مجله میکرب شناسی پزشکی ایران
سال ۴ شماره ۴، زمستان۱۳۸۹، صفحات۲۰-۱۴

تزریق دوز غیرکشنده *لیستریا منوسیتوژنز* به موش نژاد Ba l b/ c هاپلوئیدH –i d و بررسی اثر آن بر جنین و ناهنجاری‌های جنینی

پرویندخت بیات [۱*]، عنایت‌الله کلانتر هرمزی [۲]

۱. گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اراک
۲. گروه میکرب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اراک
نویسنده مسئول: پرویندخت بیات، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اراک
تلفن: ۸-۴۱۷۳۰۲۰- ۰۸۶۱ bayatanat@yahoo.com.au

تاریخ دریافت : ۸۸/۱۰/۱۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۲۵

چکیده:

زمینه و اهداف: *لیستریامنوسیتوژنز* عامل سقط جنین و ناهنجاری‌های جنینی به‌خصوص در سیستم عصبی است. در آزمایش‌های تجربی بیشتر به‌بررسی ایمنولوژیک لیستر یوز در دوران بارداری پرداخته‌اند. به‌نظر می‌رسد که نیاز به‌مطالعه از دیدگاه باکتری‌شناسی و جنین‌شناسی لیستریوز در دوران بارداری وجود دارد. هدف این مطالعه تعیین نحوه آلودگی جنین با *لیستریامنوسیتوژنز*، اثرات آن در ایجاد سقط و ناهنجاری‌ها در اندام‌های آلوده جنین و تغییرات احتمالی اندازه طول جنین، اندازه دست و پا، تعداد انگشتان جنین بود.

روش کار: با استفاده از سرو تیپ‌های ۱/۲a، ۱/۲ b و4ab، 4 a ,4d ,4c *لیستریا منوسیتوژنز* ابتدا دوز غیر کشنده در موش تعیین شد. به ۷۰ سر موش **B**bla/c هاپلوئیدH –i d باردار در دو گروه شاهد و تجربه که در شرایط یکسان آزمایشگاهی قرار داشتند به‌ترتیب µL ۲۰۰سرم نرمال سالین و logCFU/ml ۱/۲ (دوز غیرکشنده) *لیستریا منوسیتوژنز* به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. در روزهای صفر تا ۳۰ بارداری از هرموش به‌صورت تصادفی تعدادی انتخاب و نخاعی شدند. سپس رحم جدا شد، تعداد و محل جفت شمارش گردید و با تعداد جنین‌های موجود در رحم مقایسه شد، تا تعداد سقط مشخص گردد. تعداد ۳۵ سر از مادران باردار در روز ۲۴ بارداری سزارین شد. میزان آلودگی اعضا مشخص گردید و جنین موش‌هایی که به‌مرحله فول ترم رسیده بودند در ساعت اول تولد از نظر وزن و ناهنجاری‌های دست وپا و تعداد انگشتان و اندازه اندام‌ها مطالعه شدند. داده‌های معنادار با استفاده از Post Hoc مورد ارزیابی قرار گرفتند تا تفاوت بین گروه‌ها محاسبه شود.

یافته‌ها: سوسپانسیون سروتیپ‌های مختلف *لیستریا منوسیتوژنز* در غلظت‌های یکسان باعث مرگ موش باردار نمی‌شود. با استفاده از دوز غیرکشنده سوسپانسیون *لیستریا منوسیتوژنز*۴b نشان‌داده شد که در روزهای مختلف حاملگی میزان سقط متفاوت است. این میزان با گروه شاهد اختلاف معنادار دارد ($P\leq 0.05$) . بین وزن و قد جنین-های آلوده نسبت به‌گروه شاهد اختلاف معناداری وجود ندارد($P\geq 0.05$) . در هیچ گروهی ناهنجاری‌های سر و صورت، تعداد انگشتان و اندازه اندام‌ها دیده نشد.

نتیجه گیری: وزن و قد نوزادان و جنین‌های سزارین شده آلوده در گروه‌های شاهد و تجربه اختلاف معنی‌داری ندارد. میانگین در صد سقط جنین در فواصل زمانی مختلف بارداری و در سروتیپ‌های مختلف در دو گروه شاهد و تجربه تفاوت معنادار نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: *لیستریامنوسیتوژنز*، سقط جنین، ناهنجاری جنینی، **B** bla/c

مقدمه:

لیستریامنوسیتوژنز باسیلی کوتاه، گرم‌مثبت، انگل اختیاری داخل سلولی و فاقد اسپور است. از طریق سبزیجات آلوده، شیر، پنیر، گوشت و بسیاری غذاهای آلوده دیگر به‌انسان یا دام منتقل می‌شود(۲،۱) مطالعات نشان داده است که این باکتری یکی از عوامل باکتریمی، سپتی‌سمی مننگوانسفالوسیت، اسپلنومگالی و هپاتومگالی به‌ویژه در دوران بارداری است که منجر به‌سقط یا مرگ جنین یا تولد زودرس جنین و مرگ نوزاد پس از تولد می‌شود(۴،۳). در۲۲٪ موارد آلودگی در زنان باردار، جنین سقط می‌شود یا نوزاد مرده بدنیا می‌آید. همینطور زایمان زودرس در سه ماهه سوم، که در مادر پائین‌ترین میزان ایمنی سلولی وجود دارد، گزارش شده است (۵). در مطالعات دیگر بر روی نوزادانی که از مادران آلوده، به‌صورت واژینال و سزارین بدنیا آمده‌اند، مننژیت گزارش شده است. در آلودگی کودکان به *لیستریا منوسیتوژنز* این باکتری در مغز به‌خصوص در ناحیه ساقه مغزی جایگزین می‌شود و اختلالات ذهنی ایجاد می‌کند(۶). نشان داده شده که آلودگی به *لیستریا* صرع عمومی یا فوکال می‌دهد و به‌دلیل ایجاد سکته، همی‌پلژی رخ می‌دهد. آبسه مغزی در ۱۰٪ افراد مبتلا در ناحیه تالاموس، پل دماغی و بصل‌النخاع گزارش شده است(۷).

به‌دلیل ملاحظات اخلاقی امکان ارزیابی عوامل موثر در ایجاد سقط، مرگ جنین و ناهنجاری‌های جنینی پس از آلودگی با *لیستریا منوسیتوژنز* در انسان وجود ندارد. لذا، ضرورت داشت تا اثرات ناشی از آلودگی در طول بارداری بر روی جنین در یک مدل حیوانی، که از جهت بارداری مشابه انسان است، بررسی شود. در آزمایشات تجربی اخیر بیشتر به‌بررسی جنبه‌های ایمنولوژیک لیستریوز در دوران بارداری پرداخته‌اند. لازم است این نتایج با دیدگاه‌های باکتری‌شناسی و بافت‌شناسی لیستریوز در دوران بارداری مقایسه شود. یافته‌ها باید با هم انطباق داده شود تا از نتایج مشترک به‌تحلیل‌های جدید دست یافت. نتایج مطالعات قبلی نشان داده است که عفونت لیستریوز در افرادی که سیستم ایمنی ضعیف دارند و نیز در زنان باردار دیده می‌شود که سیستم ایمنی سلولی و هومورال آن‌ها به‌جهت حفظ جنین تضعیف شده است (۸). همینطور در آزمایش‌هایی که بر روی موش در دوران بارداری انجام گرفته، نشان داده شده است که بارداری با تضعیف سیستم دفاعی مادر در مقابل *لیستریا منوسیتوژنز* در دهه آخر بارداری همراه است. این واقعه اثرات مضری بر روی تکامل جنین، لانه‌گزینی آن و نهایتا مرگ جنین دارد.(۹). هدف این مطالعه تجربی تعیین نحوه آلودگی جنین، اثرات *لیستریا منوسیتوژنز* در ایجاد سقط و ناهنجاری‌ها در اندام‌های آلوده جنین و تغییرات احتمالی اندازه طول جنین، اندازه دست و پا، تعداد انگشتان و اثرات احتمالی سموم باکتری برروی جنین بود.

مواد و روش‌ها:

در مرحله اول با دیدن پلاک واژینال، روز صفر بارداری موش‌های باردار تعیین شد. موش‌ها به دو گروه شاهد و تجربه ۳۵تایی تقسیم شدند و در شرایط نوری ، دمایی و آب و غذایی یکسان نگهداری شدند. در روز دهم بارداری به‌موش‌های گروه تجربه ۰/۲ml سوسپانسیون میکربی حاوی ۵/۴LogCFU/ml *لیستریا منوسیتوژنز* به‌صورت داخل صفاقی تزریق گردید. این باکتری استاندارد شامل سروتیپ‌های 4ab،۱/۲b،۱/۲a و4a 4c ,4d بود که از مرکز کلکسیون باکتری‌های عفونی ایران تهیه شده بود. در تهیه سوسپانسیون به هر آمپول لیوفلیزه ۰/۴ میلی‌لیتر محیط کشت مایع برین‌هارت اینفیوژن اضافه شد و کاملا مخلوط گردید. این سوسپانسیون به‌محیط کشت برین‌هارت اینفوژن براس اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گزاری شد. از کشت مایع تهیه شده در محیط آگار خوندار واکشت (پاساژ) شد و به‌مدت

۲۴ ساعت در ۳۷درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. از کلنی‌های تشکیل شده بر سطح آگار خوندار برداشت شد و در ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل سوسپانسیون شد. به‌کمک اسپکتروفتومتر با تعیین میزان جذب نوری آن در طول موج ۶۰۰nm و با استفاده از دامنه استاندارد رشد باکتری که میزان تغییرات جذب نوری را بر حسب تغییرات ۱۰LogCFU/ml نشان می‌دهد غلظت آن معین شد و رقت‌های مختلف از آن برای تزریق تهیه شد. سوسپانسیون‌های تهیه شده با غلظت‌های معین در ۲۰٪ گلیسرول و در دمای منهای ۲۰درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. از آن‌ها برای انجام آزمایش‌ها در موقع مناسب استفاده گردید. غلظت مختلف سروتیپ‌های مختلف *لیستریا منوسیتوژنز* در ۲۰۰ µL سرم نرمال سالین به‌طور داخل صفاقی به‌موش‌های باردار تزریق گردید. اثرات آن بر زندگی و مرگ موش‌ها در طول ۳۰ روز بعد از تزریق ثبت شد. به این ترتیب دوز مناسب که خاصیت کشندگی بر موش‌ها نداشته باشد، تعیین شد و از آن در مراحل بعدی آزمایش‌ها استفاده شد (۱۰، ۱۱).

پس از تعیین دوز غیرکشنده، مرحله دوم با یک گروه شاهد و ۴ گروه تجربه شروع شد. به ۳۵ سرموش شاهد در روز ۱۰ بارداری ۲۰۰ µL سرم نرمال سالین به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. به ۳۵ سرموش تجربی گروه اول ۲۰۰ µL از دوز غیرکشنده ۱/۲LogCFU/ml *لیستریا مونوسیتوژنز* از سروتیپ ۴b به‌صورت داخل صفاقی تزریق گردید. به‌مدت سی روز هر روز از تعدادی از موش‌ها ۵ ml خون گرفته می‌شد و وجود باکتری مورد بررسی قرار می‌گرفت. از ۳۵ موش تجربی گروه دوم حامله در ۷۲ ساعت پس از تزریق ۵ml خون گرفته شد. بعد از نخاعی کردن آن‌ها در شرایط کاملا استریل رحم جدا شد و زیر استریومیکروسکوپ

شاخ‌های رحم تشریح گردید. جنین، جفت و رحم مادران جهت تعیین میزان کلینیزاسیون جمع‌آوری شد. تعداد ۳۵ سرموش تجربی گروه سوم مادران باردار در روز ۲۴ حاملگی سزارین شد و جنین خارج گردید. رحم در محیط کاملا استریل جدا شد و جهت تهیه مقاطع بافت‌شناسی در فرمالین۱۰٪ قرار داده شد. همینطور نوزادان ۳۵ سرمادران گروه چهارم تجربی که به‌مرحله فول ترم رسیده بودند و به‌طور طبیعی زایمان انجام گرفته بود در ساعت اول تولد بررسی شدند. بررسی از نظر معیارهای مورد نظر (وزن، قد، ناهنجاری-های دست و پا، تعداد انگشتان، اندازه اندام‌ها از مفصل باز و تا نوک انگشت وسط و ناهنجاری‌های سر و صورت) در هر دو گروه تجربی و شاهد بود. همینطور رحم به‌طور کامل خارج شد و با برداشتن یک بلوک ۱×۱ سانتی‌متری از شاخ راست نمونه‌برداری شد و در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. با روش متداول آزمایشگاه بافت‌شناسی پاساژ داده شد، مقاطع mu ۵ برش داده شد و با روش H& E رنگ‌آمیزی گردید.

کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 11.5 انجام شد. پارامترهای مربوط به‌جنین با استفاده از مقایسه میانگین‌ها محاسبه شد. به‌علاوه، P- value کمتر از 0/05 به‌عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد. داده‌های معنادار با استفاده از Post Hoc مورد ارزیابی دقیق قرار گرفتند تا تفاوت بین گروه‌ها محاسبه شود.

یافته‌ها:

تزریق داخل صفاقی ۲۰۰ µL از غلظت‌های مختلف سوسپانسیون میکربی در موش‌های باردار در طول یک ماه از زمان تزریق نشان داد سوسپانسیون سروتیپ‌های مختلف باغلظت ۱/۲LogCFU/ml باعث مرگ موش مادر نمی‌شود. در مرحله دوم آزمایش‌ها از این غلظت جهت بررسی عوارض سقط جنین و نارسایی‌های جنینی استفاده شد (جدول ۱).

در مرحله دوم با تزریق داخل صفاقی ۲۰۰ µL دوز غیرکشنده سوسپانسیون سروتیپ‌های مختلف

لیستریا منوسیتوژنز به‌موش‌های باردار درصد سقط جنین در فواصل زمانی مختلف بارداری و در سروتیپ‌های مختلف بررسی شد. مقایسه میانگین‌ها در دو گروه شاهد و تجربه تفاوت معنادار نشان داد (جدول‌های۲و۳). بررسی وزن و قد نوزادان و جنین‌های سزارین شده آلوده نشان داد که آلودگی در مقایسه با گروه‌های شاهد و تجربه اختلاف معنی‌داری ندارد (p<0/05) (جدول۴). هیچگونه ناهنجاری ظاهری در اندام‌ها (دست و پا) از نظر اندازه طول اندام و تعداد انگشتان و تغییرات مورفولوژیکی، اسکلتی، صورت و چشم و گوش جنین‌های فول‌ترم به‌دنیا آمده و جنین-هایی که در روز ۲۴ بارداری با عمل سزارین از شکم مادر خارج شدند مشاهده نشد.

جدول ۱: مقایسه دوزهای غیر کشنده سروتیپ‌های *لیستریا منوسیتوژنز* با تزریق داخل صفاقی به‌موش‌های باردار نژاد **B**a l b/ c

سروتیپ‌های *لیستریا منوسیتوژنز*	سویه استاندارد(ATCC)	دوز غیر کشنده LOgCFU/ml
۱/۲ A	۱۹۱۱۱	۷/۸۲±۰/۲۹
۱/۲ B	۱۹۱۱۲	۸/۶۱±۰/۳۴
۴A	۱۹۱۱۴	۸/۹۵±۰/۴۸
۴B	۱۹۱۱۵	۵/۹۲±۰/۲۷
۴c	۱۹۱۱۷	۹/۲۴±۰/۴۳
۴d	۱۹۱۱۸	۹/۷۵±۰/۳۶

جدول ۲: مقایسه میزان سقط جنین در فواصل زمانی مختلف دوران بارداری ناشی از تزریق داخل صفاقی ۵/۴LogFCU/ml سروتیپ‌های *لیستریا منوسیتوژنز* b ۴ به‌موش‌های باردار نژاد **B**a l b/ c در روز صفر بارداری با گروه شاهد

فاصله زمانی بارداری(روز)	۰-۵	۶-۱۰	۱۱-۱۵	۱۶-۲۰	۲۱-۲۵	۲۶-۳۰
(گروه تجربه Mean±SEM سقط جنین)	۶/۷۴±۰/۳۳	۱۶/۳۹±۰/۹	۹۲/۱۴±۲/۶۲	۲۵/۸۸±۱/۲۹	۱۱/۴۶±۰/۵۳	۹/۶۱±۰/۸۱
(گروه شاهد Mean±SEM سقط جنین)	۰/۲۸±۱/۲۴	۰/۱۶±۰/۴۶	۰/۱۱±۰/۳۹	۰/۰۶±۰/۲۵	۰/۰۴±۰/۱۶	۰/۰۲±۰/۱۱
P: value	<۰۰۱/	<۰۰۱/	<۰۰۱/	<۰۰۱/	<۰۰۱/	=<۰۰۱/

جدول ۳: مقایسه میزان سقط جنین ناشی از تزریق داخل صفاقی ۵/۴LogFCU/ml از سروتیپ‌های *لیستریا منوسیتوژنز* در موش‌های باردار نژاد **B**a l b/ c با گروه شاهد در فاصله زمانی روزهای یازدهم تا پانزدهم بارداری

سروتیپ *لیستریا منوسیتوژنز*	میانگین سقط جنین	میانگین سقط جنین (شاهد)	P value
۱/ ۲a	۷۷/۵۴±۲/۱۷	۰/۳۹±۰/۱۱	<0/001
۱/ ۲b	۸۶/۲۲±۳/۵۱	۰/۳۹±۰/۱۱	<0/001
۴a	۵۳/۷±۱/۴۸	۰/۳۹±۰/۱۱	<0/001
۴b	۹۲/۱۹±۲/۶۳	۰/۳۹±۰/۱۱	<0/001
۴c	۳۱/۸۳±۱/۴۱	۰/۳۹±۰/۱۱	<0/001
۴d	۲۹/۷۵±۲/۳۶	۰/۳۹±۰/۱۱	<0/001

جدول ۴: مقایسه میانگین قد و وزن جنین‌های سزارین شده در روز ۲۴ بارداری و نوزادان فول‌ترم بدنیا آمده از موش‌های نژاد **B**a l b/ c طبیعی با آلوده به *لیستریا منوسیتوژنز*۴b

نوع جنین	سزارین شده در روز ۲۴ بارداری			متولد شده طبیعی فول‌ترم		
	گروه تجربه	گروه شاهد	P-value	گروه تجربه	گروه شاهد	P- value
میانگین قد	۱۲/۴۱±۰/۳۶	۱۳/۶۴±۰/۵۱	<0/058	۱۶/۹±۰/۷۷	۱۸/۱۵±۰/۴۳	<0/06
میانگین وزن	۲/۱۱±۰/۴۵	۲/۳۴±۰/۲۷	<0/06	۲/۶۳±۰/۴۸	۲/۸۶±۰/۷۱	<0/06

بحث:

بررسی نتایج بدست آمده در مورد دوز غیرکشنده *لیستریا منوسیتوژنز* نشان داد که در مدل حیوانی، سروتیپ‌های مختلف این باکتری قدرت بیماری‌زایی متفاوتی دارند (۱۲). به‌طوریکه سروتیپ d ۴ از نظر قدرت بیماری‌زایی از سروتیپ‌های دیگر ضعیف‌تر است. در حالیکه نتایج مطالعات Abram و همکاران در مورد تفاوت بیماری‌زایی سروتیپ‌های مختلف *لیستریا منوسیتوژنز* در موش غیرباردار(۵) و مطالعات اپیدمیولوژیک لیستریوز در انسان توسط Stayner و همکاران(۱۳) نشان داده است سروتیپ‌های ۱/۲a و۱/۲b و۴b قدرت بیمارزایی بیشتری نسبت به-دیگر سروتیپ‌ها دارند. ولی تفاوت محسوسی از نظر قدرت بیماری‌زایی بین این سه سروتیپ وجود ندارد. این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر تفاوت‌هایی دارد که می‌تواند در ارتباط با اختلاف در مدت زمان انتقال باکتری از محل ورود به ارگان‌های هدف مورد تهاجم و تفاوت در مقابله سیستم دفاعی بدن در مقابل باکتری باشد. زیرا در مطالعات آنها اولا محل ورود دستگاه گوارش بوده است و ثانیا مطالعه آنها روی موش غیر بارور و انسان (اعم از زن و مرد) بوده است. در صورتیکه در این مطالعه محل ورود صفاق بوده و روی موش باردار انجام شده است. بررسی سقط جنین ناشی از آلودگی موش مادر با باکتری در این مطالعه نشان می‌دهد که بیشتر سقط جنین‌ها در مدل حیوانی موش نژاد **Ba l b/c** در یک سوم دوم بارداری (سه ماهه دوم) بین روزهای دهم تا بیستم می‌باشد. در حالیکه مطالعات Fredriksen نشان داده است که بیشتر سقط جنین‌های ناشی از لیستریوز در انسان در نیمه دوم بارداری است(۸). نتایج تا حدودی هم‌سو هستند و اینکه در انسان کمی دیرتر سقط اتفاق می‌افتد. شاید به-دلیل اختلافاتی باشد که در سیستم ایمنی و مسیر عبور باکتری از جفت به‌جنین بین موش با انسان وجود دارد. در این مطالعه اثرات سروتیپ‌های مختلف باکتری در سقط جنین یکسان نیست. بلکه بیشترین اثر را b ۴ و کمترین اثر را d ۴ دارد. در حالیکه مطالعات Ewert و همکاران در انسان نشان می‌دهد بیشترین اثر را در سقط جنین سروتیپ‌های ۱/۲a و ۱/۲b دارند (۱۴). این تفاوت می‌تواند به‌دلیل اختلافات موجود در گیرنده‌های سلول هدف برای سروتیپ‌های باکتری مورد بررسی بر روی سلول میزبان (انسان یا موش) باشد.

در این مطالعه هیچگونه ناهنجاری ظاهری در اندام‌ها (دست و پا) از نظر اندازه و تعداد انگشتان و تغییرات مورفولوژیکی، اسکلتی، صورت و چشم و گوش جنین‌های فول‌ترم بدنیا آمده و جنین‌هایی که در روز ۲۴ بارداری با عمل سزارین از شکم مادر خارج شدند مشاهده نشد. نتایج با مطالعات Romano و همکاران در موش آلوده به لیستریوز مطابقت دارد (۱۵، ۱۶).

لازم به‌ذکر است که در مطالعات میکروسکوپی که این گروه بر روی ارگان‌های دیگر از جمله خون، کبد، طحال، ریه و مغز جنین انجام داد اختلالاتی دیده شد که در جای دیگری گزارش شد. اما، در مورد اندام مطالعه میکروسکوپی انجام نشد. به‌نظر می‌رسد برای اطمینان از عدم تاثیر این باکتری بر اندام باید در مطالعات بعدی بررسی میکروسکوپی انجام شود.

نتیجه گیری :

بررسی وزن و قد نوزادان و جنین‌های سزارین شده آلوده نشان داد که آلودگی در مقایسه با گروه‌های شاهد و تجربه اختلاف معنی‌داری ندارد. میانگین درصد سقط جنین در فواصل زمانی مختلف بارداری و در سروتیپ-های مختلف در دو گروه شاهد و تجربه تفاوت معنادار نشان می‌دهد.

تقدیر و تشکر :

این مطالعه نتیجه طرح پژوهشی مصوب دانشگاه علوم پزشکی اراک است. از معاونت محترم پژوهشی

دانشگاه علوم پزشکی اراک صمیمانه سپاسگزاری می‌نماید. همینطور از جناب آقای پایانی کارشناس محترم گروه میکرب‌شناسی که ما را در این کار همراهی نمودند قدردانی می‌شود.

فهرست مراجع:

1-Farber JM , Peterkin P.I.*Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen.*Microbiol Rev* 1991;**55**:479-511.

2-Rocourt J,Jacquet C,Reilly A Epidemiology of human listerriosis and seafood *J Food Microbiol* 2000;**62**:197-209.

3-Meier J, Lopez .Llisteriosis:an emerging food-borne disease. *Clin.Lab.Sci.* 2003;**14**:187-192.

4-Schleech W.F.Foodborne listeriosis *Clin Infec .Dis* 2000;**31**:770-775.

5-Abram M, Doric M.The influence of *listeria monocytogenes* infection on pregnancy in Balb/c mice In.III International meeting mechanisms in Local Immunity Opatija,Croatia.Abstract *Perio Biol* 1998;(Suppl.1):pp:76.

6-Annal,Bakardjiev ,Brian A,Stacy,Danel A, Portnoy. Growth of listeria monocytogenes in the fetal infection.2006;**10**:28:Saturday 203.

7-Heymer B.C.H, Wirsing v, Konig H,Hof P, Emmerling. Histomorphology of experimental listeriosis. *Infect* 2005;**16**:S106-S111.

8-Fredriksen B. Maternal septicemia with Listeria mono cytogenes in second trimester without infection of the fetus. *Acta obstet Gynecol Scand*. . 1992;**71**: 313-315.

9-Irvin E.A,williams D,Hamler S.E,Smith M.A. Immunologyical and pathological chances in the placenta during infection with *listeria monocytogenes* in pregnant guinea pigs.*Repro Toxicol* .2008;**26**(2): pp151-155.

10-Pine L,Malcolm G.B,Plikaytis B.D . *Listeria monocytogenes* intragasteric and intraperitoneal approximate %50 letheal doses for mice comparable, but death occure earlier by intragastric feeding.*Onfect Immum* 2000; **58**:2940-2948 .

11-Golnazarian C.A, Donnelly C.W,Pintauro S.J,Howard D.B.Comparison of infectious dose of *Listeria monocytogenes* F5817 as determinal fornormal versus compromised C57BL/6J mice .*J.Food Prot* 1998;**52**:696-701 .

12-Hodgson D.A. Generalized transduction of serotype ½ and serotype 4b strain of *Listeria monocytogenes*. *Mol Microbiol* 2000;**35**:312-323.

13-Stayner L.T.L.Elliott,L.Blade,R Keenlyside;A reprospective cohort mortality study of workers exposed to *Listeria monocytogenes*. *AmJInd Med* 1998;***13***:667-669 .

14-Ewert D.,P,. Lieb ,L.P, Reeves,M.W, Mascola L.*Listeria monocytogenes* infection and serotype dis tribution among HIV-infected persons in Los Angeles County,1985-1992. *JAcuir Immun Dec Syndr Hum Retrovirol* 1995; **15**:461-465.

15-Romana C,Salleras L. SageM_Latent listeriosis may cause habitual abortion, intrauterine deaths,fetal malformation. When diagnosed and treated adequately normal children will be born . *Ata Microbiol Hung* 1999;**39**:,171-172.

16-Romero R,Espinoza J, Luis F,Gonc,Alves,Kusanovic J.P. The role of inflammation and infection in preterm birth:inflammation and fetal injury .*Med Scape today Web MD Proffes* 2000; ***183***:1124-1129.