بررسی میزان شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی گونه‌های لیستریا جدا شده از فیله ماهی شیر، میش و کولی

ابراهیم رحیمی[1*]، محمد جواد جهانمرد[2]،سهراب صفری[3]، مهسا انصاری[1]، زینب ترکی[4]

۱. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲. دانشگاه اصفهان، اصفهان،ایران.

۳. کارشناس مرکز تحقیقات میکروب شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی ، شهرکرد، ایران

۴. دانش آموخته علوم و صنایع غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

***نویسنده مسئول:** *Ebrahimrahimi55@yahoo.com*

تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۷/۱۰ تاریخ پذیرش : ۱۳۹۵/۹/۲۳

چکیده

لیستریوزیس یکی از مهمترین بیماری‌های منطقله از طریق غذا محسوب می‌شود که بوسیله برخی از گونه‌های لیستریا خصوصاً *لیستریا مونوسایتوژنز* به انسان منتقل می‌شود. مطالعه حاضر به منظور بررسی میزان شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی سوش‌های لیستریا جدا شده از فیله ماهی شیر، میش و کولی در استان اصفهان و بندر ترکمن انجام پذیرفت. از تیر تا آبان ماه سال ۱۳۹۴، در کل ۲۴۰ نمونه ماهی فرایند شده شامل فیله ماهی شیر (۹۰ عدد)، میش (۸۰ عدد) و کولی (۷۰ عدد) فرایند شده به طور تصادفی از مراکز فروش شهرستان‌های اصفهان و بندر ترکمن جمع‌آوری و از نظر حضور گونه‌های لیستریا و مقاومت آنتی بیوتیکی آنها، ارزیابی شدند. شیوع گونه‌های لیستریا در نمونه‌های فیله ماهی فراوری شده، ۱۲/۵۰ درصد بود. در این بین فراوانی گونه‌های *لیستریا مونوسایتوژنز*، *لیستریا آینوکوا* و *لیستریا سیلگیری* به ترتیب ۱۶/۶۶ درصد، ۳۳/۳۳ درصد و ۶/۶۶ درصد بود. لازم به ذکر است که ۴۳/۳۳ درصد از جدایه‌های لیستریا مربوط به سایر گونه‌ها بودند. *لیستریا آینوکوا* بیشترین میزان شیوع را در نمونه‌های اخذ شده از فیله ماهیان شیر (۳۳/۳۳ درصد)، میش (۳۰ درصد) و کولی (۴۰ درصد) داشت. در کل نمونه‌های اخذ شده از فیله ماهی شیر بیشترین آلودگی را داشتند. سوش‌های لیستریا بیشترین میزان مقاومت را در برابر آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین، تتراسایکلین و وانکومایسین داشتند. نتایج این مطالعه خطر بالقوه عفونت ناشی از لیستریا را در مصرف کنندگان فیله ماهی فرایند شده، نشان می‌دهد. نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر نیاز به یک استراتژی کل نگر جهت پایش اپیدمیولوژیک در خصوص کنترل مقاومت‌های آنتی بیوتیکی در مواد غذایی را نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: لیستریا، فیله ماهی، مقاومت آنتی بیوتیکی

مقدمه

جنس لیستریا متشکل از باکتری‌های کوچک، کوکسی شکل متمایل به میله‌ای و گرز مانند هستند که گرم مثبت‌اند. این باکتری در درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی‌گراد متحرک، ولی در ۳۷ درجه سانتی‌گراد بی-حرکت است. این باکتری کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی است. دارای متابولیسم تخمیری گلوکز همراه با تولید اسید و بدون تولید گاز است. وجود ۵ تا ۱۰ درصد Co2 رشد آن راتسریع می‌کند (Duarte et al., 1999; Dhanashree et al., 2003). در میان جنس-های لیستریا که ایجاد عفونت لیستریوزیس در حیوان و انسان می‌کنند، لیستریا مونوسیتوژنز میکروارگانیسم اصلی است و بیشتراین باکتری‌ها به ندرت برای انسان بیماریزا هستند (Aygun and pehlvanlar., 2006). لیستریا مونوسیتوژنز از جمله باکتری‌های سرما گرا است و در دامنه دمایی وسیعی از صفر تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد قادر به رشد می‌باشد. در pH 4/4 تا ۹/۴ و فعالیت آبی ۰/۹۲ حداکثر رشد را دارد (Mclauchin., 2008). لیستریا در طیف وسیعی از مواد غذایی وجود دارد و در شرایط متنوع از نظرpH، نمک، رطوبت، و حرارت قادر به رشد و نمو است. این میکروارگانیسم به صورت عام جزء فلور طبیعی بدن انسان محسوب شده و در عین حال با ضعیف شدن سیستم ایمنی بدن می-

تواند به عنوان میکروب بیماری‌زا عمل نماید. دوره کمون بیماری لیستریوزیس زیاد بوده در نتیجه ردیابی اثر میکروب در بیماری‌های بوجود آمده توسط آن اغلب کاری بسیار سخت است. مطالعات نشان داده است که مهمترین راه انتقال گونه‌های لیستریا به انسان از طریق مواد غذایی بوده است(Mclauchin, 2008; Panhar et al., 2008).در بین گونه‌های مختلف لیستریا، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *لیستریا ایوانووی* و *لیستریا سیلیگری* مهمترین عوامل بیماریزا محسوب می‌شوند (Ericsoon et al., 1997; Mclauchlin, 2008). لیستریوزیس یک بیماری اسپورادیک است و غالباً با علائم شبیه انفولانزا بروز می‌کند اگرچه در مواردی منجر به مننژیت در بیماران با ضعف سیستم ایمنی، سقط جنین در خانم‌های باردار و انسفالوپتی در کودکان نیز می‌شود (Delgado, 2008). میزان مرگ و میر ناشی از این بیماری۲۰ تا ۳۰ درصد می‌باشد (Farber and Peterikin, 1991). مهمترین عامل شیوع این بیماری ناشی از مصرف مواد غذایی با منشاء دامی (Iida et al., 1998; Rocourt et al., 2000)، خصوصاً مواد غذایی دریایی از جمله میگو، صدف، ماهی نیم پز شده (Rocourt et al., 2000; Wan Norhana et al., 2010) گزارش شده است. در سالیان اخیر مصرف ماهیان فرایند شده از جمله فیله های نمک سود و دودی شده در ایران افزایش چشمگیری داشته است. در این رابطه مصرف فیله ماهیان شیر، میش و کولی بیش از سایر انواع ماهیان است. اما متاسفانه شرایط بهداشتی کارگاه های تولید این گونه فیله ماهیان پایین و معمولاً فرایند نمک سود کردن و دودی کردن با استفاده از نمک‌های آلوده و همچنین چوب‌های کپک زده ارزان قیمت انجام می-پذیرد. از طرفی حذف عوامل پاتوژن و فساد بر اثر فرایندهای دودی و نمک سود کردن سبب رشد باکتری‌های مقاوم‌تر مانند گونه‌های لیستریا می‌شود. مطالعات فراوانی در خصوص میزان شیوع آلودگی ماهی و فیله های نمک سود و دودی شده به این پاتوژن در سراسر جهان انجام شده است (Wan Norhana et al., 2010; Mena et al., 2004; Parihar et al., 2008). در ایران مطالعات در زمینه آلودگی فرآورده-های دریایی و خصوصاً فیله ماهی نمک سود شده و دودی شده، به این میکروارگانیسم‌ها محدود است (Akhondzadeh Basti et al., 2006; Jalali and Abedi, 2008)، ماهی نمک سود شده و ماهی دودی شده از محصولات سنتی ایران محسوب می‌شوند. این محصولات از عمل آوری ماهیان پرورشی و 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 (Akhondzadeh Basti et al., 2006). ماهی نمک سود شده و ماهی دودی معمولاً بطور سنتی به صورت خام یا نیم پز شده مصرف می‌شود، لذا آلودگی این فرآورده‌های با ارزش به پاتوژن‌هایی چون گونه های لیستریا می‌تواند خطر بالقوه‌ای را برای مصرف کننده به همراه داشته باشد. این مطالعه با هدف بررسی آلودگی فیله ماهی شیر، میش و کولی موجود در بازار شهرستان اصفهان و بندر ترکمن به گونه‌های لیستریا و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی گونه‌های لیستریا جدا شده از این فرآورده‌ها طراحی و انجام شد.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری

از تیر تا آبان ماه سال ۱۳۹۴، در کل ۲۴۰ نمونه ماهی فرایند شده شامل فیله ماهی شیر (۹۰ عدد)، میش (۸۰ عدد) و کولی (۷۰ عدد) فرایند شده به طور تصادفی از مراکز فروش شهرستان‌های اصفهان و بندر ترکمن جمع‌آوری شدند. این نمونه‌ها بصورت جداگانه هر کدام در ظروف یکبار مصرف، در کنار یخ و در اسرع وقت به آزمایشگاه منتقل شدندو حداکثر ۲۴ ساعت پس از نمونه گیری مورد آزمایش قرار گرفتند.

جداسازی گونه‌های لیستریا

ده گرم از هر نمونه به ارلن‌های حاوی ۹۰ میلی‌لیتر آبگوشت غنی‌کننده لیستریا (Himedia, India) اضافه گردید و به مدت ۴۸ ساعت در محیط ۲۵ درجه سانتیگراد 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 (Himedia,India) کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت۲۴ ساعت در انکوباتور۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پرگنه‌های 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 سانتی‌گراد، تخمیر قندهای گلوکز، مالتوز، رامنوز، احیاء اسکولین، احیاء نیترات، تست همولیزبتا و آزمایش CAMP بررسی شدند (Aygun and Pehlivanlar, 2006).

استخراج DNA و تائید گونه‌های لیستریا به روش مولکولی

این آزمون مطابق روش تشریح شده بوسیله Zhou وJiao (۲۰۰۵) انجام شد(Zhou and Jiao, 2005). جهت ردیابی گونه‌های مختلف لیستریا به روش PCR ، DNA باکتری‌های 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 ^{o}c ۲۰- نگهداری شدند. پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی گونه‌های لیستریا در جدول ۱ لیست شده‌اند.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی گونه‌های لیستریای جدا شده از ماهی دودی و نمک سود شده

پرایمر	توالی	اندازه (bp)
Lis- Ion 2	ACTAGCACTCCAGTTAAAC	870
Lis-Lis 1B	TTATACGCGACCGAAGCCAAC	
Lis- Siwi 2	TAACTGAGGTAGCGAGCGAA	1200
Lis-Lis 1 B	TTATACGCGACCGAAGCCAAC	
Lis-MonoA	CAAACTGCTAACACAGCTACT	660
Lis-Lis 1B	TTATACGCGACCGAAGCCAAC	
Lis-prs-F	GCTGAAGAGTTGCGAAAGAAG	370
Lis-prs-R	CAAAGAAACCTTGGATTTGCGG	

آزمایش PCR در قالب یک PCR چندگانه‌ای (Multiplex PCR) در حجم ۵۰ میکرو لیتر واجد ۵ میکرولیتر PCR buffer 10x ، ۲/. میلی مول dNTP mix ، ۲ میلی مول Mgcl2 ، ۲ واحد آنزیم Tag DNA polymerase ، ۴ میکرولیتر از DNA مربوط به هر نمونه و ۲/. میکرومول از زوج پرایمرهای Lis-prs-F,R (جهت شناسایی تمام گونه های لیستریا)، ۱ میکرومول از زوج پرایمرهای Lis-MonoA وLis-1B (جهت شناسایی گونه‌های لیستریا مونوسیتوژنز)، ۵/. میکرومول از زوج پرایمرهای Lis-1B و Lis-Ino2

(جهت شناسایی گونه لیستریا اینوکوآ)، 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 مدت۱۵ ثانیه، °c۵۳ به مدت ۷۵ ثانیه،°c ۷۲ به مدت ۷۵ ثانیه و یک سیکل انتهایی°c ۷۲ به مدت ۷ دقیقه. 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 الکتروفورز گردید.

آزمایش بررسی مقاومت ضد میکروبی

آزمون حساسیت ضد میکروبی ۱۳ گونه دلیستریا جدا شده از نمونه‌های 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). دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی 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)، ونکومایسین (μg ۳۰) و کلرامفنیکل (μg ۳۰) بودند.

پلیت سپس کشت و دیسک‌گذاری در محیط ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت گرم خانه‌گذاری شدند. بعد از گرم‌خانه‌گذاری هاله‌های عدم رشد در اطراف دیسک های آنتی‌بیوتیک توسط کولیس مدل KT با دقت ۰/۰۲× ۱۲۵ میلی‌متر ساخت کشور چین اندازه-گیری شد. سپس حساسیت گونه‌های لیستریا به هر آنتی‌بیوتیک با الگوی ارائه شده توسط CCLS مقایسه شدند.

نتایج

نتایج بررسی وضعیت آلودگی به گونه‌های لیستریا در ۲۴۰ نمونه ماهی فرایند شده عرضه شده به بازار مصرف شهرستان اصفهان و بندر ترکمن در جدول ۲ آورده شده است. از کل ۲۴۰ نمونه مورد بررسی در مطالعه حاضر، ۳۰ نمونه (۱۲/۵۰ درصد) آلوده به گونه‌های لیستریا بودند. از بین ۳۰ نمونه آلوده به لیستریا، فراوانی گونه‌های *لیستریا مونوسایتوژنز*، *لیستریا آ ینوکوا* و *لیستریا سیلگیری* به ترتیب ۱۶/۶۶ درصد، ۳۳/۳۳ درصد و ۶/۶۶ درصد بود. همه گونه‌های لیستریا جدا شده در روش کشت با استفاده از روش واکنش زنجیره-ای پلی مراز مورد تائید قرار گرفتند. در این بین ۴۳/۳۳ درصد از جدایه‌های لیستریا مربوط به سایر گونه‌ها بودند. *لیستریا آ ینوکوا* بیشترین میزان شیوع را در نمونه‌های اخذ شده از فیله ماهیان شیر (۳۳/۳۳ درصد)، میش (۳۰ درصد) و کولی (۴۰ درصد) داشت.

جدول ۲- فراوانی و درصد آلودگی نمونه ماهیان فرایند شده عرضه شده در بازار مصرف شهرستان اصفهان و بندر ترکمن به گونه‌های لیستریا

نمونه‌های ماهی فرایند شده	تعداد نمونه‌های آزمایش شده	نمونه‌های آلوده به گونه‌های لیستریا (٪)	فراوانی *لیستریا مونوسیتوژنز* (٪)	فراوانی *لیستریا آ ینوکوا* (٪)	فراوانی *لیستریا سیلگیری* (٪)	سایر گونه‌های لیستریا
فیله ماهی شیر	۹۰	۱۵ (۱۶/۶۶)	۳ (۲۰)	۵ (۳۳/۳۳)	۲ (۱۳/۳۳)	۵ (۳۳/۳۳)
فیله ماهی میش	۸۰	۱۰ (۱۲/۵۰)	۱ (۱۰)	۳ (۳۰)	-	۶ (۶۰)
فیله کولی	۷۰	۵ (۷/۱۴)	۱ (۲۰)	۲ (۴۰)	-	۲ (۴۰)
مجموع	۲۴۰	۳۰ (۱۲/۵۰)	۵ (۱۶/۶۶)	۱۰ (۳۳/۳۳)	۲ (۶/۶۶)	۱۳ (۴۳/۳۳)

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی گونه‌های لیستریا بر علیه آنتی‌بیوتیک‌های رایج تجویز شده در دامپزشکی و پزشکی در جدول ۳ نمایش داده شده است. سوش‌های *لیستریا مونوسایتوژنز* جدا شده از انواع فیله ماهی بیشترین میزان

مقاومت آنتی بیوتیکی را نسبت به آنتی بیوتیک‌های تتراسایکلین (۱۰۰ درصد)، پنی سیلین (۱۰۰ درصد) و وانکومایسین (۴۰ درصد)، *لیستریا اینوکوا* نیز نسبت به پنی سیلین (۱۰۰ درصد)، تتراسایکلین (۹۰ درصد)، و وانکومایسین (۴۰ درصد) و در نهایت *لیستریا سیلیگری* نسبت به پنی سیلین (۱۰۰ درصد)، تتراسایکلین (۵۰ درصد)، و وانکومایسین (۵۰ درصد) داشتند. کمترین میزان مقاومت مربوط به *لیستریا سیلیگری* و بیشترین مربوط به *لیستریا اینوکوا* بود.

جدول ۳- مقاومت آنتی‌بیوتیکی گونه‌های لیستریا جدا شده از نمونه ماهیان فرایند شده

آنتی‌بیوتیک	فراوانی و درصد مقاومت آنتی بیوتیکی		
	لیستریا مونوسایتوژنز (n=۵)	لیستریا اینوکوا (n=۱۰)	لیستریا سیلیگری (n=۲)
نالیدیکسیک اسید	-	-	-
سیپروفلوکساسین	۱ (۲۰)	۳ (۳۰)	-
اریترومایسین	۱ (۲۰)	۲ (۲۰)	-
تتراسایکلین	۵ (۱۰۰)	۹ (۹۰)	۱ (۵۰)
پنی‌سیلین	۵ (۱۰۰)	۱۰ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)
جنتامایسین	۱ (۲۰)	۱ (۱۰)	-
کلرامفنیکل	۱ (۲۰)	۲ (۲۰)	-
وانکومایسین	۲ (۴۰)	۴ (۴۰)	۱ (۵۰)

بحث

بررسی وضعیت آلودگی نمونه‌های فیله ماهی فراوری شده به گونه‌های لیستریا در مطالعه حاضر نشان داد ۳۰ نمونه از ۲۴۰ نمونه بررسی شده (۱۲/۵۰ درصد) به این میکروارگانیسم‌ها آلوده بوده‌اند. که از این تعداد فراوانی گونه‌های *لیستریا مونوسایتوژنز*، *لیستریا آینوکوا* و *لیستریا سیلگیری* به ترتیب ۱۶/۶۶ درصد، ۳۳/۳۳ درصد و ۶/۶۶ درصد بود. به طور مشابهی مطالعه‌ای از آخوندزاده بستی و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان می‌دهد به ترتیب ۵/۱ درصد و ۱۰ درصد از نمونه ماهییان دودی و نمک سود شده حامل *لیستریا مونوسایتوژنز* بوده است. آلودگی ماهی دودی و نمک سود شده به لیستریا را می‌توان به آلودگی اولیه ماهی یا آلودگی ثانویه ماهی در طول پروسه تولید و پس از آن یعنی در طول زمان نگهداری مرتبط د انست (Akhondzadeh Basti et al., 2006). مطالعه‌ی از Duarte و همکاران در سال ۱۹۹۹ از پرتغال نشان می‌دهد به ترتیب ۵۶ و ۳۴ نمونه از ۳۱۵ نمونه ماهی جمع‌آوری شده در طول فرآیند تولید ماهی دودی آلوده به گونه‌های لیستریا و لیستریا مونوسایتوژنز بوده است (Duarte et al., 1999). 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 درصد آلودگی بوده است. در همین مطالعه گونه‌های لیستریا جدا شده از نمونه ماهی سالامی دودی، *لیستریا مونوسایتوژنز* (۱۰/۸ درصد)، *لیستریا اینوکوا* (۱ درصد)، و *لیستریا ولشیمری* (۷/۸ درصد)، و در ماهی تروت دودی تنها *لیستریا مونوسایتوژنز* (۲۵ درصد) و *لیستریا اینوکوا* (۱۲/۵ درصد) گزارش شده است (Garrido, Vitas and Garca-Jalon, 2009).

Dominguez و همکاران (۲۰۰۱) نیز میزان بالای از آلودگی ماهی دودی شده به گونه‌های لیستریا (۲۶/۳ درصد) را گزارش نموده است (Dominguez, Gomez and Zumalacarregui, 2001) ، که به مراتب از نتایج مطالعه ما و مطالعه آخوندزاده بستی و همکاران (۲۰۰۶) در ایران بالاتر بوده است. مطالعه‌ای از Skorgaard و Morgen (۱۹۸۸) بیانگر آلودگی بیش از ۵۰ درصدی نمونه‌های مدفوع گاو و مرغ به گونه‌های لیستریا می‌باشد (Skovgaard and Morgen., 1988) و از آنجایی که از مدفوع گاو و طیور در پرورش ماهی استفاده می‌شود آلودگی اولیه ماهییان پرورشی به این میکروارگانیسم‌ها قابل توجیه است. مطالعات مختلف میزان آلودگی ماهیان تازه را به گونه‌های لیستریا بسیار متغییر و از صفر تا بیش از ۵۰ درصد گزارش نموده‌اند (Hartemink and Georgsson, 1991; Autio et al., 1999). در بین مطالعات انجام شده در ایران جلالی و عابدی در سال ۲۰۰۹ طی مطالعه‌ی در زمینه برای شیوع گونه‌های لیستریا در مواد غذایی میزان آلودگی ماهی تازه (n =۱۲) و ماهی منجمد شده (n=۶۲) را به ترتیب صفر درصد و ۳/۲ درصد گزارش نموده‌اند (Jalali and Abedi, 2008). همچنین در مطالعه‌ی دیگر از آخوندزاده بستی و همکاران (۲۰۰۶) میزان آلودگی ماهی تازه به *لیستریا مونوسایتوژنز* ۲/۶ درصد گزارش شده است (Akhondzadeh Basti et al., 2006). اختلاف نتایج در بین مطالعات مختلف را می‌توان به نوع ماهی، روش دودی و نمک سود کردن ماهی، روش جداسازی گونه-های لیستریا، موقعیت جغرافیای منطقه و فصل سال نسبت داد (Akhondzadeh Basti et al., 2006; Jalali and Abedi, 2008; Garrido, Vitas and Garca-Jalon, 2009). در مطالعه حاضر بیشترین گونه لیستریا جدا شده از نمونه‌های 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 (Jalali and Abedi, 2008; Dhanashree et al., 2003; Soultos et al., 2007). دربین لیستریاهای بررسی شده بیشترین بالاترین مقاومت نسبت به پنی سیلین، تتراسایکلین و در انتها وانکومایسین مشاهده شد، در حالی که نیمی از گونه‌ها به جنتامایسین، سیپروفلوکسازین و کلرامفنیکل حساس بودند. این نتایج با مطالعات مشابه از Arsalan و Ozdemir (۲۰۰۸) (Arsalan and Özdemir, 2008)، Conter و همکاران (۲۰۰۹) (Conter et al., 2009)، Harakeh و همکاران (۲۰۰۹) (Harakeh et al., 2009) همخوانی دارد. دلایل اصلی بالا بودن میزان شیوع در مطالعه حاضر، عدم رعایت اصول بهداشتی در فراوری فیله‌های ماهی، استفاده از ماهی با کیفیت اولیه پایین، استفاده از نمک با کیفیت پایین و بار میکروبی بالا، استفاده از چوب نامرغوب، کپک زده و بی کیفیت برای تولید دود به منظور دودی کردن ماهی‌ها، استفاده از کادر غیر مجرب و بعضاً آلوده در کارگاه‌های سنتی تولید فیله ماهی فراوری شده و در نهایت حذف فلور باکتریایی رغیب در ماهی بواسطه فرایند دود دادن یا نمک سود کردن و مهیا شدن شرایط رشد برای باکتری لیستریا، می‌باشند. این مطالعه حاکی از آن است که میزان آلودگی انواع نمونه‌های جمع‌آوری شده از فیله ماهی فراوری شده در بازار شهرستان اصفهان و بندر ترکمن نسبتاً پایین است. اما جداسازی *لیستریا مونوسایتوژنز* از نمونه‌های بررسی شده را می‌توان به عنوان خطری برای مصرف کنندگان مواد غذایی به حساب آورد. در حالی که گونه‌های لیستریا از جمله *لیستریا مونوسایتوژنز* 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 آنتی‌بیوتیکی بالای *لیستریا مونوسایتوژنز* به آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده را می‌توان 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.

منابع

1. Ericsoon, H., Eklow, A., Danielsoon-Tham, M., Loncaravic, S., Mentzing, L., and Persoon, I. 1997. An outbreak of listeriosis suspected to have been caused by rainbow trout. J Clin Microbiol. 35: 2904-2907.
2. Mclauchlin, J. 2008. The identification of *Listeria* species. Int J Food Microbiol. 1997; 38: 77-81.
3. Delgado A.R. Listeriosis in pregnancy. 2008. J Midwifery Women's Health. 53: 255-259.
4. Farber, J.M., and Peterikin, P.I. 1991. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. Microbiol Rev. 55: 476-571.
5. Iida, T., Kanzaki, M., Nakama, A., Kokubo, Y., Maruyama, T., and Kaneuchi, C. 1998. Detection of *Listeria monocytogenes* in human, animals and foods. J Vet Med Sci. 60: 1341-3.
6. Rocourt, J., Jacquet, Ch., and Reilly, A. 2000. Epidemiology of human listeriosis and seafoods. Int J Food Microbiol. 62: 197-209.
7. Wan Norhana, M.N., Pool, S.E., Deeth, H.C., and Dykes, G.A. 2010. Prevalence, persistence and control of *Salmonella* and *Listeria* in shrimp and shrimp products: A review. Food Control. 21: 343-361.
8. Mena, C., Almeda, G., Carneiro, L., Teixeira, P., Hogg, T., and Gibbs, P.A. 2004. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. Food Microbiol. 21: 213-216.
9. Parihar, V.S., Barbuddhe, S.B., Danielsson-Tham, M.L., and Tham, W. 2008. Isolation and characterization of *Listeria* species from tropical seafoods. Food Control. 19: 566-569.
10. Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., Zahraei Salehi, T., and Kamkar, A. 2006. Bacterial pathogens in fresh smoked and salted Irainian fish. Food Control. 17: 183-188.
11. Jalali, M., and Abedi, D. 2008. Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran. Int J Food Microbiol. 122: 336-340.
12. Aygun, O., and Pehlivanlar, S. 2006. *Listeria* spp. in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. Food Control. 17: 676-679.
13. Zhou, X., and Jiao, X. 2005. Polymerase chain reaction detection of *Listeria monocytogenes* using oligonucleotide primers targeting *actA* gene. Food Control. 16: 125-130.
14. Cai, S., Kabuki, D.Y., Kuaye, A.Y., Cargioli, T.G., Chung, M.S., Nielsen, R., and Wiedmann, M. 2002. Rational design of DNA sequence-based strategies for subtyping *Listeria monocytogenes*. J Clin Microbiol. 40: 3319–3325.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2006. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline (M45-A). Clinical

16. Duarte, G., Vaz-Vello, M., Capell, C., and Gibbs, P. 1999. Efficiency of four secondary enrichment protocols in differentiation and isolation of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* from smoked fish processing chains. Int J Food Microbiol. 52: 163-168.
17. Garrido, V., Vitas, A.I., and Garca-Jalon, I. 2009. 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. 20: 986-991.
18. Dominguez, C., Gomez, I., and Zumalacarregui, J. 2001. Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in smoked fish and pate sold in Spain. J Food Prot. 64: 2075-2077.
19. Skovgaard, N., and Morgen, C.A. 1988. Detection of *Listeria* spp. in faces from animals, in feeds, and raw foods of animal origin. Int J Food Microbiol. 6: 229-242.
20. Autio, T., Hielm, S., Miettinen, M., SMittinen, M., Sjoberg, A.M., Aarnisalo, K., and Bjorkroth, J. 1999. Sources of *Listera monocytogenes* contamination in a cold-smoked rainbow trout processing plant detected by pulsed-field gel electrophoresis typing. Appl Environ Microbiol. 65: 150-155.
21. Hartemink, R., and Georgsson, F. 1991. Incidence of *Listeria* species in seafood and seafood salads. Int J Food Microbiol. 12: 189-195.
22. Dhanashree, B., Otta, S.K., Karunasagar, I., Goebel, W., and Karunasagar, I. 2003. Incidence of *Listeria* spp. in clinical and food samples in Mangalore, India. Food Microbiol. 20: 447-453.
23. Soultos, N., Abrahim, A., Papageorgiou, K., and Steris, V. 2007. Incidence of *Listeria* spp. in fish and environment of fish markets in Northern Greece. Food Control. 18: 554-557.
24. Arsalan, S., and Özdemir, F. 2008. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* spp. in homemade white cheese. Food Control. 19: 360-363.
25. Conter, M., Paludi, D., Zanardi, E., Ghidini, S., Vergara, A., and Ianieri, A. 2009. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. Int J Food Microbiol. 128: 497-500.
26. Harakeh, S., Saleh, I., Zouhairi, O., Baydoun, E., Barbour, E., and Alwan, N. 2009. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy-based food products. Sci Total Environ. 407: 4022-4027.

and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Prevalence and antimicrobial resistance of Listeria species isolated from filleted Argyrosomus hololepidotus, Scomberomorus commerson and Alburnus spp.

Rahimi E[1 *], Jahanmard MJ[2], Safari S[3], Ansari M[1], Torki Z[4]

.1. Young Researchers and Elites Club, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

2. Esfahan University, Esfahan, Iran.

3. Research Center of Food Microbiology, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

4. Graduated Student of Food Science and Technology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

[*]**Corresponding author:** *Ebrahimrahimi55@yahoo.com*

Received: 1 October 2016 Accepted: 13 December 2016

Abstract

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 of *Listeria* species isolated from three types of fish filet in Isfahan and Bandaranzali. From August 2009 to April 2011, a total of 120 samples of Argyrosomus hololepidotus(n= 90), Scomberomorus commerson (n=80) and Alburnus spp (n=70). Fish 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. Seven (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. Overall, 9 of 13 *Listeria* isolates (69.2%) were resistant to one or more antimicrobial agents. Resistance to tetracycline (53.8%) and tetracycline (30.8%) were the most common finding. All of the isolates were susceptible to gentamicin, vancomycin and chloramphenicol.

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.

Keywords: *Listeria*, fileted fish, antimicrobial resistance.