



Semnan University



Research Article

Determination of *Listeria monocytogenes* contamination and investigation of the frequency of virulence and antibiotic resistance genes in ready-to-eat foods

Nematollah Mehdizadeh ghahdarijani¹, Seyed Majid Hashemi^{2*}

Abstract

Listeria monocytogenes is a dangerous foodborne pathogen that causes listeriosis in immunocompromised individuals, the elderly, and pregnant women, and has become a serious public health issue along with antimicrobial resistance (AMR). The focus of this study is on determining *Listeria monocytogenes* contamination and investigation of the frequency of virulence and antibiotic resistance genes in ready-to-eat foods. In this study, 180 food samples including salad dressing, chicken nuggets, meat nuggets, chicken sandwiches, sausage sandwiches, and chicken schnitzel were randomly sampled from distribution centers in Falavarjan County, Isfahan Province and transported to the laboratory. The results showed that the prevalence of *Listeria monocytogenes* infection was 13 samples (7.22%) and the highest frequency of antibiotic resistance genes was related to the *strA* gene (100%) and *ermA* (84.61%). The prevalence of *ermB*, *tetS*, *tetA* and *ermC* genes in the studied *Listeria monocytogenes* strain was 38.46%, 46.15%, zero and zero, respectively. PCR results showed that out of 13 food samples contaminated with *Listeria monocytogenes*, 2 samples (1.11%) were related to the *inlA* gene. Antibiotic results showed that the highest resistance was related to penicillin and ampicillin with 100% resistance and the lowest resistance was related to chloramphenicol and imipenem with 100% sensitivity. The results showed that RTE foods can carry *Listeria monocytogenes*, which in the event of infections caused by it, the use of antibiotics should be arbitrarily limited.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, antibiotic resistance, antimicrobial resistance, ready-to-eat foods.

1. Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2. Nutrition and Organic Products Research Center, ShK.C., Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

*Corresponding author: s.hashemi3233@iaui.ac.ir

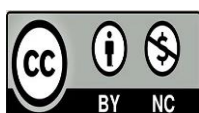
DOI: [10.22075/jvml.2025.37325.1160](https://doi.org/10.22075/jvml.2025.37325.1160)

Received: 06.04.2025

Accepted: 14.06.2025

How to Cite this Article:

Mehdizadeh ghahdarijani, N., & Hashemi, S.M. (2025). Determination of *Listeria monocytogenes* contamination and investigation of the frequency of virulence and antibiotic resistance genes in ready-to-eat foods. 17(1), 51-61. doi:10.22075/jvml.2025.37325.1160



©2025 The Author(s): This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, As long as the original authors and sources are cited. No permission is required from the authors or the publishers



تعیین آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز و بررسی فراوانی ژن‌های حدت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مواد غذایی آماده مصرف

نعمت‌اله مهدیزاده قه‌دریجانی^۱، سید مجید هاشمی^{۲*} 

خلاصه

لیستریا مونوسیتوژنز یک پاتوژن خطرناک منتقل شونده از طریق مواد غذایی است که باعث ایجاد لیستریوز برای افراد دارای نقص ایمنی، افراد مسن و زنان باردار می‌شود و در کنار مقاومت ضد میکروبی (AMR) به یک مسئله جدی بهداشت عمومی تبدیل شده است. تمرکز این پژوهش روی تعیین آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز و بررسی فراوانی ژن‌های حدت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مواد غذایی آماده است. در این مطالعه تعداد ۱۸۰ نمونه مواد غذایی شامل سالاد اولویه، ناگت مرغ، ناگت گوشت، ساندویچ مرغ، ساندویچ کالباس و شنسل مرغ به صورت تصادفی از مراکز عرضه در شهرستان فلاورجان استان اصفهان نمونه‌گیری و به آزمایشگاه انتقال داده شد. نتایج نشان داد میزان شیوع آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز ۱۳ نمونه (۷/۲۲ درصد) بود و بیشترین فراوانی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به ژن *strA* ۱۰۰ درصد و *ermA* ۸۴/۶۱ درصد بود. شیوع ژن‌های *detS*، *ermB*، *tetA* و *ermC* در سویه لیستریا مونوسیتوژنز مورد مطالعه به ترتیب ۳۸/۴۶ درصد، ۴۶/۱۵ درصد، صفر و صفر بود. نتایج PCR نشان داد از ۱۳ نمونه مواد غذایی آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز ۲ نمونه (۱/۱۱ درصد) مربوط به ژن *inlA* بود. نتایج آنتی‌بیوتیکی نشان داد بیشترین مقاومت مربوط به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین با ۱۰۰ درصد مقاومت و کمترین مقاومت مربوط به کلرامفنیکل و ایمی‌پنم با ۱۰۰ درصد حساسیت بود. نتایج نشان داد مواد غذایی RTE می‌توانند حامل لیستریا مونوسیتوژنز باشند که در صورت بروز عفونت‌های ناشی از آن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت خودسرانه محدود گردد.

واژه‌های کلیدی: لیستریا مونوسیتوژنز، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، مقاومت ضد میکروبی، مواد غذایی آماده.

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

۲. مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

*نویسنده مسئول: s.hashemi3233@iaui.ac.ir

DOI: [10.22075/jvlr.2025.37325.1160](https://doi.org/10.22075/jvlr.2025.37325.1160)

دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۱۷

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۲۴

غذاهای ایمن و مغذی برای حفظ زندگی و ارتقای سلامت، حیاتی هستند. بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت ۶۰۰ میلیون نفر در جهان با مصرف غذای آلوده بیمار می-شوند که سالانه ۴۲۰۰۰۰ نفر جان خود را از دست می-دهند و ۱۱۰ میلیارد دلار هزینه‌های پزشکی سالانه در کشورهای جهان صرف درمان بیماری‌های ناشی از غذا می‌شود (Zamuz et al., 2021). بروز بیماری‌هایی که از طریق مصرف مواد غذایی آلوده منتقل می‌شوند، یک مشکل عمده بهداشت عمومی در سراسر جهان است. آلودگی گوشت به باکتری‌های بیماری‌زا یکی از نگرانی‌های اصلی بهداشتی و اقتصادی در سرتاسر جهان است، زیرا مصرف گوشت و فرآورده‌های گوشتی و غذاهای آماده مصرف آلوده می‌تواند باعث بیماری‌های جدی ناشی از غذا شود (Abatcha, 2017). تغییر سبک زندگی در سراسر جهان از جمله روآوردن به غذاهای راحت‌مصرف، سبب رخداد طیف گسترده‌ای از مسائل میکروبیولوژیکی در حال ظهور در ایمنی مواد غذایی شده است. در موسسات خدمات غذایی، علاوه بر غذاهای آماده در یخچال (RTE) (Ready to Eat) (مانند ساندویچ‌ها و دسرها)، محصولات گرم مانند شیرینی‌ها نیز در اختیار مصرف کنندگان قرار می‌گیرد. غذاهای RTE، به ویژه سالادها و ساندویچ‌ها در شیوع بیماری‌های ناشی از غذا نقش دارند، زیرا این غذاها اغلب با دست تهیه می‌شوند و این تماس مستقیم ممکن است منجر به افزایش میزان آلودگی با عوامل بیماری‌زای بالقوه غذایی شود (Kotzekidou, 2013).

غذاهای آماده (RTE) شامل انواع مختلفی از محصولات غذایی است که می‌توان آنها را به روش‌های مختلف دسته‌بندی کرد. طبق تعریف ارائه شده توسط کمیسیون Codex Alimentarius، غذاهای RTE شامل هر ماده غذایی (از جمله نوشیدنی) است که به طور معمول به صورتی که نیاز به پروسه حرارتی نداشته باشد، مصرف می‌شود، تعریف شده است. غذاهای RTE در کشورهای مختلف با توجه به عادات غذایی محلی، در دسترس بودن، و یکپارچگی زنجیره سرما و مقررات متفاوت است. تقاضا برای غذاهای RTE منجر به افزایش مقدار و انتخاب محصولات در دسترس برای مصرف کنندگان شده است (Almualla et al., 2010). اخیراً افزایش قابل توجهی در عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذایی در سراسر جهان مشاهده شده است و

یکی از عوامل باکتریایی دخیل، لیستریا مونوسیتوژنز است. سازمان ایمنی غذای اروپا (EFSA) گزارش داده است که لیستریا مونوسیتوژنز رتبه پنجم را در میان شیوع بیماری‌های ناشی از غذا دارد (EFSA, 2015).

لیستریا مونوسیتوژنز یک پاتوژن درون سلولی اختیاری است و نکته کلیدی در عبور از سد روده و ایجاد لیستریوز، تهاجم فعال باکتری‌ها به سلول‌های میزبان است که فاکتورهای حدت InlA و InlB مسئول تهاجم فعال لیستریا مونوسیتوژنز در سلول‌های غیر فاگوسیتیک پستانداران، یعنی سلول‌های اپیتلیال، اندوتلیال و پارانشیمی هستند (Povolyaeva et al., 2020). لیستریا مونوسیتوژنز دوفسفو لیاز ترشح می‌کند، PlcA یک فسفاتیدیلینوزیتول فسفولیپاز C است و PlcB یک فسفاتیدیل کولین فسفولیپاز C است که به ترتیب توسط PlcA و plcB کدگذاری می‌شود (Pizarro-Cerda and Cossart, 2018). آنتی‌بیوتیک‌ها از مهم‌ترین روش‌های درمان عفونت‌های ناشی از لیستریا مونوسیتوژنز هستند. آمینوپنی‌سلین‌ها را می‌توان با کوتریموکسازول، فلوروکینولون‌ها، ریفامپیسین یا لینزولید نیز جایگزین کرد (Baquero et al., 2020). اما مقاومت لیستریا مونوسیتوژنز به عوامل ضد میکروبی امروزه به یکی از چالش‌های مهم علوم پزشکی بدل شده است که پایش آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز در مواد غذایی را بیش از پیش ضروری می‌کند (Zhang et al., 2024). در همین راستا هدف از پژوهش حاضر بررسی شیوع ضد میکروبی لیستریا مونوسیتوژنز در غذاهای آماده مصرف می‌باشد.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری

در این پژوهش تعداد ۱۸۰ نمونه مواد غذایی شامل سالاد اولویه ۳۰ نمونه، ناگت مرغ ۳۰ نمونه، ناگت گوشت ۳۰ نمونه، ساندویچ مرغ ۳۰ نمونه، ساندویچ کالباس ۳۰ نمونه و شنیسل مرغ ۳۰ نمونه به صورت تصادفی از مراکز عرضه این محصول در شهرستان فلاورجان استان اصفهان در مدت زمان ۶ ماه نمونه‌گیری و به آزمایشگاه انتقال داده شد. نمونه‌ها در فلاسک یخ و جهت جلوگیری از آلودگی‌های ثانویه راهی آزمایشگاه شدند.

روش جستجوی لیستریا مونوسیتوژنز

نمونه‌ها در هر کدام از محیط‌های مغذی نوترینت آگار Nutrient agar (Merck, Germany) به مدت ۲۴

ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. به منظور رشد پرگنه‌های لیستریا، باکتری‌ها از محیط مغذی ثانویه به محیط آگار انتخابی لیستریا Palcam agar (Merck, Germany) انتقال و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرم خانه‌گذاری شدند. پرگنه‌های رشد کرده در هر پلیت از نظر ریخت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفتند. پرگنه‌های مشکوک به لیستریا را مورد آزمون رنگ‌آمیزی گرم قرار داده تا گرم مثبت یا منفی بودن آنها تشخیص داده شود. سپس روی پرگنه‌های گرم مثبت، آزمایش کاتالاز انجام شد. آزمایش حرکت در ۲۵ درجه سلسیوس روی نمونه‌هایی که کاتالاز مثبت بودند انجام گرفت و نمونه‌های مثبت مشخص شد (Rahimi et al., 2023).

جستجوی ژن‌های حدت لیستریا مونوسیتوژنز

مطابق دستورالعمل کیت استخراج DNA ساخت شرکت سیناژن ایران، DNA ژنومی از باکتری‌های رشد یافته بر روی محیط کشت به صورت مستقیم، تخلیص شدند. کیفیت DNA استخراج شده، پس از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید و

تابش نور ماورای بنفش بررسی شدند. در تمامی مراحل انجام این تحقیق از سویه استاندارد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز (PTCC 1298) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. به منظور تشخیص لیستریا مونوسیتوژنز از روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) و پرایمرهای اختصاصی ژن 16SrRNA استفاده شد. توالی پرایمرها بصورت زیر است (Farhoumand et al., 2020):

F: 3'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-5'

R: 3'-ACGGTACCTTGTTACGACTT-5'

در تمامی واکنش‌های PCR از دستگاه چرخه حرارتی (اپندورف، آلمان) استفاده شد. فرایند تکثیر ژن در ۲۵ میکرولیتر مخلوط شامل ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس (یکتاتجهیز آزما، ایران) حاوی (۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase، ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۲/۵ میکرولیتر محلول بافر ۱۰X، ۱ میکرومول کلرید منیزیم) ۰/۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای یک ژن بصورت جداگانه، ۳ میکرولیتر DNA الگو و ۸/۵ میکرولیتر آب فوق خالص عاری از نوکلئاز (یکتاتجهیز آزما، ایران) انجام شد (Mureddu et al., 2014).

جدول ۱- لیست توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی ژن‌های حدت و ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی لیستریا مونوسیتوژنز

نام ژن	توالی پرایمر 5'-3'	اندازه محصول PCR (bp)	دمای اتصال پرایمر °C	شرایط PCR
<i>inlA</i>	F: CTTCAGGCGGATAGATTAGG R: GATATAGGCACATTGGCGAG	552	60	94°C for 30 sec, 60°C for 30 sec, 72°C for 1 min (35 cycles)
<i>inlB</i>	F: TTCGCAAGTGAGCTTACGTC R: CTACCGCCATCGCTAATAGT	232	58	94°C for 30 sec, 58°C for 30 sec, 72°C for 1 min (35 cycles)
<i>plcA</i>	F: CTGCTTGAGCGTTCATGTCTCATCCCCC R: CATGGGTTTCACTCTCCTTCTAC	1484	60	94°C for 1 min, 60°C for 1 min, 72°C for 1 min (35 cycles)
<i>plcB</i>	F: GCAAGTGTTCTAGTCTTTCCGG R: TCACAGCAAACCTTGGCAGGT	795	59	94°C for 1 min, 59°C for 1 min, 72°C for 1 min (35 cycles)
<i>ermA</i>	F: TATCTTATCGTTGAGAAGGGATT R: CTACACTTGGCTTAGGATGAAA	139	57	94°C for 30 sec, 57°C for 30 sec, 72°C for 30 sec (35 cycles)
<i>ermB</i>	F: GAAAAGGTACTCAACCAAATA R: AGTAACGGTACTTAAATTGTTTAC	639	55	94°C for 1 min, 55°C for 1 min, 72°C for 1 min (35 cycles)
<i>strA</i>	F: CTTGGTGATAACGGCAATTC R: CCAATCGCAGATAGAAGGC	572	59	94°C for 30 sec, 59°C for 30 sec, 72°C for 1 min (35 cycles)
<i>tetS</i>	F: TCCTTTGGGTAGTGGCATTTC R: AAGCATTCGGAAATCTGCTG	420	61	94°C for 30 sec, 61°C for 30 sec, 72°C for 1 min (35 cycles)
<i>tetA</i>	F: GGCCTCAATTTCTGACG R: AAGCAGGATGTAGCCTGTGC	546	58	94°C for 30 sec, 58°C for 30 sec, 72°C for 1 min (35 cycles)
<i>ermC</i>	F: CAAAACATAATATAGAT R: CTAATATTGTTAAATCGTCAAT	641	60	94°C for 30 sec, 60°C for 30 sec, 72°C for 1 min (35 cycles)

ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی

برای ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تست آنتی‌بیوگرام با استفاده از روش استاندارد انتشار دیسک (Disk Diffusion) انجام شد. ابتدا، یک سوسپانسیون میکروبی از جدایه‌های لیستریا مونوسیتوژنز تهیه گردید. تراکم باکتری‌ها در سوسپانسیون با استاندارد نیم مک‌فارلند (0.5 McFarland) تنظیم شد تا تراکم یکنواختی از باکتری‌ها به دست آید. سپس، سطح پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر-هینتون آگار (Italy, Liofilchem) به طور یکنواخت با سوسپانسیون باکتری پوشش داده شد. پس از آماده‌سازی سطح پلیت، دیسک‌های آنتی‌بیوگرام که شامل آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بودند، به دقت بر روی سطح محیط کشت قرار داده شدند. پس از قرار دادن دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌ها شامل آمپی‌سیلین (AMP)، ایم‌پنم (IMP)، سیپروفلوکساسین (CIP)، نالیدیکسیک اسید (NA)، پنی‌سیلین (PEN)، کلرامفنیکل (CP)، استرپتومایسین (STM) و تتراسایکلین (TE) روی محیط کشت قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند تا امکان انتشار آنتی‌بیوتیک‌ها و ایجاد هاله‌های عدم رشد فراهم شود. پس از اتمام دوره انکوباسیون، قطر هاله‌های عدم رشد اطراف هر دیسک با دقت اندازه‌گیری شد. بر اساس اندازه هاله‌ها، میزان حساسیت یا مقاومت جدایه‌های باکتری به آنتی‌بیوتیک‌ها تعیین شد.

این اندازه‌ها با جداول استاندارد CLSI مقایسه گردید تا وضعیت مقاومت یا حساسیت مشخص شود (Heidarzadi et al., 2021).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

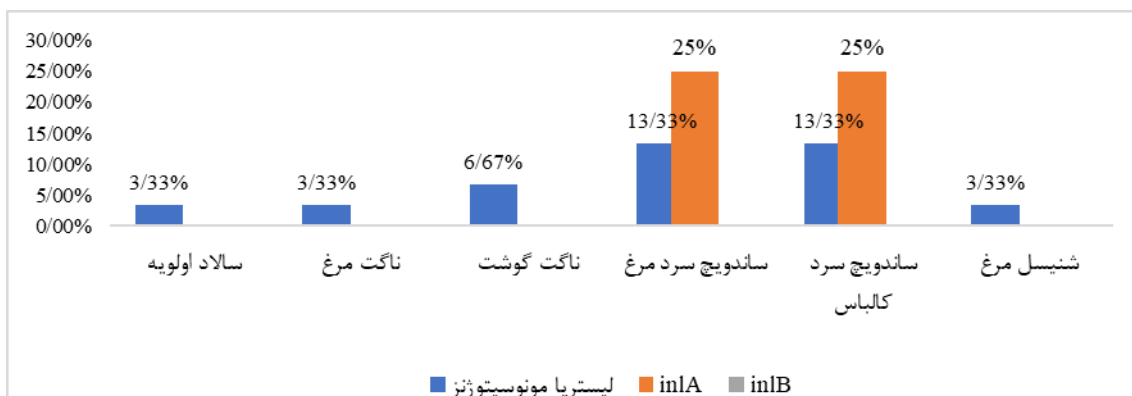
داده‌های حاصل از آزمایش‌های انجام شده در نرم افزار Microsoft Office Excel گردآوری شده و توسط نرم‌افزار SPSS آنالیز شدند. روش آماری تجزیه و تحلیل داده‌ها، آزمون مربع کای و تست دقیق فشر بود.

نتایج

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد میزان شیوع آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز در مواد غذایی نمونه‌گیری شده، ۱۳ نمونه (۷/۲۲ درصد) بود. به این ترتیب نتایج نشان داد میزان آلودگی در سالاد اولویه ۱ نمونه (۳/۳۳ درصد)، ناگت مرغ ۱ نمونه (۳/۳۳ درصد)، ناگت گوشت ۲ نمونه (۶/۶۷ درصد)، ساندویچ سرد مرغ ۴ نمونه (۱۳/۳۳ درصد)، ساندویچ سرد کالباس ۴ نمونه (۱۳/۳۳ درصد)، شنیسل مرغ ۱ نمونه (۳/۳۳ درصد) بود. نتایج PCR نشان داد از ۱۳ نمونه مواد غذایی آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز ۲ نمونه (۱/۱۱ درصد) مربوط به ژن *inlA* در جدایه‌های ساندویچ سرد مرغ و ساندویچ سرد کالباس بود و سایر نمونه‌های آلوده فاقد ژن‌های حدت *plcA*، *inlB* و *plcB* بودند. (جدول ۲ و نمودار ۱).

جدول ۲- نتایج شیوع ژن‌های حدت در مواد غذایی آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز

ماده غذایی	تعداد	لیستریا مونوسیتوژنز (درصد)	<i>inlA</i>	<i>inlB</i>	<i>plcA</i>	<i>plcB</i>
سالاد اولویه	۳۰	۱ نمونه (۳/۳۳ درصد) ^{cd}	-	-	-	-
ناگت مرغ	۳۰	۱ نمونه (۳/۳۳ درصد) ^{cd}	-	-	-	-
ناگت گوشت	۳۰	۲ نمونه (۶/۶۷ درصد) ^{bc}	-	-	-	-
ساندویچ سرد مرغ	۳۰	۴ نمونه (۱۳/۳۳ درصد) ^a	۱ نمونه (۲۵ درصد)	-	-	-
ساندویچ سرد کالباس	۳۰	۴ نمونه (۱۳/۳۳ درصد) ^a	۱ نمونه (۲۵ درصد)	-	-	-
شنیسل مرغ	۳۰	۱ نمونه (۳/۳۳ درصد) ^{cd}	-	-	-	-
مجموع نمونه	۱۸۰	۱۳ نمونه (۷/۲۲ درصد)	۲ نمونه (۱/۱۱ درصد)	-	-	-



نمودار ۱- نتایج شیوع آلودگی به لیستریا مونوسیٹوژنز در مواد غذایی نمونه‌گیری شده

نتایج نشان داد، بیشترین مقاومت مربوط به جدایه‌های پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین ۱۰۰ درصد و بیشترین حساسیت مربوط به ای‌می‌پنم و کلرامفنیکل ۱۰۰ درصد بود (جدول ۳).

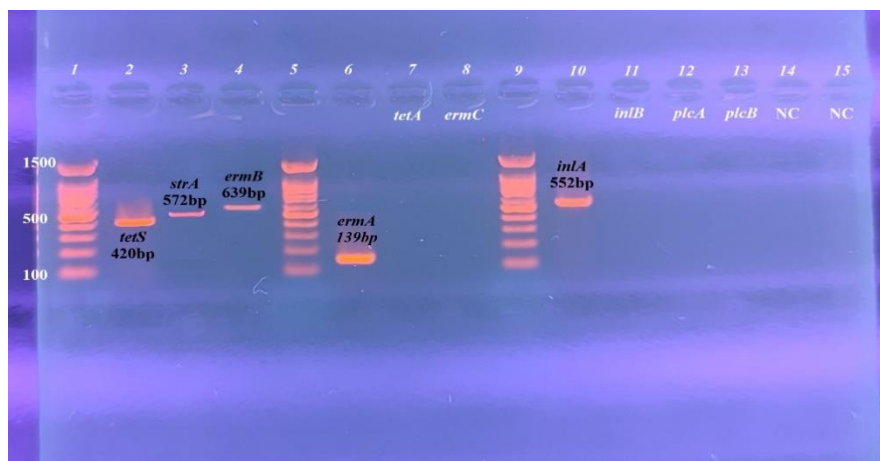
جدول ۳- وضعیت تعداد جدایه‌های لیستریا مونوسیٹوژنز نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف (درصد)

مقاوم	نیم‌حساس	حساس	آنتی‌بیوتیک
۱۳ (۱۰۰)	-	-	پنی‌سیلین (PEN)
۱۳ (۱۰۰)	-	-	آمپی‌سیلین (AMP)
۱۱ (۸۵)	۲ (۱۵)	-	نالیدیکسیک اسید (NA)
۱ (۸)	۱۰ (۷۷)	۲ (۱۵)	سیپروفلوکساسین (CIP)
-	-	۱۳ (۱۰۰)	کلرامفنیکل (CP)
-	۲ (۱۵)	۱۱ (۸۵)	تتراسایکلین (TE)
-	۱۰ (۷۷)	۳ (۲۳)	استرپتومایسین (STM)
-	-	۱۳ (۱۰۰)	ای‌می‌پنم (IMP)

بیشترین فراوانی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی در این مطالعه مربوط به ژن *strA* با ۱۰۰ درصد (۱۳/۱۳) و *ermA* با ۸۴/۶۱ درصد (۱۱/۱۳) بود. شیوع ژن‌های *ermB*، *tetS*، *tetA* و *ermC* در سویه لیستریا مونوسیٹوژنز مورد مطالعه به ترتیب ۳۸/۴۶ درصد (۵/۱۳)، ۴۶/۱۵ درصد (۶/۱۳)، صفر (۰/۱۳) و صفر (۰/۱۳) بود.

جدول ۴- نتایج شیوع ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مواد غذایی آلوده به لیستریا مونوسیٹوژنز

ماده غذایی	تعداد	<i>ermA</i>	<i>ermB</i>	<i>strA</i>	<i>tetS</i>	<i>tetA</i>	<i>ermC</i>
سالاد اولویه	۱	۱	۱	۱	۱	-	-
ناگت مرغ	۱	۱	۱	۱	-	-	-
ناگت گوشت	۲	۲	۱	۲	۱	-	-
ساندویچ سرد مرغ	۴	۳	۱	۴	۲	-	-
ساندویچ سرد کالباس	۴	۳	۱	۴	۱	-	-
شنپسل مرغ	۱	۱	-	۱	۱	-	-
مجموع نمونه	۱۳	۱۱	۵	۱۳	۶	-	-
		۸۴.۶۱%	۳۸.۴۶%	۱۰۰%	۴۶.۱۵%		



شکل ۱- نتیجه الکتروفورز محصول PCR. چاهک های ۱، ۵ و ۹: مارکر ۱۰۰ جفت بازی؛ چاهک های ۲-۴، ۶ و ۱۰ نشان دهنده حضور ژن های *tetS* (420bp)، *strA* (572bp)، *ermB* (639bp)، *ermA* (139bp) و *inlA* (552bp) می باشند؛ چاهک های ۷، ۸ و ۱۱-۱۳ نشان دهنده عدم حضور ژن های *tetA* (546bp)، *ermC* (641bp)، *inlB* (232bp)، *plcA* (1484bp) و *plcB* (795bp) می باشند؛ (ژن های حاضر با رنگ مشکی و ژن های غایب با رنگ سفید مشخص شدند) چاهک های ۱۴ و ۱۵ کنترل منفی هستند.

بحث

لیستریا مونوسیتوزنر به دلیل تحمل شرایط مختلف فیزیکی و شیمیایی و توانایی آن برای رشد در دمای پایین، به عنوان یک خطر میکروبی عمده برای مدیریت ایمنی مواد غذایی از مزرعه تا مصرف، به ویژه در غذاهای آماده در یخچال در نظر گرفته می شود. در این چارچوب، مقررات اروپا الزامات عمومی ایمنی مواد غذایی را تعیین می کند که بر اساس آن مواد غذایی در صورت ناامن بودن نباید در بازار عرضه شوند (Bonanno et al., 2024). مطابق تخمین CDC تقریباً ۴۸ میلیون مورد بیماری ناشی از غذا در سال در ایالات متحده وجود دارد. لیستریوز اگرچه جزو بیماری های شایع در ایالات متحده نیست، اما یکی از علل اصلی مرگ و میر ناشی از بیماری های ناشی از غذا است. در ایالات متحده، تقریباً ۱۶۰۰ عفونت در سال وجود دارد که منجر به مرگ حدود ۲۶۰ نفر می شود که مربوط به نرخ بستری شدن در بیمارستان ۹۴ درصد و نرخ مرگ و میر ۱۶ درصد است (Hanes and Huang, 2022). تمرکز این مطالعه روی بررسی ژنوتیپی لیستریا مونوسیتوزنر در ساندویچ ها بود که مشخص شد، ۱۳ درصد نمونه ها به لیستریا مونوسیتوزنر آلودگی دارند. همچنین بیشترین و کمترین مقاومت آنتی-بیوتیکی به ترتیب مربوط به پنی سیلین و آمپی سیلین و ایمی پنم و کلرامفیکل با ۱۰۰ درصد بود.

در همین راستا پژوهشی توسط Olejnik و Kawacka (۲۰۲۴) در لهستان با هدف تعیین آلودگی به لیستریا مونوسیتوزنر در فرآورده های گوشتی انجام گرفت که مشخص شد ۸/۳ درصد نمونه ها به لیستریا مونوسیتوزنر آلوده بودند (Kawacka and Olejnik-Schmidt, 2024). Koskar و همکاران در سال ۲۰۱۹ شیوع لیستریا مونوسیتوزنر در دسته های مختلف محصولات غذایی آماده (RTE) که از خرده فروشی ها و صنایع غذایی در یک دوره ۵ ساله تهیه شده اند، را انجام دادند. در مجموع ۳۰۰۱۶ نمونه غذای RTE برای شیوع لیستریا مونوسیتوزنر مورد بررسی قرار گرفت و ۳/۶ درصد مثبت بود. بیشترین آلودگی در محصولات RTE غذایی با ۷/۹ درصد بود (Koskar et al., 2019). در پاکستان Nosheena و همکاران (۲۰۲۲) پژوهشی با هدف شیوع گونه های لیستریا گزارش دادند از مجموع ۲۰۰ نمونه سالاد نمونه گیری شده در بازارهای محلی، ۸/۱ درصد به لیستریا مونوسیتوزنر آلوده بودند. نتایج آن ها نشان داد بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی مربوط به پنی سیلین و کمترین میزان مقاومت مربوط به ایمی پنم بود (Nosheena et al., 2022). مطالعه Flores و همکاران (۲۰۲۲) روی آلودگی به لیستریا مونوسیتوزنر در مواد غذایی RTE، گزارش دادند از مجموع ۱۰۰ نمونه، ۱۰ نمونه (۱۰ درصد) آلوده به لیستریا

مونوسیتوژنر یافت شد (Parra-Flores et al., 2022). Bustamante و همکاران (۲۰۲۰) روی آلودگی به مواد غذایی به لیستریا گزارش دادند که ۴۰۰ نمونه غذای RTE به صورت تصادفی نمونه‌گیری کردند که ۹/۶ درصد به لیستریا مونوسیتوژنر آلوده بود. از این تعداد هفت سویه سروتیپ 1/2a و یک سویه 4b بود (Bustamante et al., 2020). در پژوهشی توسط Şanlıbaba و همکاران (۲۰۱۸) روی آلودگی به غذاهای آماده مصرف به لیستریا مونوسیتوژنر گزارش دادند از مجموع ۲۰۱ غذای RTE، ۸/۵ درصد به لیستریا مونوسیتوژنر آلوده بودند. همه سویه‌ها به وانکومایسین، ایمی‌پنم، تری متوپریم و کلرامفنیکل حساس بودند (Şanlıbaba et al., 2018). پژوهشی توسط seza & Fatma (۲۰۲۰)، با هدف ارزیابی حضور گونه لیستریا در غذاهای RTE و شناسایی جدایه‌های لیستریا مونوسیتوژنر با استفاده از شناسایی نشانگرهای حدت، سروتیپ‌ها و ارتباط ژنتیکی انجام شد. از ۳۰۰ نمونه غذای RTE، ۵۹ (۱۹/۷ درصد) برای گونه لیستریا مثبت بودند که به ترتیب شامل لیستریا اینوکوا ۱۳/۳ درصد، لیستریا مونوسیتوژنر ۶ درصد، لیستریا ولشیمیری ۲/۳ درصد، لیستریا مورائی ۱/۳ درصد و لیستریا گرائی و ایوانوئی ۱ درصد آلوده بودند. تمام جدایه‌های لیستریا مونوسیتوژنر شناسایی شده برای ژن‌های حدت (۳۳/۳ درصد) actA، (۲۶/۷ درصد) iap، (۲۶/۷ درصد) inlA، (۶/۷ درصد) inlB، (۶/۷ درصد) inlC، (۳۳/۳ درصد) plcA و (۶/۷ درصد) prfA و بیوفیلیم مثبت بودند (Arslan and Özdemir, 2020). که مطالعات یادشده با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. میزان آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنر در پژوهش حاضر، ۷/۲۲ درصد بود و فراوانی ژن inlA نیز ۱/۱ درصد بود.

لیستریا مونوسیتوژنر به طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌های فعال در برابر باکتری‌های گرم مثبت حساس است، به جز سفالوسپورین‌ها و فسفومایسین، که مقاومت ذاتی در برابر آنها دارند. رایج‌ترین درمان لیستریوز، آمپی‌سیلین است که به تنهایی یا همراه با جنتامایسین استفاده می‌شود (Hanes and Huang, 2022)، این در حالی است که در پژوهش حاضر، آمپی‌سیلین ۱۰۰ درصد مقاومت به لیستریا

مونوسیتوژنر نشان داد. در سال ۲۰۰۱ مقاومت به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین به ترتیب در جدایه‌های لیستریا مونوسیتوژنر ۳/۷۳ و ۱/۹۸ درصد از ۱۰۰۱ جدایه مشاهده شد (Walsh et al., 2001). AST از ۳۱۷ جدایه لیستریا مونوسیتوژنر جمع‌آوری شده از غذا، انسان و محیط در ایتالیا بین سال‌های ۱۹۹۸ تا ۲۰۰۹، مقاومت به آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین، جنتامایسین و تری متوپریم-سولفامتوکسازول را در ۱۰۰ درصد جدایه‌ها نشان داد (Caruso et al., 2020). در پژوهشی مروری که در سال ۲۰۲۱ منتشر شد و بر روی پاتوژن‌های غذایی جدا شده از گاوهای شیری و کود مرغی در شمال شرقی اوهایو متمرکز شد، لیستریا مونوسیتوژنر دومین پاتوژن بود که در جدایه‌ها یافت شد. تمام ایزوله‌ها حداقل به یکی از آنتی‌بیوتیک‌های آزمایش شده مقاوم بودند. به طور قابل توجهی، ۸۹/۵ درصد از ۶۷ جدایه لیستریا مونوسیتوژنر دارای مقاومت آمپی‌سیلین و ۴۷ درصد دارای مقاومت به پنی‌سیلین بودند (Hailu et al., 2021). پژوهشی توسط عبادی‌فر و همکاران (۲۰۲۰)، روی آلودگی شیر خام گزارش دادند میزان شیوع به لیستریا مونوسیتوژنر ۳ درصد بود (Ebadifar et al., 2022).

در یک بررسی توسط Mclauchlin و همکاران (۲۰۲۲) با هدف تعیین میزان آلودگی باکتریایی در مواد غذایی آماده مصرف در بازار لندن انجام شد، شیوع لیستریا مونوسیتوژنر از ۲۰۰ نمونه غذایی، ۱۸ درصد تعیین شد (Mclauchlin et al., 2022). در یک مطالعه مروری توسط حیدرلو و همکاران (۲۰۲۱) فراوانی ایزوله‌های لیستریا مونوسیتوژنر جمع‌آوری شده از مجموع ۱۱۵۰ نمونه شامل ۳۰۰ نمونه غذایی و ۵۰ نمونه دامی و ۸۰۰ نمونه انسانی طی سال‌های ۲۰۰۸-۲۰۱۶ مورد ارزیابی قرار گرفت. الگوهای مقاومت ضد میکروبی، فاکتورهای حدت و ویژگی‌های مولکولی این جدایه‌ها با استفاده از روش انتشار دیسک، تعیین توالی و سروتیپ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل ۴۴ جدایه لیستریا مونوسیتوژنر نشان داد که ۷۲/۷ درصد (۳۲ از ۴۴) از کل جدایه‌ها متعلق به سروتیپ 1/2c و ۱۵/۹ درصد (۷ از ۴۴) به سروتیپ 3c تعلق داشتند. تمام ۴۴ ایزوله به یک یا چند عامل ضد میکروبی با بیشترین مقاومت به پنی‌سیلین (۷۵ درصد) و تتراسایکلین (۴۷/۷)

بنابراین، نظارت بر حدت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های لیستریا مونوسیتوژنز به دلیل افزایش تعداد سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک جدا شده از مواد غذایی و صنایع اهمیت پیدا می‌کند. بنا به نتایج پژوهش حاضر، لازم و ضروری است که مصرف مواد غذایی RTE محدود گردد و در صورت بروز عفونت و مسمومیت ناشی از لیستریا مونوسیتوژنز استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها با نظر پزشک متخصص مصرف شود و در نهایت برای مسئولان ذیربط لازم و ضروری است که قوانین سختگیرانه‌ای در حوزه‌ی بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی علی‌الخصوص مواد غذایی آماده مصرف که عمده مصرف‌کنندگان کودکان و نوجوانان هستند، لحاظ نمایند.

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله از کلیه همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه را داشتند تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافی برای اعلام ندارند.

مشارکت‌های نویسندگان

نمونه‌گیری، انجام آزمایش‌ها و گردآوری دیتاها با نویسندگی اول، آنالیز آماری و نگارش مقاله با همکاری استاد راهنما انجام شده است.

منابع مالی

پژوهش حاضر با استفاده از هزینه‌ی شخصی دانشجو انجام شد.

درصد) مقاوم بودند. از ۴۴ سویه لیستریا مونوسیتوژنز، ۱۰۰، ۶۹/۲ و ۶۲/۵ درصد از سویه‌های دام، انسان و غذا به ترتیب به پنی‌سیلین مقاوم بودند (Heidarlo et al., 2021). پژوهش Wong و همکاران (۲۰۱۲) روی آلودگی به لیستریا در مواد غذایی آماده گزارش دادند که در مجموع ۱۱۲ گوشت (۳۵ برگر گوشت گاو، ۳۹ برگر مرغ و ۳۸ همبرگر ماهی) برای حضور و تعداد لیستریا مونوسیتوژنز بررسی شدند. لیستریا مونوسیتوژنز در ۳۳/۳ درصد از نان‌های همبرگر مرغ، ۲۲/۹ درصد از برگر گوشت گاو و ۱۰/۵ درصد از نمونه‌های برگر ماهی شناسایی شد. نتایج نشان داد که اگر همبرگر آلوده بدون پخت و پز کافی مصرف شود، برگر به عنوان منبع بالقوه لیستریوز عمل می‌کند (Wong et al., 2012). پژوهشی توسط Osaili و همکاران (۲۰۱۱)، روی آلودگی مواد غذایی RTE به لیستریا انجام گرفت. نتایج روش مرسوم نشان داد که از مجموع ۲۸۰ نمونه، ۱۴۱ نمونه (۵۰ درصد) آلوده به گونه‌های لیستریا بودند. که ۱۸/۲ درصد به لیستریا مونوسیتوژنز آلوده بودند؛ از بین ده آنتی‌بیوتیک آزمایش‌شده، پنج جدایه *L. monocytogenes* به دو آنتی‌بیوتیک (*tilimicosin* و *tetracycline*) مقاوم بودند (Osaili et al., 2011). که همگی پژوهش‌های یادشده میزان آلودگی فراتر از مطالعه حاضر را داشتند.

نتیجه‌گیری

شیوع بالای لیستریا مونوسیتوژنز حامل ژن‌های حدت به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر ممکن است نشان‌دهنده بیماری‌زایی بالقوه بالای سویه‌های مورد تجزیه و تحلیل باشد و نشان دهد که ایزوله‌های مشتق‌شده از مواد غذایی ممکن است یک خطر واقعی برای سلامت عمومی باشد. این مطالعه نشان داد که لیستریا مونوسیتوژنز جدا شده از مواد غذایی نمونه‌گیری‌شده، عمدتاً متعلق به سروتیپ *inla* است که به عنوان یکی از سه سروتیپ با بالاترین پتانسیل بیماری‌زایی تعریف شده است؛

References

- Abatcha, M. (2017). Salmonella and Listeria monocytogenes: A review of prevalence and antibiotic resistance in chickens and their processing environments. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 5, 395-403.
- Almualla, N. A., Laleye, L. C., Abushelaibi, A. A., Al-Qassemi, R. A., Wasesa, A. A., Baboucarr, J. (2010). Aspects of the microbiological quality and safety of ready-to-eat foods in Sharjah supermarkets in the United Arab Emirates. *Journal of food protection*, 73, 1328-1331.
- Ardlan, S. & Özdemir, F. (2020). Prevalence and antimicrobial resistance of Listeria species and molecular characterization of Listeria monocytogenes isolated from retail ready-to-eat foods. *FEMS Microbiology Letters*, 367, fnaa006.
- Baquero, F., F. Lanza, V., Duval, M., Coque, T. M. (2020). Ecogenetics of antibiotic resistance in Listeria monocytogenes. *Molecular microbiology*, 113, 570-579.
- Bonanno, L., Bergis, H., Gnanou-Besse, N., Asséré, A., Danan, C. (2024). Which domestic refrigerator temperatures in Europe? Focus on shelf-life studies regarding Listeria monocytogenes (Lm) in ready-to-eat (RTE) foods. *Food Microbiology*, 123, 104595.
- Bustamante, F., Maury-Sintjago, E., Leal, F. C., Acuña, S., Aguirre, J., Troncoso, M., Parra-Flores, J. (2020). Presence of Listeria monocytogenes in ready-to-eat artisanal Chilean foods. *Microorganisms*, 8, 1669.
- Caruso, M., Fraccalvieri, R., Pasquali, F., Santagada, G., Latorre, L. M., Difato, L. M., Parisi, A. (2020). Antimicrobial susceptibility and multilocus sequence typing of Listeria monocytogenes isolated over 11 years from food, humans, and the environment in Italy. *Foodborne pathogens and disease*, 17, 284-294.
- Ebadifar, A. M., Jaydari, A., Shams, N., Rahimi, H. (2022). Prevalence of Listeria monocytogenes in raw milk of the healthy cattle in Lorestan Province (Iran) by PCR. *Journal of Advanced Biomedical Sciences*.
- ESFA 2015. The European Union Summary Report. Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agent and Food-borne Outbreaks in 2015. *EFSA Journal*, 14.
- Farhoumand, P., Hassanzadazar, H., Soltanpour, M. S., Aminzare, M., & Abbasi, Z. (2020). Prevalence, genotyping and antibiotic resistance of Listeria monocytogenes and Escherichia coli in fresh beef and chicken meats marketed in Zanjan, Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 12(6), 537.
- Hailu, W., Helmy, Y. A., Carney-Knisely, G., Kauffman, M., Fraga, D., Rajashekara, G. (2021). Prevalence and antimicrobial resistance profiles of foodborne pathogens isolated from dairy cattle and poultry manure amended farms in northeastern Ohio, the United States. *Antibiotics*, 10, 1450.
- Hanes, R. M. Huang, Z. (2022). Investigation of Antimicrobial Resistance Genes in Listeria monocytogenes from 2010 through to 2021. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19, 5506.
- Heidarloo, M. N., Lotfollahi, L., Yousefi, S., Lohrasbi, V., Irajian, G., Talebi, M. (2021). Analysis of virulence genes and molecular typing of Listeria monocytogenes isolates from human, food, and livestock from 2008 to 2016 in Iran. *Tropical Animal Health and Production*, 53, 1-9.
- Heidarzadi, M., Rahnema, M., Alipoureskandani, M., Saadati, D. Afsharimoqadam, A. (2021). Salmonella and Escherichia coli contamination in samosas presented in Sistan and Baluchestan province and antibiotic resistance of isolates. *Food Hygiene*, 11, 42.
- Kawacka, I. Olejnik-Schmidt, A. (2024). High Prevalence of Virulence-Associated Genes and Length Polymorphism in actA and inlB Genes Identified in Listeria monocytogenes Isolates from Meat Products and Meat-Processing Environments in Poland. *Pathogens*, 13, 444.
- Koskar, J., Kramarenko, T., Meremäe, K., Kuningas, M., Sogel, J., Mäesaar, M., Roasto, M. (2019). Prevalence and numbers of Listeria monocytogenes in various ready-to-eat foods over a 5-year period in Estonia. *Journal of food protection*, 82, 597-604.
- Kotzekidou, P. (2013). Microbiological examination of ready-to-eat foods and ready-to-bake frozen pastries from university canteens. *Food Microbiology*, 34, 337-343.

- McLauchlin, J., Aird, H., Amar, C. F. L., Jenkins, C., Jørgensen, F., Lai, S., Willis, C. (2022). Microbiological Quality of Ready-to-Eat Salad Products Collected from Retail and Catering Settings in England during 2020 to 2021. *Journal of Food Protection*, 85, 1680-1689.
- Mureddu, A., Mazza, R., Fois, F., Meloni, D., Bacciu, R., Piras, F., Mazzette, R. (2014). *Listeria monocytogenes* persistence in ready-to-eat sausages and in processing plants. *Italian Journal of Food Safety*, 3.
- Nosheena, A. S., Naeem, M., Jamil, H., Farooq, P., Sadiq, M. B., Tariq, H., & Akbar, A. (2022). Presence of *Listeria* species in fresh salad products collected from quetta pakistan.
- Osaili, T. M., Alaboudi, A. R., Nesiari, E. A. (2011). Prevalence of *Listeria* spp. and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from raw chicken and ready-to-eat chicken products in Jordan. *Food control*, 22, 586-590.
- Parra-Flores, J., Holý, O., Bustamante, F., Lepuschitz, S., Pietzka, A., Contreras-Fernández, A., Ruppitsch, W. (2022). Virulence and antibiotic resistance genes in *Listeria monocytogenes* strains isolated from ready-to-eat foods in Chile. *Frontiers in Microbiology*, 12, 796040.
- Pizarro J. Cossart, P. (2018). *Listeria monocytogenes*: cell biology of invasion and intracellular growth. *Microbiology spectrum*, 6, 10.1128/microbiolspec. gpp3-0013-2018.
- Povolyaeva, O., Chalenko, Y., Kalinin, E., Kolbasova, O., Pivova, E., Kolbasov, D., Ermolaeva, S. (2020). *Listeria monocytogenes* infection of bat *Pipistrellus nathusii* epithelial cells depends on the invasion factors InlA and InlB. *Pathogens*, 9, 867.
- Rahimi, E., Heidarzadi, M. Vahed, N. (2023). Investigation of the prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in fish, shrimp and eggs presented in Shahrekord city, Iran. *Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12, 145-156.
- Şanlıbaba, P., Tezel, B. U., Çakmak, G. A. (2018). Prevalence and Antibiotic Resistance of *Listeria monocytogenes* Isolated from Ready-to-Eat Foods in Turkey. *Journal of Food Quality*, 2018. 7693782.
- Walsh, D., Duffy, G., Sheridan, J. J., Blair, I. S., McDowell, D. A. (2001). Antibiotic resistance among *Listeria*, including *Listeria monocytogenes*, in retail foods. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 517-522.
- Wong, W. C., Pui, C. F., Tunung, R., Cheah, Y. K., Nakaguchi, Y., Nishibuchi, M., Son, R. (2012). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in frozen burger patties in Malaysia. *International Food Research Journal*, 19.
- Z amuz, S., Munekata, P. E., Dzuovor, C. K., Zhang, W., Sant'Ana, A. S., & Lorenzo, J. M. (2021). The role of phenolic compounds against *Listeria monocytogenes* in food. A review. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 385-392.
- Zhang, P., Ji, L., Wu, X., Chen, L., Yan, W., & Dong, F. (2024). Prevalence, Genotypic Characteristics, and Antibiotic Resistance of *Listeria monocytogenes* From Retail Foods in Huzhou, China. *Journal of Food Protection*, 87, 100307.