J TOLOO E BEHDASHT, School of Public Health, Yazd Shahid Sadoughi Univ Med Sci

ORIGINAL ARTICLE

Received:2015/09/15 *Accepted:2016/11/1*

Prevalence and Antibiotic Resistance of Listeria Monocytogenes in Different Stages of Poultry Slaughter and Poultry Slaughterhouse Environment, Yazd, Iran, 2015

Maysam Soleymani(M.Sc.) [1], Negar Hamidian(M.Sc.) [1], Ali Heydari(M.Sc.) [1], Mohammadhassan Ehrampoush(Ph.D.)[2], Hossein Fallahzadeh(Ph.D.) [3], Fatemeh Safari(Ph.D.) [4], Fateme Akrami Mohajeri(Ph.D.)[5]

1.M.Sc.in Food Safety and Hygiene, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

2.Professor of Environmental Science and Technology Research Department of Environmental Health Engineering, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

3.Professor in Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

4.Associate Professor in Department of Physiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

5.Corresponding Author: Assistant Professor, Zoonotic Diseases Research Center, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

Email: fateme.akrami@gmail.com Tel: 09136517764

Abstract

Introduction: Listeria monocytogenes is an important psychrotrophic foodborne pathogen that exists in poultry meat and causes listeriosis with severe clinical consequences such as meningitis, septicemia, and abortion. Therefore, contamination of food stuff implies a significant health risk for human. Data on contamination of poultry meat and poultry slaughterhouse with Listeria monocytogenes are scarce in Iran. Thus, the objective of this study was to assess the prevalence of antibiotic resistance and Listeria monocytogenes in poultry meat and poultry slaughterhouse environment in the city of Yazd.

Methods: To determine the presence of L.monocytogenes culture media and biochemical tests were used; then, isolates were confirmed by Polymerase Chain Reaction (PCR). At the end, the antibiogram test was conducted to determine antibiotic resistance.

Results: A total of 811 samples selected from the two slaughter houses were analyzed; from which 104 samples (12.8%) were contaminated with Listeria monocytogenes. The highest amount of contamination was observed in Swap the Cold storage surfaces, while the lowest levels of contamination were related to chicken carcass before chiller. The highest amount of antibiotic resistance was for ampicillin, tetracycline, and penicillin.

Conclusion: The results of this study indicate contamination of chicken meat and antibiotic resistance of isolated Listeria monocytogenes. Since chicken meat is highly consumed and is transferred in raw form, also due to lack of proper control and use of antibiotics during breeding, it can lead to serious health risks in the community. Lack of knowledge about risks of listeriosis indicates the need for implementing food safety education programs. In addition, the Iranian food safety authorities should urgently set up an effective standard to screen all susceptible foods for the presence of Listeria.

Keywords: Prevalence, Listeria monocytogenes, poultry abattoirs, PCR

Conflict of interest: The authors declared that there are no Conflict interests.

This Paper Should Be Cited as:

Maysam Soleymani, Negar Hamidian, Ali Heydari, Mohammadhassan Ehrampoush, Hossein Fallahzadeh, Fatemeh Safari, Fateme Akrami Mohajeri.Prevalence and Antibiotic Resistance of Listeria Monocytogenes in Different Stages of Poultry..... J Tolooebehdasht .2017; 16(4):61-72. [Persian]

بررسی میزان شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی لیستریا مونوسیتوژنز درمراحل مختلف کشتار مرغ و محیط کشتارگاه مرغ شهرستان یزد در سال ۱۳۹۴

نویسندگان: میثم سلیمانی[۱]، نگار حمیدیان[۱]، علی حیدری[۱]، محمدحسن احرام پوش[۲]، حسین فلاح زاده[۳]، فاطمه صفری[۴]، فاطمه اکرمی مهاجری[۵]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد،یزد،ایران

۲. استاد مرکز تحقیقات علوم و فناوری های زیست محیطی، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد،یزد،ایران

۳. استاد مرکز تحقیقات پیشگیری و اپیدمیولوژی بیماری‌های غیرواگیر، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد،یزد،ایران

۴. دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد،یزد،ایران

۵. نویسنده مسئول: استادیار مرکز تحقیقات بیماری‌های مشترک انسان و حیوان، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد،یزد،ایران تلفن تماس:۰۹۱۳۶۵۱۷۷۶۴ Email: fateme.akrami@gmail.com

طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی
دانشکده بهداشت یزد
سال شانزدهم
شماره: چهارم
مهر و آبان ۱۳۹۶
شماره مسلسل: ۶۴

تاریخ وصول: ۱۳۹۵/۶/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۱۱

چکیده

مقدمه: لیستریا مونوسیتوژنز باکتری بیماری‌زایی است که توسط مواد غذایی از جمله گوشت مرغ منتقل می شود و عامل بیماری لیستریوز می باشد. علایم شدیدی مانند منژیت، سپتی سمی و سقط جنین ایجاد می کند. با توجه به اطلاعات اندک از آلودگی گوشت مرغ به لیستریا مونوسیتوژنز در شهرستان یزد و بروز مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری ها، هدف این مطالعه، تعیین شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی لیستریا مونوسیتوژنز جدا شده در مراحل مختلف کشتار مرغ و محیط کشتارگاه مرغ شهرستان یزد بود.

روش بررسی: برای تعیین حضور لیستریا مونوسیتوژنز از محیط های کشت و آزمون های بیوشیمیایی استفاده شد، سپس با استفاده از روش PCR تایید شد و در نهایت تست آنتی بیوگرام برای تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی انجام پذیرفت.

یافته ها: از مجموع ۸۱۱ نمونه اخذ شده از دو کشتارگاه طیور یزد ۱۰۴ نمونه (۱۲/۸ درصد) آلوده به لیستریا مونوسیتوژنزبودند. بیشترین آلودگی به سطوح پیش سرد و کمترین آلودگی مربوط به لاشه مرغ قبل از چیلر بود و بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی را نسبت به آمپی سیلین، تتراساکلین و پنی سیلین داشتند.

نتیجه گیری: نتایج این بررسی حاکی از آلودگی گوشت مرغ و مقاومت آنتی بوتیکی لیستریا مونوسیتوژنز جدا سازی شده می باشد. با توجه به مصرف بالای گوشت مرغ و حمل ونقل آن به صورت خام تا محل عرضه، نبود کنترل مناسب و از طرفی استفاده از آنتی بیوتیک در طول پرورش می تواند سبب بروز خطرات جدی در سلامت جامعه شود. عدم آگاهی در مورد لیستریوز، ضرورت اجرای برنامه های آموزشی و اطلاع رسانی در زمینه ی ایمنی مواد غذایی و حتی پرورش را آشکار و ضرورت تدوین و اجباری شدن استاندارد جستجوی لیستریا در مواد غذایی حساس، لازم به نظر می رسد.

واژه های کلیدی: شیوع ، لیستریا مونوسیتوژنز، گوشت مرغ، PCR

این مقاله بخشی از پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد است.

مقدمه

لیستریا (Listeria) یک باکتری گرم مثبت، بدون اسپور، بی هوازی اختیاری است که به صورت خارج سلولی و داخل سلولی قادر به رشد می باشد(۱). لیستریا مونوسیتوژنز (Listeria monocytogenes) مهم ترین باکتری جنس خود بشمار می آید و در میحط و طبیعت گستردگی فراوان دارد(۲،۳). این باکتری عامل بیماری لیستریوز است و می تواند در افراد مسن، نوزادان، زنان باردار و افراد دارای نقص سیستم ایمنی، خطرناک باشد. در موارد همه گیری میزان مرگ و میر باکتری بیش از ۳۰ درصد گزارش شده است. این میزان می تواند تا ۷۵ درصد در گروه های آسیب پذیر مانند زنان باردار، افراد مسن و نوزادان افزایش یابد(۴،۵). لیستریوز به طور معمول با علایم شبیه سرماخوردگی بروز می کند، اما در لیستریوز تهاجمی علایم شدیدتری مانند سپتی سمی ، مننگوآنسفالیت و سقط جنین ایجاد می شود. در سال های اخیر چندین مورد اپیدمی لیستریوز در رابطه با مواد غذایی آلوده به ویژه در کشورهای پیشرفته گزارش شده است(۶،۷). دوز بیماری زایی لیستریا مونوسیتوژنز با توجه به حساسیت فرد و نوع غذا بسیار متفاوت است(۶). مهم ترین روش انتقال این باکتری از راه مواد غذایی می باشد(۸). این باکتری از طریق غذاهای آلوده مانند گوشت خام، پنیر، سبزیجات، سالاد آماده فروش و ماهی به انسان انتقال می یابد(۱۲-۹). توانایی رشد لیستریا مونوسیتوژنز در دمای کمتر از ۴ درجه ی سانتی گراد و همچنین مقاومت به فشار اسمزی سبب اهمیت آن در مواد غذایی می شود. این ویژگی منحصر به فرد سبب رشد آن در مواد غذایی نگهداری شده در یخچال می شود(۱۷-۱۳). از آنجائیکه این باکتری در همه جا یافت می شود، با کنترل بیشتر چرخه ی تولید و توزیع مواد غذایی، پیشگیری یا کنترل عفونت در انسان میسر می شود. هر چند لیستریا در اثر پخت از بین می رود، اما احتمال آلودگی پس از فرآیند وجود دارد. پتانسیل بالای خطر آلودگی شیرخام و پاستوریزه و فرآورده های 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 جها نی که میزان کشندگی آن را ۲۰ تا ۳۰ درصد اعلام کرده است، بررسی میزان شیوع و فراوانی این باکتری در مواد غذایی از جمله موادغذایی خام و گوشت بسیار مهم و حیاتی است(۱۸). سطح بالای مرگ و میر ناشی از لیستریوز سبب می شود که لیستریا مونوسیتوژنز به عنوان یک عامل خطرناک برای سلامت عمومی در نظر گرفته شود(۲۲-۱۹).از آنجائیکه این باکتری در همه جا یافت می شود، باید با کنترل بیشتر چرخه تولید و توزیع مواد غذایی تلاش خود را برای پیشگیری از این عفونت افزایش دهیم. پتانسیل بالای خطر آلودگی شیر خام و پاستوریزه و فرآورده های شیر و محصولات گوشتی با این باکتری در مطالعات بسیاری در کشورهای مختلف نشان داده شده است(۸). این باکتری در آب های جاری نیز وجود دارد و غالبا در رودخانه ها از نظر تعداد، بیشتر از سالمونلا یافت می شود ولی بیشترین و بهترین منابع موجود، فاضلاب ها و پساب های کشتارگاه ها و مراکز کشتارگاهی طیور می باشد(۲۳).

در فنلاند طی سال ۱۹۹۳ از گوشت خام طیور، ۲۷ درصد(۲۴) و در سال ۲۰۰۱ به میزان ۶۲ درصد (۲۵) لیستریامونوسیتوژنز جدا

شده است. در پورتوی پرتغال، در سال با استفاده از روش(Multiplex PCR(Polymerase Chain Reaction از ۶۳ نمونه طیور، ۲۶ مورد لیستریا مونوسیتوژنز (۴۱٪) جدا شد(۲۶). با توجه به رشد لیستریا مونوسیتوژنزدر دمای یخچال و توان بالقوه ی این باکتری در ایجاد بیماری در انسان و نبود اطلاعات دقیق از شیوع این باکتری در شهرستان یزد، این مطالعه به ارزیابی آلودگی گوشت مرغ کشتار شده در شهرستان یزد و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتری پرداخته شد.

روش بررسی

مطالعه ی حاضر از نوع توصیفی مقطعی می باشد که نمونه گیری به صورت تصادفی از مراحل مختلف ۲ کشتارگاه صنعتی طیور شهرستان یزد از اواخر پاییز ۱۳۹۴ تا اواخر زمستان ۱۳۹۴ انجام شد. نمونه ها در شرایط استریل و در جعبه ی حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شد. مقدار ۲۵ میلی لیتر یا ۲۵ گرم (بسته به جامد یا مایع بودن نمونه) از نمونه ها ی جمع آوری شده را به ۲۲۵ میلی لیتر از محیط کشت (Quelab, **(**University of Vermunt media**)(**UVMI**)** Canada) اضافه شد و پس از یکنواخت کردن در دمای ۳۷ درجه ی سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گردید. ۱ میلی‌لیتر از محیط غنی کننده اولیه را به ۹ میلی لیتر از (Quelab, Canada) **(**Fraser Broth**) (**UVMII**)** منتقل کرده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد در مرحله دوم غنی کننده در پالکام آگار کشت داده شد و در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری شد پلیت‌ها برای کلنی‌های لیستریا مورد بررسی قرار گرفتند ۳ کلنی مشکوک (کلنی‌های سیاه فرو رفته) بر روی تریپتون سوی آگار حاوی ۰/۶٪ مخمر (TSAYE) کشت داده و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد. جهت شناسایی لیستریا، کلنی های جدا شده تحت آزمایش هایی بیوشیمیایی تائیدی قرار گرفتند. این آزمایش ها شامل آزمون رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز، حرکت در ۲۵ و ۳۷ درجه ی سانتی گراد، تخمیر قندهای گلوکز، مالتوز، رامنوز، مانیتول و زایلوز، احیا اسکولین، احیا نیترات، تست همولیز بتا، آزمون متیل رد وگز پروسکوئرMR/VP و آزمایش CAMP **(**Cyclic adenosine monophosphate**)** قرار گرفتند. در آزمایش CAMP از محیط کشت بلاد آگار و باکتری استافیلوکوکوس اورئوس استفاده شد(۲۸،۲۷). نمونه های مشکوک به لیستریا تا زمان انجام آزمایش PCR در محیط TSB (Liofilchem) به صورت گلیسرینه در دمای منفی ۱۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

لیستریا مونوسیتوژنز جدا شده توسط روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (Polymerase chain reaction یا PCR) شناسایی و تأیید شد. بدین منظور باکتری های جدا شده در محیط BHIB (Liofilchem, Italy) (Brain heart infusion broth) کشت داده شدند و در دمای ۳۷ درجه ی سانتی گراد به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند.

سپس DNA توسط روش(2003) Choi and Hong استخراج شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با دو روش اسپکتروفتومتری با طول موج ۲۶۰ نانومتر و الکتروفورز روی ژل آگاروز ۱ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. DNA های استخراج شده تا زمان PCR در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

پرایمرهای مورد استفاده جهت شناسایی لیستریا مونوسیتوژنز DG69 (50-GTGCCGCCAAGAAAAGGTTA- 30) و DG74 (50 CGCCACACTTGAGATAT- 30)بودند(۲۹).

شرایط دمایی مورد استفاده برای PCR شامل یک سیکل ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه بود. در هر مرحله، محصول PCR روی ژل ۱/۵درصد آگاروزحاوی Green DNA viewer با غلظت ۰/۱ درحضور مارکر ۱۰۰ جفت بازی DNAانجام شد . ۵ میکرولیتر از محصول PCR همراه با loading bufferبر روی ژل آگاروز ۱/۵درصد بار شد و الکتروفورز انجام شد. مدت الکتروفورز ۳۵ دقیقه و ولتاژ آن ۱۰۰ ولت بود و سپس با سیستم ژل داک (geldocumentation) مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها

در این مطالعه از ۸۱۱ مورد نمونه برداری شده ۱۰۴(۱۲/۸٪) مورد آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بودند. بیشترین موارد آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز مربوط به ماشین های حمل مرغ که از ۶۰ مورد ۱۵(۱۴/۴٪) مورد و کمترین آلودگی به ترتیب مربوط به چاقو از ۴۵ مورد ۴(۳/۸٪) مورد، آب چیلر اول از ۴۵ مورد ۴(۳/۸٪) مورد و سطوح سردخانه از ۲۰ مورد ۴(۳/۸٪) مورد مثبت ارزیابی شدند که در جدول ۱ نشان داد ه شده اند.

جدول ۱: شیوع لیستریا مونوسیتوژنز در مراحل مختلف کشتارگاه صنعتی طیور شهرستان یزد

نوع نمونه	تعداد کل نمونه	لیستریا مونوسیتوژنز(٪)
لاشه مرغ قبل از چیلر	۸۵	۵(۵/۸)
آب چیلر اول	۴۵	۴(۸/۸)
آب چیلر دوم	۴۵	۸(۱۷/۷)
لاشه بعد از چیلر	۴۵	۷(۸/۲)
آب لاشه بسته بندی شده	۸۵	۹(۱۰/۵)
بافت کبد	۶۰	۵(۸/۳)
پیش بند کارگران	۶۰	۶(۱۰)
دست کارگران	۶۰	۵(۸/۳)
چاقو	۴۵	۴(۸/۸)
میز بسته بندی	۴۱	۷(۱۷)
میز استیل ضد زنگ قطعه بندی	۳۵	۸(۲۲/۸)
سبدهای جابه جایی مرغ بسته بندی شده	۶۰	۹(۱۵)
سوآب از سطوح سردخانه	۲۰	۴(۲۰)
سوآب از سطوح پیش سرد	۲۵	۸(۳۲)
ماشین های حمل مرغ	۶۰	۲۵(۱۵)
جمع کل	۸۱۱	۱۰۴(۱۲/۸)

جدول ۲: مقاومت آنتی بیوتیکی لیستریا مونوسیتوژنز

مقاومت آنتی بیوتیکی	لیستریا مونوسیتوژنز(N=۱۰۴)
آمپی سیلین	(۲۰/۴)۴۴
کلرامفنیکل	(۱۱/۶)۲۵
سیپروفلوکساسین	(۹/۳)۲۰
کلیندامایسین	(۳/۷)۸
انروفلوکساسین	(۶/۹)۱۵
اریترومایسین	(۱/۳)۳
جنتامایسین	(۴/۶)۱۰
پنی سیلین	(۱۳/۹)۳۰
ریفامپین	(۳/۲)۷
تتراسیکلین	(۱۸/۶)۴۰
تریمتوپریم/سولفامتوکسازول	(۴/۶)۱۰
ونکومایسین	(۱/۳)۳
مقاوم به یک آنتی بیوتیک	(۳۶/۵)۳۸
مقاوم به دو آنتی بیوتیک	(۲۶/۹)۲۸
مقاوم به چند آنتی بیوتیک	(۲۹/۸)۳۱

در این مطالعه همچنین مقاومت آنتی بیوتیکی نمونه های مثبت مورد ارزیابی قرار گرفت که در جدول ۲ نشان داده شده اند. در این میان بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی به ترتیب مربوط به آمپی سیلین ۴۴(۲۰/۴ ٪) مورد، تتراسایکلین ۴۰(۱۸/۶٪) مورد و پنی سیلین ۳۰(۱۳/۹٪) مورد و کمترین مقاومت آنتی بیوتیکی مربوط به اریترومایسین و ونکومایسین هرکدام ۳(۱/۳٪) مورد بود. در این بین ۳۸(۳۶/۵٪) مورد از نمونه های مثبت به یک آنتی بیوتیک، ۲۸(۲۶/۹٪) مورد به دو آنتی بیوتیک و ۳۱(۲۹/۸ ٪) مورد به چند آنتی بیوتیک مقاومت نشان دادند.

بحث و نتیجه گیری

گونه های لیستریا شیوع گسترده ای در محیط دارند. این باکتری به طور معمول توسط مواد غذایی منتقل می شود به همین دلیل شناسایی زود هنگام آن در مواد غذایی در پیشگیری از موارد عفونت نقش بسزایی دارد(۱۴،۱۳).

در بین شش گونه جنس لیستریا، لیستریا مونوسیتوژنز و لیستریا ایوانووی بیماریزا هستند که از طریق گوشت قابلیت انتقال به انسان را دارند(۸).

اولین مطالعه ی گسترده در خصوص شیوع آلودگی به لیستریا در ایران توسط جلالی و عابدی در شهر اصفهان گزارش گردید. در این مطالعه از مجموع ۶۱۷ نمونه ی اخذ شده از مواد غذایی مختلف ۴/۶ درصد 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(۱۵).

لیستریا میتواند از طریق حیواناتی که این باکتری را در مجرای گوارشی یا قسمتی از میکروفلور خود جای داده اند، در حین تخلیه ی امعاء و احشاء(کشتارگاه) و یا دست کارگرانی که با مواد خام(بسته بندی ها) سروکار دارند وارد واحدهای صنعتی فرآوری مواد غذایی گردد و به این ترتیب بهداشت گوشت و فرآورده های گوشتی را در طول فرآوری و حمل ونقل مختل کند و از این طریق میتواند سلامت انسان ها را تهدید کند(۳۰-۸، ۳۲).

بر اساس مطالعه ی جلالی و عابدی در اصفهان (۲۰۰۷) میزان لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت مرغ تازه صفر بود(۱۵) همچنین آخوندزاده و میثاقی (۲۰۰۷) از نمونه های گوشت مرغ گرفته شده چهار کشتارگاه صنعتی آذربایجان غربی یک نمونه آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بود(۳۳). که با نتایج این مطالعه ها همخوانی نداشت. Mena و همکاران (۲۰۰۴) در پرتغال نمونه های از گوشت مرغ و گوشت بترتیب ۶۰٪ و ۱۷/۷٪ نمونه ها آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بودند (۳۴).

در مراکش از ۷۴ نمونه گوشت مرغ آزمایش شده به روش PCR توسط Ennaji و همکاران(۲۰۰۸) یک (۱/۳٪) نمونه آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز شناسایی شد(۳۵). در مطالعه ای دیگر در کشور ترکیه توسط Yucel و همکاران(۲۰۰۵) از ۲۶ نمونه گوشت مرغ ۳(۱۱/۵٪) آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بود(۳۶) که نتیجه ی این مطالعه با مطالعه ی حاضر همخوانی دارد. در مطالعه دیگری که ۵ شهر بزرگ ایران انجام شد(۳۷) میانگین شیوع لیستریا در گوشت ۱۵/۸٪ گزارش شد . در این مطاله میانگین شیوع لیستریا در شهر یزد ۱۷/۷٪ و در گونه های لیستریا مونوسیتوژنز، لیستریا اینوکوآ و لیستریا ولشیمری به ترتیب ۲/۱، ۱۴/۶ و ۱ درصد بود. همچنین Beak و همکاران(۲۰۰۰) ۳۰/۲٪ از نمونه های مرغ کشور کره جنوبی را آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز گزارش کردند(۳۸).

در مطالعه ی Osaili و همکاران (۲۰۱۰) به روش PCR برروی گوشت مرغ و محصولات آن در جردن نشان داد ۹/۴٪ نمونه های گوشت مرغ آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بودند و از ۱۰ تست آنتی بیوتیکی انجام شده به دو آنتی بیوتیک تتراسایکلین و تیلی مایکوسین مقاوم بودند(۳۹) که به نتایج مطالعه حاضر نزدیک می باشد. در مطالعات انجام شده توسط پژوهشگران دیگر درصد شیوع لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت مرغ از (۶۰٪، ۲۱/۶٪، ۳۶/۱٪، ۱۷/۶٪) بترتیب در پرتغال، ایتالیا، اسپانیا و ایران متغیر بوده است(۴۰-۴۲،۳۴). تجزیه و تحلیل نمونه ها و میزان آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز بین مراحل مختلف مانند آب چیلر اول با آب چیلر دوم و نیز لاشه قبل از چیلر و لاشه بعد از چیلر با آزمون نسبت دو نمونه و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS مقایسه شد که نتایج نشان داد میزان آلودگی بین مراحل مختلف معنادار نبود($p\leq0/05$). از آن جایی که بیماری لیستریوزیس یک بیماری مشترک بین انسان و حیوان است و امکان آلودگی به گونه های مختلف لیستریا در لاشه های طیور بعد از خروج از کشتارگاه بیشتر میشود، اگر نمونه گیری در خرده فروشی ها و قصابی های سطح شهرستان صورت گیرد احتمال جداسازی لیستریا نیز افزایش می یابد.

هم چنین اگر میزان نمونه گیری بیشتر از این مقدار بود شانس جداسازی لیستریا مونوسیتوژنز نیز بیشتر میشد. عوامل مختلفی در ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های مختلف وجود دارد که از جمله می توان به مصرف بی رویه 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 انجام شده از گذشته تا به امروز در زمینه ی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری لیستریا، حاکی از روند رو به رشد مقاومت این باکتری به آنتی بیوتیک های مختلف است(۴۴-۴۳).

بر این اساس در این تحقیق نیز به بررسی الگوی مقاومتی گونه ی لیستریا مونوسیتوژنز پرداخته شد که مقایسه ی نتایج این آزمایش با مطالعات انجام شده، شیوع لیستریا مونوسیتوژنز با مقاومت آنتی بیوتیکی نسبتاً زیاد را نشان می دهد که در این رابطه توصیه به بررسی بیشتر توسط محققان و مراکز علمی میشودMauro. و همکاران در سال ۲۰۰۸ حساسیت ۱۲۰ ایزوله باکتری لیستریا مونوسیتوژنز از مواد غذایی به ۱۸ آنتی بیوتیک رایج را بررسی کردند.

آنها در پژوهش خود از آزمون حساسیت با استفاده از سیستم خودکار VITEK2 استفاده کردند. در میان ۱۲۰ ایزوله مورد مطالعه، ۱۴ مورد (۱۱/۷٪) مقاومت به حداقل یک آنتی بیوتیک را نشان دادند(۴۳).

Rosa و همکاران در سال ۲۰۱۱ مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری لیستریا مونوسیتوژنز جدا شده از طیور در شمال غربی اسپانیا و همچنین میزان شیوع گونه های مختلف لیستریا و شیوع گونه ی لیستریا ایوانووی را مورد بررسی قرار دادند. گونه های شناسایی شده شامل لیستریا اینوکووا، لیستریا مونوسیتوژنز، لیستریا ایوانووی، لیستریا ولشیمری و لیستریا گرایی بودند.

مقاومت آنتی بیوتیکی این گونه ها با استفاده از روش انتشار دیسک در برابر ۱۵ آنتی بیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفت. تمام ایزوله ها، حداقل به یک آنتی بیوتیک مقاوم بودند.

نتایج آنها نشان داد که بیشترین مقاومت به ترتیب در برابر فورازولیدون، انروفلوکساسین، نئومایسین، نالیدیکسیک اسید، استرپتومایسین و سیپروفلوکساسین بود(۴۴).

در ایتالیا بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی بترتیب مربوط به اکساسیلین، کلیندا مایسین، متی سیلین و آمپی سیلین بود(۴۰).

فلاح و همکاران (۲۰۱۲) در ایران بیشترین مقاومت به ترتیب آمپی سیلین، پنی سیلین، تتراسایکلین و انروفلوکساسینگزارش کردند (۴۲) که با نتایج مطالعه ی حاضر همخوانی دارد.

Davis و Jackson (۲۰۰۹) بیشترین مقاومت نسبت به اکساسیلین و سفتریاکسون نشان دادند (۴۵) که با نتایج مطالعه ی حاضر همخوانی ندارد.

در این مطالعه بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی به ترتیب به آمپی سیلین، تتراسایکلن و پنی سیلین بود. با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه انجام شده و مشاهدات انجام گرفته در حین نمونه برداری برای کاهش شیوع می توان اجرای سیستم HACCP را برای کشتارگاه ها و همچنین آموزش کارگران توصیه کرد.

همچنین برای کاهش مقاومت آنتی بیوتیک می توان از آموزش برای نحوه ی صحیح پرورش و استفاده کمتر از آنتی بیوتیک استفاده کرد.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تضاد منافعی وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

از حمایت اداره کل دامپزشکی استان یزد، آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی، آزمایشگاه بهداشت محیط و آزمایشگاه شیمی دانشکده بهداشت، آزمایشگاه مرکزی دانشکده پزشکی شهید صدوقی یزد و دوستانی که ما را در اجرای این تحقیق صمیمانه یاری داده اند، نهایت سپاسگزاری را داریم.

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(2):55-65.

2- Schlech WF, 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(52):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;87:6-12.

6- 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.

7- Narratilova P, Schlegelova J, Sustackova A, Napravnikova E, Lukasova J, Klimiva E. Prevalence of Listeria monocytogenes in milk, meat and foodstuff of animal origin and the phenotype of antibiotic resistance of isolated strains. Vet Med Czech 2004;49:243-52.

8- Farber IM, Peterkin PI. Listeria monocytogenes, a food-borne pathogen. Microbiol Rev 1991;55:476-78.

9-Heinitz L, Johnson J.M. The incidence of Listeria spp., Salmonella spp., and Clostridium in smoked fish and shellfish. J. Food Prot 1997;61(1):318-23.

10- Farber J.M, Listeria monocytogenes in fish product. J. Food Prot 1991;54:922-34.

11- Ben Embark P.K. Presence, detection, and growth of Listeria monocytogenes in sea food: a review. Int. J. Food Microbiol 1994;23:17-34.

12- Weagant S.D, Sado P.N, Colburn K.G, Torkelson J.D, Satanly F.A, Krane M.H, Shields S.C. and Thayer C.F. The incidence of Listeria species in frozen seafood products. J. Food Prot 1988;51:655-57.

13- Aygun O, Pehlivanlar S. Listeria spp. in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. Food Control 2006;17(8):676-9.

14- 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.

15- Jalali M, Abedi D. Prevalence of Listeria species in food products in Isfahan, Iran. Int J Food Microbiol 25;122(3):336-40.

16-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.

17-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.

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-Walker SJ, Archer P, Banks JG. Growth of Listeria monocytogenes at refrigeration temperatures. J Appl Bacteriol 1990;68(2):157-62.

20- 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.

21- Jorgensen LV, Huss HH. Prevalence and growth of Listeria monocytogenes in naturally contaminated seafood. Int J Food Microbiol 1998;42(1-2):127-31.

22-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: 299-358.

23- Tajbakhsh H. Bacteriology, University of Tehran Press 1990;686-687.

24- Fieandt E. Investigation of the microbiological quality of meat and meat products offered for sale during 1992- 1993. National Food Administration. Helsinki. Research notes 1993;14:41.

25- Melchers K, Weitzenegger T, Buhmann A, Steinhilber W, Sach G, Schafer KP. Cloning and membrane topology of a P type Atpase from helicobacter pylori. Biological Chemistry 1996;271:445-57.

26- Antunes P, Reu C, Sousa JC, Pestana N, Peixe L. Incidence and susceptibility to antimicrobial agents of Listeria Spp. and Listeria monocytogenes isolated from poultry carcasses in Porto Portugal. J. Fod Port; 2002.65(12):1888-93.

27- Roberts D, Greenwood M. Practical food microbiology. 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd; 2003.

28- Seeliger H.P.R, Jones D. Sneath, P.H.A, Maine N.S, Sharpe M.E, Holt J.G. Bergey'sManual of Systematic Bacteriology. Baltimore, Maryland :Williams & Wilkins; 1986:1235–45.

29- Choi W. S, & Hong C. Rapid enumeration of Listeria monocytogenes in milk using competitive PCR. International Journal of Food Microbiology 2003;84:79-85.

30-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;81:641–50.

31-Beresford M.R, Andrew P.W, Shama G. Listeria monocytogenes adheres to many materials found in food-processing environments. Journal of Applied Microbiology 2001;90:1000–1005.

32- Husu J.B, Beery J.T, Nurmi E, Doyle M.P. Fate of Listeria monocytogenes in orally dosed chicks. International Journal of FoodMicrobiology 1990;11:259–69.

33- Akhondzadeh A, Misaghi A. Effects of water chiller on Listeria monocytogenes contamination of poultry carcasses in industrial slaughterhouses of Western Azerbaijan province. Iranian journal of food science and technology 2007;4:69-72.[Persian]

34-Mena C, Almeida G, Carneiro L, Teixeira P, Hogg T, Gibbs P.A. Incidence of Listeria monocytogenes in different food products commercialized in Portugal. Food Microbiology 2004;21:213–16.

35-Ennaji H, Timinouni M, Ennaji M, Hassar M, Cohen N. Characterization and antibiotic susceptibility of Listeria monocytogenes isolated from poultry and red meat in Morocco. Infection and drug resistance 2008;1:45-50

36-Yucel N, Cıtak S, Onder M. 2005. Prevalence and antibiotic resistance of Listeria species in meat products in Ankara, Turkey. Food Microbiol 2005;22:241–5.

37- Jamali H, Radmehr B, Meloni D. Prevalence of Listeria monocytogenes in Poultry Marketed in Iran: Characterization and Antimicrobial Resistance of the Isolates. Listeria monocytogenes: Incidence, growth behavior and control 2015;105-16.

38-Beak SY, Lim YS, Lee DH, Min KH, Kim CM. Incidence and characterization of Listeria monocytogenes from domestic and imported foods in Korea. J. Food Prot 2000;63:186–189.

39-Osaili TM, Alaboudi AR, Nesiar A. Prevalence of Listeria spp. and antibiotic susceptibility of Listeria monocytogenes isolated from raw chicken and ready-to-eat chicken products in Jordan. Food Control 2011;22(3):586-90.

40-Pesavento G, Ducci B, Nieri D, Comodo N, Lo Nostro A. Prevalence and antibiotic susceptibility of Listeria spp isolated from raw meat and retail food. Food Control 2010;21:708-13.

41-Vitas A, Maria Sanchez R, Aguado V, Garcia-Jalon I. Antimicrobial susceptibility of Listeria monocytogenes isolated from food and clinical cases in Navarra, Spain. Journal of Food Protection 2007;70:2402-06.

42- Fallah A, Saei-Dehkordi S. S, Rahnama M, Tahmasby H, & Mahzounieh M. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of Listeria species isolated from poultry products marketed in Iran. Food Control 2012;28(2):327-32.

43-Mauro C, Domenico P, Emanuela Z. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne Listeria monocytogenes, International Journal of Food Microbiology 2009;128:497–500.

44-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.

45-Davis J A, Jackson C R. Comparative antimicrobial susceptibility of Listeria monocytogenes, L. innocua, and L. welshimeri. Microbial Drug Resistance 2009;15(1):27-32.