

## لیستریوز و مواردی از آن در ایران

دکتر حسین سعادت زاده\* دکتر پرویز بهادری\* دکتر عبدالحسین نوید حمیدی\*\*

علائم بیماری درمیزبانان مختلف متفاوت است و اکثراً سه شکل عمده زیر را پیدامیکند:

۱- عصبی (مننگوآنسفالیت) درنشخوارکنندگان و علف-خواران نظیر گوسفند و گاو و بز است.

۲- عفونت خون (سپتیسمی) که بویژه درجوندگان وحشی و خوک و پرندگان و حیوانات جوان بروز میکند.

۳- آلودگی دستگاه تناسلی است که سبب سقط و مردن جنین و یامرگ نوزاد بعلت چرک و گند خون و گاه موجب تورم پستان حیوان میشود. [۱۰، ۹، ۴، ۳، ۱]

### لیستریوز انسانی

در انسان آلودگی لیستریا خیلی مختلف الشكل و متفاوت است. بیماری ممکنست بصورت شدید و حاد و یا خفیف و مزمن و گاه نامرئی بروز کند و علائم آن بیشتر بصورت اشکال عمده زیر تظاهر مینماید:

۱- عصبی (مننژیت یا مننگوآنسفالیت) که بسرعت بطرف مرگ میرود. این شکل بیماری درنوزادان و بالغین دیده میشود.

۲- عفونت و گند خون (سپتیسمی) که در غیر از موارد

جنینی بندرت دربالغان و کودکان دیده میشود. درنوزادان بویژه در نارسها (پرما توره) بشکل بیماری مرگ آور و خطرناک

گرانولوماتوزیس انفانقی سبتیکا درمی آید - Granulomatosis Infantiseptica (Reiss et al, 1951) [۱]

۳- لیستریوز در زنان آبتن بصورت عفونت شدید یا

مقدمه - عامل بیماری عفونی در انسان و تعداد زیادی از انواع مختلف حیوانات اهلی و وحشی، باسیل کوتاه و ضخیم گرم مثبت و هوازی و متحرکی بنام لیستریا منوسی توژن است (Murray et al, 1926) *Listeria Monocytogenes* [۱۵، ۱۰، ۹، ۳، ۲]. که در همه دنیا وجود دارد و معمولاً بصورت تک گیر و یا ندرتاً همه گیر بروز میکند.

اولین نمونه انسانی آنرا دومون و کوتونی (Dumont et Cotoni 1918) از مایع نخاع سر باز مننژیته جدا کردند و در دانمارک نیفلد (Nyfeldt 1929) این میکرب را از خون بیماران منونوکلئوزی بدست آورد.

استانلی (Stanley 1949) پی به افزایش قابل توجه عیار آگلوتی نین در این بیماران برد [۱۰، ۴، ۳]. در ایران اولین نمونه انسانی لیستریا را دکتر نظری از کشت خون زن روستائی که ضایعات ربوی داشت بدست آورد (دکتر غلامرضا نظری ۱۳۳۸) [۱۴] و از آن بعد برای تشخیص لیستریوز پزشکان سرم بیماران مشکوک را برای آزمایش به بخش ایمنولوژی ارسال داشتند که نتایج آنرا باختصار در زیر یادآور میشود.

لیستریوز حیوانات شایع و فراوان است. لیستریا را در بیش از ۵۰ تیره حیوانی یافته اند. در طبیعت اکثر حیوانات مانند گاو - گوسفند - بز - خوک - اسب - گربه - سگ - خرگوش - خوک - موش صحرائی - موشچه سفید - مرغ - بوقلمون و قناری را میتوان مبتلا نماید [۱۰، ۶، ۴، ۳]

\* گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی دانشکده پزشکی

\*\* گروه اپیدمیولوژی و پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت.

فرآورده های حیوانی مانند گوشت - شیر - کره سبب آلودگی انسان میشود .

چونندگان وحشی نیز با آلوده کردن چراگاهها و یا علوفه و غذای حیوانی و یا با تماس مستقیم با حیوانات اهلی آنها را آلوده مینمایند که برای جلوگیری از بیماری حفظ و رعایت بهداشت حیوانات و فرآورده های حیوانی لازم است .

متأسفانه تا کنون واکنش موثری که بتواند مصونیت باارزشی فراهم نماید تهیه نشده است .

لیستریا به آنتی بیوتیکها بی نهایت حساس است . درمان بایستی هر چه زودتر و با مقدار قوی و بمدت طولانی تجویز شود تا بتوان راه سرایت عفونت را قطع نمود .

روشهای آزمایشگاهی تشخیص لیستریوز [۱۰،۵،۴،۳]

اول- میکرب شناسی : بیماری لیستریوز را بندرت میتوان

از روی علائم بالینی اش در مراحل اولیه تشخیص داد . زیرا علائم آن متغیر و با سایر بیماریهای عفونی مشابه قابل اشتباه است بنابراین بهترین راه تشخیص یافتن خود میکرب لیستریا است که در سبب سمی لیستریائی از خون، در مننژیت از مایع نخاعی و در زنان آبستن از ترشحات مهبل یا ادراری پس از کشت میکرب راجدا مینمایند . اگر سقط در کار باشد میتوان میکرب را در خون - کبد - محتویات معده - مکنونوم - مایع نخاعی - ترشحات منخرین و حفرات طبیعی جنین و یا از غشائهای جنینی و مایع آمنیوتیک مادر تجسس کرد .

لیستریا را معمولاً با آسانی میتوان روی بویون گلوکز و ژلوز معمولی در حرارت ۲۸ تا ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داد و با در نظر گرفتن شکل میکرب - نوع حرکت - صفات پرگنه و خواص بیوشیمیائی و تزریق و تلقیح بحیوانات حساس (تست پونس و ژویانل - Pons et Julianelle) با شناخت [۱۱] ولی در عمل جدا کردن میکرب لیستریا تجربه و حوصله کافی میخواهد و بچه‌ها علت زیر گاه در زنان آبستن یافتن میکرب مشکل است :

۱- هر چند که جدا نمودن میکرب از کانونهای بسته با آسانی امکان پذیر است ولی با شکل میتوان پرگنه های لیستریا را در بین انواع میکربهای مهبل که بعضی شان هم حالت فراگیرنده (Envahi ssante) مانند پروتئوس دارند جدا کرد

۲- اصولاً کلنی های لیستریا خیلی نامرئی و مجواند زیرا بشکل نقاط ریز و شفاف اند که بعد از ۴۸ ساعت هم اندازه شان افزایش نمی یابد .

۳- لیستریا میکروب پولیمرفی است و بهمین جهت با باسیل های دیفتری آسا - آنتروکوک - استرپتوکوک و روژه اشتباه میشود .

خفیف دستگاہ تناسلی - ادراری بروز میکند که غالباً بصورت حملات تبار، عفونت ادراری، یرقان همراه آزوتمی و نیز موجب سقطهای مکرر و یامرگ جنین و نوزاد میشود، تظاهر میکند. آلودگی جنین در ماههای آخر آبستنی سبب زایمان زودرس (پرماتوره) میشود. بچه یامرده بدنیا می آید و یاپس از چند روز میمیرد و در کودگانی هم که زنده میمانند ضایعات مغزی لیستریا بصورت اثر معیوب (سکل) باقی میماند. آلودگی نوزادان در روزهای آخر آبستنی و یابهنگام زایمان نیز سخت و خطرناکست و اغلب تب و گندخون همراه اختلالات تنفسی و گوارشی و یابشکل مننژیت پیش می آید که اگر زود درمان نشود بمرگ نوزاد منتهی میگردد. آلودگی جنین اگر زودتر از سه ماه آخر آبستنی پیش آید منجر بسقط جنین خواهد شد. بعد از سقط، میکرب در دستگاہ تناسلی مدتها بطور ساپروفیت میماند و سبب سقطهای مکرر بعدی میشود.

۴- اشکال کانونی و موضعی که بصورت ورم ملتحمه یکطرفی و تورم غدد لنفاوی گردنی و یا تحت فکی بروز میکند که ندرتاً در کارگران مرغداریها و غیره دیده میشود.

۵- شکل مونونوکلئوزیک که همراه آن ژین منوسیتراست و یابشکل گریپ تظاهر میکند.

۶- عفونتهای سبک و نامرئی لیستریا (Latente) که در انسان و حیوانات دیده میشود و بویژه در زنان آبستن بایستی مورد توجه باشد تا هر چه زودتر درمان کامل شوند و جنین های بعدی سالم بمانند و نیز از نظر بهداشت حیوانات اهمیت بسزائی دارد .

راه سرایت بیماری [۱۰،۶،۴،۳]

لیستریا میکرب بسیار شایع و منتشر در انواع حیوانات است. چونندگان - گوسفند - گاو و ماهی قزل آلا جز مخازن و یروسی اند حیواناتی که بصورت ناقل درمی آیند علائم کافی ندارند و تحت شرایط و عوامل چندی نظیر عوامل مساعد کننده آبستنی - سن - ابتلائات قبلی - کورتیکوتراپی و غیره در برخورد اتفاقی موجب پیدایش عفونت در انسان و حیوان میشوند.

بعضی از محققین نقش حشرات واسطه ای را در انتقال بیماری گوشزد نموده اند. [۱۳]

منشاء و راه سرایت عفونت در انسان نیز هنوز مشخص نشده است . تماس مستقیم بویژه در کارگران مزارع و مرغداریها و دامپزشکان و افرادی که بهر نحو با حیوان بیمار و یا ناقل ارتباط دارند کافی برای آلوده شدن است. در نوزادان مسلماً سرایت از راه ترشحات آلوده دستگاہ تناسلی - ادراری مادر انجام میشود .

۴ - گاه پیدا کردن منشأ میکرب در مادر کار دشوار است زیرا برای مثال در خانمی لیستریا را پس از کشت صفرایافته‌اند و حتی در زنانی منشأ لیستریا در شوهرشان بوده است که بعد از کشت منی (اسپرموکولتور) تشخیص داده شده است. بنابراین موقعیکه مشکوک به لیستریا شدیم و نتوانستیم میکرب را بیا بیم‌بایستی از واکنشهای سرمی بیماران برای تشخیص استفاده کنیم.

#### دوم - سرم‌شناسی: [۱۱، ۱۰، ۹، ۵، ۴]

۱ - آگلوتیناسیون: پاترسون (Paterson 1940) انواع لیستریا را که بیش از ۲۵ نمونه گردآوری شده بود از روی آنتی ژنهای  $H_2O$  آنها به چهار تیپ متفاوت دسته بندی کرد که وجود آنها بستگی بنوع میزبان و یا منطقه انتشار میکرب دارد.

آنتی ژن فلاژر B در انواع لیستریا مشترک است ولی آنتی ژن A و C و D اختصاص به تیپ دارد. سروتیپهایی که بیش از سایرین از انسان جدا شده است تیپ ۱ و ۱b است.

پوتل و سیلیگر (Potel et Seeliger 1952) دریافتند که آزمایش سرمی با آنتی ژن O و H کمک به تشخیص لیستریوز مخفی در زنان و نوزادانی که در رحم آلوده شده‌اند مینماید [۱۳، ۱۲، ۹]

بطور کلی آگلوتیناسیون در تشخیص لیستریوز نتایج محدودی دارد چون در موارد زیادی سرمهای انسانی و حیوانی بدون آنکه سابقه بیماری داشته باشند حاوی آگلوتینی نین ضد لیستریا بوده‌اند. هرچند که این آگلوتینی نین اختصاصی نبوده و میزان آنها خیلی پائین‌تر از یک عفونت لیستریایی است. زیرا بعضی از انواع استافیلوکوکهای طلائی - آتروکوکها - استرپتوکوک همولیتیک و کرینو باکتریومها آگلوتینینهای مشترک و سرولوژی متقاطع (Cross-reaction) بایکی یا چند تا از سروتیپهای لیستریا منوسیتوزن دارند. بنابراین نتیجه قطعی وقتی بدست می‌آید که عیار آگلوتینی نین در نمونه های تکراری افزایش یافته باشد.

۲- ثبوت مکمل: این واکنش حساس‌تر از آگلوتیناسیون است زیرا اولاً با سرم افراد سالم همیشه نتیجه منفی دارد و ثانیاً اگر عیار آنتی کر از  $\frac{1}{10}$  بالاتر باشد ارزش تشخیصی فراوانی خواهد داشت. بهمین جهت مورد توجه ما قرار گرفته و برای تشخیص

#### لیستریوز از آن استفاده نموده‌ایم [۱۲، ۵، ۴]

مواد لازم و روش آزمایش: ۱- آنتی ژن: آنتی ژن را از خرد شده لیستریا تهیه مینمائیم بدین ترتیب که کشت ۲۴ ساعته لیستریا منوسیتوزن روی ژلوز را با مقدار کم سرم فیزیولوژی ۵/۰۸٪ غلیظ بر میداریم و پس از آنکه یکساعت در بن‌ماری ۶۰ درجه سانتی گراد میکرب کشته شد در یخچال منهای ۲۰ درجه سانتی گراد آنرا نگهداریم و روز بعد بمایمت ابتدا آنرا ذوب نموده و بعد در ظرف شیشه‌ای ته تخت که حاوی مقداری خرده شیشه های ریز است روی آژیناتورکان در ۴+ درجه سانتی گراد بمدت یکریع حرکت میدهم و مجدداً در انجماد نهاده، ذوب نموده، حرکت مکانیکی را از سرم میکبریم و پس از ۳-۴ بار که این عمل تکرار شد شیرابه‌ای یکنواخت از میکربهای متلاشی شده بدست می‌آید که به نسبت  $\frac{1}{10}$  رقیق نموده و سنجش عیار کرده در حجم  $\frac{1}{10}$  و  $\frac{1}{100}$  سانتی متر مکعب در برابر مقدار ثابت سرم ( $\frac{1}{10}$  سانتی متر مکعب) در آزمایش بکار میبریم بعنوان ماده نگهدارنده از مریبولات به نسبت  $\frac{1}{5}$  می‌توان بدان افزود. [۸]

۲- آنتی کر: سرم بیماران است که پس از تهیه ابتدا بروش کیفی با آنتی ژن فوق مورد آزمایش قرار میدهم و سپس سرمهای مثبت را بروش کمی تعیین عیار می‌کنیم. سرمها را معمولاً در منهای ۲۰ درجه سانتی گراد نهاده و قبل از آزمایش بمدت نیمساعت در حرارت ۵۶ درجه سانتی گراد آنها را فاقد کمپلمان مینمائیم.

۳- روش آزمایش: از انواع روشهای ثبوت مکمل با سرم حرارت دیده می‌توان برای تجسس آنتی کرهای لیستریایی استفاده کرد. روش معمول در بخش سرم‌شناسی دانشکده پزشکی تهران روش ام.سی.اف (M.C.F) [۷] است که ما نیز در تحقیقات خود روش جدید کولمر (Kolmer C. F. 1962) [۵، ۱۰] را هم برای مقایسه بکار برده‌ایم.

روش کار: در طی هفت سال (۱۳۴۴-۱۳۵۰) تعداد ۵۰۰ بیمار را که گرفتار عوارض مختلف و مشکوک به لیستریا بودند و توسط پزشکان مربوط برای تجسس آنتی کرهای ضد لیستریایی معرفی شده بودند مورد آزمایش قرار داده‌ایم که نتایج آن در جدول صفحه بعد خلاصه شده است.

جدول تجسس آنتی کرهای لیستریائی در بیماران مختلف

نوع بیماران	موارد منفی		موارد مثبت		جمع کل	
	تعداد	%	تعداد	%		
زنان	سابقه یکبار سقط	۲۰۲	۹۶	۸	۴	۲۱۰
	بیش از یکبار سقط	۱۸۲	۸۷/۵	۲۶	۱۲/۵	۲۰۸
	نازائی	۳۸	۱۰۰	۰	۰	۳۸
عوارض چشمی یا تورم غدد لنفاوی		۲۹	۱۰۰	۰	۰	۲۹
عوارض عصبی و کبدی		۹	۱۰۰	۰	۰	۹
عوارض عفونی کودکان		۶	۱۰۰	۰	۰	۶

نتیجه و بحث

۱ - در مجموع بیمارانی که مورد تجسس آنتی کرهای ضد لیستریا منوسیتوزون بر روش ثبوت مکمل قرار گرفته اند تقریباً همه بانوانی بوده اند که بععل عوارض و ناراحتی های خود به پزشکان بیماریهای زنان مراجعه نموده بودند که آنها را بدو دسته تقسیم می نمائیم:

دسته اول ۴۱۸ نفر زنهایی بودند که سابقه سقط و یا عفونت دستگاه تناسلی داشتند. سن ۸۷٪ آنها بین ۲۳ تا ۳۷ سال و بقیه جوانتر بودند. غالب این بانوان خانه دار و یا کارگر و سابقه روستا نشینی داشتند و بعضی شان هم اصولاً در شهر ساکن بوده و هیچ ارتباطی با روستا و یاد اهای اهلی و پرندگان نداشته اند، تقریباً ۵۰٪ مراجعین مذکور (۲۱۰ نفر) فقط یکبار و ۵۰٪ دیگر (۲۰۸ نفر) بیش از یکبار سابقه سقط داشته اند و منحصرأ چند نفری معدود سابقه چندین سقط را ذکر کرده اند که با توجه بععل مختلف سقط جنین نزد بانوان (عیوب تشریحی - نواقص هورمونی - ناسازگاریهای خونی - عوامل انگلی و ویروسی و عفونی دیگر) مشاهده میشود که در اکثر آنها نتیجه تجسس آنتی کرهای لیستریائی منفی بوده اند (۸۷/۵ تا ۹۶٪ موارد). بنابراین لیستریا منوسیتوزون خیلی کمتر از سایر عوامل میتواند موجب سقط باشد.

۲ - همچنین بخوبی در جدول فوق پیداست که در بانوانی که سابقه سقطهای مکرر دارند موارد مثبت آنتی کر لیستریائی سه برابر (۱۲/۵٪) بیشتر از کسانی است که فقط یکبار سابقه سقط (۴٪) داشته اند. عیار آنتی کر لیستریائی در غالب این بیماران

پائین و در حدود یک دهم تا یک بیستم بوده و فقط در چند مورد به یک چهارم تا یک هشتم رسیده است و تنها در دو مورد که یکی از آنها سابقه چندین سقط را ذکر میکرد میزان آنتی کر ۱/۳۳ نشان داده شده است.

بععل عدم دسترسی به بیماران مزبور متأسفانه امکان تجسس عامل میکربی در آنان وجود نداشته است.

۳ - دسته دوم ۳۸ نفر خانمهایی بودند که بععل نازائی به پزشکان فوق مراجعه کرده بودند و ضمن آزمایشهای مختلفی که برای آنها درخواست شده بود تجسس آنتی کرهای لیستریائی نیز بعمل آمد که در تمام موارد منفی بود و نتوانستیم عامل لیستریا منوسیتوزون را به نازائی و عقیمی این خانمها نسبت داده و مداخله و یا مشاورکت آنرا با اثبات برسانیم.

۴ - در ۲۹ نفر بیمارانی که بععل تماس نزدیک در مرغداریهها و یا دامداریهها دچار عوارض ورم ملتحمه چشمی و یا تب و تورم غدد لنفاوی سروگردن شده بودند و نیز در ۹ نفر کسانی که گرفتار التهابات حاد مننژ و یا عفونتهای کبدی بودند و همچنین در ۶ نفر کودکانی که عوارض عفونی مشکوک به لیستریوز نشان میدادند آزمایش ثبوت مکمل برای تعیین آنتی کرهای لیستریائی بعمل آمد که نتیجه تمام این موارد منفی بود.

البته با در نظر گرفتن اورام ملتحمه مشابه و یا بیماریهای ویروسی و عفونی دیگر نظیر منونوکلئوز عفونی و غیره می توان لیستریا منوسیتوزون را عامل نادراین گونه بیماریها بحساب آورد. در ضمن بایستی یاد آور شد که ممکن است زمان انجام آزمایش

انسان و حیوانات است که از راه تماس مستقیم و یا مصرف فرآورده های حیوانی با انسان سرایت میکند و بصورت مختلف عوارض و علائم آن تظاهر می نماید که از همه مهمتر سقط زنان حامله و یامرگ و میر جنین و نوزادان است. راه تشخیص این بیماری یافتن عامل میکروبی است ولی در مواردیکه اینکار ممکن نباشد می توان با تجسس آنتی کرهای سرمی تاحدی به تشخیص بیماری رسید. در مدت هفت سال مطالعه روی ۵۰۰ بیمار نتایج زیر را بدست آورده ایم:

در ۲۱۰ مورد سقط که فقط یکبار نزد زنها پیش آمده بود (۴٪) و در ۲۰۸ مورد که بیش از یکبار سقط دیده شده بود (۱۲/۵٪) در سرم خود آنتی کرهای لیستریائی را نشان دادند. در بقیه بیماران که بعلت نازائی و یا عوارض حاد عفونی مشکوک به لیستریا مراجعه نموده بودند آنتی کر لیستریا را نیافتیم.

در این عوارض حاد مدت کافی برای فعالیت دستکاهای بدن و پیدایش آنتی کرهای لیستریائی نبوده است بویژه که آنتی کرهای ثبوت مکمل در این بیماری از قبل وجود ندارند و نیز بعلت عدم دسترسی و تعقیب وضع این بیماران مخصوصا که با تجویز آنتی بیوتیکها خیلی زود بهبود می یابند امکان نداشته است بتوانیم با آزمایشهای مجدد این آنتی کرها را بیابیم.

۵ - با امکاناتیکه برای مطالعه سایر طرحهای تحقیقاتی داریم توانسته ایم تا حدی مخازن و یروسی را با تجسس آنتی کرهای لیستریائی در چونندگان صید شده از ایستگاههای مختلف و دامهای اهلی کشور تعیین نمائیم که پس از تکمیل بچاپ خواهد رسید.

خلاصه: لیستریا منوسیتوژن عامل عفونی و مشترک بین

#### REFERENCES:

- 1 - Alisson, F., Sarrut, S., *Arch. Franc. Pediat.*, 24: 269-302, 1967.
- 2 - Bergey, S.: *Manual of Determinative Bacteriology*, 28, 7th edit, U.S.A. 1966.
- 3 - Donker- Voet, J.: *Zoonoses, Listeriosis*, 175-183, Elsevier Co. Amsterdam., 1964.
- 4 - Dumas, J.: *Bacteriologie Médicale*, 477-484: Flammarion. Paris. 1962
- 5 - Kolmer, J.A. and all: *Approved Laboratory Technic: Listeria*, 442, 542. Fifth edit, Lewis.H.K. Co. London. 1952.
- 6 - Konrad, Diem: *Documenta geigy*, 681, edit, geigy, J.R.-Allemagne. 1968.
- 7 - Miradamadi, H. *Acta Medica Iranica*, 3, 3-16, 1959.
- 8 - Mirdamadi, H, *Rev. Med. Moyen Orient*, 19: 669-673, 1962.
- 9 - Seeliger, H. P. R., *Lancet.*, 2: 19, 1952.
- 10 - Thibault, M.P : *Listeria. Cours de Microbiologie de l'Institut Pasteur Paris.* 463-468, 1969.
- 11 - Bret, J. et all: *Rev. Praticien.*, 26: 4175, 1970.
- 12 - Alisson, F. et Sarrut., *J. Med. Chir. Prat.* 40: 387, 1969.
- 13 - Bouckaert, A: *Biol. Med. (Paris)* 58: 133, 1969.
- 14 - Nazari, G. R., *Rev. Medicale Moyen Orient.*, 20: 336, 1963.
- 15 - Jawetz, E. and all.: *Listeria Monocytogenes, Review of Medical Microbiology*, 9edit, 217, - Lange (L. M. P.) California. 1970.