مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۷ – شماره ۱ – بهار ۱۳۹۲

Journal homepage: www.ijmm.ir

بررسی میزان آلودگی گوشت گوسفندان شهرستان شهرکرد به *لیستریا ایوانووی* و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن

عنوان کوتاه: بررسی میزان آلودگی گوشت گوسفند به لیستریا ایوانووی

فرید خلیلی بروجنی[1*]، حمدالله مشتاقی[2،3]، مجتبی بنیادیان[2،3]

۱- دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- پژوهشکده‌ی بیماری‌های مشترک انسان و دام، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۲/۳/۱۲

پذیرش:۱۳۹۲/۰۳/۲۵

انتشار آنلاین:۱۳۹۲/۰۸/۱۵

IJMM 1392; 7(1): P 15-21

نویسنده مسئول:

فرید خلیلی بروجنی

دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تلفن: ۰۹۱۳۳۸۳۳۶۴۶

پست الکترونیک:

fakha_vet@yahoo.com

چکیده

زمینه و اهداف:: *لیستریا مونوسیتوژنز (Listeria monocytogenes) و لیستریا ایوانووی (L.ivanovii) دو گونه‌ی بیماری‌زای جنس لیستریا هستند. لیستریا ایوانووی به دلیل نقش در سقط و سپتی سمی جنینی در حیوانات و گاهی بیماری‌زایی در انسان، از اهمیت بالایی برخوردار است. با توجه به نقش لاشه‌ی گوسفندان آلوده‌شده طی ذبح و فرآوری در ایجاد عفونت‌های غذازاد در انسان و نگرانی‌های زیاد در ارتباط با مقاومت لیستریا به آنتی بیوتیک های مختلف در سراسر جهان، در این مطالعه به بررسی آلودگی گوشت گوسفند به لیستریا ایوانووی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آن پرداخته شد.*

مواد و روش کار: ۲۰۰ نمونه گوشت گوسفند از کشتارگاه اخذ گردید. از روش مغذی دو مرحله‌ای (Two enrichment method) استفاده و به کمک آزمایش‌های بیوشیمیایی و آزمایش PCR، گونه‌ی باکتری لیستریا شناسایی شد و به کمک روش انتشار دیسک، مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان آلودگی به *لیستریا* در لاشه‌های گوسفند، ۲/۵ درصد (۵ از ۲۰۰) بود که هر پنج جدایه، لیستریا *ایوانووی* تشخیص داده شد. باکتری نسبت به چهار آنتی بیوتیک، مقاوم، در برابر شش آنتی بیوتیک، حساس و نسبت به پنج آنتی‌بیوتیک، نیمه حساس بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به میزان آلودگی لاشه‌های گوسفندان به باکتری *لیستریا ایوانووی* و مقاومت آنتی بیوتیکی ارزیابی‌شده این باکتری، می‌بایست به نقش گوشت قرمز در انتقال گونه‌های *لیستریا* و استفاده صحیح و اصولی از آنتی بیوتیک ها علیه این باکتری، توجه گردد.

کلمات کلیدی: *لیستریا ایوانووی*، مقاومت آنتی بیوتیکی، گوشت گوسفند

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

مقدمه

لیستریاها از خانواده‌ی لاکتوباسیلاسه (Lactobacillaceae) و راسته‌ی یوباکتریا (Eubacteria) می‌باشند. لیستریا باکتری غیر اسپورزا، غیر شاخه‌دار، منظم، کوتاه، گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری است که آن را از خاک، غذای حیوانات، آب، مدفوع، گوشت و فرآورده‌های آن، شیر و لبنیات و سبزی‌ها جدا نموده‌اند (۱،۲،۳).

لیستریا عامل بیماری لیستریوزیس است که از جمله بیماری‌های مشترک انسان و حیوان هست. تمایل لیستریا به سیستم عصبی مرکزی منجر به بیماری حاد می‌شود که معمولاً میزان کشندگی آن بالاست به نحوی که در موارد اپیدمیک عفونت مواد غذایی میزان مرگ‌ومیر ۴۰-۳۰ درصد و در افراد مستعد تا ۷۵ درصد هم گزارش شده است (۴،۵). امروزه شناخت و بررسی لیستریا و آسیب‌های ناشی از آن نه فقط برای

میکروب‌شناسان جالب است بلکه با توجه به مرگ‌ومیر ناشی از آن در بین نوزادان و افراد مسن، حیوانات و ضایعاتی که بر جای می‌گذارد به عنوان یک خطر جدی تلقی می‌شود. *لیستریا مونوسیتوژنز* در زنان باردار معمولاً باعث باکتریمی و مشابه بیماری آنفلوانزا می‌شود که اگر درمان نشود، می‌تواند به التهاب جفت و یا پرده‌ی آمنیوتیک و عفونت جنین و در نهایت سقط، به دنیا آمدن نوزاد مرده و یا تولد زودهنگام منجر شود، چرا که این باکتری قادر به عبور از جفت است (۶).

لیستریا مونوسیتوژنز به عنوان عامل سقط، انسفالیت، سپتی سمی در انسان و حیوانات شناخته شده است و *لیستریا ایوانووی* نیز به دلیل نقش در سقط، مرده‌زایی، گندخونی(Septicemia) جنینی در عفونت‌های حیوانات و گاهی بیماری‌زایی در انسان از اهمیت بالایی برخوردار است (۷،۸). با این که *لیستریا مونوسیتوژنز* به عنوان تنها گونه بیماری زا برای انسان معرفی شده است، اما *لیستریا ایوانووی* هم در مواردی در انسان سبب بیماری شده است که به عنوان مثال در سال ۲۰۰۷ *لیستریا ایوانووی* در یک مرد سبب گاستروآنتریت و باکتریمی شده بود (۹). در یک مورد دیگر در سال ۲۰۰۵ در یک مرد ۶۴ ساله سبب سپتی سمی شده بود که این بیمار از درد کشاله ران رنج می‌برد و دارای ادرار تیره بود (۱۰). با توجه به توان بالقوه ی *لیستریا ایوانووی* در ایجاد بیماری در انسان، در این مطالعه به ارزیابی آلودگی گوشت گوسفندان منطقه شهرکرد به این باکتری و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن پرداخته شد.

مواد و روش‌ها:

تعداد ۲۰۰ نمونه گوشت گوسفند در فصل‌های پاییز و زمستان از کشتارگاه جونقان واقع در استان چهارمحال و بختیاری اخذ گردید. نمونه‌گیری طی ۱۰ نوبت و از تمام نقاط لاشه (شامل گردن، ران و عضلات ناحیه سینه) و بلافاصله پس از کشتار صورت گرفت. هر کدام از نمونه‌ها به صورت جداگانه در ظروفی که قبلاً به وسیله‌ی اتوکلاو استریل شده بود قرار داده شد و در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهرکرد منتقل گردید.

در آزمایشگاه از روش مغذی دو مرحله‌ای (Two enrichment method)،از دو محیط Listeria Enrichment Broth (LEB) (Merck, germany) به عنوان محیط مغذی اولیه و Fraser Secondary Broth (HiMedia, India) به عنوان محیط مغذی ثانویه استفاده گردید. نمونه‌ها در هر کدام از محیط‌های مغذی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شدند. به منظور رشد پرگنه های لیستریا، باکتری‌ها از محیط مغذی ثانویه به محیط آگار انتخابی لیستریا (Merck, Germany) Palcam agar انتقال داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه‌ی سلسیوس گرم خانه گذاری شدند. پرگنه های رشد کرده در هر پلیت از نظر ریخت‌شناسیمورد بررسی قرار گرفت. پرگنه های رشد کرده، سبز زیتونی به قطر ۱/۵ میلی متر که مرکزشان سیاه یا خاکستری رنگ و اطراف همه آن‌ها هاله‌ی سیاه رنگ بود. پرگنه های مشکوک به لیستریا را مورد آزمون رنگ‌آمیزی گرم قرار داده تا گرم مثبت یا منفی بودن آن‌ها تشخیص داده شود. سپس روی پرگنه‌های گرم مثبت، آزمایش کاتالاز انجام شد. آزمایش حرکت در ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی جدایه هایی که کاتالاز مثبت بودند انجام گرفت، در مواردی که آزمایش حرکت مخصوص لیستریا (حرکت چتری) مثبت بود، دیگر آزمایش‌های افتراقی بیوشیمیایی نظیر آزمایش تخمیر قندهای رامنوز، زایلوز، لاکتوز، مانیتول و آزمایش نیترات و همولیز بتا انجام گرفت. پرگنه‌هایی که زایلوز مثبت، لاکتوز مثبت، رامنوز و مانیتول منفی و همولیز بتا مثبت و آزمایش کمپ (CAMP) داشتند *لیستریا ایوانووی* تلقی گردیدند. در پایان به منظور تأیید آزمایش‌های بیوشیمیایی، آزمایش PCR انجام گرفت که بدین منظور، نمونه‌های مشکوک به *لیستریا* تا زمان انجام آزمایش PCR در محیط TSB (Merck, Germany) به صورت گلیسیرینه در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

برنامه‌های دمایی به‌کاررفته در آزمایش PCR و هم چنین پرایمرهایی (ساخت سیناژن، ایران) که به عنوان کنترل مثبت جهت شناسایی جنس لیستریا و گونه *لیستریا ایوانووی* در آزمایش PCR مورد استفاده قرار گرفتند، مطابق جدول ۱ هستند.

مواد PCR از شرکت Bioflux ساخت ژاپن تهیه شد و واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گردید. برای همه‌ی پرایمرها، واسرشت اولیه در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه و گسترش نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۷ دقیقه صورت گرفت. اجرای برنامه دمایی واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر (Biorad، ساخت آمریکا) صورت پذیرفت. سرانجام محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد (سیناژن، ایران) با مارکر ۱۰۰ جفت بازی (Fermentas) الکتروفورز (ساخت پایاپژوهش پارس، ایران) گردید.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت شناسایی جنس لیستریا و گونه‌ی *لیستریا ایوانووی* و برنامه‌های دمایی به‌کاررفته

نام ژن هدف	توالی پرایمرها	اندازه محصول	واسرشت	دمای اتصال	گسترش	سیکل	منبع
N-acetylmuramidase-like protein gene (L.ivanovii)	F: CGAATTCCTTATTCACTTGAGC R: GGTGCTGCGAACTTAACTCA	۴۳۶ bp	۹۴°C ۲۰S	۶۰°C ۲۰S	۷۲°C ۴۵S	۳۰	۹
prs (all Listeria speaces)	F: GCTGAAGAGATTGCGAAAGAAG R: CAAAGAAACCTTGGATTTGCGG	۳۷۰ bp	۹۴°C ۲۴S	۵۳°C ۶۹S	۷۲°C ۶۹S	۳۵	۱۰

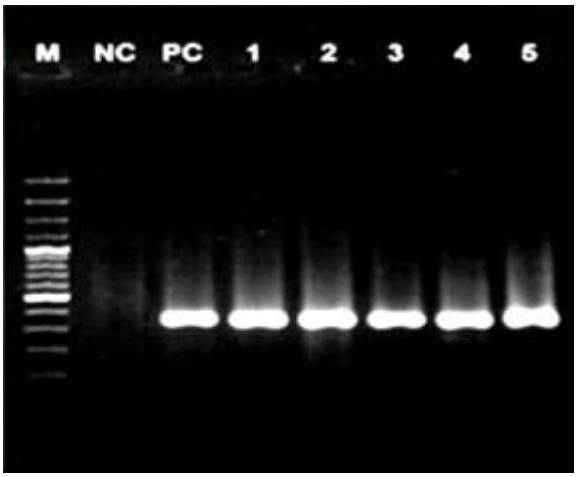
به منظور ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی گونه‌ی *لیستریا ایوانووی*، از روش انتشار دیسک و محیط مولر هینتون آگار (MAST, UK) استفاده شد. برای این منظور سوسپانسیونی معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه و در غلظت نهایی $۱/۵\times۱۰^{۸}$ در هر کدام از پلیت ها، ml ۱ از این سوسپانسیون کشت داده و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. سپس نتایج بر طبق جدول CLSI به صورت حساس (Susceptible)، مقاوم (Resistant) و یا نیمه‌حساس (Intermediate) گزارش گردید.

دیسک‌های مورد استفاده شامل فلوکسین (Flq)، کلیستین (Cl)، فورازولیدون (FR)، پنی سیلین (P)، اریترومایسین (E)، سفتریاکسون (Ce)، جنتامایسین (GM)، تایلوزین (TY)، تری متوپریم + سولفامتوکسازول (Sxt)، تیامولین (TM)، کلرامفنیکل (C)، تتراسایکلین (TE)، تری متوپریم (TMP)، آموکسی سیلین (Amx) و آمپی سیلین (Amp) بود. بدیهی است از آنتی بیوتیک های رایج مثل لینزولید بایستی استفاده می‌شد که به علت نبود دیسک آن‌ها در زمان انجام آزمایش، میسر نگردید.

یافته‌ها:

بر اساس آزمایش‌های بیوشیمیایی، از ۲۰۰ نمونه گوشت گوسفند مورد آزمایش، ۵ نمونه (۲/۵٪) آلوده به باکتری لیستریا بودند که گونه‌ی همه آن‌ها *لیستریا ایوانووی* تشخیص داده شد.

در آزمایش PCR، به منظور تأیید آزمایش‌های بیوشیمیایی مبنی بر جدا نمودن باکتری *لیستریا ایوانووی*، به کمک پرایمرهای از پیش تهیه‌شده، به شناسایی باکتری لیستریا پرداخته گردید و تأیید شد که این ۵ جدایه باکتری لیستریا هستند (شکل-۱). به منظور اطمینان بیشتر، مجدداً PCR را تکرار کرده تا از شناسایی باکتری لیستریا، اطمینان حاصل شود. جدایه هایی که در کشت و آزمایش‌های بیوشیمیایی لیستریا تشخیص داده نشدند در آزمایش PCR نیز منفی بودند.



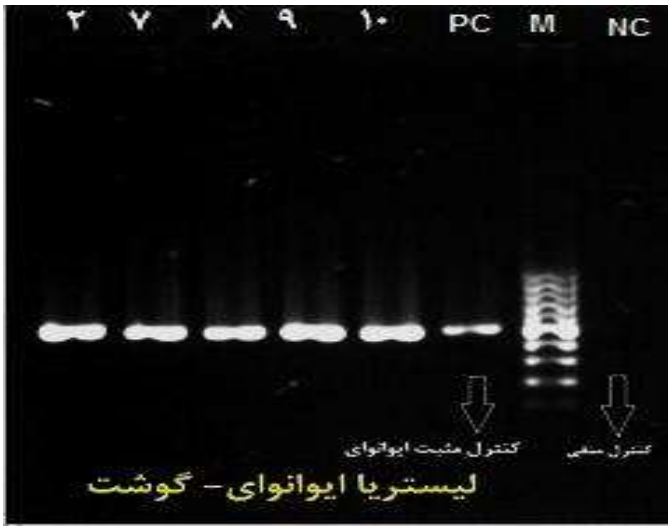
شکل ۱: تصویر الکتروفورز ژل آگارز. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، NC: کنترل منفی، PCکنترل مثبت، ایزوله‌های مثبت برای جنس لیستریا (۱، ۲، ۳، ۴، ۵)

پس از اطمینان از شناسایی باکتری لیستریا، به کمک پرایمرهای از پیش طراحی‌شده، اقدام به شناسایی گونه‌ی لیستریا ایوانووی به کمک PCR شد. بدین منظور این ۵ جد ای‌هایی که در آزمایش‌های بیوشیمیایی، لیستریا ایوانووی تشخیص داده‌شده بودند مورد آزمایش PCR قرار گرفتند. نتایج PCR نشان داد که هر ۵ جدایه، لیستریا ایوانووی هستند (شکل-۲).

نتایج آنتی بیوگرام در جدول ۲ ارائه شده است. طبق نتایج به دست آمده باکتری در برابر چهار آنتی بیوتیک اول مقاوم، در برابر شش آنتی بیوتیک آخر حساس و در برابر سایر آنتی بیوتیک ها نیمه حساس بود.

جدول ۲: نتایج آزمایش آنتی بیوگرام باکتری *لیستریا ایوانووی*

آنتی بیوتیک استاندارد	غلظت دارو	قطر هاله (mm)	تفسیر نتایج
Cl	10 µg	10	مقاوم
Flq	30 µg	12	مقاوم
FR	50 µg	12	مقاوم
P	10 µg	12	مقاوم
E	15 µg	14	نیمه‌حساس
Ce	10 µg	14	نیمه‌حساس
GM	10 µg	16	نیمه‌حساس
TY	30 µg	16	نیمه‌حساس
SXT	25 µg	16	نیمه‌حساس
TM	30 µg	18	حساس
C	30 µg	18	حساس
TE	10 µg	22	حساس
TMP	5 µg	24	حساس
Amx	25 µg	24	حساس
Amp	10 µg	24	حساس



شکل-۲: تصویر الکتروفورز ژل آگارز. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، NC: کنترل منفی، PC: کنترل مثبت، ایزوله‌های مثبت برای شناسایی باکتری لیستریا ایوانووی: (۲، ۷، ۸، ۹، ۱۰)

بحث:

عوامل زیادی می‌تواند بر شیوع لیستریا در گوشت و محصولات آن اثرگذار باشد و مطالعات مختلف میزان متفاوتی از شیوع لیستریا را در گوشت دام‌های مختلف گزارش کرده‌اند (۱۲،۱۱). گوشت حیوانات سالم، بدون میکروب بوده و یا دارای میکروب بسیار کمی است. گاهی در بخش‌هایی از بدن مانند عقده‌های لنفاوی و مغز استخوان و حتی عضلات تعداد بسیار کمی میکروب یافت می‌شود. حیوانات در اثر مصرف آب و غذای آلوده می‌توانند به باکتری لیستریا آلوده شوند (۱۴،۱۳). از این رو لیستریا می‌تواند از طریق حیواناتی که لیستریا را در مجرای گوارشی یا قسمتی از میکروفلور خود جای داده‌اند وارد واحدهای صنعتی فرآوری مواد غذایی گردد و به این ترتیب بهداشت گوشت و فرآورده‌های گوشتی را در طول فرآوری و حمل‌ونقل مختل کند و از این طریق می‌تواند سلامت انسان‌ها را تهدید کند. Guillet و همکاران در سال ۲۰۱۰، روی لیستریوزیس انسانی ناشی از *لیستریا ایوانووی* مطالعه کردند. از آنجایی که به نظر می‌آمد که *لیستریا ایوانووی* فقط در جوندگان بیماری زا است طی بررسی‌هایی متوجه شدند که لیستریا در یک مرد سبب گاستروآنتریت و باکتریمی شده است. این ایزوله‌ی جداشده از مرد بیمار با پروتوتیپ های جوندگان غیرقابل تشخیص بود. بنابراین به این نتیجه دست یافتند که *لیستریا ایوانووی* یک پاتوژن فرصت‌طلب روده‌ای انسان است (۱۵). *لیستریا ایوانووی* دارای شش ژن ویرولانس (PrfA,plcA,PlcB,MpL,ActA,hlyA) است که به صورت خوشه‌ای در جزایر بیماری‌زای باکتری قرار دارد (۱۶). این ژن‌ها در مراحل بیماری‌زایی باکتری نقش ایفا می‌کنند. این مراحل شامل ورود باکتری به داخل سلول میزبان، فرار باکتری از داخل واکوئل درون سلولی، حرکت باکتری با پلیمریزه شدن اکتین سلول میزبان و انتشار باکتری به سلول‌های مجاور از طریق گسترش پاهای کاذب است. تنظیم‌کننده اصلی بیان ژن‌های ویرولانس در جزایر بیماری‌زایی، PrfA است. PrfA به عنوان فعال‌کننده رونویسی تمام ژن‌های ویرولانس عمل کرده از این رو برای بیماری‌زایی لیستریا ضروری است (۱۷).

Jalali و Abedi در بررسی خود در مورد میزان آلودگی به *لیستریا مونوسیتوژنز* در نمونه‌های مواد غذایی اصفهان به روش PCR اعلام نمودند که میزان آلودگی گوشت چرخ شده‌ی گاو و گوشت منجمد گوسفند به *لیستریا مونوسیتوژنز* و *لیستریا*

ایوانووی صفر بوده است (۱۸). نتیجه مطالعه‌ی حاضر با مطالعه‌ای که توسط Rahimi و همکاران در سال ۲۰۰۸ در اصفهان صورت گرفته است تا حدودی مشابهت دارد. آن‌ها در مطالعه خود میزان آلودگی گوشت گاو در کشتارگاه‌های اصفهان را ۳٪ و همچنین آلودگی ماهی و میگو در کشور را ۱/۹٪ اعلام کردند (۱۹). در مطالعات صورت گرفته در نمونه‌های گوشت خام در سایر نقاط دنیا از قبیل استرالیا (۲۰)، کره و اسپانیا (۲۱) به ترتیب ۴/۳٪، ۱۲/۵٪ و ۱۷/۳٪ آلوده به *لیستریا مونوسیتوژنز* گزارش شده است.

در این مطالعه نیز نمونه‌گیری از لاشه‌های ذبح‌شده در کشتارگاه صنعتی صورت گرفته و این مسئله بر میزان پایین آلودگی (۲/۵٪) به گونه‌ی بیماری‌زایی *لیستریا ایوانوای* می‌تواند مؤثر باشد. هرچند گزارش‌ها در مورد بیماری‌زایی *لیستریا ایوانووی*، بیماری‌زایی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن اندک است اما به دلیل داشتن ژن‌های ویرولانس مشترک با *لیستریا مونوسیتوژنز* مطالعه حاضر خطر بالقوه این‌گونه از *لیستریا* را خاطرنشان می‌سازد.

در ایران شیوع *لیستریا* در فرآورده‌های غذایی مختلف با منشأ دامی متفاوت است، گزارش‌های منتشرشده اغلب در ارتباط با فراوانی گونه *لیستریا مونوسیتوژنز* است و به ندرت *لیستریا ایونووی* مورد توجه قرار گرفته است. Moshtaghi و همکاران میزان آلودگی شیرهای خام گاو تولیدی در شهرکرد به *لیستریا* را ۲/۲٪ گزارش کرده‌اند (۲۲). در مطالعه‌ای که در خوزستان روی ماهی کپور صورت گرفت ۲٪ نمونه‌ها آلوده به *لیستریا مونوسیتوژنز* بوده‌اند (۲۳). با توجه به گزارش‌های منتشره در ارتباط با درصد آلودگی انواع مواد غذایی به باکتری *لیستریا* به نظر می‌رسد که آلودگی ۲/۵ درصدی گوشت گوسفند در منطقه‌ی شهرکرد منطقی است، اما نکته قابل‌توجه این است که در گوشت‌های چرخ شده با توجه به این که در فروشگاه‌های گوشت و بعضاً در شرایط غیربهداشتی و نگهداری نامناسب انجام می‌گیرد احتمال درصد آلودگی می‌تواند بیشتر باشد. در تأیید این مطلب می‌توان به بررسی‌های Bunci در یوگوسلاوی (۲۴) و Capita و همکاران (۲۵) در اسپانیا اشاره نمود که میزان آلودگی گوشت‌های قرمز چرخ شده در این کشورها را به ترتیب ۶۹ و ۳۲ درصد گزارش نموده‌اند.

Jiang و همکاران در سال ۲۰۰۸، ۲۰ *لیستریای* جداشده از مواد غذایی که از استان شرقی ژجیانگ چین جمع‌آوری شده بود به وسیله تزریق به موش آزمایشگاهی و سنجش تشکیل پلاک‌های سیتوپاتیک در آزمایشگاه، بررسی کردند و گزارش نمودند که *لیستریا ایونووی* بالقوه بیماری زا است (۲۶). Mauro و همکاران در سال ۲۰۰۸ حساسیت ۱۲۰ جدایهٔ باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* از مواد غذایی به ۱۸ آنتی‌بیوتیک رایج را بررسی کردند. آن‌ها در پژوهش خود از آزمون حساسیت با استفاده از سیستم خودکار VITEK2 استفاده کردند. در میان ۱۲۰ جدایه ی مورد مطالعه، ۱۴ مورد (۱۱/۷٪) مقاومت به حداقل یک آنتی بیوتیک را نشان دادند (۲۷). Rosa و همکاران در سال ۲۰۱۱ مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* جداشده از طیور در شمال غربی اسپانیا و همچنین میزان شیوع گونه‌های مختلف *لیستریا* و شیوع گونه‌ی *لیستریا ایوانووی* را مورد بررسی قراردادند. گونه‌های شناسایی‌شده شامل *لیستریا اینوکووا*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *لیستریا ایوانووی*، *لیستریا ولشیمری* و *لیستریا گرایی* بودند. مقاومت آنتی بیوتیکی این‌گونه‌ها با استفاده از روش انتشار دیسک در برابر ۱۵ آنتی بیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفت. تمام جدایه ها، حداقل به یک آنتی بیوتیک مقاوم بودند. نتایج آن‌ها نشان داد که بیش‌ترین مقاومت به ترتیب در برابر Nalidixic acid، Neomycin، Enrofloxacin، Furazolidone، Ciprofloxacin، Streptomycin بود (۲۸).

از آن جایی که بیماری لیستریوزیس یک بیماری مشترک بین انسان و حیوان است و امکان آلودگی به گونه‌های مختلف لیستریا در لاشه‌های گوسفند بعد از خروج از کشتارگاه بیشتر می‌شود، اگر نمونه‌گیری در خرده‌فروشی‌ها و قصابی‌های سطح شهر صورت گیرد احتمال جداسازی لیستریا نیز افزایش می‌یابد. هم چنین اگر میزان نمونه‌گیری بیشتر از این مقدار بود شانس جداسازی *لیستریا مونوسیتوژنز* نیز بیشتر می‌شد.

عوامل مختلفی در ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های مختلف وجود دارد که از جمله می‌توان به مصرف بی‌رویه آنتی بیوتیک ها اشاره کرد، به همین دلیل توجه به چگونگی و میزان مصرف آنتی بیوتیک ها علیه بیماری لیستریوزیس از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. مطالعات انجام‌شده از گذشته تا به امروز در زمینه‌ی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری *لیستریا*، حاکی از روند رو به رشد مقاومت این باکتری به آنتی‌بیوتیک های مختلف

است. (۲۷،۲۸). بر این اساس در این تحقیق نیز به بررسی الگوی مقاومتی گونه‌ی *لیستریا ایوانووی* نیز پرداخته شد که مقایسه‌ی نتایج این آزمایش با مطالعات انجام‌شده، شیوع *لیستریا ایوانووی* با مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبتاً زیاد را نشان می‌دهد که در این رابطه توصیه به بررسی بیشتر توسط محققان و مراکز علمی می‌شود.

تشکر و قدرداني

از حمایت بخش بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی و پژوهشکده‌ی بیماری‌های مشترک انسان و دام دانشگاه شهرکرد و دوستانی که ما را در اجرای این تحقیق صمیمانه یاری داده‌اند، نهایت سپاسگزاری را داریم.

References:

1. Bell C. Listeria. A practical approach to the organism and its control in foods. *2th ed. Blackwell Pub*,London, 2005; pp:50-51.
2. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH. *Listeria* and Erysipelothrix. *Manual of Clinical Microbiology*, 2003; 1: 4619-4620.
3. Paziak-Domanska B, Bogulawska E, Wiekowska-Szakiel M. Evaluation of the API test, phosphatidylinositol-specific phospholipase C activity and PCR method in identification of *Listeria monocytogenes* in meat foods. *FEMS Microbiology Letters*. 1999; 171: 209–214.
4. Aguado V, Vitas AI, Garcia-Jalon I. Characterization of *L. monocytogenes* and *L. Innocua* from a vegetable processing plant by RAPD and REA. *International Journal of Food Microbiology*, 2004; 90: 341-347.
5. Furrer B, Candrian U, HoefeleinCh. Detection and identification of *Listeria monocytogenes* in cooked sausage products and in milk by in vitro amplification of haemolysin gene fragments. *Journal of Applied Bacteriology*.1991; 70: 372–379.
6. Orndorff PE, Hamrick TS, Smoak IW. Host and bacterial factors in listeriosis pathogenesis. *Veterinary Microbiology*, 2006; 114:115-116.
7. Cummins AI, Fielding AK, McLauchlin J. *Listeria ivanovii* infection in a patient with AIDS, *Journal of Infection* 1994; 28 :89–91.
8. Elischerova K, Cupkava E, Urgeova E. Isolation of *Listeria ivanovii* in Slovakia, *Czechoslovak Epidemiology Microbiology Immunology*, 1990; 39: 228–236.
9. Uillet C, Join-Lambert O, Alban LM, et al. Human Listeriosis Caused by *Listeria ivanovii*. *Emerging Infectious Diseases*, 2010, 16:136-138.
10. Napir YM, Vaisbein E, Nassar F. Low virulence but potentially fatal outcome—*Listeria ivanovii*. *European Journal of Internal Medicine*, 2006; 17:286 – 287.
11. Baek SK, Lim SY, Lee DH. Incidence and characterization of *Listeria monocytogenes* from domestic and imported foods in Korea. *Journal of Food Protection* 2000; 63: 186–189.
12. yttendaele M, De TP, Debevere J. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different types of meat products on the Belgian retail market. *International Journal of Food Microbiology* 1999; 53: 75–80.
13. Fenlon DR, Wilson J, Donachie W. The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. *Journal of Applied Bacteriology*, 1996; 81: 641–650.
14. Fillice GA. *L. monocytogenes* in neonates. *Journal of Infection Disease*, 1978; 138: 17-23.
15. Guillet C, Join-Lambert O, Le Monnier A. Human listeriosis caused by *Listeria ivanovii* .*Emerging Infectious Diseases*, 2010; 16: 136-138.
16. Kreft J, Vásquez-Boland JA, Goebel W. Virulence gene clusters and putative pathogenicity islands in *listeria*. In: Karper JB, eds. *Pathogenicity Islands and Other Mobil Virulence Elements.*washington.1999; pp: 219-232.
17. Troxler R, Von Graevenitz A, Funke G, et al. Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. gryi, L. innocua, L. ivanovii, L. monocytogenes, L. seeligeri and L. welshimeri* strains. *Clinical Microbiol Infectious*, 2000; 10:525-36.
18. Jalali M, Abedi D. Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran. *International Journal of Food Microbiology* 2008; 122: 336–40.
19. Rahimi E, Momtaz H, Hemmatzadeh F. The prevalence of *Escherichia coli O157:H7*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter* spp. on bovine carcasses in Isfahan, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research* 2008; 9: 4-25.
20. Hudso JA, Mott SJ, Delacy KM. Incidence and coincidence of *Listeria* spp. motile aeromonads and *Yersinia enterocolitica* on ready-to-eat fleshfoods. *International Journal of Food Microbiology* 1992; 16: 99–108.
21. De Simon M, Tarrago C, Ferrer MD. Incidence of *Listeria monocytogenes* in fresh foods in Barcelona (Spain). *International Journal of Food Microbiology* 1992; 16: 153–156.
22. Moshtaghi H, Mohamadpour A. Incidence of *Listeria* spp. in raw milk in Shahrekord, Iran. *Food borne Pathogen Diseases*. 2007; 4:107-10.

23. Maktabi S, Fazlara A, Ebrahimian S. Incidence of *Listeria* Species in farmed tropical fish in Khuzestan, Iran. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. 2011; 3: 206-209.
24. Bunci S. The incidence of *Listeria monocytogenes* in slaughtered animals, in meat, and in meat products in Yugoslavia. *International Journal of Food Microbiology* 1991; 12: 173–180.
25. Capita R, Alonso-Calleja C, García-Fernández MC, Moreno B. Occurrence of *Listeria* species in retail poultry meat and comparison of a cultural/immunoassay for their detection. *International Journal of Food Microbiology* 2001; 65: 75–82.
26. Jiang L, Chen J, Xu J. Virulence characterization and genotypic analyses of *Listeria monocytogenes* isolates from food and processing environments in Eastern China. *International Journal of Food Microbiology*, 2008; 121: 53-59.
27. Mauro C, Domenico P, Emanuela Z. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*, *International Journal of Food Microbiology*. 2009; 128: 497–500.
28. Rosa C, Miguel P, Carlos A. Increase over time in the prevalence of multiple antibiotic resistance among isolates of *Listeria monocytogenes* from poultry in Spain. *Food Control*, 2012; 23: 37-41.