Original Paper

Frequency, antimicrobial susceptibility and serotyping of *Listeria monocytogenes* isolated from food samples in Tehran, Iran

Aida Babazadeh Naseri (M.Sc), M.Sc in Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran. ORCID ID: 0000-0002-0657-7471

***Mohammad Mehdi Soltan Dallal (Ph.D)**, **Corresponding Author**, Professor, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; Professor, Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. **msoltandallal@gmail.com** ORCID ID: 0000-0002-4900-9458

Abstract

Background and Objective: *Listeria monocytogenes* is an important food-borne intracellular pathogen which can transmit to human through contaminated foods and causing meningitis, meningoencephalitis and abortion. This study was done to determine the frequency, antimicrobial susceptibility and serotyping of *Listeria monocytogenes* isolated from food samples in Tehran, Iran.

Methods: This descriptive was carried on 150 food samples including vegetables, cheese and meat were collected from supermarkets, open-air markets, and delicatessens in different regions of Tehran, Iran since April to September 2018. The presumptive isolates were characterized biochemically. All *L. monocytogenes* isolates were further analyzed by serotyping and antimicrobial susceptibility tests.

Results: Out of 150 samples, *Listeria spp.* was detected in 30 (20%) samples in which 9 (6%) were positive for *L. monocytogenes* [vegetables (n=4, 44.44%), cheese (n=2, 22.22%) and meat (n=3, 33.33%)]. of the 9 *L. monocytogenes* isolates, 5 (55.55 %), 3 (33.33 %), and 1 (11.11%) belonged to serotypes 4b, 1/2b, and 1/2a, respectively. The most *L. monocytogenes* isolates were resistant to Trimetoprime, Sulfamethoxazole, Tetracycline, Streptomycin, Chloramphenicol, and Ciprofloxacin while were sensitive to Penicillin G, Gentamicin, Streptomycin, and Ampicillin, and were intermediately resistant to Ciprofloxacin.

Conclusion: The rate of Contamination of vegetable, cheese and meat samples with *L. monocytogenes* is important in Tehran, Iran. Due to the potential contamination samples to *Listeria*, there is necessity need for continuous monitoring and the development of a precise program for identifying this bacterium in Tehran and the whole country.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, Food samples, Serotyping, Antibiotic resistance

Received 5 Aug 2017 **Revised** 26 Aug 2018 **Accepted** 5 Sep 2018

Cite this article as: Aida Babazadeh Naseri, Mohammad Mehdi Soltan Dallal. [Frequency, antimicrobial susceptibility and serotyping of *Listeria monocytogenes* isolated from food samples in Tehran, Iran]. J Gorgan Univ Med Sci. 2019 Spring; 21(1): 101-107. [Article in Persian]

تحقیقی

فراوانی آلودگی نمونه‌های غذایی به *لیستریا مونوسیتوژنز*، تعیین سروتایپینگ و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی

آیدا بابازاده ناصری، کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران. ORCID ID: 0000-0002-0657-7471

*** دکتر محمدمهدی سلطان دلال**، استاد، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛ استاد، مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ORCID ID: 0000-0002-4900-9458

چکیده

زمینه و هدف: *لیستریا مونوسیتوژنز یک پاتوژن داخل سلولی منتقله از غذا است که باعث مننژیت، مننگوانسفالیت و سقط جنین می‌گردد. این مطالعه به منظور تعیین فراوانی آلودگی نمونه‌های غذایی به گونه‌های لیستریا به‌ویژه لیستریا مونوسیتوژنز، تعیین سروتایپینگ و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه توصیفی ۱۵۰ نمونه غذایی از سوپرمارکت‌ها، فروشگاه‌ها و غذاهای آماده در مناطق مختلف تهران طی فروردین لغایت شهریور ۱۳۹۷ تهیه گردید. همه جدایه‌های مشکوک از نظر تست‌های بیوشیمیایی مورد آزمایش قرار گرفتند. جدایه‌های لیستریا مونوسیتوژنز با استفاده از آزمون‌های حساسیت ضدمیکروبی و سروتایپینگ ارزیابی شدند.*

یافته ها: *از مجموع ۱۵۰ نمونه مورد بررسی، ۳۰ نمونه (۲۰درصد) از نظر گونه‌های لیستریا و ۹ نمونه (٦درصد) از نظر لیستریا مونوسیتوژنز [سبزی ٤جدایه (٤٤/٤٤درصد)، پنیر ۲ جدایه (۲۲/۲۲درصد) و گوشت ۳ جدایه (۳۳/۳۳درصد)] مثبت بودند. از ۹ جدایه لیستریا مونوسیتوژنز، ۵ جدایه (۵۵/۵۵درصد)،۳ جدایه (۳۳/۳۳درصد) و یک جدایه (۱۱/۱۱درصد) به‌ترتیب متعلق به سروواریهای 4b، 1/2b و 1/2a بودند. لیستریا مونوسیتوژنزهای جدا شده به آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متوپریم، سولفامتوکسازول، تتراسایکلین، استرپتومایسین، کلرامفنیکل و سیپروفلوکساسین مقاوم بودند؛ به پنی سیلین G، جنتامایسین، استرپتومایسین و آمپی‌سیلین حساس بودند و نسبت به سیپروفلوکساسین مقاومت بینابینی داشتند.*

نتیجه‌گیری: *میزان آلودگی نمونه‌های گوشت، به‌ویژه سبزی و پنیر به لیستریا مونوسیتوژنز به علت مصرف خام حایز اهمیت است. باتوجه به پتانسیل آلودگی نمونه‌های مورد بررسی به لیستریا ضرورت پایش مستمر و تدوین یک برنامه دقیق برای شناسایی این باکتری در تهران و کل کشور وجود دارد.*

کلید واژه‌ها: *لیستریا مونوسیتوژنز ، نمونه غذایی ، سروتایپینگ ، مقاومت آنتی‌بیوتیکی*

* نویسنده مسؤول : دکتر محمدمهدی سلطان دلال ، پست الکترونیکی msoltandallal@gmail.com

نشانی: تهران، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی / بخش میکروبشناسی غذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تلفن و نمابر ۸۸۹۹۲۹۷۱-۰۲۱

وصول مقاله: ۱۳۹٦/٥/۱٤ ، اصلاح نهایی: ۱۳۹۷/٦/٤ ، پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/٦/۱٤

مقدمه

لیستریاها باسیل‌های گرم مثبت، بی‌هوازی اختیاری و فاقد اسپور هستند. جنس لیستریا دارای ده گونه شامل *لیستریا مونوسیتوژنز* (*Listeria monocytogenes*)، *لیستریا ایوانوئی* (*L. ivanovii*)، *لیستریا سیلیگری* (*L. seeligeri*)، *لیستریا اینوکوا* (*L. innocua*)، *لیستریا ولشیمری* (*L. welshimeri*)، *لیستریا گرائی* (*L. grayi*)، *لیستریا مارتئی* (*L. marthii*)، *لیستریا روکورتیه* (*L. rocourtiae*)، *لیستریا فلیش‌مانی* (*L. fleischmannii*)، و *لیستریا و یهن‌استفانسیس* (*L. weihenstephanensis*) هستند (۱). از میان این ده گونه، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *لیستریا ایوانوئی* می‌توانند در پستانداران سبب ایجاد بیماری شوند. *لیستریا ایوانوئی* معمولاً برای نشخوارکنندگان بیماری‌زا بوده ولی *لیستریا مونوسیتوژنز* هم برای حیوانات و هم برای انسان بیماری‌زا است (۲). از آنجایی که *لیستریا مونوسیتوژنز* قادر به تحمل شرایط سخت از جمله درجه حرارات پایین (دمای یخچال)، pH بین ۴/۳ تا ۹/۶ و غلظت نمک تا ۱۰درصد است؛ می‌توان آنها را از محیط‌هایی مانند فاضلاب، علوفه، خاک، آب و مواد غذایی جداسازی نمود. توانایی برای زنده ماندن و تکثیر تحت شرایطی که معمولاً مواد غذایی در آن نگهداری می‌شوند؛ این باکتری را به یک مشکل اساسی برای صنعت غذا تبدیل نموده است (۳). *لیستریا مونوسیتوژنز* از مهم‌ترین پاتوژن‌های منتقله از غذا است که منابع مختلف غذایی از جمله سبزیجات، شیر، پنیر، ماهی، محصولات گوشتی، غذاهای آماده برای مصرف را آلوده می‌نماید (۴). *لیستریا*

مونوسیتوژنز قادر به بقاء و رشد در دمای یخچال و در بسته‌های غذایی است و باعث اهمیت این باکتری در صنایع غذایی شده است (۵). باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز*، یک باکتری فرصت طلب و پاتوژن داخل سلولی اختیاری بوده که به‌دلیل ایجاد عفونت‌های انسانی ناشی از مواد غذایی (مانند گوشت، مرغ و لبنیات) در سراسر جهان از اهمیت زیادی برخوردار است (۶).

میزان مرگ و میر عفونت‌های علامت‌دار لیستریایی در حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد بوده و تقریباً از تمام دیگر بیماری‌های منتقله از طریق غذا بالاتر است (۷). *لیستریا* بعد از *سالمونلا* دومین پاتوژن پرهزینه (۰/۸ میلیارد دلار) منتقله از غذا در کودکان کمتر از ۱۰ سال در ایالات متحده است (۸). این باکتری مسؤول ۲۷/۶ درصد از مرگ و میر ناشی از مواد غذایی در ایالات متحده است (۷). مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری (CDC)، غذا و داروی ایالات متحده (FDA)، وزارت کشاورزی ایالات متحده (USDA)، کنگره متخصصان زنان و زایمان آمریکا، انجمن متخصصان زنان و زایمان کانادا و آژانس بازرسی مواد غذایی کانادا، همگی پیشنهاد می‌کنند که زنان باردار و افراد دچار نقص سیستم ایمنی از غذاهای در معرض خطر آلودگی با *لیستریا* اجتناب نمایند (۹). شیوع واقعی *لیستریا مونوسیتوژنز* در ایران ناشناخته است و اطلاعات اندکی از حضور این باکتری در محصولات مواد غذایی که در کشورمان مصرف می‌شود؛ در دسترس است. همچنین لیستریوزیس، بیماری قابل گزارشی در سیستم بهداشت و سلامت ایران محسوب نمی‌شود. عادت‌های غذایی ایرانیان نیز با الگوی کشورهای غربی متفاوت است. به‌جز برخی از غذاهای غربی، غذاهای مصرفی در ایران، به‌طور عمده به صورت محلی و سنتی تهیه می‌شوند (۱۰). از آنجایی که *لیستریا مونوسیتوژنز* توانایی سقط جنین، زایمان زودرس و تولد نوزاد با عوارض ماندگار و طولانی مدت بر روی سیستم عصبی و حرکتی را دارد و نیز به‌علت میزان بالای مرگ و میر ناشی از این باکتری (۳۰-۲۵ درصد)، لذا آگاهی دقیق از شیوع این باکتری ضروری به‌نظر می‌رسد (۱۱). این مطالعه به منظور تعیین فراوانی آلودگی نمونه‌های غذایی (شامل تره، شاهی، تربچه، ریحان، گوشت و پنیر) به گونه‌های *لیستریا*، تعیین سروتایپینگ و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن انجام شد.

روش بررسی

جمع‌آوری نمونه: در این مطالعه توصیفی ۵۰ نمونه از انواع سبزیجات مختلف شامل تره (۱۲ نمونه)، شاهی (۱۲ نمونه)، تربچه (۱۲ نمونه)، ریحان (۱۴ نمونه)، ۵۰ نمونه پنیر و ۵۰ نمونه گوشت به‌صورت تصادفی در مناطق مختلف تهران از فروردین تا شهریور ۱۳۹۶ جمع‌آوری شد.

جداسازی و شناسایی باکتری‌ها: جداسازی و شناسایی باکتری‌ها با استفاده از روش استاندارد شرح داده شده در FDA-BAM (Food and Drug Administration-Bacteriological Analytical Manual) انجام شد (۱۲). ۲۵ گرم از هر نمونه به ۲۲۵ میلی‌لیتر براث غنی‌کننده BLEB (Buffered Listeria Enrichment Broth) اضافه شد. پس از یک preenrichment اولیه به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد، عوامل انتخابی (آکریفلاوین ۱۰ mg/L، نالیدیکسیک اسید ۴۰ mg/L و آمفوتریسین B ۱۲ mg/L) به آن اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. یک لوپ از محیط غنی BLEB در محیط‌های پالکام، آکسفورد و CHROMagar Listeria به صورت خطی کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. کلنی‌های مشکوک با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی (رنگ‌آمیزی گرم، آزمایش کاتالاز و اکسیداز، آزمایش تحرک و تخمیر گلوکز، گزیلوز، رامنوز، مانیتول، آلفا-متیل D-مانوپیرانوزید، همولیز و CAMP) تایید شدند.

سروتایپینگ جدایه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز*: سروتایپینگ سویه های جدا شده با استفاده از آنتی‌سرم‌های تجاری O و H *لیستریا مونوسیتوژنز* (Denka Seiken, Tokyo, Japan) بر طبق دستورالعمل کارخانه سازنده با روش آگلوتیناسیون لامی انجام گردید (۱۳). برای انجام تست سرولوژی ابتدا یک قطره از آنتی سرم بر روی لام گذاشته شد و چند کلنی خالص شده از کشت ۱۸ ساعته باکتری از محیط کشت برداشته شد و کاملاً با آنتی‌سرم مخلوط گردید. در صورت آگلوتینه شدن قطره آنتی سرم پس از ۴۰ ثانیه سروگروه باکتری مورد نظر مورد شناسایی قرار می‌گرفت.

تست حساسیت ضدمیکروبی: تست حساسیت ضدمیکروبی با استفاده از روش انتشار دیسک کربی بائر (Kirbye Bauer) بر روی مولر هینتون آگار حاوی ۵درصد خون گوسفند دفیبرینه، طبق معیارهای مؤسسه استانداردهای آزمایشگاه و بالین (CLSI 2016) (۱۴) انجام شد. مجموعه‌ای از ۱۰ آنتی‌بیوتیک ضدمیکروبی شامل آمپی‌سیلین ۱۰ µg (AMP)، جنتامایسین ۱۰ µg (CN)، پنی‌سیلین جی ۱۰ µg (P)، تری‌متوپریم ۵ µg (W)، تتراسیکلین ۳۰µg (TE)، سیپروفلوکساسین ۵ µg (CIP)، سولفامتوکسازول ۲۵ µg (RL)، اریترومایسین ۱۵ µg (E)، استرپتومایسین ۱۰ µg (S) و کلرامفنیکل ۳۰ µg (C) (MAST Co, UK) مورد آزمایش قرار گرفتند. پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. از *لیستریا مونوسیتوژنز* ATCC۱۵۳۱۳ و *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC۲۹۲۱۳ به عنوان سویه کنترل استفاده گردید.

یافته‌ها

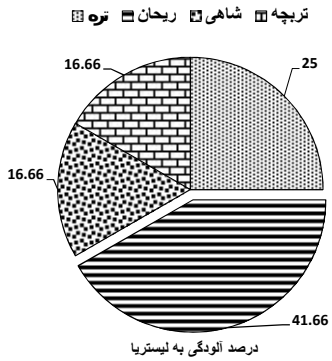
در مجموع ۹ نمونه (۶ درصد) از کل ۱۵۰ نمونه بررسی شده از

جدول ۱ : تعیین فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی لیستریا مونوسیتوژنز و گونه‌های لیستریای جدا شده از سبزیجات، پنیر و گوشت

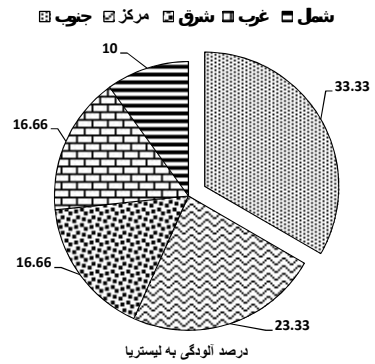
آنتی‌بیوتیک	مقاومت آنتی‌بیوتیکی گونه‌های لیستریاها			مقاومت آنتی‌بیوتیکی لیستریا مونوسیتوژنز		
	سبزیجات تعداد (درصد)	پنیر تعداد (درصد)	گوشت تعداد (درصد)	سبزیجات تعداد (درصد)	پنیر تعداد (درصد)	گوشت تعداد (درصد)
آمپی‌سیلین	۱ (۸/۳۳)	۰ (۰)	۱ (۱۱/۱۱)	۱ (۲۵)	۰ (۰)	۰ (۰)
پنی‌سیلین G	۱ (۸/۳۳)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۲۵)	۰ (۰)	۰ (۰)
تری‌متوپریم	۹ (۷۵)	۳ (۳۳/۳۳)	۶ (۶۶/۶۶)	۳ (۷۵)	۰ (۰)	۳ (۱۰۰)
سولفامتوکسازول	۹ (۷۵)	۵ (۵۵/۵۵)	۶ (۶۶/۶۶)	۳ (۷۵)	۰ (۰)	۳ (۱۰۰)
سیپروفلوکساسین	۶ (۵۰)	۳ (۳۳/۳۳)	۲ (۲۲/۲۲)	۲ (۵۰)	۰ (۰)	۲ (۶۶/۶۶)
تتراسیکلین	۶ (۵۰)	۱ (۱۱/۱۱)	۵ (۵۵/۵۵)	۳ (۷۵)	۰ (۰)	۲ (۶۶/۶۶)
اریترومایسین	۵ (۴۱/۶۶)	۱ (۱۱/۱۱)	۲ (۲۲/۲۲)	۲ (۵۰)	۰ (۰)	۲ (۶۶/۶۶)
جنتامایسین	۳ (۲۵)	۰ (۰)	۲ (۲۲/۲۲)	۱ (۲۵)	۰ (۰)	۱ (۳۳/۳۳)
استرپتومایسین	۳ (۲۵)	۳ (۳۳/۳۳)	۲ (۲۲/۲۲)	۱ (۲۵)	۲ (۱۰۰)	۱ (۳۳/۳۳)
کلرامفنیکل	۴ (۳۳/۳۳)	۵ (۵۵/۵۵)	۱ (۱۱/۱۱)	۲ (۵۰)	۱ (۵۰)	۱ (۳۳/۳۳)

نظر آلودگی به گونه *لیستریا مونوسیتوژنز* مثبت شناخته شدند.

نتایج آلودگی به *لیستریا* و *لیستریا مونوسیتوژنز*: با آزمایشات میکروبی در کل ۳۰ نمونه (۲۰ درصد) آلوده به لیستریا شناسایی گردید. از بین ۳۰ نمونه مثبت، ۱۲ نمونه سبزی (۴۰درصد)، ۹ نمونه پنیر (۳۰درصد) و ۹ نمونه گوشت (۳۰درصد) آلوده به لیستریا بودند. در خصوص آلودگی به لیستریا نمونه‌های سبزی، بیشترین درصد آلودگی مربوط به سبزی ریحان (۴۱/۶۶ درصد) و سبزی تره (۲۵ درصد) بود (نمودار یک).



نمودار ۱ : درصد آلودگی به لیستریا در نمونه‌های سبزی



نمودار ۲ : درصد آلودگی به لیستریا در نمونه‌های مورد مطالعه برحسب مناطق شهری تهران

از ۳۰ نمونه آلوده به باکتری *لیستریا*، ۹ نمونه حاوی گونه *لیستریا مونوسیتوژنز* بودند. از بین نمونه های آلوده به لیستریا، ۱۳/۳۳ درصد از سبزیجات (۴ نمونه)، ۶/۶۶ درصد از پنیر (۲ نمونه) و ۱۰درصد از گوشت (۳ نمونه) حاوی گونه لیستریامونوسیتوژنز بودند.

از میان ۳۰ نمونه آلوده به باکتری لیستریا مناطق مختلف سطح شهر تهران، بیشترین نمونه‌ها مربوط به جنوب (۳۳/۳۳ درصد) و مرکز (۲۳/۳۳ درصد) بودند (نمودار ۲).

نتایج سرولوژی: بر اساس واکنش سرولوژیکی آنتی‌ژن‌های سوماتیک (O) و فلاژلی (H) *لیستریا مونوسیتوژنز* با آنتی‌سرم‌های متناظر، جدایه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* متعلق به سروارهای 1/2a (یک مورد)، 1/2b (۳ مورد) و 4b (۵ مورد) بودند. تمام جدایه‌های مقاوم به پنیسیلین G، آمپی‌سیلین، تتراسایکلین، اریترومایسین و کلرامفنیکل به سروتایپ‌های 1/2a ، 1/2b و 4b متعلق بودند. در حالی که جدایه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، استرپتومایسین و تریموتوریم / سولفامتوکسازول متعلق به سروتایپ های 1/2a ، 1/2bو 4b بودند. همچنین یک مورد سروتایپ 1/2a از ریحان، یک مورد سروتایپ 1/2b از تره و ۲ مورد از گوشت، دو مورد سروتایپ 4b از شاهی، دو مورد از پنیر و یک مورد از گوشت جدا شدند.

نتایج آنتی‌بیوگرام: در بین جدایه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز*، بیشترین میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی نسبت به پنی‌سیلین G (۷۷/۷۷درصد)، جنتامایسین (۶۶/۶۶درصد) و استرپتومایسین (۵۵/۵۵درصد) بود. مقاومت به تری‌متوپریم و سولفامتوکسازول (۶۶/۶۶درصد) نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها بالاتر بود. همچنین مقاومت بالایی نسبت به تتراسایکلین (۵۵/۵۵درصد)، استرپتومایسین (۴۴/۴۴درصد)، کلرامفنیکل (۴۴/۴۴درصد)، آمپی‌سیلین (۴۴/۴۴درصد) و سیپروفلوکساسین (۴۴/۴۴درصد) مشاهده گردید. بیشترین میزان مقاومت بینابینی مربوط به سیپروفلوکساسین (۴۴/۴۴درصد) بود (جدول یک).

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، از مجموع ۱۵۰ نمونه غذایی مورد مطالعه (شامل سبزی خوردن، پنیر و گوشت)، ۹ مورد آلودگی به *لیستریا مونوسیتوژنز* به‌دست آمد.

در مطالعه Morobe و همکاران در گابورن (بوستوانا)، شیوع *لیستریا منوسیتوژنز* در نمونه‌های غذایی ۴/۳درصد بود (۱۵) که با یافته مطالعه حاضر مطابقت دارد. در مطالعه Arslan و Özdemir در کشور ترکیه که شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* در پنیرهای سفید خانگی بررسی شد؛ شیوع کلی گونه‌های مختلف *لیستریا* در پنیر ۳۳/۱ تعیین شد و *لیستریا مونوسیتوژنز* از ۹/۲درصد نمونه‌ها جداسازی شدند (۱۶). دلیل شیوع بالاتر گزارش شده در مطالعه Arslan و Özdemir (۱۶) نسبت به مطالعه حاضر می‌تواند به‌دلیل صرفاً خانگی بودن پنیرها و عدم استفاده از پوشش مناسب هنگام نگهداری پنیر در منزل باشد. در مطالعه حاضر ۳ مورد (۱۰درصد) *لیستریا مونوسیتوژنز* از نمونه گوشت جداسازی گردید. در مطالعه انجام شده جلالی و عابدی روی نمونه‌های گوشت یخ زده و چرخ کرده، گوشت تازه گاو و گوشت گوسفند، در مجموع ۴ مورد (۱/۲درصد) *لیستریا مونوسیتوژنز* جداسازی گردید (۱۷) که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مطالعه‌ای که توسط Lambertz و همکاران بر روی نمونه های پنیر، محصولات گوشتی و ماهی انجام شد؛ ۰/۴درصد از نمونه‌های پنیر، ۱/۲درصد از نمونه‌های گوشتی و ۱۲درصد از نمونه‌های ماهی به *لیستریا مونوسیتوژنز* آلوده بودند (۵). در این مطالعه ۴ جدایه از *لیستریا مونوسیتوژنز* در نمونه‌های سبزی تره (یک مورد)، سبزی ریحان (یک مورد) و سبزی شاهی (۲ مورد) جداسازی گردید. در مطالعه انجام شده قبلی، به‌طور کل ۲۴درصد *لیستریا* توسط روش‌های بیوشیمیایی تشخیص داده شد که ۷/۵ درصد آن مربوط به سالادهای رستوران‌ها و اغذیه فروشی‌ها و ۱۶/۵ درصد آن مربوط به ۱۰ نوع سبزی بود. بالاترین شیوع آلودگی به لیستریا در درجه اول مربوط به سبزی خوردن و سپس اسفناج و کلم بروکلی در رده دوم بود. شیوع این باکتری در جوانه گندم و جوانه ماش صفر درصد بود. یک جدایه که از سبزی خوردن بسته‌بندی شده آماده مصرف به‌دست آمده بود؛ *لیستریا مونوسیتوژنز* تشخیص داده شد (۱۸). نتایج به‌دست آمده از این تحقیق و سایر تحقیقات بیانگر اهمیت گونه‌های *لیستریا* در مواد غذایی مختلف به‌ویژه خام مانند پنیر و سبزیجات است. بیشترین موارد جداسازی *لیستریا* از منطقه جنوب و کمترین میزان جداسازی از منطقه شمال تهران بود. مواردی مانند رعایت بهداشت فردی و محیطی می‌تواند در افزایش موارد جداسازی *لیستریا* در جنوب تهران اثرگذار باشد.

سروتایپینگ یک روش کلاسیک برای مطالعات اپیدمیولوژیکی و موارد اسپورادیک *لیستریا مونوسیتوژنز* به‌شمار آید. در جنس *لیستریا*، ۱۶ سروار شناسایی شده است که اغلب عفونت‌های انسانی (بیش از ۹۵درصد) از طریق سویه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* متعلق به سروتایپ‌های 1/2a، 1/2b و 4b ایجاد می‌گردند (۱۹). در مطالعه حاضر، بر اساس واکنش سرولوژیکی آنتی‌ژن‌های سوماتیک (O) و فلاژلی (H) *لیستریا مونوسیتوژنز* با آنتی‌سرم‌های متناظر، جدایه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* متعلق به سرووارهای 1/2a (یک مورد)، 1/2b (۳ مورد) و 4c (۵ مورد) بودند. در مطالعه انجام شده Kramarenko و همکاران، از ۲/۶درصد نمونه‌ها، *لیستریا مونوسیتوژنز* جداسازی گردید که بیشترین سروتایپ متعلق به 1/2a (۷۳/۶درصد) بود. سایر سروتایپ‌های شایع به ترتیب شامل 1/2b (۷/۴درصد)، 1/2c (۷/۴درصد)، 4b (۷/۷درصد) و 4d (۳/۵درصد) بود (۲۰). در مطالعه Terzi و همکاران از ۴درصد نمونه‌های مورد مطالعه *لیستریا مونوسیتوژنز* جداسازی شد که از این تعداد ۲درصد متعلق به سروتایپ 4b و ۲درصد متعلق به سروتایپ 1/2a بود (۲۱). در مطالعه Carp-Cărare و همکاران شایع‌ترین سروتایپ‌های جداسازی شده شامل 1/2a، 1/2b، 1/2c و 4b بودند (۲۲). در مطالعه Mammina و همکاران از ۵۴ جدایه *لیستریا مونوسیتوژنز* ۴۶/۳٪ از آنها متعلق به سروتایپ 1/2a، ۴۲/۶درصد متعلق به سروتایپ 4b و ۱۱/۱درصد متعلق به سروتایپ 1/2b بودند (۲۳). همانند مطالعات دیگر، سروتایپ 1/2a شایع‌ترین سروتایپ در مطالعه Guerini و همکاران تعیین شد و سایر سروتایپ‌های شایع، سروتایپ‌های 1/2b و 4b بودند (۲۴). در مطالعه Dussurget و همکاران شیوع سروتایپ‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* با روش آگلوتیناسیون تعیین و میزان شیوع سروتایپ‌های 1/2a (۶۱درصد)، 1/2c (۱۲درصد)، 3a (۹/۵درصد)، 4b (۸/۷درصد) و 1/2b (۷/۳درصد) تعیین شدند (۲۵). در مطالعه Blatter و همکاران (۲۶) و مطالعه Wang و همکاران (۲۷) نمونه‌های غذایی مورد بررسی قرار گرفتند که اغلب ایزوله‌ها متعلق به سروتایپ 1/2a بودند. با توجه به مطالعات مختلف می‌توان نتیجه‌گیری کرد که سروتایپ‌های ایران (1/2a، 1/2b و4b) جزو سروتایپ‌های شایع *لیستریا مونوسیتوژنز* در جهان است. مقاومت آنتی‌بیوتیکی و درمان تجربی نامناسب لیستریوزیس می‌تواند منجر به افزایش مرگ و میر در بیماران شود (۲۸). اگرچه در طول دو دهه گذشته *لیستریا مونوسیتوژنز* به طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بود؛ اما بسیاری از مطالعات اخیر نشان می‌دهند که میزان مقاومت افزایش یافته است (۲۹). الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* از انواع مواد غذایی در کشورهای مختلف جهان متفاوت است و این تفاوت تا حدود زیادی به نوع آنتی‌بیوتیک مورد استفاده در صنعت پرورش دام و نیز به نوع آنتی‌بیوتیک مورد استفاده در درمان بیماری‌های دام مرتبط است. مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها (CDC) اعلام نموده است که

لیستریا مونوسیتوژنز عموماً نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، اریترومایسین و تتراسایکلین حساس بوده ولی نسبت به سفالوسپورین‌ها مقاوم است (۳۰). بررسی‌های مختلف در کشورهای متعدد نشان داده‌اند بیشتر جدایه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین G، سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و استرپتومایسین مقاومت دارند. Yücel و همکاران در ترکیه بیشترین مقاومت *لیستریا مونوسیتوژنز* را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفالوتین و نالیدیکسیک اسید گزارش نمودند (۳۱). در ایران، فلاح و همکاران (۳۲)، جمالی و همکاران (۱)، کارگر و قاسمی (۳۳) و مجتهدی و همکاران (۳۴) گزارش نمودند که بیشتر جدایه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* مقاوم به آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین G، سفتریاکسون، تتراسایکلین، سیپروفلوکساسین، استرپتومایسین و اریترومایسین هستند. نتایج آنتی‌بیوگرام مطالعه حاضر نشان داد که اغلب جدایه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین G، جنتامایسین و استرپتومایسین مورد آزمایش حساسند. با این وجود، تتراسایکلین قطر هاله مهاری کمتری نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نشان داد.

موردی که در مطالعه حاضر اهمیت دارد؛ مصرف پنیر و سبزی به صورت خام و بدون طبخ است. در فرآیند پاستوریزاسیون در صورت ناقص بودن به دلیل سرمادوست بودن *لیستریا* امکان رشد این باکتری بیماری‌زا وجود دارد که لزوم نظارت دقیق بر این فرآیندها را نمایش می‌دهد. نظر به اهمیت باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* به خصوص در مواد غذایی آماده مصرف و عدم در نظر گرفتن آن به عنوان یک معیار میکروبی در استانداردهای ملی تدوین شده برای کنترل کیفیت مواد غذایی در ایران، افزودن این معیار به استانداردهای ملی ایران پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه با استفاده از آزمون‌های باکتریولوژیک، آنتی بیوگرام و سرولوژی مشخص گردید که مواد غذایی مختلف مانند گوشت و فراورده‌های گوشتی، به‌ویژه سبزیجات و پنیر که به صورت خام مصرف می‌شوند؛ پتانسیل آلودگی به باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* را دارند. با توجه به گردش باکتری *لیستریا* در جامعه از طریق مصرف مواد غذایی به خصوص در افراد مسن، ایمونوساپرس و به‌ویژه زنان باردار، ضرورت پایش مستمر و تدوین یک برنامه دقیق برای شناسایی این باکتری در کشور وجود دارد. همچنین از آنجایی که بیماری لیستریوز یک بیماری مشترک بین انسان و حیوان است؛ توجه به چگونگی و میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها به منظور جلوگیری از مقاومت دارویی اهمیت بسیار زیادی دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم آیدا بابازاده ناصری برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته میکروبیولوژی از دانشکده علوم، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی بود. همچنین این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی (شماره ۳۷۶۸۹) مصوب مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی تهران بود. بدین‌وسیله از حمایت‌های مادی و معنوی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تهران تشکر می‌نماییم.

References

1. Jamali H, Radmehr B, Thong KL. Prevalence, characterisation, and antimicrobial resistance of Listeria species and Listeria monocytogenes isolates from raw milk in farm bulk tanks. Food Control. 2013 Nov; 34(1): 121-25. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.04.023

2. Orsi RH, den Bakker HC, Wiedmann M. Listeria monocytogenes lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. Int J Med Microbiol. 2011 Feb; 301(2): 79-96. doi: 10.1016/j.ijmm.2010.05.002

3. Roberts AJ, Wiedmann M. Pathogen, host and environmental factors contributing to the pathogenesis of listeriosis. Cell Mol Life Sci. 2003 May; 60(5): 904-18. doi: 10.1007/s00018-003-2225-6

4. Kérouanton A, Marault M, Petit L, Grout J, Dao TT, Brisabois A. Evaluation of a multiplex PCR assay as an alternative method for Listeria monocytogenes serotyping. J Microbiol Methods. 2010 Feb; 80(2): 134-37. doi: 10.1016/j.mimet.2009.11.008

5. Lambertz ST, Nilsson C, Brådenmark A, Sylvén S, Johansson A, Jansson LM, et al. Prevalence and level of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods in Sweden 2010. Int J Food Microbiol. 2012 Nov; 160(1): 24-31. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.09.010

6. Liu D. Identification, subtyping and virulence determination of Listeria monocytogenes, an important foodborne pathogen. J Med Microbiol. 2006 Jun; 55(Pt 6): 645-59. doi: 10.1099/jmm.0.46495-0

7. Ferreira V, Wiedmann M, Teixeira P, Stasiewicz MJ. Listeria monocytogenes persistence in food-associated environments: epidemiology, strain characteristics, and implications for public health. J Food Prot. 2014 Jan; 77(1): 150-70. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-13-150

8. Buzby JC, Roberts T. Economic costs and trade impacts of microbial foodborne illness. World Health Stat Q. 1997; 50(1-2): 57-66.

9. Kirkham C, Berkowitz J. Listeriosis in pregnancy: survey of British Columbia practitioners' knowledge of risk factors, counseling practices, and learning needs. Can Fam Physician. 2010 Apr; 56(4): e158-66.

10. Jami S, Jamshidi A, Khanzadi S. The presence of Listeria monocytogenes in raw milk samples in Mashhad, Iran. Iran J Vet Res. 2010; 11(4): 363-67. doi: 10.22099/IJVR.2010.108

11. Heidarzadeh S , Soltan Dallal MM, Pourmand MR, Pirjani R, Rahimi Foroushani A, Noori M, et al. Prevalence, antimicrobial susceptibility, serotyping and virulence genes screening of Listeria monocytogenes strains at a tertiary care hospital in Tehran, Iran. Iran J Microbiol. 2018; 10(5): 307-13.

12. Shojaei Zinjanab M, Douraghi M, Soltan Dallal M. A survey of Listeria monocytogenes and its virulence factors in vegetable salads and fresh vegetables in Tehran, Iran. J Food Safe Hyg. 2016; 2(3-4): 67-74.

13. Karadal F, Yildirim Y. Antimicrobial susceptibility and serotype distribution of Listeria monocytogenes isolates obtained from raw milk cheese samples sold in Nigde. Veteriner Fakültesi

dergisi. 2014 Aug; 61(4): 255-60. doi: 10.1501/Vetfak_0000002639

14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100S. 26th ed. Clin Lab Standards Ins. Wayne, PA, 2016.

15. Morobe IC, Obi C, Nyila MA, Gashe B, Matsheka M. Prevalence, antimicrobial resistance profiles of Listeria monocytognes from various foods in Gaborone, Botswana. Afr J Biotechnol. 2009; 8(22): 6383-87.

16. Arslan S, Özdemir F. Prevalence and antimicrobial resistance of Listeria spp. in homemade white cheese. Food Control. 2008; 19(4): 360-63. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.04.009

17. Jalali M, Abedi D. Prevalence of Listeria species in food products in Isfahan, Iran. Int J Food Microbiol. 2008 Mar; 122(3): 336-40. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.082

18. Soltan Dallal MM, Shojaei-Zinjanab M, Hedayati Rad F. [Identification and frequency of Listeria monocytogenes in vegetables and ready to eat salads of Tehran, Iran]. Scientific J Kurdistan Univ Med Sci. 2015; 20(2): 78-84. [Article in Persian]

19. Liu D. Handbook of Listeria monocytogenes: CRC Press. 2008.

20. Kramarenko T, Roasto M, Meremäe K, Kuningas M, Põltsama P, Elias T. Listeria monocytogenes prevalence and serotype diversity in various foods. Food Control. 2013; 30(1): 24-29. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.06.047

21. Terzi G, Gucukoglu A, Cadirci O, Uyanik T, Alisarli M. Serotyping and antibiotic susceptibility of Listeria monocytogenes isolated from ready-to-eat foods in Samsun, Turkey. Turkish J Vet Animal Sci. 2015 Jan; 39(2): 211-17. doi: 10.3906/vet-1407-15

22. Carp-Cărare C, Vlad-Sabie A, Floriştean V-C. Detection and serotyping of Listeria monocytogenes in some food products from North-East of Romania. Romanian Rev Lab Med. 2013 Sep; 21(3): 285-92. https://doi.org/10.2478/rrlm-2013-0025

23. Mammina C, Aleo A, Romani C, Pellissier N, Nicoletti P, Pecile P, et al. Characterization of Listeria monocytogenes isolates from human listeriosis cases in Italy. J Clin Microbiol. 2009 Sep; 47(9): 2925-30. doi: 10.1128/JCM.00102-09

24. Guerini MN, Brichta-Harhay DM, Shackelford TS, Arthur TM, Bosilevac JM, Kalchayanand N, et al. Listeria prevalence and Listeria monocytogenes serovar diversity at cull cow and bull processing plants in the United States. J Food Prot. 2007 Nov; 70(11): 2578-82.

25. Dussurget O, Bierne H, Cossart P. The bacterial pathogen Listeria monocytogenes and the interferon family: type I, type II and type III interferons. Front Cell Infect Microbiol. 2014 Apr; 4: 50. doi: 10.3389/fcimb.2014.00050

26. Blatter S, Giezendanner N, Stephan R, Zweifel C. Phenotypic and molecular typing of Listeria monocytogenes isolated from the processing environment and products of a sandwich-producing plant. Food Control. 2010 Nov; 21(11): 1519-23. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.04.025

27. Wang X-M, Lü X-F, Yin L, Liu H-F, Zhang W-J, Si W, et al. Occurrence and antimicrobial susceptibility of Listeria monocytogenes isolates from retail raw foods. Food Control. 2013 Jul; 32(1): 153-58. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.032

28. Rodas-Suarez OR, Flores-Pedroche JF, Betancourt-Rule JM, Quinones-Ramirez EI, Vazquez-Salinas C. Occurrence and antibiotic sensitivity of Listeria monocytogenes strains isolated from oysters, fish, and estuarine water. Appl Environ Microbiol. 2006; 72(11): 7410-12. doi: 10.1128/AEM.00956-06

29. Srinivasan V, Nam HM, Nguyen LT, Tamilselvam B, Murinda SE, Oliver SP. Prevalence of antimicrobial resistance genes in Listeria monocytogenes isolated from dairy farms. Foodborne Pathog Dis. 2005 Fall; 2(3): 201-11. doi: 10.1089/fpd.2005.2.201

30. Swaminathan B, Gerner-Smidt P. The epidemiology of human listeriosis. Microbes Infect. 2007 Aug; 9(10): 1236-43. doi: 10.1016/j.micinf.2007.05.011

31. Yücel N, Cıtak S, Önder M. Prevalence and antibiotic resistance of Listeria species in meat products in Ankara, Turkey. Food Microbiology. 2005 Apr-Jun; 22(2-3): 241-45. https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.03.007

32. Fallah AA, Saei-Dehkordi SS, Mahzounieh M. Occurrence and antibiotic resistance profiles of Listeria monocytogenes isolated from seafood products and market and processing environments in Iran. Food Control. 2013 Dec; 34(2): 630-36. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.015

33. Kargar M, Ghasemi A. Role of Listeria monocytogenes hlyA gene isolated from fresh cheese in human habitual abortion in Marvdasht. Iran J Clinic Infect Dis. 2009; 4(4): 214-18.

34. Mojtahedi A, Tarrahi M J, Sepahvand A, Khakpour AD, Radsari E, Ttavasoli M, et al. [Frequency determination of listeria contamination in dairy products and their antibiotic resistance pattern, department for controlling food stuffs, Lorestan]. Yafte. 2004; 6(3): 27-32. [Article in Persian]