مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۷ – شماره ۲ – تابستان ۱۳۹۲

Journal homepage: www.ijmm.ir

تعیین فراوانی سویه‌های *لیستریا منوسیتوژنز* در نمونه‌های بالینی و غیربالینی به روش فنوتیپی و تأیید آن با روش PCR

اباذر پورنجف[۱،۲]، لیدا لطف الهی[۳]، غلامرضا ایراجیان[۱]، عبدالله اردبیلی[۴]، بهروز صادقی کلانی[۱،۲]، مجتبی تقی زاده ارمکی[۵]

۱. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۲. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
۴. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران
۵. گروه قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مازندران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
دریافت:۱۳۹۲/۰۱/۱۰
پذیرش:۱۳۹۲/۰۴/۱۰
انتشار آنلاین:۱۳۹۲/۱۲/۱۵

IJMM 1392; 7(2): P 14-19

نویسنده مسئول:
دکتر غلامرضا ایراجیان
گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
تلفن: ۲۱۸۸۰۵۸۶۴۹
پست الکترونیک:
girajian@yahoo.com

چکیده

زمینه و اهداف: *لیستریا منوسیتوژنز* یک پاتوژن فرصت‌طلب و عامل بیماری لیستریوزیس با طیف بالینی گسترده می‌باشد؛ بنابراین آلودگی با *لیستریا مونوسیتوژنز* تهدیدی برای سلامتی به ویژه افراد با سرکوب سیستم ایمنی محسوب می‌گردد. هدف از انجام این مطالعه، تعیین فراوانی *لیستریا منوسیتوژنز* با استفاده از روش های فنوتیپی و تأیید ایزوله‌های شناسایی‌شده از طریق روش PCR در نمونه‌های بالینی و غیرکلینیکی می‌باشد.

مواد و روش کار: در این مطالعه ٦١٧ نمونه بررسی شد. پس از رشد ابتدا بر روی محیط اختصاصی پالکام آگار کلنی های رشد یافته با استفاده از تست های رایج بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. در نهایت، از واکنش زنجیره پلیمراز (PCR) به منظور تأیید سویه‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها: تعداد ٤٦(٧/٤٪) ایزوله *لیستریا منوسیتوژنز* از کل ٦١٧ نمونه جمع‌آوری شده، جدا گردید. از بین ١٧٠ نمونه بالینی، تعداد ١٤ (٨/٢٪) سویه شامل ٤(٧/٥٪) سویه از جفت، ٢(٥/٧) سویه از ادرار، ٥ (١٤/٢٪) سویه از سواب واژن و ٣(٨/٥٪) سویه از رکتال سواب جدا شدند. همچنین، ٥(٧/١٪)، ٢ (١٠٪) و ٢(١١/٧٪) سویه نیز از ١٠٧ نمونه لبنی مختلف به ترتیب شامل پنیر، خامه و کشک به دست آمدند. از ٢١٠ نمونهٔ فرآورده‌های مختلف گوشتی نیز،١١ (٥/٢٪) سویه جدا شد که شامل ٥ (٥/٥٪)،٤(٧/٢٪) و ٢(٣٪) به ترتیب از سوسیس، عصاره گوشت و عصاره مرغ بود. در نهایت، ١٢ (٩/٣٪) سویه، از ١٣٠ نمونه دامی جداسازی گردید که شامل ٦ (١٠٪) تا از بز، ٤(٨٪) سویه از گوسفند و ٢ (١٠٪) سویه از گاو بودند. در واکنش *PCR* نیز تمامی ٤٦ سویه لیستریا منوسیتوژنز دارای ژن *inlA* بودند.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر آلودگی نمونه‌های بالینی و غیرکلینیکی به *لیستریا منوسیتوژنز* را نشان می‌دهد؛ بنابراین، استفاده از یک تکنیک ساده و استاندارد از قبیل *PCR* جهت ردیابی سریع این باکتری از منابع مختلف ضروری به نظر می‌رسد.

کلمات کلیدی: لیستریا منوسیتوژنز، *inlA*، PCR.

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

لیستریا منوسیتوژنز(*Listeria monocytogenes*) یک باکتری گرم مثبت و درون سلولی اختیاری بوده که عامل لیستریوزیس در انسان و حیوانات است. تظاهرات لیستریوزیس شامل مننگوانسفالیت، سپتی سمی و سقط‌جنین در انسان‌ها، به ویژه در افراد با معرض خطر بالا از جمله زنان باردار، افراد با سرکوب سیستم ایمنی، نوزادان و افراد مسن می‌باشد (۳، ۲، ۱). جایگاه اولیه *لیستریا منوسیتوژنز* غالباً محیط می‌باشد و این

باکتری در خاک، گیاهان در حال فساد، فاضلاب و آب وجود دارد. این باکتری یک پاتوژن فرصت‌طلب است که معمولاً از طریق غذاهای از قبل آماده و فرآورده‌های لبنی و گوشتی به انسان منتقل می‌شود. به دلیل مقاومت بالای این باکتری نسبت به شرایط محیطی سخت از جمله غلظت بالای کلرید سدیم و pH اسیدی و همچنین تحمل دمای ۴ درجه سلسیوس به عنوان یکی از باکتری های مهم منتقل‌کننده از مواد غذایی و همچنین یک نگرانی عمده در بهداشت عمومی و صنعت غذایی در نظر گرفته می‌شود (۶، ۵، ۴). در سال‌های اخیر چندین مورد از همه‌گیری لیستریوزیس در رابطه با مصرف مواد غذایی به ویژه محصولات غذایی از قبل آماده از قبیل پنیر نرم، کشک، عصاره مرغ، گوشت های منجمد و غیره در کشورهای صنعتی گزارش شده است (۵، ۴). با توجه به افزایش شیوع *لیستریا منوسیتوژنز* و افزایش افراد در معرض خطر در جامعه، امروزه نیاز اساسی به یک روش تشخیصی سریع به جای روش های سنتی میکروب‌شناسی به منظور ارزیابی نمونه‌های غذایی و دامی مختلف احساس می‌شود. در سال های اخیر از تکنیک PCR برای تشخیص حضور *لیستریا منوسیتوژنز* بیماری زا و مهاجم در شیر خام، گوشت خردشده و محصولات لبنی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های مختلف از قبیل *hly*: *inlA* و *inlB*، *iap*، *actA* و غیره استفاده شده است (۷). اینترنالین های A و B از ساختارهای سطحی مهم در *لیستریا منوسیتوژنز* محسوب می‌شوند که در ورود ارگانیسم به سلول های میزبان، برقراری عفونت و در نتیجه بیماری‌زایی آن در افرادِ در معرض خطر نقش بسزایی دارند (۱۰، ۹، ۸). به دلیل اینکه ژن *inlA* اختصاصی گونه لیستریا *منوسیتوژنز* بوده و سایر گونه‌های لیستریا و دیگر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی فاقد آن می‌باشند، لذا شناسایی این ارگانیسم از طریق تکنیک PCRبر مبنای وجود این ژن، امکان‌پذیر است (۱۱). هدف از مطالعه حاضر، تعیین فراوانی سویه‌های *لیستریا منوسیتوژنز* در نمونه‌های بالینی و غیرکلینیکی با استفاده از روش های میکرب‌شناسی و بیوشیمیایی و تأیید ایزوله‌ها، از طریق تکنیک PCRمی‌باشد.

مواد و روش‌ها:

نمونه‌گیری به صورت تصادفی در طول سال های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۱ در یک مرکز بالینی و درمانگاه دامپزشکی و فروشگاه‌های مواد غذایی در سطح شهر تهران انجام شد. نمونه‌های بالینی تهیه‌شده از بیمارانی که با تشخیص سقط‌جنین در بیمارستان دکتر شریعتی بستری بودند، شامل سواب های جفت، واژن و رکتوم، خون و ادرار بود. نمونه‌های دامی تهیه‌شده از درمانگاه دامپزشکی دانشگاه تهران شامل نمونه جفت از گاو، بز و گوسفندانی که متحمل سقط‌جنین شده بودند، به دست آمد. همچنین، فرآورده‌های لبنی و گوشتی به طور تصادفی از چندین فروشگاه مواد غذایی در سطح شهر تهران خریدآری شدند. تمامی نمونه‌ها در آزمایشگاه به نسبت ۱ به ۱۰ در محیط Tryptocase Soy Yeast Extract Broth (-TSYEB) (Merck، آلمان) رقیق و به مدت حداکثر ۳۰ روز در دمای یخچال نگهداری شدند. طبق روش غنی‌سازی در سرما، به فاصله هر هفته، نمونه‌ها را روی محیط اختصاصی مانند پالکام و لیستریا سلکتیو آگار (Merck، آلمان) کشت داده و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت درون جار شمع دار و در ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه می‌کنیم. پس از رشد کلنی های مشکوک با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و روش های بیوشیمیایی استاندارد نظیر تست کاتالاز، حرکت چتری در ۲۵ درجه سلیسوس، هیدرولیز اسکولین، تست مثبت CAMP، تست های متیل رد (MR) و ووگس-پروسکوئر (VP)، ایجاد همولیز بتا روی آگار خون دار و تولید اسید از قندهای گلوکز، رامنوز و عدم مصرف زایلوز و مانیتول به عنوان *لیستریا منوسیتوژنز* مورد شناسایی قرار گرفتند. از سویهٔ رفرنس *لیستریا منوسیتوژنز*ATCC7644 نیز به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

ردیابی ژن *inlA* از طریق واکنش PCR

وجود قطعهٔ ۸۰۰ جفت بازی از ژن inlAدر ۴۶ سویهٔ *لیستریا منوسیتوژنز* شناسایی‌شده با استفاده از روش های بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا DNA ژنومی باکتری با استفاده از High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche، آلمان) از کلنی های رشد یافته استخراج گردید. برای انجام PCR، از پرایمر اختصاصی ژن *inlA* (جدول ۱) استفاده شد (۱۱). سپس، واکنش PCR به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر از PCR master mix 5X (سیناکلون، ایران) حاوی Taq DNA polymerase (0.08 U/µl)، $MgCl_2$ (3 mM) و dNTPs (0.4 mM)، ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از پرایمر به غلظت ۰/۸ میکرومولار، ۰/۵ میکرولیتر از DNAالگو (۱۰ ng) و ۱۸/۵ میکرولیتر آب دیونیزه استریل با استفاده از گرادیانت ترموسایکلر (اپندروف، آلمان) برای ۳۰ سیکل به صورت زیر انجام گرفت: مرحلهٔ واسرشتگی در دمای ۹۵ درجه سلیسوس به مدت یک

دقیقه، مرحلهٔ اتصال پرایمرها در ۶۲ درجه سلیسوس به مدت ۴۵ ثانیه و مرحلهٔ طویل سازی در ۷۲ درجه سلیسوس به مدت ۵۰ ثانیه. در پایان، محصولات واکنش PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیوم بروماید (0.5 µg/ml) در مقایسه با سویه‌های کنترل مثبت (لیستریا منوسیتوژنز ATCC۷۶۴۴) و کنترل منفی (لیستریا ایوانووی ATCC۱۹۱۱۹) الکتروفورز گردید.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن *inlA*

ژن	توالی پرایمر	طول قطعه تکثیریافته (جفت باز)
ترادف جلویی	5′-ACGAGTAACGGGACAAATGC-3′	۸۰۰
ترادف برگشتی	5′-CCCGACAGTGGTGCTAGATT-3′	

آنالیز آماری

آنالیز آماری نتایج به دست آمده، به کمک نرم‌افزارهای SPSS (Version 14)و با استفاده از آزمون آماری پیرسون کای-دو (Pearson-Chi Square) به ازای $P< 0.05$ انجام شد.

یافته‌ها

ایزوله‌های باکتری

از کل ۶۱۷ نمونه بالینی و غیرکلینیکی تحت مطالعه، ۴۶ سویه (۷/۴٪) *لیستریا منوسیتوژنز* به دست آمد. تعداد ۱۴ سویه (۸/۲٪) *لیستریا منوسیتوژنز* از ۱۷۰ نمونه بالینی جمع‌آوری شده از زنان بستری در بیمارستان دکتر شریعتی تهران که باسابقه سقط‌جنین توسط پزشک متخصص زنان و زایمان بستری‌شده بودند، جداسازی گردید. به طور همزمان $۱۰^{۷}$ نمونه غذایی شامل پنیر، خامه و کشک از نظر وجود *لیستریا منوسیتوژنز* مورد بررسی قرار گرفت که از این تعداد، ۹ سویه (۸/۴٪) جداسازی شد. از تعداد ۲۱۰ نمونه گوشتی، شامل ۹۰ نمونه سوسیس، ۵۵ مورد عصاره گوشت و ۶۵ نمونهٔ عصاره مرغ، تعداد ۱۱ مورد (۵/۲٪) *لیستریا منوسیتوژنز* جدا شد. همچنین،۱۲ سویه (۹/۲٪) نیز از کل ۱۳۰ نمونه دامی شامل ۶۰ نمونه بز، ۴۵ نمونه گوسفند و ۲۵ نمونه گاو جداسازی شد (جدول ۲).

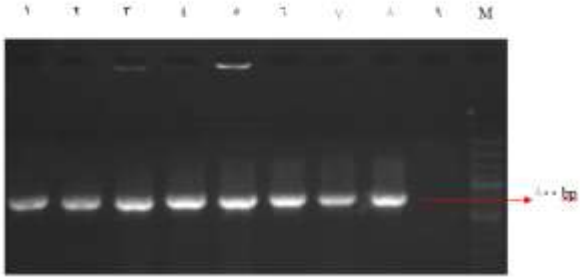
جدول ۲: فراوانی لیستریا منوسیتوژنز جداشده از نمونه‌های بالینی و غیر بالینی

نوع نمونه		مکان/مواد نمونه برداری	تعداد(٪) نمونه	تعداد (٪) باکتری جدا شده
کلینیکی		جفت	۵۳ (۳۱/۲)	۴(۷/۵)
		خون	۱۲ (۷)	۰(۰)
		ادرار	۳۵ (۲۰/۶)	۲ (۵/۷)
		سواب واژن	۳۵ (۲۰/۶)	۵ (۱۴/۲)
		رکتال سواب	۳۵ (۲۰/۶)	۳(۸/۵)
		تعداد کل	۱۷۰	۱۴ (۸/۲)
غیر کلینیکی	لبنی	پنیر	۷۰ (۶۵/۴)	۵(۷/۱)
		خامه	۲۰ (۱۸/۷)	۲(۱۰)
		کشک	۱۷ (۱۵/۹)	۲(۱۱/۷)
		تعداد کل	۱۰۷	۹(۸/۴)
	گوشت فرآوری شده	سوسیس	۹۰ (۴۲/۹)	۵(۵/۵)
		عصاره گوشت	۵۵ (۲۶/۲)	۴(۷/۲)
		عصاره مرغ	۶۵ (۳۰/۹)	۲(۳)
		تعداد کل	۲۱۰	۱۱(۵/۲)
	دام	بز	۶۰ (۴۶/۲)	۶(۱۰)
		گوسفند	۵۰(۳۸/۷)	۴(۸)
		گاو	۲۰(۱۵/۴)	۲(۱۰)
		تعداد کل	۱۳۰	۱۲(۹/۲)

تشخیص مولکولی *لیستریا منوسیتوژنز*

نتایج حاصل از آزمون PCR بر روی تمامی ایزوله‌های *لیستریا منوسیتوژنز* شناسایی‌شده با استفاده از روش های میکرب‌شناسی و بیوشیمیایی نیز نشان داد که همه سویه‌ها،

بدون توجه به منشأ آنها، دارای ژن *inlA* بودند. شکل ۱ نتایج حاصل از تکثیر ژن *inlA* در چند سویه انتخابی لیستریا منوسیتوژنز را در مقایسه با گونه *لیستریا ایوانووی* ATCC۱۹۱۱۹ نشان می‌دهد.



شکل ۱: **تصویر ژل الکتروفورز ژن *inlA* در ۸ ایزوله منتخب *لیستریا منوسیتوژنز***. ردیف ۱: کنترل مثبت (*لیستریا منوسیتوژنز* ATCC۷۶۴۴)؛ ردیف ۲ و ۳: سویه‌های جداشده از نمونه‌های بالینی؛ ردیف ۴ و ۵: سویه‌های جداشده از فرآورده‌های لبنی؛ ردیف ۶ و ۷: سویه‌های جداشده از فرآورده

بحث و نتیجه‌گیری

لیستریوزیس بیماری قابل گزارشی در سیستم بهداشت و سلامت ایران محسوب نمی‌شود و لذا شیوع واقعی *لیستریا منوسیتوژنز*، در کشور ما ناشناخته است. همچنین، به علت مصرف شیر خام و تهیه سنتی بعضی از مواد لبنی از قبیل پنیر محلی و مصرف آنها در برخی از نقاط ایران و استفاده از مواد غذایی آماده مصرف، این باکتری ممکن است در این‌گونه مواد حضورداشته و به سهولت از طریق دستگاه گوارش وارد بدن گردد (**۱۲**). از طرف دیگر، به دلیل میزان بالای مرگ‌ومیر ناشی از لیستریوزیس (۳۰-۲۵٪ در افراد سالم و حدود ۷۰٪ در افراد با سرکوب سیستم ایمنی) (**۱۳**)، آگاهی دقیق از شیوع این باکتری در فرآورده‌های غذایی، دامی و مواد بالینی مختلف ضروری به نظر می‌رسد.

در مطالعه حاضر، از تعداد ۱۷۰ نمونه جمع‌آوری شده از زنان بستری در بیمارستان، ۱۴ مورد (۸/۲٪) *لیستریا منوسیتوژنز* جداسازی گردید که بیش‌ترین تعداد ایزولاسیون (۵ مورد) مربوط به سواب واژن (۱۴/۲٪) می‌باشد. همچنین از نمونه‌های بالینی خون، هیچ باکتری جدا نشد. در مطالعه‌ای که توسط Shayan و همکاران در سال ۱۳۸۷ بر روی نمونه‌های واژن انجام گرفت، از تعداد ۱۰۰ نمونه مورد بررسی، ۷ سویه *لیستریا منوسیتوژنز* جداسازی شد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (**۱۴**). در مطالعه Kargar و همکاران در سال ۲۰۰۸ در ایران، میزان شیوع *لیستریا منوسیتوژنز* در موارد سقط انسانی، ۱۵/۴ درصد گزارش گردید. با این وجود، میزان شیوع بالاتر گزارش‌شده در مطالعه کارگر و همکاران در مقایسه با این مطالعه می‌تواند به دلیل انجام پژوهش در مناطق محروم کشور و اختلاف سطح بهداشت در مقایسه با تهران باشد (**۱۵**). در مطالعه حاضر، ۵ ایزوله باکتری (۸/۲٪) از نمونه جفت که به دلیل سقط‌جنین بستری‌شده بودند، به دست آمد که می‌تواند بیانگر گرایش ویژه این باکتری به بافت جفت باشد. تفاوت اندکی در توزیع فراوانی *لیستریا مونوسیتوژنز* جداشده از نمونه‌های بالینی و غیر بالینی وجود دارد که از نظر آماری معنادار نمی‌باشد ($P<0/05$).

همچنین در این مطالعه، ۲۰ ایزوله *لیستریا منوسیتوژنز* از تعداد کل ۳۱۷ نمونه فراورده‌های غذایی، لبنی و گوشتی به دست آمد. در مطالعه Morobe و همکاران، میزان شیوع *لیستریا منوسیتوژنز* در نمونه‌های محصولات غذایی، ۴/۳٪ بود که با مطالعه حاضر مطابقت دارد (**۱۶**). در مطالعات انجام‌شده در سایر کشورها از جمله یوگسلاوی، ایتالیا و آمریکا تعداد سویه‌های باکتری ایزوله شده از سوسیس های گوشت گاو و خوک به ترتیب ۹/۶٪، ۱۴٪ و ۷/۵٪ بود (**۱۸،۱۷، ۱۹**). در مطالعه حاضر از فرآورده‌های مختلف گوشتی نظیر سوسیس، عصاره گوشت و مرغ تعداد ۵/۲۳٪ *لیستریا منوسیتوژنز* ایزوله گردید که در مقایسه با مطالعات سایر کشورها تقریباً همخوانی داشته و اندک اختلاف مشاهده‌شده به دلیل تفاوت در تهیه مواد غذایی و عادت های رژیمی می‌باشد.

روش های سنتی میکروب‌شناسی برای تشخیص و شناسایی *لیستریا منوسیتوژنز* بسیار پرزحمت و وقت‌گیر می‌باشد؛ لذا امروزه از تکنیک های مولکولی نظیر PCR برای این هدف استفاده می‌شود (**۱۰**). در این مطالعه پس از شناسایی اولیهٔ سویه‌های *لیستریا منوسیتوژنز* با استفاده از روش های معمول میکرب‌شناسی و بیوشیمیایی، از تکنیک PCR برای تأیید نهایی و قطعی ایزوله‌ها استفاده گردید. مطابق با نتایج به دست آمده از سایر مطالعات، تمامی ۴۶ سویه شناسایی‌شده، دارای ژن *inlA* *بودند* که تأییدکنندهٔ گونه *لیستریا منوسیتوژنز* می‌باشد. در مطالعه انجام‌شده توسط Lio و همکاران (**۱۰**)، همه ۳۶ سویه

لیستریا منوسیتوژنز حامل ژن *inlA* بودند. به طور مشابهی، در مطالعه‌ای که توسط Almeida انجام شد، ژن *inlA* در تمامی ایزوله‌های لیستریا منوسیتوژنز از محصولات غذایی و نمونه‌های محیطی حضور داشت درحالی‌که سایر گونه‌های لیستریا و همچنین سایر جنس های باکتری فاقد ژن مذکور بودند (۱۰). نتایج حاصله از مطالعه ما بیانگر این حقیقت است که ژن *inlA* تنها در گونه *لیستریا منوسیتوژنز* وجود داشته که بنابراین می‌توان از آن برای تمایز گونه‌های لیستریا استفاده نمود. از طرف دیگر، از آنجایی که حضور ژن *inlA* در ارتباط با بیماری‌زایی این باکتری است (۲۰)، بنابراین می‌توان با استفاده از آزمون PCR به خصوصیت بیماری زا بودن *لیستریا منوسیتوژنز* پی برد. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که اگرچه تست های میکروب‌شناسی و بیوشیمیایی به عنوان روش ساده و با حساسیتی قابل‌قبول جهت شناسایی *لیستریا منوسیتوژنز* در نظر گرفته می‌شوند ولی می‌توان از تکنیک های مولکولی در دسترس نظیر PCR نیز به عنوان یک روش تشخیصی سریع، با حساسیت و اختصاصیت بالا برای ردیابی *لیستریا منوسیتوژنز* از منابع مختلف بهره گرفت.

به طور کلی، یافته‌های حاصل از تحقیق حاضر و نتایج به دست آمده از سایر مطالعات اپیدمیولوژیکی منطقه‌ای (۲۲،۲۱،۳)، آلودگی نمونه‌های بالینی و غیرکلینیکی به *لیستریا منوسیتوژنز* را نشان می‌دهد که تهدیدی برای ابتلای به لیستریوزیس و عواقب خطرناک آن در جامعه است؛ 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.

در مطالعه حاضر، نمونه‌های بالینی مورد بررسی فقط از زنان مبتلا به سقط‌جنین جمع‌آوری شده بودند؛ لذا تعیین فراوانی لیستریوزیس در سایر افراد از قبیل بیماران دچار سرکوب سیستم ایمنی (مبتلایان به سرطان، ایدز، لنفوم و افراد پیوندی) و کودکان و سالمندان مبتلا به لیستریوزیس، نیز از اهداف مهم در کارهای بعدی می‌باشد. از طرف دیگر، در این پژوهش نمونه‌های بالینی فقط از یک مرکز درمانی جمع‌آوری شده بود که سعی بر آن است تا در مطالعات بعدی، از مراکز مختلف درمانی نمونه‌گیری انجام گیرد تا اطلاعات جامع تری از شیوع *لیستریا منوسیتوژنز* به دست آید. همچنین، به دلیل عدم انجام سروتایپینگ، شیوع واقعی سروتیپ های شایع دخیل در لیستریوزیس انسانی نظیر سروتیپ های 1.2a، 1.2b، 1.2c و 4b، تعیین نشده است.

تشکر و قدردانی

این مقاله با همکاری همه مؤلفین تهیه، خوانده و تأیید شده است. نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران به علت حمایت مالی جهت انجام این پروژه و همچنین از همکاری کارشناسان بخش میکرب‌شناسی بیمارستان دکتر شریعتی و دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به علت جمع‌آوری نمونه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1. Liu D, Lawrence ML, Ainsworth AJ, Austin FW. Toward an improved laboratory definition of *Listeria monocytogenes* virulence. *International Journal of Food Microbiology*. 2007; 18:101–115.
2. Cabanes D, Dehoux P, Dussurget O, FrangeulL , Cossart P. Surface proteins and the pathogenic potential of *Listeria monocytogenes*. *Trends in Microbiol*. 2002; 10 (5):238-45.
3. Lotfollahi L, Nowrouzi J, Irajian GH, Masjedian F, Kazemi B, Eslamian L. Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Listeria monocytogenes* in spontaneous abortions in humans. *African Journal of Microbiology Research*.2011: 5(14):1990-93.
4. Liu, D. Identification, subtyping and virulence determination of *Listeria monocytogenes*, an important foodborne pathogen. *Journal OF Medical Microbiology*.2006; 55(6): 645-59.
5. Carpentier B, Cerf O. Review — Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises . *International Journal of Food Microbiology*. 2011; 145:1-8.
6. Jung SY, Frank JF, Brackett RE, Jinru C. Polymerase chain reaction detection of *Listeria monocytogenes* on frankfurters using oligonucleotide primers targeting the genes encoding internalin AB. *Journal of Food Protection*. 2003; 66(2):237-41.
7. Rawool DB, Malik SVS, Barbuddhe SB, Shakuntala I, Aurora R. A Multiplex PCR

for Detection of Virulence Associated Genes in *Listeria monocytogenes*. *Internet Journalof Food Safety*.2007:9: 56-62.
8. Orndorff PE, Hamrick TS, Smoak IW, Havell EA. Host and bacterial factors in listeriosis pathogenesis. *Veterinary microbiology*. 2006; 114(1):1-15.
9. Bierne H, Sabet C, Personnic N, Cossart P. Internalins: a complex family of leucine-rich repeat-containing proteins in *Listeria monocytogenes*. *Microbes and Infection*.2007; 9:1156-66.
10. Almeida PF, Almeida RCC. A PCR protocol using *inl* gene as a target for specific detection of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 2000; 11(2):97-101.
11. Liu D, Lawrence ML, Austin FW, Ainsworth AJ. A multiplex PCR for species-and virulence-specific determination of *Listeria monocytogenes*. *Journal of microbiological methods*. 2007; 71(2):133-40.
12. Jalali M, Abedi D. Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran. *International journal of food microbiology*. 2008; 122(3):336-40.
13. Vazquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Domınguez-Bernal G, Goebel W, et al. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clinical Microbiology Review*. 2001; 14(3):584-640.
14. Shayan R, Satari M. Identification of *Listeria monocytogenes* in vaginal samples using polymerase chain reaction. *Modares Journal of Medical Sciences*.2009:51-58.
15. Kargar M , Ghasemi A. Role of *Listeria monocytogenes hlyA* gene isolated from fresh cheese in human habitual abortion in Marvdasht. *Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases*. 2009.4(4): 214-218.
16. Morobe IC. Prevalence, antimicrobial profiles, molecular serotyping and toxigenicity of *listeria monocytogenes* isolated from food in Gabarone, Botswana. 2009.
17. Buncic S. The incidence of *Listeria monocytogenes* in slaughtered animals, in meat, and in meat products in Yugoslavia. *International Journal Food Microbiology*. 1991; 12(2-3): 173-80.
18. Comi G, Frigerio R, et al.. *Listeria monocytogenes* serotypes in Italian meat products. *Letters in applied microbiology*.1992:15(4): 168-171.
19. Wang C, Muriana PM. Incidence of *Listeria monocytogenes* in packages of retail franks .*Journal of Food Protection*.1994;57(5): 382-386.
20. Kathariou S. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. *Journal of Food Protection*. 2002; 65(11):1811-29.
21. Jami S, Jamshidi A, KhanzadiS.The presence of *Listeria monocytogenes in* raw milk samples in Mashhad, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 2010; 11(4):363-67.
22. Kaur S, Malik SV, Vaidya VM, Barbaddhe SB. *Listeria monocytogenes* in spontaneous abortions in humans and its detection by multiplex PCR. *Journal of Applied Microbiology*.2007; 103: 1889-96.