Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 8, Number 3 (10-2014)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Listeria* Species Isolated from Smoked and Salted Fish

Ebrahim Rahimi[1], Farhad Safarpoor Dehkordi[2], Emad Yahaghi[3], Ebrahim Khodaverdi Darian[4]

1. Department of Food Hygiene, Colege of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
2. Department of Food Hygiene, College of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
3. Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4. Young Researchers and Elites Club, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

Article Information

Article history:
Received:2014/02/09
Accepted:2014/08/13
Available online:2014/11/19

Article Subject:
Antimicrobial Resistance

IJMM 1393; 8(3): P 31-37

Corresponding author at:

Dr. Ebrahim Rahimi

Department of Food Hygiene, Colege of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

Email:
ebrahimrahimi55@yahoo.com

Abstract

Background and Aim: Listeriosis is one of the most important food-borne diseases caused by *Listeria* species especially *L. monocytogenes*. The objective of this study was to determine the prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from smoked and salted fish in Isfahan and Bandar anzali.

Materials and Methods: From August 2009 to April 2011, a total of 120 samples of various smoked (n= 80) and salted Iranian fish (n= 40) were obtained from randomly selected retail stores in Isfahan and Bandaranzali cities and were evaluated for the presence of *Listeria* spp. using standard cultural and PCR methods. Then antibiogram tests were done for determination of antimicrobial resistance.

Results: 7 (8.8%) and 6 (15%) of smoked and salted fish samples were positive for *Listeria* spp. respectively. *L. monocytogenes*, *L. innocua* and *L. seeligari* were isolated from 2.5, 6.7 and 1.6% of fish samples. 9 of 13 *Listeria* isolates (69.2%) were resistant to one or more antimicrobial agents. Resistance to nalidixic acid (53.8%) and tetracycline (30.8%) were the most common finding.

Conclusions: The results of this study indicate the potential risk of infection with *Listeria* in people consuming raw or under cooked smoked and salted fish. Also, the results obtained in this study indicate the need for an appropriate strategy of surveillance and epidemiological monitoring to control the development of resistance.

Key Words: *Listeria, fish, antimicrobial resistance*

Copyright © 2014 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

rahimi E, safarpourdehkordi F, yahaghi E, khodaverdi E. Prevalence and antimicrobial resistance of Listeria species isolated from smoked and salted fish. Iran J Med Microbiol. 2014; 8 (3) :31-37

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۸ – شماره ۳ – پاییز ۱۳۹۳

Journal homepage: www.ijmm.ir

شیوع و مقاومت ضد میکروبی گونه های لیستریا جدا شده از ماهی دودی و نمک سود

ابراهیم رحیمی[۱]، فرهاد صفرپور دهکردی[۲]، عماد یاحقی[۳]، ابراهیم خداوردی داریان[۴]

۱. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۳. دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران.

۴. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت:۱۳۹۲/۱۱/۲۰

پذیرش:۱۳۹۳/۰۵/۲۲

انتشار آنلاین:۱۳۹۳/۰۷/۲۰

موضوع:

مقاومت پادزیستی

IJMM 1392; 8(3): P 31-37

نویسنده مسئول:

دکتر ابراهیم رحیمی

گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تلفن: ۹۸۹۱۳۳۲۷۸۳۷۷+

پست الکترونیک:

ebrahimrahimi55@yahoo.com

چکیده

زمینه و اهداف: لیستریوزیس از مهمترین بیماری های منتقله از غذا محسوب می شود که بوسیله گونه های *لیستریا* خصوصاً *لیستریا مونوسیتوژنز* به وقوع می پیوندد. مطالعه حاضر با هدف تعیین میزان شیوع و مقاومت ضد میکروبی گونه‌های *لیستریا* جدا شده از نمونه‌های ماهی دودی و نمک سود در اصفهان و بندرانزلی انجام شده است.

مواد و روش کار: از شهریور ۱۳۸۸ تا اردیبهشت ماه ۱۳۹۰، ۸۰ نمونه ماهی دودی و ٤٠ نمونه ماهی نمک سود از مراکز فروش شهرستان های اصفهان و بندر انزلی جمع‌آوری و از نظر حضور گونه‌های *لیستریا* با استفاده از روش کشت و PCR آزمایش شدند و در ادامه تست آنتی بیوگرام برای تعیین مقاومت پادزیستی انجام شد.

یافته‌ها: گونه های *لیستریا* به ترتیب از ۷ (۸/۸ ٪) و ٦ (۱۵ ٪) نمونه از نمونه ماهیان دودی و نمک سود جداسازی شدند. نتایج نشان داد که به ترتیب ۲/۵، ٦/۷ و ۱/٦ درصد از نمونه‌های مورد آزمایش *لیستریا منوسیتوژنز*، *لیستریا اینوکوا* و *لیستریا سیلیگری* بوده است. ۹ گونه از ۱۳ گونه *لیستریا* جداسازی شده (۲/ ٦۹ درصد) به یک یا چند پادزیست مقاوم بودند. بالاترین مقاومت نسبت به نالیدیکسیک اسید (۵۳/۸) و تتراسیکلین (۳۰/۸) بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه خطر بالقوه ناشی از *لیستریا* را در مصرف کنندگان ماهی دودی و نمک سود خام و نیم پز نشان می دهد. نتایج این بررسی نیاز به یک استراتژی مناسب جهت پایش اپیدمیولوژیک در خصوص کنترل مقاومت های ضد میکروبی در مواد غذایی را نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی : *لیستریا، ماهی، مقاومت ضد میکروبی*

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

مقدمه

آلودگی مواد غذایی به میکروارگانیسم ها از جمله مسائل مهم و در خور توجه کشورهای در حال توسعه می باشد. آلودگی های میکروبی غذاها معمولا منجر به بروز مسمومیت های غذایی گسترده به شکل اپیدمی های فراگیر در سطح مناطق می شود که از نظر بهداشت عمومی بسیار قابل توجه است. برای پیشگیری و تحت کنترل درآوردن این بیماری‌ها باید عوامل ایجادکننده این بیماری‌ها، وضعیت آلودگی مواد غذایی مختلف، روش‌های جدا نمودن و شناسایی آن‌ها و نیز راه‌هایی که این عوامل مواد غذایی را آلوده می‌کنند شناخته شوند.

در این بین گونه‌های لیستریا نقش مهمی را در میکروبیولوژی پزشکی و میکروبیولوژی مواد غذایی بازی می‌کند. در بین گونه-های مختلف لیستریا، *لیستریا مونوسیتوژنز* مهمترین عامل بیماری زایی محسوب می‌شود. با این وجود *لیستریا ایوانووی* و

لیستریا سیلیگری نیز به عنوان عوامل بیماریزای انسان معرفی شده‌اند (۱، ۲). لیستریوزیس یک بیماری تک گیر است و غالباً با علائم شبیه آنفولانزا بروز می‌کند اگرچه در مواردی منجر به مننژیت در بیماران با ضعف سیستم ایمنی، سقط جنین در خانم-های باردار و انسفالوپاتی در کودکان نیز خواهد شد (۳). میزان مرگ و میر ناشی از این بیماری ۲۰ تا ۳۰ درصد گزارش شده است (۴).

مصر ف مواد غذایی با منشا دامی از جمله شیر، گوشت قرمز، تخم مرغ، ماهی و گوشت سفید به شکل خام یا نیم پز، مهم ترین عامل بروز لیستریوزیس تک گیر و حتی اپیدمی های لیستریوزیس در بین جوامع است (۵، ۶). نقش بالقوه مواد غذایی دریایی مانند انواع ماهی، میگو و حتی خرچنگ در بروز بیماری لیستریوزیس در مطالعات فراوانی به اثبات رسیده است (۶،۷). از طرفی امروزه با پیشرفت دانش بشری و پی بردن به خواص بالای تغذیه ای غذا های دریایی، فرهنگ مصرف این فراورده ها به مراتب از گذشته بیشتر شده است. این در حالی است که در کشور های شرق و جنوب شرق آسیا فراورده های دریایی اصلی ترین رژیم غذایی مردم را تشکیل می دهند. در ایران نیز با افزایش فرهنگ مردم، مصرف فراورده های دریایی نسبت به گذشته بیشتر شده است. مطالعات مختلفی که در سراسر جهان بر روی فراورده های دریایی انجام پذیرفته است نشان می دهند که گونه های لیستریا و به خصوص *لیستریا مونوسایتوژنز* به وفور از این غذاها بالاخص در شرایط نامناسب فراوری و مصرف به شکل خام یا نیم پز، جداسازی شده اند (۹-۷).

بررسی های انجام شده در ایران نشان می دهند که مواد غذایی با منشا دامی به خصوص شیر و گوشت ناقل گونه های لیستریا هستند (۱۰، ۱۱) اما متاسفانه مطالعه فراگیری در زمینه آلودگی ماهی های خام و فراوری شده به گونه های لیستریا، انجام نپذیرفته است.

از دیرباز روش های مختلفی برای فراوری و افزایش طول مدت نگه داری ماهی و فراورده های دریایی وجود داشته است. ماهی نمک سود و دودی از محصولات سنتی ایران محسوب می-شوند. این محصولات از عمل آوری ماهیان پرورشی یا دریایی بوسیله نمک و یا نمک به همراه دود تهیه شده و معمولاً در خارج از یخچال در مراکز فروش ماهی و فرآورده‌های شیلاتی عرضه می‌شوند (۱۰). ماهی نمک سود و ماهی دودی معمولاً بطور سنتی به صورت خام یا نیم پز مصرف می‌شود، لذا آلودگی این فرآورده-های با ارزش به پاتوژن‌هایی چون *لیستریا مونوسیتوژنز* می‌تواند خطر بالقوه‌ای را برای مصرف کنندگان به همراه داشته باشد. لذا این مطالعه برای اولین بار در ایران با هدف بررسی آلودگی ماهی دودی و ماهی نمک سود موجود در بازار شهرستان اصفهان و بندرانزلی به گونه‌های لیستریا و بررسی مقاومت ضد میکروبی گونه‌های لیستریا جدا سازی شده از این فرآورده‌ها طراحی و انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری:

از شهریور ماه ۱۳۸۸ تا اردیبهشت ماه ۱۳۹۰، در مجموع ۱۲۰ نمونه ماهی دودی و نمک سود از شهرستان های اصفهان و بندر انزلی جمع‌آوری شد. این نمونه‌ها بصورت جداگانه هر کدام در ظروف یکبار مصرف، در کنار یخ و در اسرع وقت به آزمایشگاه منتقل شدند و حداکثر ۲۴ ساعت پس از نمونه گیری مورد آزمایش قرار گرفتند.

روش جداسازی گونه‌های لیستریا:

۲۵ گرم از هر نمونه به ارلن‌های حاوی ۲۲۵ میلی‌لیتر آبگوشت غنی‌کننده لیستریا (Listeria Enrichment Broth Base, Himedia, India) اضافه گردید و به مدت ۴۸ ساعت در محیط ۲۵ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شدند. پس از این مدت ۰/۱ میلی‌لیتر از محیط آبگوشت غنی‌کننده به صورت کشت خطی در سطح محیط آگار انتخابی لیستریا (Listeria selective agar, Himedia, India) کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در گرم خانه ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پرگنه های مشکوک به لیستریا پس از رنگ آمیزی گرم جهت تائید و تشخیص گونه با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی استاندارد از جمله تست حرکت در ۲۲ و ۳۷ درجه سلسیوس، تخمیر قندهای گلوکز، مالتوز، رامنوز، احیاء اسکولین، احیاء نیترات، تست همولیزبتا و آزمایش CAMP بررسی شدند (۱۲).

استخراج DNA و تائید گونه های لیستریا به روش مولکولی:

این آزمون مطابق روش تشریح شده بوسیله Zhou و Jiao (۲۰۰۵) انجام شد (**۱۳**). در این روش حضور ژن actA باکتری مورد ارزیابی قرار گرفت. DNA باکتری های رشد یافته در محیط غنی کننده لیستریا با استفاده از کیت استخراج DNA ساخت شرکت سیناژن ایران مطابق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به دو روش اسپکترومتری با طول موج ۲۶۰ نانومتر و الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ مورد ارزیابی قرار گرفت. DNA های استخراج شده تا زمان انجام PCR در فریزر °c ۲۰- نگهداری شدند. پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی گونه های لیستریا در جدول ۱ لیست شده‌اند.

آزمایش PCR در قالب یک PCR چندگانه ای (Multiplex PCR) در حجم ۵۰ میکرو لیتر واجد ۵ میکرولیتر PCR buffer 10x ، ۰/۲ میلی مول dNTP mix، ۲ میلی مول MgCl2، ۲ واحد آنزیمTaq DNA polymerase، ۴ میکرولیتر از DNA مربوط به هر نمونه و ۰/۲ میکرومول از زوج پرایمرهای Lis-prs-F,R (جهت شناسایی تمام گونه های *لیستریا*)، ۱ میکرومول از زوج پرایمرهای Lis-MonoA و Lis-1B (جهت شناسایی گونه *لیستریا مونوسیتوژنز*)، ۰/۵ میکرومول از زوج پرایمرهای Lis-1B و Lis-Ino2 (جهت شناسایی گونه *لیستریا اینوکوآ*)، ۰/۲ میکرومول از زوج پرایمرهای Lis- 1B و Lis- Siwi2 (جهت شناسایی گونه *لیستریا سیلیگری*) انجام شد.

برنامه حرارتی مورد استفاده شامل یک سیکل°c ۹۴ به مدت ۳ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری °c۹۴ به مدت ۱۵ ثانیه، °c۵۳ به مدت ۷۵ ثانیه، °c ۷۲ به مدت ۷۵ ثانیه و یک سیکل انتهایی °c ۷۲ به مدت ۷ دقیقه، بود.

در هر مرحله محصول PCR روی ژل ۱/۵ درصد آگاروز واجد اتیدیوم بروماید در حضور مارکر۱۰۰ جفت بازی DNA در ولتاژ ثابت ۸۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه الکتروفورز گردید.

جدول ۱: توالی پرایمر های مورد استفاده جهت ردیابی گونه های لیستریای جدا شده از ماهی دودی و نمک سود (۱۴).

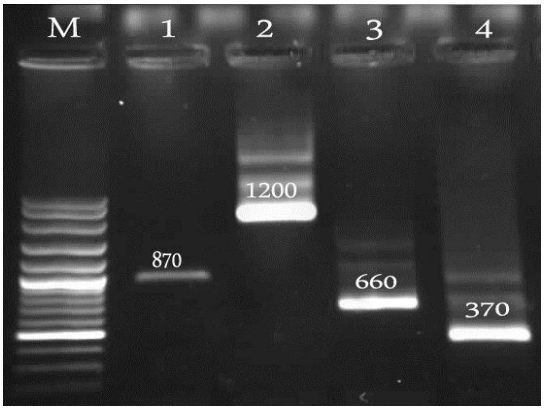
نام پرایمر	توالی پرایمر (5'-3')	اندازه محصول (bp)
Lis- Ion 2 Lis-Lis 1B	F:ACTAGCACTCCAGTTAAAC R:TTATACGCGACCGAAGCCAAC	970
Lis- Siwi 2 Lis-Lis 1 B	F:TAACTGAGGTAGCGAGCGAA R:TTATACGCGACCGAAGCCAAC	1200
Lis-MonoA Lis-Lis 1B	F:CAAACTGCTAACACAGCTACT R:TTATACGCGACCGAAGCCAAC	660
Lis-prs-F Lis-prs-R	F:GCTGAAGAGTTGCGAAAGAAG R:CAAAGAAACCTTGGATTTGCGG	370

آزمایش بررسی مقاومت ضد میکروبی:

آزمون حساسیت ضد میکروبی سوش های لیستریا جدا شده از نمونه های ماهی دودی و نمک سود شده با استفاده از روش دیسک گذاری بر روی محیط مولر هینتون (HiMedia, Laboratories, Mumbai, India) غنی شده با پنج درصد خون دفیبرینه گوسفند، مطابق روش‌های استاندارد انجام شد (**۱۵**). دیسک های پادزیستی مورد استفاده (HiMedia, Laboratories, Mumbai, India) و غلظت هر یک عبارت بود از: نالیدیکسیک اسید (μg ۳۰)، سیپروفلوکساسین (μg ۵)، اریترومایسین (μg ۱۵)، تتراسایکلین (μg ۱۵)، استرپتومایسین (μg ۳۰)، پنی‌سیلین (μg ۱۰)، جنتامایسین (μg ۱۰)، وانکومایسین (μg ۳۰) و کلرامفنیکل (μg ۳۰) بودند. سپس پلیت ها کشت، دیسک گذاری در محیط ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرم خانه‌گذاری شدند. بعد از گرم‌خانه‌گذاری هاله‌های عدم رشد در اطراف دیسک های پادزیست توسط کولیس مدل KT با دقت ۰/۰۲× ۱۲۵ میلی‌متر ساخت کشور چین اندازه‌گیری شد. سپس حساسیت گونه‌های لیستریا به هر پادزیست با الگوی ارائه شده توسط CLSI مقایسه شدند (**۱۵**).

یافته ها

نتایج بررسی وضعیت آلودگی به گونه‌های *لیستریا* در ۱۲۰ نمونه ماهی دودی شده و نمک سود شده عرضه شده به بازار مصرف شهرستان اصفهان و بندر انزلی به طور خلاصه در جدول ۲ آورده شده است. در مجموع از ۱۲۰ نمونه آزمایش شده ۱۳ نمونه (۱۰/۸٪) آلوده به یکی از گونه‌های *لیستریا* بود. از بین ۱۳ گونه *لیستریا* جدا شده در مطالعه حاضر۳ گونه همولیتیک و در آزمون CAMP مثبت بوده و به عنوان *لیستریا مونوسیتوژنز* تشخیص شدند. از ۱۰ گونه باقی مانده ۸ گونه به عنوان *لیستریا اینوکوا* و ۲ گونه به عنوان *لیستریا سیلیگری* شناسایی شد. همه گونه های *لیستریا* جدا شده در روش کشت با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلی مراز مورد تائید قرار گرفتند. نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات PCR در شکل ۱ آورده شده است. به منظور تایید تشخیص، محصول PCR بدست آمده از هرکدام از نمونه های مثبت از نظر حضور باکتری توالی یابی شد. سپس توالی های بدست آمده با استفاده از تکنیک BLAST (Basic Logical Alignment Search Tool) مورد ارزیابی قرار گرفتند و با توالی های ثبت شده در بانک ژنی، مقایسه شد. توالی های بدست آمده از نمونه های بررسی حاضر با موارد ثبت شده در بانک ژنی مشابهت داشتند.



شکل ۱: الکتروفورز محصولات PCR جهت ردیابی گونه های لیستریا جداسازی شده از ماهی دودی و نمک سود شده. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی و ۴-۱: نمونه های مثبت.

جدول ۲: فراوانی و درصد آلودگی نمونه ماهیان دودی شده ماهی نمک سود شده عرضه شده در بازار مصرف شهرستان اصفهان و بندر انزلی به گونه های لیستریا.

نمونه	تعداد نمونه‌های آزمایش شده	نمونه‌های آلوده به گونه‌های *لیستریا* (٪)	نمونه های آلوده به *لیستریا مونوسیتوژنز* (٪)	نمونه های آلوده به *لیستریا اینوکوا* (٪)	نمونه های آلوده به *لیستریا سیلیگری* (٪)
ماهی دودی شده	۸۰	۷ (۸/۸)	۲ (۲/۵)	۳ (۳/۸)	۲ (۲/۵)
ماهی نمک سود شده	۴۰	۶ (۱۵)	۱ (۲/۵)	۵ (۱۲/۵)	-
مجموع	۱۲۰	۱۳ (۱۰/۸)	۳ (۲/۵)	۸ (۶/۷)	۲ (۱/۷)

در بین نمونه‌های آزمایش شده از ۸۰ نمونه ماهی دودی شده ۷ نمونه (۸/۸ درصد) آلوده به گونه‌های *لیستریا*، شامل *لیستریا مونوسیتوژنز*، *لیستریا اینوکوا* و *لیستریا سیلیگری* بود. از ۴۰ نمونه ماهی نمک سود شده مجموعاً ۶ نمونه (۱۵ درصد) آلوده به گونه‌های *لیستریا* شامل *لیستریا مونوسیتوژنز* و *لیستریا اینوکوا* بودند (جدول ۲).

الگوی مقاومت گونه های *لیستریا* در این مطالعه به طورخلاصه در جدول شماره ۳ منعکس شده است. در مجموع مقاومت ضد میکروبی ۱۳ گونه *لیستریا* شامل ۳ گونه *لیستریا مونوسیتوژنز*، ۸ گونه *لیستریا اینوکوا* و ۲ گونه *لیستریا سیلیگری* بر علیه ۸ پادزیست رایج مورد مصرف در علوم پزشکی و دامپزشکی مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی ۹ گونه از ۱۳ گونه *لیستریا* جدا شده از نمونه ها (۲/ ۶۹ درصد) به یک یا چند پادزیست مورد بررسی مقاومت نشان دادند. مقاومت نسبت به یک، دو و بیش از دو پادزیست به ترتیب در ۱۵/۴، ۳۸/۵ و ۱۵/۴ درصد از گونه های *لیستریا* مطالعه شده مشاهده شد.

جدول ۳: مقاومت پادزیستی گونه های لیستریا جدا شده از نمونه ماهیان دودی و نمک سود شده.

پادزیست	فراوانی و درصد مقاومت پادزیست‌ها			
	لیستریا (n=۱۳)	*لیستریا مونوسایتوژنز* (n=۳)	*لیستریا اینوکوا* (n=۸)	*لیستریا سیلیگری* (n=۲)
نالیدیکسیک اسید	۷ (٪۵۳/۸)	۲ (٪۶۶/۷)	۵ (٪۶۲/۵)	-
سیپروفلوکساسین	۳ (٪۲۳/۱)	-	۳ (٪۳۷/۵)	-
اریترومایسین	۱ (٪۷/۶)	۱ (٪۳۳/۳)	-	-
تتراسایکلین	۴ (٪۳۰/۸)	۲ (٪۶۶/۷)	۱ (٪۱۲/۵)	۱ (٪۵۰)
پنی‌سیلین	۳ (٪۲۳/۱)	۱ (٪۳۳/۳)	-	۲ (٪۱۰۰)
جنتامایسین	-	-	-	-
کلرامفنیکل	-	-	-	-
وانکومایسین	-	-	-	-

بحث

بررسی وضعیت آلودگی نمونه ماهی‌های دودی و نمک سود شده به گونه‌های *لیستریا* در مطالعه حاضر نشان داد ۱۳ نمونه از ۱۲۰ نمونه بررسی شده (٪۱۰/۸) به این میکروارگانیسم‌ها آلوده بوده‌اند. که از این تعداد ۳ نمونه حامل *لیستریا مونوسیتوژنز* بود. به طور مشابهی مطالعه‌ای از Akhondzadeh Basti و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان می‌دهد به ترتیب ۵/۱ ٪ و ۱۰٪ از نمونه ماهی‌یان دودی و نمک سود شده حامل *لیستریا مونوسیتوژنز* بوده است. آلودگی ماهی دودی و نمک سود شده به *لیستریا* را می‌توان به آلودگی اولیه ماهی یا آلودگی ثانویه ماهی در طول مراحل تولید و پس از آن یعنی در طول زمان نگهداری مرتبط دانست (۱۰). مطالعه‌ی از Thimothe و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان داد که ۱۶/۷٪ از نمونه های ماهی خام، ۹٪ از محصول ماهی دودی شده و ۲۷/۳٪ از نمونه های محیطی موجود در کارخانجات فراوری ماهی آلوده به گونه های لیستریل بودند. در بررسی آنها *لیستریا مونوسیتوژنز* فراوان ترین گونه ردیابی شده بود (۱۷).

مطالعه‌ای از Garrido و همکاران در سال ۲۰۰۹ در اسپانیا در خصوص شیوع *لیستریا مونوسایتوژنز* در غذاهای آماده مصرف حاکی از آن است که بالاترین میزان شیوع *لیستریا* در بین انواع محصولات غذایی آماده به مصرف مربوط به ماهی دودی با ۲۵٪ آلودگی بوده است. در همین مطالعه گونه‌های *لیستریا* جدا شده از نمونه ماهی سالامی دودی، *لیستریا مونوسیتوژنز* (٪۱۰/۸)، *لیستریا اینوکوا* (٪۱)، و *لیستریا ولشیمری* (٪۷/۸)، و در ماهی دودی تنها *لیستریا مونوسیتوژنز* (٪۲۵) و *لیستریا اینوکوا* (٪۱۲/۵) گزارش شده است (۱۸). Momtaz و Yadollahi (۲۰۱۳) نشان دادند که میزان شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* در نمونه های ماهی تازه و میگو به ترتیب ۷/۲۵٪ و ۲/۵٪ بود (۱۹) که به مراتب از نتایج مطالعه حاضر و مطالعه Akhondzadeh Basti و همکاران (۲۰۰۶) در ایران بالاتر بوده است. دلیل اصلی بالاتر بودن میزان شیوع گونه های لیستریا در آن مطالعه (۲۰۰۱) روش ناصحیح دود دادن و اعمال رطوبت بیش از حد در زمان دود دادن ماهی ها اعلام شد.

مطالعه ای از Lyautey و همکاران (۲۰۰۷) بیانگر آلودگی بالای نمونه های مدفوع گاو و پرندگان به گونه های *لیستریا* می باشد (۲۰) و از آنجایی که از مدفوع گاو و طیور در پرورش ماهی استفاده می شود آلودگی اولیه ماهیان پرورشی به این میکروارگانیسم ها قابل توجیه است. مطالعات مختلف میزان آلودگی ماهیان تازه را به گونه های *لیستریا* بسیار متغیر و از صفر تا بیش از ۵۰ درصد گزارش نموده اند (۲۱، ۲۲). در بین مطالعات انجام شده در ایران Jalali و Abedi در سال ۲۰۰۹ طی مطالعه‌ی در زمینه شیوع گونه‌های *لیستریا* در مواد غذایی میزان آلودگی ماهی تازه (۱۲ عدد) وماهی منجمد شده (۶۲ عدد) را به ترتیب صفر درصد و ۳/۲٪ گزارش نموده اند (۱۱). همچنین در مطالعه‌ی دیگر از Akhondzadeh Basti و همکاران (۲۰۰۶) میزان الودگی ماهی تازه به *لیستریا مونوسیتوژنز* ۲/۶٪ گزارش

شده است (**۱۰**). اختلاف نتایج در بین مطالعات مختلف را می توان به نوع ماهی، روش دودی و نمک سود کردن ماهی، روش جدا سازی گونه های *لیستریا*، موقعیت جغرافیای منطقه و فصل سال نسبت داد (**۱۰، ۱۱ و ۱۸**).

در مطالعه حاضر بیشترین گونه *لیستریا* جدا شده از نمونه-های مورد بررسی *لیستریا اینوکوا* بوده است. مطالعات مشابه نیز نشان می‌دهد در بین گونه‌های *لیستریا* جدا شده از مواد غذایی از جمله فرآورده‌های دریایی *لیستریا اینوکوا* شایع‌ترین گونه جدا شده بوده است (**۱۱، ۲۳ و ۲۴**).

دربین لیستریاهای بررسی شده بالاترین مقاومت نسبت به نالیدیکسیک اسید (۵۳/۸٪) و تتراسیکلین (۳۰/۸٪) مشاهده شد، در حالی که تمام گونه ها به جنتامایسین، وانکومایسین و کلرامفنیکل حساس بودند. این نتایج با مطالعات مشابه از Conter و همکاران (۲۰۰۹) (**۲۶**) (۵۰-۲۰٪ شیوع مقاومت سوش های لیستریا جدا شده) و Harakeh و همکاران (۲۰۰۹) (**۲۷**) (۶۰-۳۰ درصد جدایه ها مقاوم به پادزیست های تست شده) همخوانی دارد.

این مطالعه حاکی از آن است که میزان آلودگی انواع نمونه-های جمع‌آوری شده از ماهی دودی و نمک سود شده در بازار شهرستان اصفهان و بندر انزلی نسبتاً پایین است، اما جداسازی *لیستریا مونوسیتوژنز* از نمونه‌های بررسی شده را می توان به عنوان خطری برای مصرف کنندگان مواد غذایی به حساب آورد. در حالی که گونه‌های *لیستریا* از جمله *لیستریا مونوسیتوژنز* در طول فرآیند پخت و پاستوریزاسیون مواد غذایی از بین می‌روند اما مصرف مواد غذایی نیم پز شده و یا آلودگی متقاطع مواد غذایی آماده مصرف با مواد غذایی خام از جمله ماهی می‌تواند نقش بالقوه در انتقال این پاتوژن به انسان بازی کند. همچنین مقاومت ضدمیکروبی بالای *لیستریا مونوسیتوژنز* به پادزیست های بررسی شده را می توان به عنوان خطر مهم در سلامت جامعه دانست. لذا یک استراتژی دقیق و مناسب در کنترل و جلوگیری از افزایش مقاوت ضد میکروبی در بین پاتوژن‌های غذازاد لازم است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بررسی حاضر از همکاری آقای دکتر ممتاز در مرکز تحقیقات میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و همچنین سرکار خانم دکتر حاجیه قاسمیان صفایی در مرکز بیماری های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان کمال تشکر و قدردانی را دارند. همچنین از کارکنان زحمتکش مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد کمال تشکر و فدردانی را داریم.

تعارض منافع:

بین نویسندگان هیچ تعارضی وجود ندارد.

References

1. Brandt AL, Castillo A, Harris KB, Keeton JT, Hardin MD, Taylor TM. Inhibition of Listeria monocytogenes by food antimicrobials applied singly and in combination. J Food Sci. 2010; 75(9):M557-63.
2. Stavru F, Archambaud C, Cossart P. Cell biology and immunology of Listeria monocytogenes infections: novel insights. Immunol Rev. 2011; 240(1):160-84.
3. Delgado AR. Listeriosis in pregnancy. J Midwifery Women Health. 2008; 53(3):255-259.
4. Di Pinto A, Novello L, Montemurro F, Bonerba E, Tantillo G. Occurrence of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods from supermarkets in Southern Italy. New Microbiol. 2010; 33(3):249-52.
5. Markkula A, Autio T, Lundén J, Korkeala H. Raw and processed fish show identical Listeria monocytogenes genotypes with pulsed-field gel electrophoresis. J Food Prot. 2005; 68(6):1228-31.
6. Nakamura H, Takakura K, Sone Y, Itano Y, Nishikawa Y. Biofilm formation and resistance to benzalkonium chloride in Listeria monocytogenes isolated from a fish processing plant. J Food Prot. 2013; 76(7):1179-86.
7. Wan Norhana MN, Pool SE, Deeth HC, Dykes GA. Prevalence, persistence and control of *Salmonella* and *Listeria* in shrimp and shrimp products: A review. Food Control. 2010; 21(4):343-361.
8. Mena C, Almeda G, Carneiro L, Teixeira P, Hogg T, Gibbs PA. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. Food Microbiol. 2004; 21(2):213-216.
9. Parihar VS, Barbuddhe SB, Danielsson-Tham ML, Tham W. Isolation and characterization of *Listeria* species from tropical seafoods. Food Control. 2008; 19(6):566-569.
10. Akhondzadeh Basti A, Misaghi A, Zahraei Salehi T, Kamkar A. Bacterial pathogens in fresh smoked and salted Irainian fish. Food Control. 2006; 17(3):183-188.
11. Jalali M, Abedi D. Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran. Int J Food Microbiol. 2008; 122(3):336-340.
12. Aygun O, Pehlivanlar S. *Listeria* spp. in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. Food Control. 2006; 17(8):676-679.

13. Zhou X, Jiao X. Polymerase chain reaction detection of *Listeria monocytogenes* using oligonucleotide primers targeting *actA* gene. Food Control. 2005; 16(2):125-130.
14. Bubert A, Hein I, Rauch M, Lehner A, B. W. Yoon. Detection and differentiation of *Listeria* spp. by a single reaction based on multiplex PCR. Appl Environ Microbiol. 1999;65(10):4688-4692.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement. M100-S21. Wayne Pa: CLSI; 2012.
16. Cai S, Kabuki DY, Kuaye AY, Cargioli T G, Chung MS, Nielsen R, Wiedmann M. Rational design of DNA sequence-based strategies for subtyping *Listeria monocytogenes*. J Clin Microbiol. 2002; 40(9):3319–3325.
17. Thimothe J, Nightingale KK, Gall K, Scott VN, Wiedmann M. Tracking of Listeria monocytogenes in smoked fish processing plants. J Food Prot. 2004; 67(2):328-41.
18. Garrido V, Vitas AI, Garca-Jalon I. Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products: Prevalence by brands and retail establishments for exposure assessment of Listeriosis in Northern Spain. Food Control. 2009; 20(11):986-991.
19. Momtaz H, Yadollahi S. Molecular characterization of Listeria monocytogenes isolated from fresh seafood samples in Iran. Diagn Pathol. 2013; 8:149.
20. Lyautey E, Hartmann A, Pagotto F, Tyler K, Lapen DR, Wilkes G, Piveteau P, Rieu A, Robertson WJ,Medeiros DT, Edge TA, Gannon V, Topp E. Characteristics and frequency of detection of fecal Listeria monocytogenes shed by livestock, wildlife, and humans. Can J Microbiol. 2007; 53(10):1158-67.
21. Yücel N, Balci S. Prevalence of listeria, Aeromonas, and Vibrio species in fish used for human consumption in Turkey. J Food Prot. 2010; 73(2):380-4.
22. Zarei M, Maktabi S, Ghorbanpour M. Prevalence of Listeria monocytogenes, Vibrio parahaemolyticus, Staphylococcus aureus, and Salmonella spp. in seafood products using multiplex polymerase chain reaction. Foodborne Pathog Dis. 2012; 9(2):108-12.
23. Dhanashree B, Otta SK, Karunasagar I, Goebel W, Karunasagar I. Incidence of *Listeria* spp. in clinical and food samples in Mangalore, India. Food Microbiol. 2003; 20(4):447-453.
24. Soultos N, Abrahim A, Papageorgiou K, Steris V. Incidence of *Listeria* spp. in fish and environment of fish markets in Northern Greece. Food Control. 2007; 18(5):554-557.
25. Arsalan S, Özdemir F. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* spp. in homemade white cheese. Food Control. 2008; 19(4):360-363.
26. Conter M, Paludi D, Zanardi E, Ghidini S, Vergara A, Ianieri A. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. Int J Food Microbiol. 2009; 128(3):497-500.
27. Harakeh S, Saleh I, Zouhairi O, Baydoun E, Barbour E, Alwan N. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy-based food products. Sci Total Environ. 2009; 407(13):4022-4027.