شده است. نامبرده در سال ۱۹۱۱ باکتری مزبور را از کبد خرگوش جدا نمود و آن را باسیلوس هپاتیس نامید. (۲۰)

در سال ۱۹۱۹، Dumont و Cotoni يك باکتری دیفترئید مانند را از CSF يك

کشاورزی می باشند.

از سیستم تصفیه فاضلاب در بغداد جدا نمودند. این محققین کود حاصل از فاضلاب را از عوامل مهم در انتشار این باکتری در عراق دانسته اند. طبق مطالعات انجام گرفته آگیری لجن تعداد باکتری را کاهش می دهد ولی آفتاب طولانی می تواند آنها را از بین ببرد (۳).

مواد غذایی و لیستریوز:

شیوع بیماری لیستریوز در انسان توسط مواد غذایی نظیر شیر خام، شیر پاستوریزه، پنیر، سبزیجات گوشت، شیرشکلات، شیربرنج و امثال آن باعث شده تا توجه زیادی به صنایع غذایی معطوف گردد. اولین شیوع بیماری لیستریوز در اثر مصرف شیر خام بین سالهای ۱۹۴۹ تا ۱۹۵۷ در آلمان شرقی می باشد. از سال ۱۹۸۱ تا ۱۹۸۶ نیز ۴ مورد شیوع دیگر گزارش شده است بطوریکه اولین شیوع در کانادا (۱۹۸۱) اتفاق افتاد. بطوریکه ۳۴ مورد نوزادان تازه متولد شده و ۷ مورد افراد بالغ مبتلا به لیستریوز شدند که در جریان این شیوع ۱۷ نفر فوت نمودند. با مطالعه بررسی غذای مصرفی بیماران معلوم گردید که از کلم استفاده می کرده اند. بطوریکه از کلم موجود در یخچال بیماران و بسته باز نشده آن و خود بیمار لیستریا مونوسیژنوز سرویتپ ۴b جدا گردید. بعداً روشن شد که از کود گوسفندی برای زمین های زیرکشت کلم استفاده شده است بطوریکه ۳ رأس از همین گوسفندان نیز توسط لیستریوز تلف شده بودند. دومین شیوع در آمریکا (۱۹۸۳) بود. بطوریکه ۴۹ نفر دچار سپتی سمی و مننژیت لیستریایی شدند که از این تعداد ۱۴ نفر فوت نمودند. مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان داد که بیماری بطوری قوی مربوط به نوشیدن شیر پاستوریزه پرچربی و ۲٪ می باشد.

سومین شیوع در آمریکا (۱۹۸۵) بود. در این سال ۸۶ مورد آلودگی مشاهده گردید که ۲۹ نفر از آنها فوت نمودند. مطالعات انجام شده نشان داد که عامل بیماری، پنیر نرم مکزیکی تازه بوده است و پس از کشت لیستریا مونوسیژنوز سرویتپ ۴b از بیماران و پنیر فوق جدا گردید.

چهارمین شیوع در انگلستان (۱۹۸۶) بود. بطوریکه مننژیت لیستریایی در بیمارانیکه از پنیر پرچربی استفاده نموده بودند، مشاهده گردید. در بررسی ها، لیستریا مونوسیژنوز سرویتپ ۴b از بیماران و پنیر جدا شد. (۱۴، ۳۸)

Dominguez (۱۹۸۵) نشان داد که از ۹۵ نمونه شیر خام در اسپانیا، ۴۵ درصد حاوی لیستریا مونوسیژنوز بوده اند و در سال ۱۹۸۶ از ۲۸ نمونه شیر پاستوریزه، ۶ مورد (۲۱/۴٪) مثبت جدا شد. (۱۸) Hayes (۱۹۸۶) از ۱۲۱ نمونه شیرخام فیلتر نشده، ۱۵ مورد (۱۲٪) و ۱۴ نمونه شیر خام فیلتر شده، ۲ مورد (۱۴٪) لیستریا مونوسیژنوز جدا کرد، Marth (۱۹۸۶) با مطالعه بررسی ۶۵۰ نمونه شیر، ۲۷۰ نمونه (۴۰/۲٪) مثبت بدست آورد و براین عقیده است که حضور باکتری فوق در شیرخام شبیه

سالمونلا (۵٪) می باشد. (۱۲)

در سال ۱۹۸۸ نیز گزارشی مبنی بر انتقال لیستریا مونوسیژنوز از شیر مادر به فرزندش ارائه شده است. بطوریکه در بلگراد یک زن ۲۴ ساله بعد از زایمان به علت فارنژیت به بیمارستان منتقل و از شیر و خون او و هم چنین CSF کودک اولیستریا مونوسیژنوز سرویتپ ۴b جدا گردید. (۴۸)

سبزیجات و لیستریوز:

HO و همکاران (۱۹۸۶) به این نتیجه رسیدند که سبزیجات در عفونت لیستریایی دخالت دارند. در سال ۱۹۸۹ کاهو به عنوان یک منبع مهم آلودگی در بیمارستان ها بوده است. مطالعات صورت گرفته نشان داده است که کلم، سیب زمینی، خیار و تربچه حاوی لیستریا می باشند و هویج، گوجه فرنگی، گل کلم و بروکلی فاقد آن هستند. مطالعات صورت گرفته بزروی هویج نشان می دهد که می تواند مانع رشد باکتری فوق گردد اما از ماهیت این مواد هنوز اطلاعی در دست نمی باشد (۸، ۲۵).

گوشت و لیستریوز:

Isacc (۱۹۷۵) لیستریا مونوسیژنوز را از ۵۳٪ پس مانده جوجه کباب جدا کرد. در سال ۱۹۷۶ باکتری فوق از گوشت آماده طبخ جدا گردیده است. در سال ۱۹۸۹ از رابولی غذای ایتالیایی و در فرانسه از استیک تهیه شده از گوشت گاو یخ زده جدا شده است (۷). آمار سال ۱۹۸۹ نشان می دهد که مرغ خام ۶۰٪، غذای نیم پخته ۴۸٪ و غذای پخته به نسبت کمتری به لیستریا مونوسیژنوز آلوده بوده اند. مطالعات در کشورهای هند، تایوان و تایلند (۱۹۹۰) نشان داد که مواد گوشتی دریایی (ماهی تازه، یخ زده و صدف) حاوی باکتری فوق می باشند (۱۷، ۵۳). CDC (۱۹۸۸) برای اولین بار یک ارتباط اپیدمیولوژیکی مستقیمی را بین لیستریوز انسانی و آلودگی مواد غذایی بخصوص گوشت های خام نشان داد بطوریکه این امر لزوم توجه بیشتر را به کنترل مواد غذایی معطوف می دارد. (۵)

اختصاصات باکتری:

لیستریا مونوسیژنوز باکتری میله ای شکل، حساس به اسید، گرم مثبت، بدون اسپور و کپسول می باشد. بعضی از سلول ها خمیده و بطور منفرد یا بصورت موازی یا در اشکال ۷ یا ۷ در کنار هم قرار می گیرند. گاهی به اشکال دیفتروئید نیز دیده می شوند. باکتری فوق در حرارت ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد متحرک بوده و دارای تازه پیرامونی می باشد. حرارت مناسب رشد آن ۳۰ °C - ۳۷ °C بوده ولی مطالعات نشان داده است که در ۴ °C به خوبی رشد می کند. PH مناسب رشد آن ۶-۹ می باشد. ساختمان دیواره باکتری شامل ۲۰٪ هگزوز، ۵٪ هگزوز آمین و ۵٪ پروتئین همراه با اسید آمینه آلانین، اسید گلوتامیک، اسید اسپارتیک و دی آمینوپایمیلیک اسید است فسفر، آهن و کلسیم نیز در سیتوپلاسم و جدار آن یافت می شدند (۶، ۲۳).

ساختمان آنتی ژن:

Pons و همکاران (۱۹۳۹) لیستریا را به دو گروه سرولوژیکی I (سویه-جوندگان) و II (سویه نشخوارکنندگان) تقسیم کردند. Paterson با استفاده از روش های سرولوژیکی شناسایی سالمونلا، لیستریا را براساس آنتی ژنهای سوماتیک (O) و فلاژل (H) به ۴ گروه تقسیم کردند. تشخیص سرولوژیکی لیستریا مونوسیژنوز توسط Seeliger (۱۹۶۱) معمول شده است. سرویتپ های جدا شده از موارد کلینیکی شامل 5, 4b, 4a, 3c, 3b, 3a, 1/2c, 1/2b, 1/2a توزیع سرویتپ ها در جهان یکسان نمی باشد. بطوریکه در آمریکا و کانادا سرویتپ 4b و در کشورهای اروپای شرقی، آلمان، فنلاند و سوئد سرویتپ 1/2a و در اروپای غربی سرویتپ 1/2a و 4b غالب می باشد (۶).

اپیدمیولوژی:

اگرچه اپیدمیولوژی لیستریوز به مقدار کم شناخته شده است، اما ماهیت آن به عنوان یک بیماری منتقله از حیوانات کاملاً مشخص می باشد (۱۹). seeliger (۱۹۶۵) یک سیکل عفونی احتمالی را پیشنهاد می کند. بطوریکه در نشخوارکنندگان این سیکل را بصورت زیر توضیح می نماید: حیوان آلوده -> خارج شدن باکتری از ادرار و مدفوع -> باقی ماندن باکتری در خاک و کود -> تکثیر در شرایط محیطی مناسب -> عفونت از راه دهان بوسیله علوفه. و این سیکل در انسان بصورت: مدفوع انسان آلوده -> آلودگی خاک -> آلودگی سبزیجات از طریق خاک و فضولات -> عفونت از راه دهان به انسان می باشد (۲۱).

اطلاعات تازه اپیدمیولوژیکی نشان می دهد که غذا به عنوان وسیله ای برای انتقال باکتری به انسان می باشد (۲۸).

پاتوزنسته

لیستریا مونوسیژنوز از مدت ها قبل به عنوان یک باکتری پاتوژن برای انسان و حیوانات شناخته شده است. Rataan, Favve, Machanes بوضوح نشان دادند که لیستریا یک پاتوژن داخل سلولی اختیاری است و می تواند در داخل ماکروفاژهای پستانداران زنده مانده و تکثیر نماید و در زمان کوتاهی آنها را تخریب کند (۳۱).

از عوامل متعددی که در بیماریزایی این باکتری مؤثر است میتوان از مواد محلولی که در حین رشد باکتری بوجود می آیند و از باکتری ترشح می شوند، نام برد که تحت عنوان لیستریولیزین O (LLO) مورد بررسی قرار می گیرند. علاوه براین ماده میتوان از عامل تولید مونوستوز (MPA)، مواد شبیه لیپولی ساکارید، H₂O₂ و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) را نام برد (۲۲). لیستریولیزین O جدا شده از کشت باکتری برای

paterson (322)	seeliger(372)and Donker- Voet (105)	O antigens										H antigens			
1	1/2a	I	II	(III)								A	B		
	1/2b	I	II	(III)								A	B	C	
2	1/2c	I	II	(III)									B	D	
3	3a		II	(III)	IV							A	B		
	3b		II	(III)	IV					(XII)	(XIII)	A	B	C	
	3c		II	(III)	IV					(XII)	(XIII)		B	D	
4	4a			(III)		(V)		VII		IX		A	B	C	
	4ab			(III)		V	VI	VII		IX	X	A	B	C	
	4b			(III)		V	VI					A	B	C	
	4c			(III)		V		VII				A	B	C	
	4d			(III)		(V)	VI		VIII			A	B	C	
	4e			(III)		V	VI		(VIII)	(IX)		A	B	C	
	7			(III)							XII	XIII	A	B	C

Also 4b(x), [(III) V VI VII] (289).

Also 4b(x), [(III) V VI VII] (289).

مختلف و غیرآزاد دارا می باشد. در نتیجه میکرو ارگانیسم ها آهن مورد نیاز خود را از بافت میزبان بدست می آورند. اگر آهن به میزبان تزریق شود، باعث رشد بیشتر باکتری می شود و تعداد بیشتری از باکتری در بافت مشاهده می شود. نتایج بررسی ها نشان می دهد که متابولیسم آهن میزبان نقشی اساسی در پیشرفت عفونت لیستریایی دارد از بین رفتن اریتروسیت ها در شرایط *invivo* باعث افزایش مقدار آهن قابل دسترس می شود و در نتیجه عفونت حاصل می شود.

آزمایشها در مقایسه با مطالب به ما نشان می دهد که تولید توکسین در تراکم کم آهن به اندازه کافی انجام می شود و با افزایش تراکم آهن در محیط میزان آن کاهش می یابد. موارد مشابه را در مورد آهن می توان در اگزوتوکسین A، سودوموناس آئروجینوزا، توکسین دیفتری و دیگر توکسین ها مشاهده نمود.

Soward و Cowart (۱۹۸۵) نشان دادند که آهن باعث افزایش میزان رشد لیستریای ویرولان در شرایط *invivo* می شود.

مطالعات انجام شده نشان می دهد که لیستریا مونوسیستونز دارای حداقل دو سیستم گیرنده آهن است. یکی مکان اتصال برای آهن دو ظرفیتی در سطح سلول و دیگری مکانی برای اتصال آهن سیتراته می باشد (۲، ۹، ۱۰).

بیماریابی:

لیستریوز در انسان:

اولین مورد از عفونت انسان و جدا سازی لیستریا مونوسیستونز از خون بیماری بود که از عفونت مونونوکلئوز رنج می برد. امروزه معلوم شده است که علائم بیماری در انسان، مشابه حیوانات می باشد.

seeliger عقیده دارد میزان مراد بیماری از این

پروتئین بنام HSPS (Heat-Shock-Proteins) در لیستریا مونوسیستونز ۵ نوع پروتئین غیرحساس به حرارت در آن وجود دارد. HSPS نقش مؤثری در ایجاد عفونت بوسیله باکتریهای داخل سلولی دارد و هم چنین معلوم شده است که موتان هایی که قادر به تولید لیستریولیزین O نمی باشند، توانایی تولید چند نوع از این پروتئین ها را ندارند. همین طور استفاده از داروهایی که اسیدیته دستگاه گوارش را کم می کند یک فاکتور مهم در افزایش عفونت می باشد (۴۲).

سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و مکانیسم بیماریابی:

بطوریکه مشاهده شده است ۲ سویه کاتالاز منفی از لیستریا مونوسیستونز دارای فعالیت ۲ برابر SOD نسبت به سویه های کاتالاز مثبت می باشند. شرایط رشد نظیر اکسیژن و تراکم آهن بر روی فعالیت SOD اثر دارد و فعالیت آن در مراحل اولیه خارج سیتوپلاسمی است. بطوریکه مشاهده می شود یکی از مراحل کشته شدن باکتریها در داخل فاگوسیت ها تولید رادیکال آزاد سوپراکسید سمی (O⁻²) می باشد که این رادیکال توسط SOD تولید شده بوسیله لیستریا مونوسیستونز حذف می شود. بیشترین فعالیت SOD (۶۲٪) در ناحیه پری پلاسمیک لیستریا می باشد و ۱۷ تا ۲۱ درصد آن در ناحیه سیتوپلاسمیک مشاهده می شود. فعالیت SOD و کاتالاز در شرایط هوازی و ترکیبات آهن افزایش می یابد (۵۱).

نقش آهن در ویرولان:

لیستریا مانند بیشتر میکروارگانیسم ها برای رشد خود احتیاج به آهن دارد که میزبان آن را بصورت های

موش و خرگوش سمی است، در شرایط آزمایشگاهی باعث پاره شدن غشاء لیزوزوم های جدا شده می شود و محتویات آنها را بیرون می ریزد. لیستریولیزین O از بسیاری جهات شبیه سم های سیتوتوکسیک مقاوم به اکسیژن بسیاری از باکتریها می باشد. مطالعات نشان داده است که این ماده قابل دیالیز نبوده و به حرارت مقاوم می باشد. لیستریولیزین O به مواد غیرفعال کننده اکسیداتیو حساس بوده و می تواند با مواد احیا کننده دوباره فعال شود. این ماده یک Sulfhydryl- dependent- hemolysin می باشد که به کلسترول باند شده و در سلول های اوکاریوتیک ایجاد لیز می کند. این همولیزین با ویرولان باکتری ارتباط مستقیم دارد. این ماده مورد احتیاج برای رشد داخل سلول این پاتوژن می باشد. ژن *hlyA*، *O* می باشد و ترتیب آن از طریق کلونیزاسیون معلوم شده است. مطالعات نشان می دهد که تولید همولیز با ویرولان باکتری ارتباط دارد. تولید لیستریولیزین O با عمل حضوری آنتی ژن های موجود روی ماکروفاژها همراه است و این اثر منتهی به ویرولان می شود (۱۱).

می توان با وارد کردن ترانس پوزون 916 (Tn 916) و ترانس پوزون 1545 (Tn 1545) به داخل DNA باکتری، تولید همولیزین را متوقف کرد و در نتیجه سویه های فاقد ویرولان بدست آورد. بطوریکه باکتری جدید قادر به رشد در داخل بافت میزبان نمی باشد و به سرعت از طحال و کبد موش آلوده شده، حذف می شود.

مشاهده شده است که سویه های غیرهمولیتیک فاقد یک قطعه پروتئینی ۵۸ کیلو دالتونی هستند که ضروری برای تولید لیستریولیزین O می باشد. مطالعات انجام شده، نشان می دهد که تولید همولیزین در ۴۰°C بیشتر از ۳۷°C می باشد (۳۰).

مطالعات صورت گرفته نشان می دهد که ۱۵ نوع

تعداد بیشتر است که بسیاری از آنها گزارش نشده است. اصولاً علائم بیماری در انسان به شرح زیر می باشد. مننگوآنسفالیت، سپتی سمی همراه با انفلوئزا، سقط، سپتی سمی در نوزادان، سندرم شبیه مونونوکلئوز، تورم گوش میانی، تورم لوزه، فارنژیت سینوزیت، مننژیت، پنومونی، اندوکاردیت، پری تونیت، آبسه های چرکی لوکالیزه، جراحت های پوستی بصورت پوستول و پاپولار، کتو نکتیویت، اورتریت، پسکوز در جوانان و عقب ماندگی ذهنی (۲۷، ۳۳).

لیستریوز در دوران بارداری:

ابتلا به لیستریا در دوران بارداری بسیار حائز اهمیت است. عفونت ممکن است بدون نشانه بالینی یا بصورت يك بیماری حاد تب دار توأم بالرز، خستگی، خارش پوست، سردرد و علائم شبیه انفلوئزا باشد که چند روز یا چند هفته قبل از سقط یا وضع حمل ظاهر می کند. چنین عفونت انفلوئزایی می تواند تنها تظاهر باکتری لیستریایی در زمان بارداری باشد. عفونت در دوران حاملگی از طریق جفت به جنین منتقل می شود و منجر به بیماری گرانولوماتوز سپتیک می شود که از بین رفتن جنین در رحم یا سقط را به همراه دارد. در برخی از زنان باردار فارنژیت، اسهال، پیلونفریت و بندرت میننژیت گزارش شده است. در بیشتر موارد سقط و زایمان زودرس بلافاصله بعد از بیماری تب دار حاد در زن باردار مشاهده می شود (۳۴، ۴۱).

لیستریوز در نوزادان:

مشخص ترین مشکل لیستریوز از نظر بالینی می باشد. از مننژیت که از نظر بالینی در عرض يك ماه بعد از زایمان ظاهر می شود تا بیماری منتشره در اطفال سقط شده و نارس دیده می شود. اگر بیماری ۱ تا ۴ هفته بعد از زایمان مشاهده شود عموماً در سیستم عصبی مرکزی متمرکز می شود. نوزادانی که با داشتن لیستریوز زنده بدنیا می آیند بدون تب یا تب دار بوده و علائم مرضی بصورت تشنج، سیانوز، سوء تغذیه، اسهال و استفراغ دیده می شود.

لیستریوز در نوزادان به دو فرم اتفاق می افتد ۱- حالت اولیه که باعث مرگ جنین یا سقط شده و با کاهش وزن نوزاد همراه است و گرانولوماتوز اینفانتیسهپتیکا (granulomatose infantiseptica) خوانده می شود. مادران این نوزادان معمولاً دارای يك حالت زکامی هستند و میزان مرگ و میر در نوزادان ۳۰٪ می باشد. ۲- حالت ثانویه که درست بعد از زایمان یا هنگام زایمان ظاهر می شود و باعث مننژیت در هفته های اول زندگی نوزاد می شود. سپتی سمی در این هنگام بسیار کشنده می باشد. میزان مرگ و میر ۱۰٪ می باشد. در نوزادان بعد از استرپتوکوک آگالاکتیا و اشرشیاکلی، لیستریا مونوسیتوژنز از نظر آلودگی در مقام سوم قرار دارد (۵۰).

لیستریوز سیستم عصبی:

شایع ترین و خطرناک ترین فرم بیماری را تشکیل می دهد و با حمله به سیستم عصبی مرکزی انسان

ایجاد مننژیت می کند. چنانکه عفونت به داخل مغز نفوذ کند، مننگوآنسفالیت می دهد. مننژیت لیستریایی معمولاً بصورت حاد و ناگهانی شروع می شود و با سوزرد، تهوع و سختی گردن همراه است. در ابتدای بیماری معمولاً نوتروفیل های مایع نخاع زیاد می شوند و سپس جای خود را به لنفوسیت ها می دهند. آبسه های مغزی احتمالاً همراه یا بدون همراهی مننژیت می باشد (۴۵).

لیستریوز در حیوانات:

تاکنون حیوانات مختلفی برای ایجاد لیستریوز تجربی و مطالعه عوارض آن به کار رفته است. از این نمونه ها می توان خرگوش، موش، چن چنلا، جوجه، اردک، بوقلمون و قناری را نام برد. حساس ترین حیوان آزمایشگاهی به لیستریا چن چنلا است ولی به علت گرانی، مصرف چندانی ندارد. موش و خرگوش مناسب ترین حیوانات برای کارهای آزمایشگاهی می باشند بدنبال تلقیح در حیوانات آزمایشگاهی پایدارترین علامت بالینی، سپتی سمی است که بوسیله مراکز نکروزه در کبد، طحال، شش ها و غدد فوق کلیوی مشخص می شود. بیماری در حیوانات به اشکال مختلف ظاهر می شود که به شرح زیر می باشد:

سقط جنین:

گاو و گوسفند از حیوانات اهلی هستند که تحت تأثیر قرار می گیرند. عفونت به سرعت به جفت رسیده و باعث مرگ جنین و سقط می شود.

سپتی سمی:

این حالت در هفته های اول زندگی شایع است و با ظهور بثوراتی در کبد همراه می باشد.

آنسفالیت:

فرم معمولی لیستریوز در حیوانات اهلی می باشد و در نشخوارکنندگان بسیار شایع است و از نظر اقتصادی معمولاً ضایعات بیشماری را ایجاد می کند.

کراتوکنژنکتیویت:

عفونت چشمی می باشد که لیستریا مونوسیتوژنز از آن جدا می گردد و به تنهایی عامل اصلی بیماری نمی باشد.

ماستیت گاوی:

لیستریا مونوسیتوژنز از ورم پستان جدا می شود. Gitter (۱۹۸۰) مدارکی ارائه می دهد که شیرهای آلوده بعد از ۳ ماه که علائم کلینیکی از بین رفته است، نیز آلوده می باشند.

عفونت مخلوط:

دیگر موارد عفونتی نیز همراه لیستریوز دیده می شوند. اما ارتباط بین این عفونت ها و باکتری شناخته نشده است (۴۱).

درمان:

لیستریوز از نظر تشخیص و درمان مسئله مشکلی است. این مشکل در مراجعه نوزادان مبتلا به لیستریوز حادتر می شود. زیرا اغلب آنتی بیوتیک های توصیه شده به علت سمیت یا دشواری مصرف برای نوزادان مناسب نمی باشند. لیستریا مونوسیتوژنز در شرایط آزمایشگاه نسبت به بسیاری از آنتی بیوتیک ها و عوامل ضد میکروبی مانند پنی سیلین G، آمپی سیلین، اریترومایسین، کلرامفنیکل، تتراسایکلین، آمینوگلیکوزیدها سولفامتوکسازول، تری متوپریم و ریفامپین حساس است ولی اثرات درمانی این داروها در لیستریوز پایین است، بطوریکه بیشتر از ۵۰٪ از بیماران علی رغم داشتن درمان شیمی درمانی مناسب می میرند. یکی از دلایل این امر این است که لیستریا در ماکروفاژ میزبان ساکن می شود و تکثیر می یابد و در نتیجه از دسترسی آنتی بیوتیک ها دور می ماند. ثانیاً لیستریا يك باکتری فرصت طلب است که اغلب باعث بیماری میزبان های دارای نقص ایمنی می شود. امروزه برای درمان سریع لیستریوز از دواتی بیوتیک استفاده می کنند (۲۴، ۲۶، ۴۷).

از بین آنتی بیوتیک های مؤثر فقط سولفامتوکسازول، تری متوپریم و آمینوگلیکوزیدها باکتری سیدال هستند. بطوریکه برای درمان سریع از آمپی سیلین توأم با يك آمینوگلیکوزید استفاده می شود. آمپی سیلین نسبت به پنی سیلین مؤثرتر بوده و نشان داده شده است که جتتامیسین بصورت سینرژیستی با آمپی سیلین در شرایط آزمایشگاهی عمل می کند. در افرادی که به پنی سیلین ها حساسند میتوان از دو آنتی بیوتیک تری متوپریم و سولفامتوکسازول استفاده نمود. بطوریکه این دو سطح سرمی خوبی را ایجاد می کنند و هم چنین می توانند در CSF نیز وارد شوند. استفاده از آنتی بیوتیک های دیگر توصیه نشده است (۲۰).

استفاده از ریفامپین در لیستریوز انسائی هنوز قطعی نشده است. ریفامپین برای لیستریا مونوسیتوژنز باکتریوستاتیک است و وقتی با پنی سیلین و آمپی سیلین استفاده شود خاصیت آنتاگونیسمی دارد. کومرمایسین يك ممانعت کننده gyrase باکتریایی است. فعالیت درمانی آن از طریق تجربی بر روی موشهای آلوده شده مورد ارزیابی قرار گرفته است. مطالعات صورت گرفته نشان می دهد که استفاده از این دارو بعد از ۵ روز باعث نابودی باکتری در طحال و کبد می شود و معمولاً بعد از خاتمه درمان، آلودگی مجدد دیده نمی شود. حتی ارگانایسم های درون سلولی نیز مشاهده نمی گردند. با این آزمایشها بنظر می رسد که کومرمایسین يك داروی انتخابی در درمان لیستریوز باشد (۲۴).

در حال حاضر آمپی سیلین به علت داشتن عوارض

جانبی کم و غلظت سنجی کافی، آنتی بیوتیک انتخابی در درمان لیستریوز نوزادان می باشد. مطالعات صورت گرفته نشان می دهد که تغییر بزرگی در حساسیت آنتی بیوتیکی آن صورت نگرفته است (۱۵، ۳۲).

راههای تشخیص:

۱- کشت:

مهمترین راه تشخیص لیستریا مونوسیژنوز، کشت می باشد. این باکتری را می توان از کشت خون، مایع نخاع، ادرار، مکنونوم، جفت، ترشحات واژن، مغز، استخوان، شیر و فرآورده های لبنی، گوشت، سبزیجات و غیره جدا نمود. امروزه محیط های کشت متعددی برای لیستریا تهیه شده است که از آن جمله می توان Modified MacBride, PALCAM, TNA و... را نام برد.

چگونگی ایزوله کردن باکتری از مواد مختلف توسط Cherry و Seeliger بصورت زیر شرح داده شده است:

۱- هموزنیزه کردن بافت مشکوک که بهترین روش استفاده از یک دستگاه هموزنیزاتور می باشد که بافت مزبور را با مقداری آب مقطر استریل یا تریپتوزبرات مخلوط کرده و هم می زنند تا سوسپانسیون یکنواختی بدست آید. یک قسمت از سوسپانسیون حاصل روی محیط بلادآگار و TNA کشت داده می شود و قسمت دیگر در یخچال 4°C نگهداری می گردد. مایعات بدنی، سواپها و شیر و مواد دیگر به همین طریق کشت داده می شوند. منتها در مورد شیر باید آن را سانتریفوژ نمود و سپس رسوب حاصله را کشت داد.

کلنی های حاصله بر روی محیط TNA بعد از ۱۸ تا ۲۴ ساعت بصورت Smooth و به رنگ سبز- آبی می باشند. در محیط بلادآگار کلنی ها رنگ حاصل را ندارند و یک هاله بتاهمولیز در اطراف کلنی ها دیده می شود. بر روی کلنی های مشکوک تست های خاص صورت گرفته و اگر کشت نتیجه منفی بدهد باید ۳ مرتبه و به فاصله ۲ هفته کشت مجدد داده شوند امروزه برای جداسازی لیستریا مونوسیژنوز از سایر لیستریاها از سه واکنش زیر استفاده می کنند ۱- تست کمپ ۲- استفاده از قند گزیزلوز ۳- استفاده از قندرامنوز

بر روی محیط PALCAM کلنی های لیستریا مونوسیژنوز به رنگ سیاه دیده می شوند (۴، ۴۰)

۲- استفاده از حیوان:

در این روش ۲ تا ۳ قطره از کشت مایع ۲۴ ساعته را در چشم خرگوش یا خوکچه می چکانند و کنتر نکتویت را مورد بررسی قرار می دهند (۶).

۳- پاتولوژی:

آزمایش بافت شناسی همیشه کمک شایانی به تشخیص لیستریوز می نماید. آسیب شناسی عبارتند از انفلتراسیون سلوهای رتیکولر مویرگها که بعداً بصورت

یک ندول در می آیند و تدریجاً از وسط نکروزه و از حاشیه اسکروزه می شود (۵۷).

۴- سرولوژی:

تحقیقات و تجربیات زیادی در زمینه تشخیص سرمی عفونت لیستریایی صورت گرفته است ولی هیچکدام نتیجه ای که بتوان به آن اعتماد کامل کرد، حاصل نکرده است. در حال حاضر دانشمندان بر این عقیده اند که جستجوی پادتن های سرمی تنها می تواند وجود بیماری لیستریوز را برای پزشک مشکوک کند و پیوسته تشخیص قطعی، جدا نمودن باکتری توسط محقق می باشد. آزمایشهای سرولوژیکی که در زمینه لیستریا صورت می گیرد شامل آگلوتیناسیون، کمپلمان فیکساسیون، همآگلوتیناسیون غیرمستقیم، پرسی پیتاسیون الیزا وایمونوفلورسانت مستقیم و غیر مستقیم می باشد (۲۱).

۵- فاژتایپینگ:

جهت مطالعات اپیدمیولوژیکی استفاده می شود. امروزه با استفاده از فاژ و ایزوآنزیمها آنها را تیپ بندی می کنند (۱۴، ۳۵).

۶- بررسی حساسیت جلدی:

در مواردی که واکنش جلدی مثبت و عیار ثبوت مکمل بالا رفته باشد می توان عفونت لیستریایی را تقریباً حتمی دانست (۳۹)

۷- Brenda typing:

این روش برای جداسازی تیپ های فنوتیپی مشابه به کار می رود و جهت کارهای اپیدمیولوژیکی مناسب می باشد، به هرحال هرکدام از این روشها به تنهایی محدودیت هایی را دارا می باشند و برای کارهای تحقیقاتی باید از ترکیب این تکنیک ها استفاده نمود (۴۳).

شیر و انواع میکروبهای آن:

شیری که از پستان گاو سالم دوشیده می شود، سترون می باشد ولی غالباً با انواع میکروکوکها و استرپتوکوکهای که معمولاً در مجاری شیر و ابتدای پستان به سر می برند، آلوده می شود. تعداد باکتریها در شیر تازه چندصد تا چند هزار در هر ml متغیر است ولی در شرایط غیر بهداشتی تعداد آنها به نیم میلیون یا بیشتر میرسد. شیر از طریق ظرف شیردوشی، دست شیردوش، لباس شیردوش، هوای محل دامداری، پوست حیوان، غذا و پستان حیوان آلوده میشود.

باکتریهای که معمولاً در شیر و فرآورده های آن یافت می شوند در چهار گروه زیر قرار می گیرند ۱- کوکوس ها معمولاً از نوع گرم مثبت ۲- باکتریهای میله ای شکل گرم مثبت بدون اسپور ۳- باکتریهای میله ای شکل گرم مثبت اسپوردار ۴- باکتریهای میله ای شکل گرم منفی.

کوکوس های شیر طبیعی از نوع استرپتوکوکها بخصوص استرپتوکوک لاکتیس است. میکروکوکها نیز در شیر یافت می شوند. هردوی این باکتریها در حرارت پاستوریزاسیون از بین نرفته و مقاومت نشان می دهند. لاکتوباسیل ها غالباً در شیر یافت می شوند و در تهیه انواع شیرهای تخمیر یافته و پنیر اهمیت دارند. باسیلوس ها که آلودگی ثانویه می باشند، نسبت به حرارت پاستوریزاسیون مقاومت دارند.

باکتریهای کلی فرم که وجودشان در شیر نامطلوب است، نشانگر شرایط غیر بهداشتی است. وجودشان در شیر پاستوریزه نشانگر انجام نگرفتن پاستوریزاسیون به نحو مطلوب یا آلوده شدن مجدد شیر بعد از پاستوریزاسیون می باشد. شیر شامل پروتئین، چربی، کربوهیدرات، نمک های آلی و ویتامین ها بوده و نمی توان آن را برای مدت طولانی نگهداری کرد. همچنین شیر یک محیط غذایی بسیار خوب برای رشد انواع میکرو ارگانیسم ها می باشد.

یکی از باکتریهای که در این اواخر وجودش در شیر بیشتر مورد توجه بوده است و مسئله مهمی می باشد، لیستریا مونوسیژنوز است. این باکتری داخل سلولی اختیاری می باشد و درون لوکوسیت ها رفته و از آن طریق وارد شیر می شود و منتقل میگردد (۳۶، ۵۸).

سالم سازی شیر:

با توجه به نقش میکروبها در شیر و بیماریزایی آن، مصرف شیر خام و غیر پاستوریزه برای بهداشت و سلامت انسان خطرناک است. روشهای سالم سازی شیر متکی به اصل جلوگیری از رشد و نمو میکروبها در شیر و در نتیجه حفظ و نگهداری کیفیت غذایی آن است. روش های متداول به شرح زیر می باشند:

۱- جوشاندن:

تا حدود ۱۲۰ سال پیش تنها راه سالم سازی و نگهداری شیر، جوشاندن آن بود. امروزه به علت اینکه شیر ارزش غذایی خود را از دست می دهد بخصوص ویتامین های B و C و هیمینتور پروتئین ها و کلسیم دستخوش تغییر میگردد، مورد استفاده قرار نمی گیرد.

۲- پاستوریزاسیون:

با استفاده صحیح از حرارت، ۹۹/۵ درصد از میکروبهای آن را از بین برده و سعی می شود که به ساختمان فیزیکی و تعادل شیمیایی و بیوشیمیایی آن آسیبی وارد نشود (۵۹).

روش های پاستوریزاسیون:

۱- پاستوریزاسیون پایین:

از حرارت کم در مدت زیاد استفاده می کنند Low Temperature long time (LT LT). امروزه این

Species	L.mono- cytogenes	L.inno- cua	L.ivono vii	L.seeli- geri	L.wels- himeri	L.denitri- ficans	L.grayi	L.murrayi
Beta hemolysis	+	-	+	+	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	-	-	-	-	-	+	-	+
Urea hydrolysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Methyl red	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges proskauer	+	+	+	+	+	-	+	+
TSIA	A/A ^a	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
SIM motility	+	+	+	+	+	+	+	+
Dextrose	+	+	+	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Manitol	-	-	-	-	-	-	+	+
Rhamnose	+	V ^b	-	-	V	-	-	V
Xylose	-	-	+	+	+	+	-	-

a: Acid slant-Acid butt-
b: variable (Lavett j 1988)

صورت گرفت، مشاهده شد که از ۲۰۲ بیماری که سابقه یکبار سقط داشتند، ۸ مورد مثبت و از ۲۰۸ بیمار با بیش از یکبار سابقه سقط، ۲۶ مورد مثبت و از ۳۸ مورد افراد نازا، هیچ مورد مثبتی مشاهده نشد (۵۳).

در سال ۱۳۵۳ نیز ۳ مورد لیستریا مونوسیتوزنر توسط دکتر لشگری و همکاران از مادر و نوزاد جدا گردید (۵۳).

در سال ۱۳۵۹ نیز اولین مورد لیستریوز آکولوگلاندولار (Occuloglandular) در ایران توسط دکتر لشگری گزارش شد (۵۵).

دکتر جلیلوند یوسفی و همکاران (۱۳۶۶) ارتباط بین غذای دام و لیستریوز را در بز و گوسفند نشان دادند در سال ۱۳۶۷ نیز نامبرده و همکاران مطالعه ای به روش کشت و سرولوژی انجام دادند و لیستریا مونوسیتوزنر سروتیپ 2a و 4b را جدا نمودند (۴۹).

در سال ۱۳۶۸ مطالعه ای در مورد آلودگی شیرهای خام و پاستوریزه صورت گرفت که نتایج آن به شرح زیر می باشد.

جدا کردن لیستریا مونوسیتوزنر یکی از مهمترین مسائل در مطالعات اپیدمیولوژیکی می باشد. مطالعات انجام شده نشان می دهد که بعد از جدا نمودن این باکتری به خوبی روی محیط های کشت باکتریایی رشد می کند. روش های متعددی برای جدا نمودن لیستریا مونوسیتوزنر از مواد آلوده وجود دارد. اولین مرحله در جدا سازی باکتری فوق، غنی سازی می باشد. در این مطالعه از تربیتیکیزسوی برات حاوی گلوکز استفاده گردید. ابتدا از شیرها که در شرایط استریل جمع آوری شده بودند، رسوب تهیه گردید. سپس از رسوب حاصله بر روی محیط فوق برده شد و به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه ۳۷°C قرار گرفت بعد از این مرحله از محیط مایع بر روی محیط TNA و TNA Blood برده و دوباره پلیت ها را به مدت ۴۸ ساعت در گرم خانه ۳۷°C

روش برای بررسی های کمی و کیفی استفاده دارد. به ۳ طریق انجام می شود. ۱- مستقیم ۲- غیرمستقیم ۳- ساندویچ.

پادتن های فلورسنت پادتن هایی هستند که از راه های شیمیایی با رنگ های فلورسنت ترکیب می شوند و در زیر میکروسکوپ نورهای قابل دیدن ساطع می کنند. این رنگ ها با ریشه های آمین ملکول آنتی بادی اتصال می یابند. فلورسنتین بدو صورت FITC (فلورسنتین ایزوسیانات) و FIC (فلورسنتین ایزوسیانات) برای نشاندار کردن مواد پروتئینی استفاده می شود که FITC جزء بهترین رنگ های قابل دسترس با فلورسانس سبز مایل به آبی و وزن ملکولی ۳۸۹ می باشد.

در روش مستقیم سلول باکتری یا بافت با آنتی بادهای نشاندار شده با مواد فلورسانس مجاور می شوند. آنتی بادی نشاندار چنانکه به شاخص آنتی ژنی خاص خود در سطح سلول اتصال یابد در مراحل شستشو حذف نخواهد شد. در مرحله آخر گسترش را زیر میکروسکوپ فلورسانس مشاهده می کنند.

تشخیص بیماری های نظیر بروسوز، سالمونلوز، عفونت های ناشی از کلی باسیل ها، کلستری دیوم ها و لیستریا مونوسیتوزنر با این روش حائز اهمیت است (۲۹، ۱).

سوابق بیماری در ایران

اولین مورد از گزارش لیستریوز در ایران در سال ۱۳۳۸ توسط دکتر غلامرضا نظری ارائه گردیده است. نامبرده لیستریا را از بیماری که مشکوک به سل ریوی بود، جدا نمود (۵۴).

در مطالعاتی که بین سال های ۱۳۴۴ تا ۱۳۵۰ روی ۵۰۰ بیمار توسط دکتر حسین سعادت زاده و همکاران

روش به علت کندی و بازدهی کم و پاستوریزاسیون مستقیم شیر برای عرضه به بازار مورد استفاده قرار نمی گیرد.

۲- پاستوریزاسیون بالا :

از حرارت بالا در مدت کم استفاده می کنند. High Temperature short time (HTST)، به پاستوریزاسیون سریع نیز موسوم است. در این روش شیر را حداقل ۷۲°C به مدت ۱۵ ثانیه حرارت می دهند، سپس تا ۷°C - ۴°C خنک کرده و در بطری های شیشه ای یا مقوای بسته بندی می کنند.

رشد هنگام نگهداری در یخچال :

توانایی رشد لیستریا در ۴°C به دو دلیل مهم است. ۱- برای ایزوله کردن آن از باکتری های گرمادوست ۲- تعداد آنها در ماده غذایی کم است و بعد از ذخیره سازی در حرارت پایین افزایش می یابد و به یک سطح خوبی می رسد. Watkins (۱۹۸۵) نشان داده است که بعضی از نمونه ها را باید مدت ۱۲ ماه نگهداری کرد و بعد به جداسازی باکتری فوق پرداخت (۳۷). Marth (۱۹۸۶) با مطالعه بر روی یک سری فرآورده های شیری نشان داد که هرچقدر درجه حرارت بالا رود در مدت زمان کمتری می توان باکتری را نگهداری نمود (۳۷).

شیوع اخیر مسمومیت های غذایی، وجود لیستریا مونوسیتوزنر را در آنها محرز ساخته است. بنابراین زنده ماندن و رشد باکتری در مدت تولید محصولات غذایی و بعد از ذخیره سازی آنها حائز اهمیت است (۱۶). ایمونوفلورسانس :

از روش های حساس ایمونولوژیکی است. این

بحث:

با توجه به گزارشات پژوهندگان مرکز کنترل بیماریهای مسری در آمریکا (CDC) در سال ۱۹۸۸، برای اولین بار ارتباط اپیدمیولوژیک مستقیمی بین لیستریوز انسانی و آلودگی مواد غذایی گزارش شد و این امر لزوم توجه بیشتر را به کنترل مواد غذایی معطوف می‌دارد. امروزه سازمان بهداشت جهانی هر سال سمینار بررسی لیستریوز را در ژنو برگزار و اپیدمیولوژی بیماری را از جهات مختلف مورد بحث و تبادل نظر قرار می‌دهد که این خود دلیل براهیت کنترل

مشابه را يك نمونه تلقی کرده و مثبت می‌کردیم. پس از بررسی‌های لازم بر روی ۳۴ نمونه مثبت سرویتپ آنها بدین ترتیب مشخص گردید. ۱۸ مورد سرویتپ ۹،۴b، ۳ مورد سرویتپ 1/2c و ۴ مورد سرویتپ ۴a. از تعداد ۳۰۰ نمونه شیر پاستوریزه مورد بررسی هیچ سوبه‌ای از لیستریا مونوسیتوژنز جدا نگردید. در تست ایمونوفلورسانس مستقیم، معلوم گردید که از ۶۰۰ نمونه موجود، ۱۲۵ نمونه مثبت می‌باشد. در بررسی‌ها معلوم گردید که تمام این نمونه‌های مثبت مربوط به شیرهای خام می‌باشند.

قرار دادیم. باید گفت از هر نمونه شیر دوسری کشت داده شد و يك سری را در شرایط ۷٪ CO₂ و سری دیگر را در شرایط معمولی قرار دادیم. بعد از این مدت پلیت‌ها، از گرم خانه بیرون آورده شدند و پرکنه‌های مشکوک مورد بررسی قرار گرفتند. رسوب‌ها در تمام مدت کشت در یخچال ۴ °C نگهداری شدند. و بعد از يك هفته بطور مستقیم بر روی محیط جامد برده شدند و مراحل بالا تکرار گردید. بعد از ۲ هفته از کشت رسوب اول، شیرها دوباره کشت داده شدند و کشت سوم ۲ هفته بعد از کشت دوم داده شد. در هر مرحله از پرکنه‌های مشکوک لام گرفته می‌شد و با توجه به مرفولوژی باکتری، پرکنه فوق ایزوله شده و تست کاتالاز روی آنها صورت می‌گرفت. در صورت مثبت بودن، تست‌های بعدی صورت می‌گرفت. جدول شماره ۲ واکنش‌های بیوشیمیایی گونه‌های مختلف لیستریا را نشان می‌دهد. با توجه به خصوصیت لیستریا مونوسیتوژنز که در حرارت ۲۵ °C متحرک و در ۳۷ °C غیر متحرک می‌باشد از نمونه‌های مشکوک بر روی محیط حرکت برده می‌شد تا مورد بررسی قرار گیرند و در صورت متحرک بودن در ۲۵ °C و غیر متحرک بودن در ۳۱ °C مراحل بعدی تست‌ها انجام می‌گرفت. بعد از مثبت بودن نتایج واکنش‌های بیوشیمیایی بر روی این نمونه‌ها آزمایشهای سرولوژیکی به روش Slide و Diffusion جهت تعیین سرویتپ انجام شد. در مرحله آخر نمونه‌ها جهت تأیید به جوامع بین‌المللی فرستاده شدند. جهت تست ایمونوفلورسانس مستقیم از رسوب شیرها در مرحله اول لام تهیه گردید و لام‌ها در فریزر جهت جمع‌آوری نمونه‌های شیر، نگهداری شدند. سپس بر روی لام‌ها تکنیک رنگ آمیزی ایمونوفلورسانس مستقیم صورت گرفت و لام‌ها زیر میکروسکوپ فلورسانس جهت مشاهده لیستریا مونوسیتوژنز مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج:

در این پژوهش بر روی ۳۰۰ نمونه شیر خام و ۳۰۰ نمونه شیر پاستوریزه، کار شد. پس از انجام مراحل کشت، پرکنه‌های مشکوک از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی مورد بررسی و سپس خواص بیوشیمیایی آنها تحت آزمایش قرار گرفت. از تعداد ۳۰۰ نمونه شیر خام، ۳۴ مورد لیستریا مونوسیتوژنز جدا گردید که در نهایت سرویتپ آنها جدا گردید. با مطالعه بر روی نمونه‌های مثبت جدا شده معلوم گردید که بیشترین موارد مثبت از کشت‌هایی بودند که مدت بیشتری در یخچال ۴ °C قرار داشتند. با اینکه غنی‌سازی نقش مؤثری در جداسازی لیستریا مونوسیتوژنز دارد ولی این امر نشان داد که اهمیت سرماگذاری نمونه‌ها بالاتر از غنی‌سازی می‌باشد. البته باید متذکر شد که اگر از يك نمونه شیر مورد آزمایش در مراحل مختلف لیستریا مونوسیتوژنز جدا می‌گردید تماماً تعیین سرویتپ می‌شدند و نمونه‌های

جدول ۳- تعداد نمونه‌های جدا شده در هر مرحله از کشت*

موارد مثبت	سرماگذاری*			
	موارد مثبت	کشت سوم	کشت دوم	کشت اول
ماهیهای سال	موارد مثبت	کشت غنی شده	کشت اول	کشت دوم
فروردین	۰	-	-	-
اردیبهشت	۱	-	-	-
خرداد	۳	-	۲	-
تیر	۲	-	۱	-
مرداد	۱	-	-	-
شهریور	۲	۱	-	-
مهر	۵	۱	۳	-
آبان	۹	۲	۱	۵
آذر	۶	-	۴	۲
دی	۳	-	۱	-
بهمن	۰	-	-	-
اسفند	۲	-	۱	۱

* در هر ماه ۲۵ نمونه، کشت داده شده است.
* کشت‌ها در هر سه مرحله از رسوب شیرها می‌باشد.

جدول ۴- توزیع سرویتپ‌های مختلف جدا شده با توجه به فصول سال

ماهیهای سال	موارد مثبت	سرویتپ ۴b	۲a	۲c	۲a
فروردین	۰	-	-	-	-
اردیبهشت	۱	۱	-	-	-
خرداد	۳	-	۲	۱	-
تیر	۲	-	۱	-	۱
مرداد	۱	۲	-	-	-
شهریور	۲	۲	-	-	-
مهر	۵	۲	۲	۱	-
آبان	۹	۶	۳	-	-
آذر	۶	۴	۱	-	۱
دی	۳	۱	-	-	۲
بهمن	۰	-	-	-	-
اسفند	۲	۱	-	۱	-

C.M.A.J. 1963, 88: 858.

20) Gellin, B.G. Listeriosis. JAMA. 1989, 261(9): 1313-1320.

21) Gray and Killinger. Listeria monocytogenes and listeric infection. J. Bact. Rev. 1966, 30: 310-382.

22) Geoffroy, C. Purification and characterization and toxicity of the sulphydryl activated hemolysin LLo from L.M. Infect Immun. 1987, 55(7): 1641-1646.

23) Holt, J.G. Bergey's manual of systematic bacteriology, 1984, Vol:2, 1235-1245, Williams and Wilkins, Baltimore.

24) Hof, H. The effect of Coumermycin on experimental listeriosis. J-infect. 1986, 13: 17-23.

25) Heisick, J.E. Listeria Spp. found on fresh market product, Appl. Env. Microbiol. 1989, 55(8): 1925-1927.

26) Hof, H. Murine Model of therapy of listeriosis in the compromised host. chemotherapy. 1984, 30: 125-130.

27) Jacobs, J.L. Why is L.M not a pathogen in acquired immunodeficiency syndrome. Arch. Inter. Med. 1986, 146: 1299-1300.

28) Joklik, W.A. Zinsser Microbiology. 1988, 19th edition USA. 31: 409-413.

29) Khan, M.A. Immunofluorescent Identification of L.M. Zbl. Bact. Hyg. 1977, 239: 62-69.

30) Katharion, S. Tn- 916 Induced mutations in the hemolysin determination affecting Virulence of L.M.J. of Bact. 1987, 169(3): 1291-1297.

31) Kuhn, M.A. nonvirulent mutant of L.M does not move intracellularly but still induces polymerization of Actin. Infect. Immun. 1990, 58(11): 3477-3486.

32) Larsson, S. antimicrobial susceptibilities of L.M strains isolation from 1958 to 1982 in Sweden. Anti. Agent. Chem. 1985, 28(1): 12-14.

33) Librach, I.M. Human listerial meningitis. J.Clin. Path. 1961, 14: 193-195

34) Machanghton, M. Listeria monocytogenes in abortion. the Lancet. 1962: 484

35) McLauchlin, J. The evaluation of a phage typing system for L.M for use in epidemiological studies. J.Med. Microbiol. 1986, 22: 357-365.

36) Mahanta, K.C. Dairy Microbiology. 1984, Second edition, Omsons pub.

37) Marth, E.H. Listeria in dairy food. Cheese Reporter. 1986, 111(15): 1

38) Mascola, L. Surveillance of listeriosis in Los Angeles county, 1985-1986, Arch intern.

منابع مورد استفاده

1) Akyoshi, K.J.F. Luorescent antibody techniques and their application, 1977, Tokyo press, second E edition.

2) Adams, T.J. Iron acquisition systems of Listeria monocytogenes. Infect. Immun. 1990, 58(8): 275-278.

3) AL-Ghazali, M.R. Detection and enumeration of L.M in sewage treatment plant in Iraq. J. of applied. Bacteriol. 1986, 60: 251-254.

4) AL-Zoreky, N. Highly selective medium for isolation of L. M from food. Appl. Enu. Microbiol. 1990, 56(10): 3154-3157.

5) Baily, J.S. L.M Colonization of Broiler chickens. poultry science. 1990, 69(3): 457-461.

6) Bergan, T. Methods in Microbiology. 1979, 13: 31-49, Academic press.

7) Beuchet, L.R. Observation on survival and thermal inactivation of L.M in ravioli. Lett in Appl. Microbiol, 1989, 8: 173-175.

8) Bendig, Jiw.A. Listeria in hospital Lettuce the Lancet 1989, March: 616-617.

9) Cowart, R.E. Differential effect of iron on the growth of L.m minimum requirements and mechanisms of acquisition J. infed, Dis. 1985, 151: 721-730.

10) Cowart, R.E. Iron regulation of growth and hemolysin production by L.M. Ann. Inst-Pasteur/ Microbiol. 1987, 138: 284.

11) Enkins J. Purification of the soluble hemolysin of L.M.J. Bacteriol. 1964, 88: 418-424.

12) Fenlon, D.R. The incidence of L.M in Raw Milk from bulk tanks in North - East Scotland. J. Appl. Bact. 1989, 66: 191-196.

13) Fenlon, D.R. wild birds and silage as reservoirs of listeria in the agricultural environment- J. Appl. Bact. 1985, 59: 537-543.

14) Farber, J.M. Listerie monocytogenes, a food. borne pathogen. CMAJ. 1988, 138: 413-417.

15) Filice, G.A. Listeria monocytogenes infection in neonates J. Infect. Dis. 1978, 138(1): 17-23.

16) Fleming, D.W. Pasteurized milk as a Vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. N.E.J.Med. 1985, 312(7): 404-8.

17) Fuchs, R.S. Incidence of listeria in tropical fish and fishery products. Lett. Appl. Micro, 1989, 9: 49-51.

18) Garayzabal, J.F. listeria monocytogenes dans le Lait Pasteurize. Can. J. Microbiol. 1986, 32: 149-150.

19) Gray, M.L. Epidemiology of listeriosis.

بهداشتی مواد غذایی از نظر لیستریا مونوسیتوژنز می باشد. در این بررسی معلوم گردید که شیوع لیستریا مونوسیتوژنز در شیر خام در فصل پاییز و اوایل زمستان به مراتب بالاتر از فصل تابستان می باشد که این امر می تواند در ارتباط با افزودن سیلوی درجه پایین در جیره و تعداد بالای حیوان آبتن در زمستان و کمبود علوفه سبز در جیره باشد.

هم چنین در بررسی انجام گرفته توسط تکنیک ایمنوفلورسانس مستقیم از ۶۰۰ نمونه مورد آزمایش ۱۲۵ مورد (۲۱٪) مثبت تشخیص داده شده که از این تعداد ۱۲ مورد با کشت مطابقت داشت که این امر نشانگر وجود واکنش های متقاطع (Cross reaction) بین لیستریا مونوسیتوژنز و باکتریهای دیگر نظیر استریتوکوک، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس و غیره می باشد.

با توجه به Saprionosis, Food-borne, Zoonosis بودن لیستریا مونوسیتوژنز و نقش آن در بیماریزایی انسان و دام، مطالعات وسیعی از سال ۱۹۸۰ به بعد در دنیا انجام پذیرفته است و هم اکنون نیز در حال پژوهش می باشد بطوریکه امروزه نقش بیماریزایی آن مشخص و این عامل را مسئول سقط جنین های تکراری و سایر عوارض مادرزادی و هم چنین عامل ایجاد ناهنجاریهای مختلف در افرادی که ضعف سیستم ایمنی دارند، می دانند.

در مملکت ما نیز از سال ۱۳۶۰ به بعد بررسی هایی توسط پژوهندگان ایرانی در مورد سقط جنین های لیستریایی در انسان انجام پذیرفته که نشانگر وجود سر و واریته های ۲a و ۴b بوده است. هم چنین در بررسی های سرولوژیکی که بر روی ۲۲۱۶ نمونه سرم خون بیمارانی که با عوامل سقطی یا ناهنجاریهای مادرزادی به پزشک متخصص مراجعه میکردند با روش IFA، معلوم گردید که ۲۴/۵٪ عیار بالاتر از ۱/۸۰۰ در Raising titer داشته اند هم چنین از نمونه های کشت شده سروواریه های ۲a و ۴b جدا گردیدند (۴۹، ۶۰، ۶۱) که پراکندگی این دوسروواریه در ایران نشان می دهد که نتایج این بررسی ها با نتایج پژوهشی که بر روی ۳۰۰ نمونه شیر خام و ۳۰۰ نمونه شیر پاستوریزه با استفاده از تکنیک های FA و Culture انجام پذیرفت، مشابه بود بطوریکه از ۳۰۰ نمونه شیر خام، ۳۴ مورد لیستریا مونوسیتوژنز با سر و واریته های مختلف جدا گردید که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است که وجود این دوسویه مشترک ۲a و ۴b بین انسان و دام نشانگر انتقال آن از طریق مصرف شیر و فراورده های آن به انسان می باشد که نقش بیماریزایی آن چه در حیوان و چه در سقط جنین های تکراری و سایر ناهنجاریهای مادرزادی در انسان توسط پژوهندگان به اثبات رسیده است که توجه مسئولین محترم بهداشتی را در کنترل شیر و فراورده های دامی جلب می نماید که اغلب باعث آلودگی محیط زیست و انسان می شود. □

دکتر لشکری، مجله دانشکده پزشکی تهران، ۱۳۵۳، شماره ۵۶، صفحه ۹۲-۹۴.

۵۵) گزارش اولین مورد لیستریوز آکولوگلاکولار در ایران- دکتر لشکری، مجله دانشکده پزشکی تهران: ۱۳۵۹، شماره اول و دوم، صفحه ۴۶-۴۸.

۵۶) پادتن های فلورسنت و ایمونوفلورسانس- ایمنی شناسی بنیادی- دکتر حسن تاج بخش، ۱۳۶۴، صفحه ۱۶۰-۱۶۶، انتشارات دانشگاه تهران.

۵۷) توکسوپلاسموز، تولارمی، لیستریوز، دکتر کریمی، دکتر پورمنصور، دکتر آسمار- ۱۳۶۲- صفحه ۲۵۰- ۱۴۱ انتشارات انستیتو پاستور.

۵۸) میکروبیولوژی عمومی- دکتر ملک زاده، دکتر شهامت- ۱۳۶۹- صفحه ۶۲۵-۶۲۳ انتشارات شهراب.

۵۹) شیر و فرآورده های آن- شماره ۱۳۹- ۱۳۶۲- وزارت صنایع- معاونت صنایع غذایی- دفتر طرح و برنامه.

۶۰) لیستریا مونوسیژنوز به عنوان یک زئونوز- دکتر وند یوسفی و همکاران- نخستین کنگره بررسی مسائل بهداشتی و درمانی منطقه- ۸۵ آبان- ۱۳۶۹- صفحه ۷۸.

۶۱) لیستریا و لیستریوزیس- دکتر وند یوسفی و همکاران- سمینار زئونوزها- ۲۳- ۲۵ دی- ۱۳۶۸- صفحه ۲۳.

46) Sonnea writh, A.C. Gradwhols clinical laboratory method. 1980. 8th edition, Mosby company, 1673-1679.

47) Traub, W.H. Perinatal. listeriosis- chemotherapy- 1981, 27:423-431.

48) Vlahoric, M.S. Transmission of L.M from mothers milk to her baby and to puppies. The lancet, 1988, 12(2): 1201.

49) Vand yousefi, DJ. Listeriosis in IRAN. In- ternational congress for infection disease. July 15-19, 1990, P: 195.

50) Visintin, J. Listeria monocytogenes infection in Infant and children. A.J. Dis. child, 1977, 131: 393-397.

51) Welch, D.F. Relationship between SOD and Pathogenic mechanism of L.M. Infect. Immun. 1979, 23(3): 863-72.

52) Wong, H.C. Incidence and characterization of L.M in foods available in taiwan. Appl. Enu. Microbiol. 1990, 56: 3101-4.

۵۳) لیستریوز و مواردی از آن در ایران. دکتر حسین سعادت زاده. مجله دانشکده پزشکی، ۱۲۵، شماره ۲۵، صفحه ۲۸۹-۲۹۳.

۵۴) گزارش سه مورد سقط جنین به علت لیستریا مونوسیژنوز

Med. 1981, 149: 1569-1572.

39) Osebold, J.W. chemical and Immunological compisition of surface structures of L.M.J. of Bacteriol, 1965, 89(1): 84-88

40) Rodriguez, L.D. Microplate technique to determine hemolytic activity for routine typing of listeria strain. J. Microbiol. 1986, 24(1): 99-103.

41) Seeliger, H.P. R. Listeriosis- History and actual development. Infection. 16, 1988, Suppl. 2(5-80-584).

42) Sokolovic, Z. Synthesis of species-specific stress proteins by virulent strains of L.M. Infect. Immun. 1990, 58(11): 3582-3587.

43) Szabo, E.A. Acomparative study of clinical and food isolates of L.M and related species. Epidemiol. Infect. 1990, 105: 245-254.

44) Skor gard, N. Listeriosis: A Food- borne zoonotic disease. scand. dairy. industry 1988, 1: 6-8.

45) Sepp. A.H. Listeria monocytogenes infections in. Metropolitan toronto. C.M.A.J. 1963, 88: 549-561.

