مجله دانشکده پزشکی اصفهان **مقاله پژوهشی**
سال سی‌ام/شماره ۲۰۴/هفته دوم آبان ماه ۱۳۹۱
تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۱۵ **تاریخ پذیرش:** ۹۱/۶/۲۵

شیوع گونه‌های لیستریا در شیر خام عرضه شده در سطح شهر اصفهان

احسان شاملو آقاخانی[۱]، دکتر محمد جلالی[۲]، دکتر مریم میرلوحی[۳]، زهره عبدی مقدم[۱]، الهام شاملو آقاخانی[۴]، دکتر محمدرضا مراثی[۵]، دکتر مجید یاران[۶]

چکیده

مقدمه: لیستریا مونوسیتوژنز باکتری سرمادوستی است، که توسط مواد غذایی منتقل می‌شود. این باکتری می‌تواند در شیر و محصولات لبنی وجود داشته باشد. لیستریا مونوسیتوژنز عامل بیماری لیستریوز می‌باشد که علایم شدیدی مانند، منتژیت، سپتی‌سمی و سقط جنین ایجاد می‌کند. بنابراین آلودگی با آن سبب به خطر افتادن سلامتی انسان می‌شود. با توجه به این که اطلاعات اندکی از آلودگی شیر خام به لیستریا مونوسیتوژنز در ایران وجود دارد، هدف از این مطالعه، تعیین شیوع گونه‌های لیستریا در شیر خام بود.

روش‌ها: جداسازی توسط روش پیشنهادی سازمان کشاورزی امریکا (United states department of agriculture یا USDA) انجام شد. سپس لیستریا مونوسیتوژنز توسط روش‌های بیوشیمیایی و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase chain reaction یا PCR) مورد شناسایی و تأیید قرار گرفت.

یافته‌ها: از ۹۱ نمونه شیر خام جمع‌آوری شده از سطح شهر اصفهان، ۵ نمونه (۵/۴۹ درصد) آلوده به لیستریا بودند که ۴ نمونه (۴/۳۹ درصد) دارای لیستریا مونوسیتوژنز و ۱ نمونه (۱/۰۹ درصد) دارای لیستریا سلیجری بود. تمامی موارد لیستریا مونوسیتوژنز شناسایی شده با آزمون‌های بیوشیمیایی، با انجام آزمون PCR مورد تأیید قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی حاکی از آلودگی شیر خام عرضه شده در فروشگاه‌ها به لیستریا مونوسیتوژنز بود. با توجه به مصرف شیر خام و یا استفاده از آن در فراورده‌های لبنی سنتی در ایران، نبود کنترل مناسب، می‌تواند سبب بروز خطرات جدی در سلامت جامعه شود. عدم آگاهی در مورد لیستریوز، ضرورت اجرای برنامه‌های آموزشی و اطلاع‌رسانی در زمینه‌ی ایمنی مواد غذایی را آشکار می‌کند. علاوه بر آن ضرورت تدوین و اجباری شدن استاندارد جستجوی لیستریا در مواد غذایی حساس، لازم به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: لیستریا، شیر خام، شیوع، PCR

مقدمه

لیستریا (Listeria) یک باکتری گرم مثبت، بدون اسپور، هوازی- بی‌هوازی اختیاری است که به صورت داخل سلولی قادر به رشد می‌باشد (۱). لیستریا مونوسیتوژنز (Listeria monocytogenes) عامل بیماری لیستریوز است. این بیماری می‌تواند در افراد مسن و نوزادان و کسانی که به هر دلیلی دستگاه ایمنی ضعیفی دارند، خطرناک باشد. در موارد همه‌گیری میزان مرگ و میر آن بیش از ۳۰ درصد گزارش شده است. این میزان می‌تواند تا ۷۵ درصد در گروه‌های

---

* **این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۱۰۲۰ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.**

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده‌ی تغذیه و علوم غذایی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۲] دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده‌ی تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۳] استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده‌ی تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۴] دانشجوی کارشناس ارشد، گروه کنترل غذا و دارو، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۵] دانشیار، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۶] مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمد جلالی
Email: jalali@hlth.mui.ac.ir

آسیب‌پذیر مانند زنان باردار، افراد مسن و نوزادان افزایش یابد (۳-۲). لیستریوز به طور معمول با علایم شبیه سرماخوردگی بروز می کند، اما در لیستریوز تهاجمی علایم شدیدتری مانند سپتی‌سمی، منگوانسفالیت و سقط جنین ایجاد می‌شود.

در سال‌های اخیر چندین مورد اپیدمی لیستریوز در رابطه با مواد غذایی آلوده به ویژه در کشورهای پیشرفته گزارش شده است (۵-۴).

مطالعات زیادی شیوع گونه‌های لیستریا در مواد غذایی و از جمله شیر و لبنیات را اثبات کرده‌اند. در بین تمام مواد لبنی پنیر سنتی و شیر خام دارای بالاترین نرخ آلودگی به لیستریا هستند (۶). دوز بیماری‌زایی لیستریا مونوسیتوژنز با توجه به حساسیت فرد و نوع غذا بسیار متفاوت است (۷). در این رابطه دوز بیماری‌زایی آن در پنیر 10^3 تا 10^4 در هر گرم گزارش شده است (۴).

اگر چه وجود گونه های لیستریا در مواد غذایی مختلف و در کشورهای گوناگونی مورد بررسی قرار گرفته است، اما به دلیل نبود اطلاعات کافی در ایران، ضرورت بررسی وجود آن در مواد غذایی به ویژه شیر خام احساس می شود. هر چند استاندارد جستجوی لیستریا در مواد غذایی توسط سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران تدوین شده است، اما هنوز رعایت استاندارد وجود لیستریا در مواد غذایی اجباری نشده است. با توجه به اطلاعات بسیار محدود این مطالعه جهت بررسی آلودگی شیر خام به گونه‌های لیستریا در ایران انجام شد.

روش‌ها

نمونه‌گیری به صورت تصادفی از ۱۲ مرکز عرضه کننده‌ی مواد لبنی از سرتاسر شهر اصفهان و همچنین از مراکز جمع‌آوری شیر خام تابعه‌ی اصفهان از اواخر پاییز ۱۳۹۰ تا اوایل تابستان ۱۳۹۱ انجام شد. نمونه‌ها در شرایط استریل و در جعبه‌ی حاوی یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند. برای بررسی وجود لیستریا از دستورالعمل جداسازی پیشنهاد شده توسط سازمان کشاورزی امریکا (United States Department of Agriculture یا USDA) استفاده گردید. ۲۵ میلی‌لیتر یا ۲۵ گرم (بسته به جامد یا مایع بودن نمونه) از نمونه‌های جمع‌آوری شده را به ۲۲۵ میلی‌لیتر از محیط کشت UVM_I (University of vermont media) (Merck, Germany) اضافه شد و پس از یکنواخت کردن در دمای ۳۰ درجه ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری گردید. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از آن را به ۹/۹ میلی‌لیتر از محیط کشت UVM_{II} و Fraser broth (Merck, Germany) اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد.

پس از آن نمونه‌ها روی محیط کشت اکسفورد آگار (Merck, Germany) و مکمل‌های مربوط (Fraser Supplement, 1.10391.0001 و oxford Supplement, 1.07006 ساخت Merck, Germany) کشت خطی داده شد و ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری گردید. پس از آن حداقل ۵ عدد از کلنی های مشکوک (کلنی های سیاه فرو رفته) بر روی تریپتون سوی آگار (TSAY) (Merck, Germany) که حاوی ۰/۶ درصد عصاره‌ی مخمر است، کشت شد و در ۳۷ درجه ی سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری گردید.

جهت شناسایی لیستریا، کلنی های جدا شده تحت آزمایش‌های بیوشیمیایی تأییدی قرار گرفتند. این

آزمایش ها شامل آزمون رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، حرکت در ۲۵ و ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، MR/VP (Methyl red, Voges-proskauer)، تولید اسید از گلوکز، مانیتول، رامنوز، گزیلوز، احیای نیترات و هیدرولیز اسکولین بود. برای تأیید بیشتر از سایر روش‌های بیوشیمیایی مانند فعالیت همولیتیک و آزمایش CAMP نیز استفاده شد. در آزمایش CAMP از محیط کشت بلاد آگار، استافیلوکوکوس اورئوس و رودوکوکوس اکویی استفاده شد. نمونه‌های مشکوک به گونه های لیستریا جهت تعیین نوع گونه در بین دو کشت خطی (استافیلوکوکوس اورئوس و رودوکوکوس اکویی)، کشت داده شدند. سپس بر اساس توانایی تشدید همولیز، گونه‌های لیستریا تشخیص داده شدند.

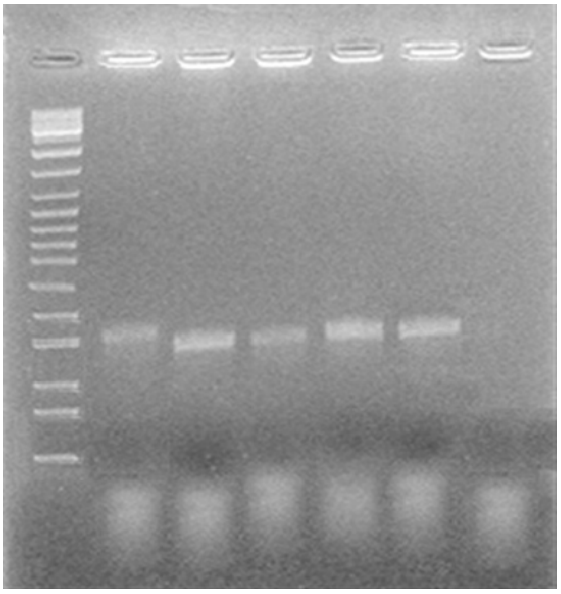
لیستریا مونوسیتوژنز جدا شده توسط روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase chain reaction یا PCR) شناسایی و تأیید شد (۸). بدین منظور باکتری‌های جدا شده در محیط BHIB (Brain heart infusion broth) (Merck, Germany) کشت داده شدند و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند. سپس DNA توسط روش Fitter و همکاران استخراج شد (۹). پرایمرهای مورد استفاده در این آزمون پرایمرهای اختصاصی (۲۳۴ و ۳۱۹) سنتز شده از روی ژن لیستریولایزین O بودند که برای تکثیر قطعه ی ۴۱۷ جفت بازی (bp) ژن hly A در باکتری لیستریا مونوسیتوژنز به کار گرفته شدند. جهت تکثیر DNA محلول PCR آماده شد، و با استفاده از دستگاه PCR (Techgene, model:FTgene2D) در طی ۳۰ سیکل (یک دقیقه دناتوریشن در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه انوالینگ پرایمرها در ۶۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه اکستنشن در ۷۲ درجه‌ی سانتی گراد) قسمتی از ژن لیستریوزین O (۴۱۷ جفت بازی) تکثیر گردید. محصول PCR در ژل آگارز ۱/۸ درصد الکتروفورز گردید و با رنگ‌آمیزی در اتیدیوم بروماید ۱ درصد و تابانیدن نور ماورای بنفش مشاهده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه از ۹۱ نمونه شیر خام جمع‌آوری شده از سطح شهر اصفهان، ۵ نمونه (۵/۴۹ درصد) آلوده به لیستریا بودند. آزمون های مولکولی و بیوشیمیایی نشان دادند که ۴ نمونه (۴/۳۹ درصد) دارای لیستریا مونوسیتوژنز و ۱ نمونه (۱/۰۹ درصد) دارای لیستریا سلیجری بود. باکتری‌هایی که با استفاده از روش‌های فنوتیپی به عنوان گونه‌ی لیستریا مونوسیتوژنز تشخیص داده شده بودند، تحت آزمایش PCR قرار گرفتند و با تشکیل باند ۴۱۷ جفت بازی نیز تأیید شدند. تصویری از آزمون PCR و تشکیل این باند در شکل ۱ نشان شده است.

بحث

گونه‌های لیستریا شیوع گسترده‌ای در محیط دارند. این باکتری به طور معمول توسط مواد غذایی منتقل می‌شود (Foodborne pathogen)؛ به همین دلیل شناسایی زود هنگام آن در مواد غذایی در پیشگیری از موارد عفونت نقش بسزایی دارد (۱۱-۱۰). توانایی رشد لیستریا مونوسیتوژنز در دمای ۰/۴- درجه‌ی سانتی‌گراد و همچنین مقاومت به فشار اسمزی سبب اهمیت آن در مواد غذایی می‌شود. این ویژگی منحصر به فرد سبب رشد آن در مواد غذایی نگهداری شده در



شکل ۱. ژل الکتروفورز ۱/۸ درصد از محصول PCR تکثیر شده‌ی نمونه‌های لیستریا مونوسیتوژنز جدا شده از شیر خام و رنگ‌آمیزی ژل در اتیدیوم بروماید ۱ درصد و عکس‌برداری با تابش اشعه‌ی ماورای بنفش. چاهک ۱: مارکر (Ladder)، چاهک ۲: شاهد مثبت، باکتری لیستریا مونوسیتوژنز IRTCC 1293، چاهک‌های۳ تا ۶ لیستریا مونوسیتوژنز جداسازی شده از شیر خام و چاهک ۷: شاهد منفی

یخچال می‌شود (۱۵-۱۲، ۱۰، ۸). از آن جایی که این باکتری در همه جا یافت می‌شود، با کنترل بیشتر چرخه‌ی تولید و توزیع مواد غذایی، پیشگیری یا کنترل عفونت در انسان میسر می‌شود. هر چند لیستریا در اثر پاستوریزاسیون از بین می‌رود، اما احتمال آلودگی پس از فرایند وجود دارد. از طرف دیگر هنوز برخی از مردم شیر خام مصرف می‌کنند، و یا از آن در فراورده های دیگر استفاده می کنند. پتانسیل بالای خطر آلودگی شیر خام و پاستوریزه و فرآورده‌های شیر و محصولات گوشتی با این باکتری در مطالعات بسیاری در کشورهای مختلف نشان داده شده است. با توجه به مطالب فوق و اطلاعات سازمان بهداشت جهانی که میزان کشندگی آن را ۲۰ تا ۳۰ درصد اعلام کرده است، بررسی میزان شیوع و فراوانی این باکتری در مواد غذایی از جمله مواد لبنی بسیار مهم و حیاتی است (۱۸-۱۵).

اولین مطالعه‌ی گسترده در خصوص شیوع آلودگی به لیستریا در ایران توسط جلالی و عابدی در شهر اصفهان گزارش گردید. در این مطالعه از مجموع ۶۱۷ نمونه‌ی اخذ شده از مواد غذایی مختلف ۴/۶ درصد از آن‌ها دارای لیستریا بودند، که در ۱/۲ درصد از آن‌ها لیستریا مونوسیتوژنز یافت شد. میزان آلودگی در گوشت، لبنیات، سبزیجات و غذاهای آماده به ترتیب ۶/۷، ۱/۳، ۱/۲ و ۱۲ درصد تعیین شد (۸). همچنین شیوع لیستریا مونوسیتوژنز در پنیر در کشورهای مختلف مانند ایتالیا ۱۷/۴ درصد، آلمان ۹/۲ درصد، استرالیا ۱۰ درصد و فرانسه ۳/۳ درصد گزارش شده است (۲۰-۱۹). در مطالعه‌ی Mena و همکاران در پرتغال آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز در شیر خام ۱۶/۷ درصد تعیین شد (۲۱).

در مطالعه‌ی حاضر ۵/۴۹ درصد از نمونه‌ها به لیستریا آلوده بودند. گونه‌ی لیستریا مونوسیتوژنز (۴/۳۹ درصد) فراوان‌ترین گونه‌ی شناسایی شده بود. فقط یکی از گونه‌ها لیستریا سلیجری (۱/۰۹ درصد) تشخیص داده شد و بر خلاف برخی از مطالعات دیگر (۲۲) هیچ گونه‌ی لیستریا اینوکوایی یافت نشد. در نقاط دیگر دنیا مطالعات مشابهی انجام شده است. در مطالعه‌ی Nero و همکاران در برزیل، از ۳۶۶ نمونه‌ی شیر خام ۲۵/۳ درصد از آن‌ها آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بودند که بسیار بیشتر از نتایج مطالعه‌ی حاضر بود (۲۳).

در مطالعه‌ی دیگری که در ترکیه انجام شد، در ۸۰ نمونه‌ی شیر خام ۱۰ درصد آلودگی به لیستریا وجود داشت که ۵ درصد آن مربوط به لیستریا مونوسیتوژنز

بود (۲۴).

در ۱۳۰۰ نمونه‌ی شیر خام که از تانک‌های حمل شیر در مکزیک گرفته شد ۲۹۹ مورد (۲۳ درصد) مورد لیستریا پیدا شد که ۱۳ درصد آن مربوط به لیستریا مونوسیتوژنز، ۶ درصد لیستریا ایوانوی، ۴ درصد لیستریا سلیجری و ۱ درصد هم لیستریا اینوکوا بود (۲۵). در تمام این بررسی‌ها مقدار آلودگی بیشتر از مطالعه‌ی حاضر بوده است.

در مطالعه ی مشابهی که در کاستاریکا بر روی ۱۰۰ نمونه‌ی شیر خام انجام شد، ۳ درصد نمونه‌ها آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بود، که دلیل آن عدم رعایت بهداشت دام‌ها ذکر گردید (۲۶). نتایج مطالعه‌ی اخیر نزدیک به مطالعه‌ی حاضر بود. در مطالعه‌ای که در فنلاند و بریتانیا انجام شد، به ترتیب ۱/۷ و ۳/۶ درصد از نمونه های شیر خام به لیستریا مونوسیتوژنز آلودگی داشتند (۲۷).

در مطالعه‌ای که در ترکیه انجام شد، ۲/۲ درصد از نمونه‌های شیر خام و ۸/۲۳ درصد از نمونه‌های پنیر سفید آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بودند، اما در کره و ماست موردی یافت نشد (۱۰). در تمام این مطالعات میزان آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز در شیر خام کمتر از مطالعه‌ی حاضر بود. در مطالعه‌ی جلالی و عابدی بر خلاف مطالعه‌ی حاضر فقط یک نمونه از ۸۸ نمونه ی لبنیات دارای لیستریا اینوکوا بود و کلیه ی نمونه‌های دیگر فاقد گونه‌های لیستریا بودند (۸).

در مطالعه‌ی دیگری که توسط رحیمی و همکاران در ایران انجام شد، از ۹۰ نمونه‌ی جمع‌آوری شده‌ی شیرخام، ۱۰ نمونه دارای لیستریا بود که ۱/۱ درصد مربوط به لیستریا سلیجری، ۱/۱ درصد هم مربوط به لیستریا مونوسیتوژنز و بالاترین میزان شیوع مربوط به لیستریا اینوکوا ۸/۹ درصد گزارش شد (۲۲). در مطالعه‌ی جلالی و عابدی نسبت به مطالعه‌ی حاضر شیوع لیستریا مونوسیتوژنز کمتر، اما شیوع لیستریا اینوکوا و لیستریا سلیجری بیشتر بود (۸).

در مطالعه ی محمودی که در نورآباد انجام شد، شیوع لیستریا مونوسیتوژنز در شیر خام و پنیر سفید در دو کاخانه تعیین شد. در کارخانه‌ی اول به ترتیب ۱/۷ و ۳/۳ درصد و در کارخانه‌ی دوم ۳/۳ و ۶/۷ درصد به دست آمد، اما در هیچ یک از نمونه‌های ماست و دوغ لیستریا مونوسیتوژنز یافت نشد، که ممکن است به علت PH پایین این محصولات باشد (۲۸).

در مطالعه‌ی مشتاقی و محمدپور که در شهرکرد انجام گرفت، شیوع گونه‌های لیستریا در ۵۰۰ نمونه‌ی شیر خام، ۲/۲ درصد بود که ۱/۶ درصد آن‌ها آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز و ۰/۱۶ درصد هم آلوده به لیستریا اینوکوا بودند (۲۹). در این مطالعات میزان شیوع لیستریا مونوسیتوژنز کمتر از مطالعه‌ی حاضر بود.

Loessner و Busse اعلام کردند که لیستریا اینوکوا فراوان‌ترین گونه‌ی لیستریایی یافت شده در فراورده‌های لبنی بود (۳۰). البته ذکر این نکته ضروری به نظر می‌رسد که به خصوص در شیر خام این موضوع حالت مطلق نداشت. در برخی از مطالعات میزان لیستریا مونوسیتوژنز بالاتر از لیستریا اینوکوا گزارش شده است، اما در فراورده‌های لبنی سنتی به طور نسبی شیوع لیستریا اینوکوا بیشتر از دیگر گونه‌ها می‌باشد که دلیل آن می‌تواند سازگاری و مقاومت بیشتر لیستریا اینوکوا در فراورده های لبنی نسبت به سایر گونه‌ها و یا خطا در انجام آزمایش‌ها باشد؛ چرا که برای تأیید وجود لیستریا اینوکوا به طور معمول از روش‌های مولکولی که دقت بالایی دارند، استفاده

نمی‌شود و فقط به آزمون‌های بیوشیمیایی و آزمایش CAMP اکتفا می‌کنند، که این روش‌ها فاقد دقت و حساسیت روش‌های تشخیص مولکولی هستند. هر چند آزمایش‌های بیوشیمیایی و میکروبیولوژی مانند CAMP به عنوان یک روش ارزان و ساده از حساسیت خوبی برخوردار هستند، اما استفاده از روش‌های مولکولی در جداسازی، تأیید و تشخیص پاتوژن‌ها در نمونه‌های غذایی می‌تواند با توجه به سرعت و دقت بالا نقش عمده‌ای را در شناسایی آن‌ها ایفا نماید. استفاده از PCR در این مطالعه به خوبی تفکیک لیستریا مونوسیتوژنز از لیستریا اینوکوا را میسر ساخت. نتایج مطالعه ی حاضر با نتایج اکثر مطالعات دیگر هم‌خوانی دارد، اما در برخی از مطالعات شیوع گونه‌های لیستریا بیشتر از حد معمول گزارش شده است. به نظر می‌رسد که دلیل این تفاوت، انجام مطالعه در زمان‌های متفاوت و همچنین آلودگی ثانویه‌ی شیر خام در حین دوشش، حمل و نقل و دیگر عوامل محیطی اثرگذار بر روی رشد لیستریا باشد.

امروزه لیستریا مونوسیتوژنز به عنوان پاتوژن مهم منتقل‌شونده از راه غذا به ویژه شیر خام شناخته شده است. وقوع بالای لیستریا مونوسیتوژنز در غذا و سطح بالای مرگ و میر ناشی از لیستریوز سبب می‌شود که لیستریا مونوسیتوژنز به عنوان یک عامل خطرناک برای سلامت عمومی در نظر گرفته شود (۳۲-۳۱، ۱۳).

آمار و اطلاعات دقیقی از تعداد مبتلایان به این بیماری و یا بروز اپیدمی‌های مسمومیت غذایی ناشی از لیستریا در ایران وجود ندارد. هر چند مطالعات محدودی آلودگی مواد غذایی را به ویژه در شهر اصفهان گزارش کرده‌اند (۲۲، ۸). لیستریا و به ویژه گونه‌ی لیستریا مونوسیتوژنز به علت شیوع و میزان مرگ و میر بالا مورد توجه بسیاری از محققین بوده است. این باکتری همچنان مسؤول بروز اپیدمی‌های مسمومیت غذایی به ویژه در کشورهای صنعتی است (۳۳). اگر چه پاستوریزاسیون شیر خام می‌تواند در جهت جلوگیری از شیوع لیستریا مؤثر باشد، اما گزارش‌هایی از موارد بروز لیستریوز در اثر مصرف مواد لبنی پاستوریزه شده نیز وجود دارد (۳۴، ۱۱). این آلودگی به طور معمول مربوط به پس از پاستوریزاسیون می‌باشد. استفاده از روش‌های تایپینگ جهت تعیین سروتیپ‌های نمونه‌های غذایی و نمونه‌های کلینیکی می‌تواند به شناخت منبع آلودگی کمک مؤثری کند. همچنین با استفاده از این روش‌ها می‌توان تغییر سروتیپ‌ها را در طول زمان مشخص کرد. چندین مطالعه در اروپا تغییر سروتیپ عامل لیستریوز را در طول سال‌های ۱۹۹۰ تا سال ۲۰۰۱ نشان داده‌اند. نتایج این مطالعات حاکی از کاهش سروتیپ ۱/۲a و افزایش سروتیپ ۴b است (۳۶-۳۵). با توجه به این که در سال‌های اخیر عوارض ناشی از این باکتری در اثر مصرف شیر خام، پنیر، ماهی دودی و میگو، سوسیس تخمیری و سایر فراوردهای آلوده گزارش شده است، برای پیشگیری از عوارض آن باید توجه داشت که مواد اولیه وارد محل کار نشوند و امکان آلودگی ثانویه وجود نداشته باشد. این کار با جدا کردن محل دریافت مواد اولیه از سالن تولید ممکن می‌شود. این باکتری بیشتر در کف سالن‌های تولید و به ویژه محل‌های مرطوب و نقاط کور دستگاه‌ها قرار دارد.

با توجه به میزان آلودگی شیر خام به لیستریا مونوسیتوژنز و میزان بالای مرگ و میر ناشی از آن رعایت اصول و موازین بهداشتی در مرحله ی تولید، حمل و نقل، نگهداری و عرضه راه خوبی برای

مبارزه با آن است. با توجه بـه مطالـب گفتـه شـده و میزان آلودگی بـه لیسـتریا، اجبـاری شـدن اسـتاندارد جستجوی لیستریا در مواد غذایی در ایـران ضـروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان لازم می‌دانند مراتب تشـکر و سپاسـگزاری خود را از مسؤولین محترم دانشکده ی تغذیـه و علـوم غذایی ابراز نمایند.

References

1. Pak SI, Spahr U, Jemmi T, Salman MD. Risk factors for L. monocytogenes contamination of dairy products in Switzerland, 1990-1999. Prev Vet Med 2002; 53(1-2): 55-65.
2. Schlech WF, III, Lavigne PM, Bortolussi RA, Allen AC, Haldane EV, Wort AJ, et al. Epidemic listeriosis--evidence for transmission by food. N Engl J Med 1983; 308(4): 203-6.
3. Finlay BB. Microbiology. Cracking Listeria's password. Science 2001; 292(5522): 1665-7.
4. McLauchlin J, Greenwood MH, Pini PN. The occurrence of Listeria monocytogenes in cheese from a manufacturer associated with a case of listeriosis. Int J Food Microbiol 1990; 10(3-4): 255-62.
5. Lundén J, Tolvanen R, Korkeala H. Human listeriosis outbreaks linked to dairy products in Europe. Journal of Dairy Science 2004; 87: E6-E12.
6. Baek SY, Lim SY, Lee DH, Min KH, Kim CM. Incidence and characterization of Listeria monocytogenes from domestic and imported foods in Korea. J Food Prot 2000; 63(2): 186-9.
7. McLauchlin J, Mitchell RT, Smerdon WJ, Jewell K. Listeria monocytogenes and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. Int J Food Microbiol 2004; 92(1): 15-33.
8. Jalali M, Abedi D. Prevalence of Listeria species in food products in Isfahan, Iran. Int J Food Microbiol 2008; 122(3): 336-40.
9. Fitter S, Heuzenroeder M, Thomas CJ. A combined PCR and selective enrichment method for rapid detection of Listeria monocytogenes. J Appl Bacteriol 1992; 73(1): 53-9.
10. Aygun O, Pehlivanlar S. Listeriaspp. in the rawmilk and dairyproducts in Antakya, Turkey. Food Control 2006; 17(8): 676-9.
11. Lyytikainen O, Autio T, Maijala R, Ruutu P, Honkanen-Buzalski T, Miettinen M, et al. An outbreak of Listeria monocytogenes serotype 3a infections from butter in Finland. J Infect Dis 2000; 181(5): 1838-41.
12. Oliver SP, Jayarao BM, Almeida RA. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. Foodborne Pathog Dis 2005; 2(2): 115-29.
13. Walker SJ, Archer P, Banks JG. Growth of Listeria monocytogenes at refrigeration temperatures. J Appl Bacteriol 1990; 68(2): 157-62.
14. Kvistholm JA, Ethelberg S, Smith B, Moller NE, Larsson J, Molbak K, et al. Substantial increase in listeriosis, Denmark 2009. Euro Surveill 2010; 15(12).
15. Meyer-Broseta S, Diot A, Bastian S, Riviere J, Cerf O. Estimation of low bacterial concentration: Listeria monocytogenes in raw milk. Int J Food Microbiol 2003; 80(1): 1-15.
16. Farber JM, Peterkin PI. Listeria monocytogenes, a food-borne pathogen. Microbiol Rev 1991; 55(3): 476-511.
17. Rocourt J, BenEmbarek P, Toyofuku H, Schlundt J. Quantitative risk assessment of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods: the FAO/WHO approach. FEMS Immunol Med Microbiol 2003; 35(3): 263-7.
18. Jeyaletchumi P, Tunung R, Margaret S, Son R, Farinazleen M, Cheah Y. Detection of Listeria monocytogenes in foods. International Food Research Journal 2010; 17: 1-11.
19. Rudol M, Scherer S. High incidence of Listeria monocytogenes in European red smear cheese. Int J Food Microbiol 2001; 63(1-2): 91-8.
20. Carrique-Mas JJ, Hokeberg I, Andersson Y, Arneborn M, Tham W, Danielsson-Tham ML, et al. Febrile gastroenteritis after eating on-farm manufactured fresh cheese--an outbreak of listeriosis? Epidemiol Infect 2003; 130(1): 79-86.
21. Mena C, Almeida G, Carneiro L, Teixeira P, Hogg T, Gibbs PA. Incidence of Listeria monocytogenes in different food products commercialized in Portugal. Food microbiology 2004; 21(2): 213-6.
22. Rahimi E, Ameri M, Momtaz H. Prevalence and antimicrobialresistance of Listeriaspeciesisolated from milk and dairyproducts in Iran. Food Control 2010; 21(11): 1448-52.
23. Nero LA, de Mattos MR, Barros MA, Ortolani MB, Beloti V, Franco BD. Listeria monocytogenes and Salmonella spp. in raw milk produced in Brazil: occurrence and interference of indigenous microbiota in their isolation and

development. Zoonoses Public Health 2008; 55(6): 299-305.
24. Arslan S, Azdemir F. Prevalence and antimicrobial resistance of Listeriaspp. in homemade white cheese. Food Control 2008; 19(4): 360-3.
25. Va'zquez-Salinas C, Rodas-Sua'rez O, Quin~ones-Ramirez Elsa I. Occurrence of Listeria species in raw milk in farms on the outskirts of Mexico city. Food microbiology 2001; 18(2): 177-81.
26. Reuben A, Treminio H, Arias ML, Chaves C. Presence of Escherichia coli O157:H7, Listeria monocytogenes and Salmonella spp. in food from animal origin in Costa Rica. Arch Latinoam Nutr 2003; 53(4): 389-92. [In Spanish]
27. Heredia N, Garcia S, Rojas G, Salazar L. Microbiological condition of ground meat retailed in Monterrey, Mexico. J Food Prot 2001; 64(8): 1249-51.
28. Mahmoodi MM. Occurrence of Listeria monocytogenes in Raw Milk and Dairy Products in Noorabad, Iran. Journal of Animal and Veterinary Advances 2010; 9(1): 19-9.
29. Moshtaghi H, Mohamadpour AA. Incidence of Listeria spp. in raw milk in Shahrekord, Iran. Foodborne Pathog Dis 2007; 4(1): 107-10.
30. Loessner MJ, Busse M. Bacteriophage typing of Listeria species. Appl Environ Microbiol 1990; 56(6): 1912-8.
31. Farber JM, Sanders GW, Johnston MA. A survey of various foods for the presence of Listeria species. Journal of food protection 1989; 52(7): 456.
32. Jorgensen LV, Huss HH. Prevalence and growth of Listeria monocytogenes in naturally contaminated seafood. Int J Food Microbiol 1998; 42(1-2): 127-31.
33. Ryser ET, Marth EH. Foodborne listeriosis. In: Ryser ET, Marth EH, editors. Listeria, Listeriosis, and Food Safety. 2nd ed. New York, NY: Marcel Dekker; 1999. p. 299-358.
34. Maijala R, Lyytikainen O, Autio T, Aalto T, Haavisto L, Honkanen-Buzalski T. Exposure of Listeria monocytogenes within an epidemic caused by butter in Finland. Int J Food Microbiol 2001; 70(1-2): 97-109.
35. Lukinmaa S, Miettinen M, Nakari UM, Korkeala H, Siitonen A. Listeria monocytogenes isolates from invasive infections: variation of sero- and genotypes during an 11-year period in Finland. J Clin Microbiol 2003; 41(4): 1694-700.
36. Johansson T, Rantala L, Palmu L, Honkanen-Buzalski T. Occurrence and typing of Listeria monocytogenes strains in retail vacuum-packed fish products and in a production plant. Int J Food Microbiol 1999; 47(1-2): 111-9.

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol. 30, No. 204, 2nd week, November 2012 Received: 5.7.2012 Accepted: 15.9.2012

Prevalence of *Listeria* Species in Raw Milk in Isfahan, Iran

Ehsan Shamloo Aghakhani[1], Mohammad Jalali PhD[2], Maryam Mirlohi PhD[3], Zohre Abdi Moghadam[1], Elham Shamloo Aghakhani[4], Mohammad Reza Maracy PhD[5], Majid Yaran MD[6]

Abstract

Background: *Listeria monocytogenes* is an important psychrotrophic foodborne pathogen which may exist in milk and dairy products. The bacterium causes listeriosis with severe clinical consequences such as meningitis, septicemia and abortion. Therefore, contamination of food stuff implies a significant health risk for human. There are a minimum data on raw milk contamination of *Listeria* species In Iran. Thus, the objective of this study was to assess the prevalence of *Listeria* spp. in raw milk in Isfahan, Iran.

Methods: A total of 91 samples of raw milk were examined for the presence of *Listeria* spp. using a two-step selective enrichment recommended by USDA. All isolates were subjected to standard biochemical test. *L. monocytogenes* strains were further confirmed by PCR amplification.

Findings: Of the 91 raw milk samples collected, *Listeria* species were isolated on five (5.49%) samples. Four (4.39%) of these five isolates identified as L. *monocytogenes* and one (1.09%) as *L.* seeligeri. All strains of *L. monocytogenes* identified by biochemical tests, were also confirmed by PCR.

Conclusion: The study shows the prevalence of *L. monocytogenes* in raw milk sold in the market. Consumption of raw milk with mild heat treatment or its usage in traditional dishes is a common practice in Iran. Therefore, the lack of appropriate control measures could pose serious health problems. The lack of knowledge on the risks of listeriosis transmission indicating the need of implementation of food safety education program. In addition, the Iranian food safety authorities urgently should set up an effective standard to screen all susceptible food for the presence of *Listeria*.

Keywords: *Listeria*, Raw milk, Prevalence, PCR

* This paper is derived from a MSc thesis No. 391020 in Isfahan University of Medical Sciences.

[1] MSc Student, Department of Food Science and Technology, School of Nutrition and Food Sciences AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[2] Associate Professor, Department of Food Science and Technology, School of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, School of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[4] MSc Student, Department of Food and Drug Control, School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[5] Associate Professor, Department of Epidemiology, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[6] Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mohammad Jalali PhD, Email: jalali@mui.ac.ir