

## فراوانی گونه‌های لیستریا در شیر خام و فراورده‌های لبنی سنتی در اصفهان

زهره عبدی مقدم<sup>1</sup>، احسان شاملو<sup>2</sup>، سید امیرمحمد مرتضویان<sup>3</sup>، محسن عاطفی<sup>1</sup>

- 1- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- 2- نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: e.shamloo@sbmu.ac.ir
- 3- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 93/10/30

تاریخ پذیرش: 94/2/8

### چکیده

**سابقه و هدف:** باکتری لیستریا مونوسیتوژنز به دلیل مقاومت در برابر سرما، خشکی و پایداری در برابر استرس‌های اسمزی قابلیت رشد در مواد غذایی را داشته و موجب آلودگی می‌شوند. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی گونه‌های لیستریا در شیر خام و فراورده‌های لبنی سنتی غیرپاستوریزه انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در مجموع 292 نمونه شیر خام و فراورده لبنی سنتی مورد آزمایش قرار گرفت. جداسازی توسط روش پیشنهادی سازمان کشاورزی آمریکا (United States Department of Agriculture) USDA انجام شد، سپس لیستریا مونوسیتوژنز توسط روش‌های بیوشیمیایی و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز PCR مورد شناسایی و تأیید قرار گرفت.

**یافته‌ها:** از مجموع 292 نمونه شیر خام و فراورده‌ی لبنی سنتی، 21 نمونه (19/7%) آلوده به گونه‌های لیستریا بودند. بالاترین شیوع لیستریا مربوط به بستنی با (19/4%)، خامه (11/1%)، شیر خام (5/49%) و فرنی (4%) بود. هیچ‌کدام از نمونه‌های کره، کشک، دوغ و ماست آلوده به گونه‌های لیستریا نبودند. لیستریا اینوکوا با (5/44%) متداول‌ترین گونه‌ی جداسازی شده بود، سپس لیستریا مونوسیتوژنز با (1/36%) و لیستریا سلیجری با (0/3%) قرار دارد.

**نتیجه گیری:** با توجه به مصرف شیر خام غیرپاستوریزه و استفاده از آن در فراورده‌های لبنی سنتی و همچنین عدم آگاهی در مورد لیستریوزیس، ضرورت دارد برنامه‌های آموزشی و اطلاع‌رسانی در این زمینه انجام شود. ضمناً لازم است در مورد مواد غذایی حساس و آماده‌ی مصرف، استاندارد جستجوی لیستریا اجباری شود.

**واژگان کلیدی:** شیرخام، فراورده‌های لبنی سنتی، لیستریا مونوسیتوژنز

### • مقدمه

است، لذا به راحتی می‌تواند در مواد غذایی موجود در یخچال رشد نمایند و حتی در عملیات ناقص پاستوریزاسیون باقی مانده و از بین نروند (3، 2). لیستریا مونوسیتوژنز دارای 13 سروتیپ است که تمامی آن‌ها سبب لیستریوزیس می‌شوند. در شیوع‌های ناشی از آن، بیشتر سروتیپ‌های 4b، 1، 2a، 2b عامل لیستریوزیس تشخیص داده شده‌اند. با استفاده از روش‌های تایپینگ می‌توان سروتیپ‌های نمونه‌های غذایی و نمونه‌های کلینیکال را مشخص کرد که این کار

باکتری‌های جنس لیستریا گرم مثبت، میکروآئروفیلیک، میله‌ای شکل، بدون اسپور، متحرک و کاتالاز مثبت هستند. این جنس دارای 7 گونه است که اصلی‌ترین گونه آن که باعث ایجاد لیستریوزیس در انسان و حیوان می‌شود، لیستریا مونوسیتوژنز است (1). این باکتری‌ها به‌طور وسیعی در محیط پراکنده هستند و در خاک، آب و مواد غذایی مختلف یافت می‌شوند. مقاومت در برابر سرما، خشکی و پایداری در برابر استرس‌های اسمزی باعث افزایش بقاء و پراکندگی آن‌ها شده

فقط 2 بیمار مبتلا به لیستریوزیس که به بیمارستان حضرت رسول (ص) مراجعه کرده بودند، معرفی شدند (11). تشخیص قطعی لیستریوزیس متکی بر جداسازی لیستریا مونوسیتوژنز از خون، CSF، جفت، جنین سقط شده یا محل‌های استریل دیگر است. نمونه‌گیری از روده راه مناسبی برای تشخیص نیست، زیرا بالای 10 درصد افراد حامل لیستریا مونوسیتوژنز هستند. برای جداسازی لیستریا مونوسیتوژنز از روش ELISA، PCR، روش‌های ایمونوفلورسانس، ایمونوکروماتوگرافی و ایمونومگنتیک می‌توان استفاده کرد. لیستریوزیس را می‌توان با آنتی‌بیوتیک درمان کرد که بسته به شکل بیماری، می‌تواند 6 هفته یا بیشتر به طول انجامد. با توجه به توانایی رشد داخل سلولی لیستریا مونوسیتوژنز، سرعت درمان پایین است (12-16). اخیراً در کشورهای پیشرفته چندین مورد اپیدمی لیستریوزیس ناشی از مواد غذایی آلوده گزارش شده است، مثلاً سال 2004 در اروپا 1267 مورد لیستریوزیس گزارش شده است که 51 درصد از آن در افراد بالای 65 سال و بالاتر رخ داده است. 55 مورد از لیستریوزیس در زنان باردار و بچه‌ها گزارش شده است که در مجموع 107 مورد از آن‌ها منجر به مرگ شده‌اند (17). این مطالعه با هدف بررسی میزان فراوانی گونه‌های لیستریا در شیر و فراورده‌های لبنی سنتی در شهر اصفهان انجام شد.

#### • مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری از مراکز عرضه‌کننده مواد لبنی سنتی در شهر اصفهان به مدت زمان 6 ماه از تیر تا دی‌ماه 91 انجام شد. نمونه‌ها در شرایط استریل و در جعبه حاوی یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند. برای بررسی وجود لیستریا از دستورالعمل جداسازی پیشنهاد شده توسط USDA (United States Department of Agriculture) استفاده شد. 25 میلی‌لیتر/گرم از نمونه‌های جمع‌آوری شده را به 225 میلی‌لیتر از محیط کشت UVM<sub>1</sub> (Merck, Germany) (University of Vermont Media) اضافه کرده و پس از یکنواخت کردن در دمای 30°C به مدت 24 ساعت گرمخانه‌گذاری گردیدند، سپس 0/1 میلی‌لیتر از آن را به 9/9 میلی‌لیتر از محیط کشت Fraser Broth (Merck, Germany) اضافه کرده و به مدت 24 ساعت در دمای 30 درجه گرمخانه‌گذاری شد، سپس نمونه‌ها را روی محیط کشت آکسفورد آگار (Oxford Agar) (Merck, Germany) و مکمل‌های مربوطه (Fraser Supplement) (Merck, Germany) (1.10391.0001) کشت خطی داده شد و 48 ساعت در دمای 37°C گرمخانه‌گذاری شد. حداقل 5 عدد از کلنی‌های مشکوک (کلنی‌های سیاه

می‌تواند به شناخت منبع آلودگی کمک کند، همچنین با استفاده از این روش‌ها می‌توان تغییر سروتیپ‌ها را در طول زمان مشخص کرد. چندین مطالعه در اروپا تغییر سروتیپ عامل لیستریوزیس در طول سال‌های 1990 تا سال 2001 را نشان می‌دهند که حاکی از کاهش سروتیپ 2/1a و افزایش سروتیپ 4b است (4, 5). گونه‌ی مونوسیتوژنز عامل لیستریوزیس است، این بیماری در افراد مستعد که دارای نقص سیستم ایمنی هستند، بسیار خطرناک است و میزان مرگ‌ومیر ناشی از آن می‌تواند بین 30 تا 75 درصد متغیر باشد (6). لیستریوزیس علائم متفاوتی در انسان ایجاد می‌کند که شامل سقط جنین در زنان باردار، سپتی سمی نوزادان، عفونت داخل رحمی به‌صورت گرانولوماتوزیز، انسفالیت، مننگوانسفالیت، اندوکاردیت، میوکاردیت، نکروز کبدی و عوارض پوستی و گوارشی است (7). علائم کلینیکی لیستریوزیس تهاجمی معمولاً شدید بوده و به‌صورت مننژوانسفالیت بروز می‌کند (8). حداقل تعداد باکتری برای بیماری‌زای لیستریا مونوسیتوژنز، وابسته به حساسیت فرد و نوع غذا است. گزارش شده است که پنیر با تعداد  $10^3$ - $10^4$  لیستریا مونوسیتوژنز در هر گرم می‌تواند ایجاد بیماری نماید. به نظر می‌رسد افراد سالم اکثراً قادر به خوردن غذاهای آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بدون بروز علائم بالینی هستند. باین حال در افراد حساس، دز عفونی احتمالاً کمتر از 1000 سلول باکتری است (9). دوره‌ی کمون این بیماری در بزرگسالان حساس، 3 تا 70 روز و به‌طور میانگین 3 هفته تخمین زده می‌شود. در نوزادان مبتلا چند روز تا چند هفته طول می‌کشد تا علائم بیماری بروز کند. این بیماری در زنان باردار، بزرگسالان، نوزادان و کسانی که نقص ایمنی دارند، بسیار خطرناک است. در زنان باردار علائم خفیفی شبیه سرماخوردگی، تب، لرز، سردرد و علائم گوارشی بروز می‌کند. این علائم ممکن است در طول چند روز تا چند هفته منجر به سقط جنین، تولد زودرس، تولد نوزاد مرده و یا سپتی سمی در نوزاد شود. سقط جنین معمولاً در نیمه دوم حاملگی و بیشتر در سه‌ماهه‌ی سوم رخ می‌دهد. در زنان باردار به ازای هر 100 هزار نفر 12 نفر مبتلا به لیستریوزیس می‌شوند. شواهد حاکی از آن است که در کشورهای صنعتی لیستریوزیس در حال کاهش است، مثلاً طی سال‌های 1996 تا 1998 میزان بروز لیستریوزیس در آمریکا 40% کاهش یافته است و در سال 2004 به 2/7 مورد در هر میلیون رسیده است. در فرانسه نیز شیوع لیستریوزیس 68% کاهش یافته است و به 1/4 مورد در هر میلیون رسیده است (10). در ایران، مطالعه‌ی جامع‌ای از موارد ابتلا به این بیماری وجود ندارد و در طی سال‌های اخیر

مونوسیتوژنز بکار گرفته شد، جهت تکثیر DNA محلول PCR آماده شد و با استفاده از دستگاه PCR (Techgene, model:Ftgene) در طی 30 سیکل [ یک دقیقه دناتوریشن در  $95^{\circ}\text{C}$ ، 30 ثانیه انوالینگ پرایمرها در  $62^{\circ}\text{C}$  و 30 ثانیه اکستنشن در  $72^{\circ}\text{C}$ ] قسمتی از ژن لیستریوزین O (417 bp) تکثیر گردید. محصول PCR در ژل آگارز 8/1% الکتروفورز گردیده و با رنگ آمیزی در اتیدیوم بروماید 1% و تابانیدن UV مشاهده شد.

#### • یافته‌ها

نتایج این مطالعه در جدول 1 قابل مشاهده است. از مجموع 292 نمونه شیر خام و فراورده‌های لبنی سنتی، 21 نمونه (7/19%) آلوده به گونه‌های لیستریا بودند. بالاترین شیوع لیستریا مربوط به بستنی با (19/4%)، خامه (11/1%)، شیر خام (5/49%) و فرنی (4%) بود. هیچ کدام از نمونه‌های کره، کشک، دوغ و ماست آلوده به گونه‌های لیستریا نبودند. لیستریا اینوکوا با (5/44%) متداول ترین گونه‌ی جداسازی شده بود، سپس لیستریا مونوسیتوژنز با (1/36%) و لیستریا سلیجری با (0/3%) قرار دارد. در مطالعه‌ی حاضر 5/49% از نمونه‌های شیر خام به لیستریا آلوده بودند. گونه‌ی لیستریا مونوسیتوژنز (4/39%) فراوان ترین گونه شناسایی شده در شیر خام بود. باکتری‌هایی که با استفاده از روش‌های فنوتیپی به عنوان گونه لیستریا مونوسیتوژنز تشخیص داده شده بودند، تحت آزمون PCR قرار گرفته و تأیید شدند.

فرورفته) را بر روی تریپتون سوی آگار (TSAY) (Merck, Germany) که حاوی 0/6 درصد عصاره‌ی مخمر است، کشت شد و در  $37^{\circ}\text{C}$  به مدت 24 ساعت گرمخانه گذاری شد. جهت شناسایی لیستریا، کلنی‌های جدا شده تحت آزمایش‌های بیوشیمیایی تأییدی قرار گرفتند. آزمایش‌ها شامل آزمون رنگ آمیزی گرم، آزمون کاتالاز، حرکت در 25 و 37 درجه سانتی گراد، MR/VP، تولید اسید از گلوکز، مانیتول، رامنوز، گزیلوز، احیای نترات و هیدرولیز اسکولین بود. برای تأیید بیشتر از سایر روش‌های بیوشیمیایی مانند فعالیت همولیتیک و آزمون CAMP نیز استفاده شد. در آزمون CAMP از محیط کشت بلاد آگار، استافیلوکوکوس اورئوس و رودوکوکوس اکویی استفاده شد. نمونه‌های مشکوک به گونه‌های لیستریا جهت تعیین نوع گونه در بین دو کشت خطی (استافیلوکوکوس اورئوس و رودوکوکوس اکویی)، کشت داده شدند و سپس بر اساس توانایی تشدید همولیز، گونه‌های لیستریا تشخیص داده شدند. همچنین لیستریا مونوسیتوژنز جداسازی شده توسط روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) شناسایی و تأیید شد (18). بدین منظور باکتری‌های جدا شده را در محیط BHIB (Brain Heart Infusion Broth) (Merck, Germany) کشت داده و در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد به مدت 18 ساعت گرمخانه گذاری شدند، سپس DNA توسط روش Fitter et all 1992 استخراج شد (19). پرایمرهای مورد استفاده در این آزمون پرایمرهای اختصاصی (234 و 319) سنتز شده از روی ژن لیستریولایزین O بودند که برای تکثیر قطعه 417 bp ژن hly A در باکتری لیستریا

جدول 1. شیوع گونه های لیستریا در شیر خام و فراورده های لبنی سنتی در ایران

نوع لبنیات	تعداد نمونه	جنس لیستریا (%)	لیستریا سلیجری (%)	لیستریا اینوکوا (%)	لیستریا مونوسیتوژنز (%)
شیر خام	91	49/5	09/1	0	39/4
بستنی	63	12	0	04/19	0
ماست	12	0	0	0	0
دوغ	28	0	0	0	0
کره	18	0	0	0	0
کشک	22	0	0	0	0
پنیر	6	0	0	0	0
فرنی	25	4	0	4	0
خامه	27	11/11	0	11/11	0
مجموع	292	19/7	34/0	82/5	36/1

## • بحث

امروزه لیستریوزیس به‌عنوان یک بیماری ناشی از غذا شناخته شده است که با توجه به مقاومت بالای آن‌ها به شرایط محیطی وجود این باکتری در مواد غذایی خام و یا حتی پروسس شده نیز امکان‌پذیر است و به همین دلیل ضروری به نظر می‌رسد از ابتدای چرخه‌ی تولید مواد غذایی در مزرعه تا مصرف آن اقدامات و نظارت‌های لازم انجام شود (20). در امریکا تخمین زده می‌شود هر سال 2500 مورد عفونت به لیستریا مونوسیتوژنز بروز می‌کند (21). در سال 2004 طبق گزارش FAO و WHO وقوع سالانه‌ی لیستریوزیس انسانی بین 0/1 تا 11/3 مورد در هر میلیون نفر بوده است و همچنین کشندگی آن را بالای 20 درصد اعلام کرده‌اند (22). 32 مورد لیستریوزیس انسانی در ترکیه با نرخ کشندگی 33% بین سال‌های 1987 تا 2001 مشاهده شده است (23). اولین مطالعه در ایران در خصوص شیوع آلودگی به لیستریا در سال 2008 توسط جلالی صورت گرفت، در این مطالعه میزان آلودگی به لیستریا در مواد غذایی مختلف مانند گوشت، لبنیات، سبزی‌ها و غذاهای آماده به ترتیب 6/7%، 1/3%، 1/2% و 12% تعیین شد که 1/2% از کل این مواد غذایی آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بودند (18). مطالعات مشابه دیگر در ایران میزان شیوع گونه‌های لیستریا مونوسیتوژنز در شیر خام را بین 1 تا 4% گزارش کرده‌اند (3، 24-27). در مطالعه‌ی پیش رو از مجموع 292 نمونه شیر خام و فراورده‌ی لبنی سنتی، 21 نمونه (7/19%) آلوده به گونه‌های لیستریا بودند. بالاترین شیوع لیستریا مربوط به بستنی با (4/19%)، خامه (11/1%)، شیر خام (5/49%) و فرنی (4%) بود. گونه‌ی لیستریا مونوسیتوژنز (4/39%) فراوان‌ترین گونه شناسایی شده در شیر خام بود و فقط یکی از گونه‌ها لیستریا سلجری (1/09%) تشخیص داده شد، برخلاف برخی از مطالعات دیگر هیچ گونه‌ی لیستریا اینوکواپی در شیر خام یافت نشد (26). در مطالعه‌ی جلالی سال 2008، برخلاف مطالعه‌ی حاضر فقط یک نمونه از 88 نمونه لبنیات دارای لیستریا اینوکوا بود و بقیه‌ی نمونه‌های دیگر فاقد گونه‌های لیستریا بودند (18). در مطالعه‌ی که توسط رحیمی و همکاران در سال 2012 انجام شد، از 290 نمونه‌ی جمع‌آوری شده‌ی 7/2% آلوده به لیستریا بودند که به ترتیب بستنی سنتی با 16/7%، پنیر 15%، کره 7/5% و کشک 2/2% دارای بالاترین آلودگی به لیستریا بودند (27). در مطالعه مشابه دیگری که توسط رحیمی و همکاران در سال 2010 انجام شده، از 594 نمونه‌ی جمع‌آوری شده از شیر و محصولات لبنی، 9/3% نمونه‌ها دارای لیستریا بودند که

بیشترین شیوع لیستریا به ترتیب مربوط به شیر گوسفند 22/6% و پنیر سنتی 18/9% بود. همچنین بالاترین شیوع به ترتیب مربوط به لیستریا اینوکوا و لیستریا مونوسیتوژنز و لیستریا سلجری تشخیص داده شد (26). در مطالعه محمودی که در نورآباد انجام شد، شیوع لیستریا مونوسیتوژنز در شیر خام و پنیر سفید در دو کارخانه تعیین شد که در کارخانه اول به ترتیب 1/7% و 3/3% و در کارخانه دوم 3/3% و 6/7% به دست آمد، اما مانند مطالعه‌ی حاضر، در هیچ‌یک از نمونه‌های ماست و دوغ لیستریا مونوسیتوژنز یافت نشد که دلیل آن احتمالاً PH پایین این محصولات بود (24). در مطالعه مشتاقی که در شهرکرد انجام گرفت، در 500 نمونه شیر خام در مجموع شیوع گونه‌های لیستریا 2/2% بود که 1/6% آن‌ها آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بودند و 0/16% هم آلوده به لیستریا اینوکوا بودند (25) در این مطالعه میزان شیوع لیستریا مونوسیتوژنز کمتر از مطالعه‌ی حاضر است. در میان فراورده‌های لبنی سنتی، بستنی دارای بیشترین میزان آلودگی است که احتمالاً به دلیل توانایی رشد لیستریا در 4°C است (28). نتایج مطالعه 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 آن تفاوت در زمان انجام مطالعه و همچنین آلودگی ثانویه شیر خام در حین دوشش، حمل و نقل و دیگر عوامل محیطی اثرگذار بر روی رشد لیستریا باشد. اگرچه پاستوریزاسیون شیر خام می‌تواند در جهت جلوگیری از شیوع لیستریا مؤثر باشد، اما گزارش‌هایی از موارد بروز لیستریوزیس در اثر مصرف مواد لبنی پاستوریزه شده نیز وجود دارد (2).

متأسفانه اطلاع دقیقی در مورد شیوع لیستریوزیس انسانی در ایران وجود ندارد، زیرا لیستریوزیس بیماری قابل گزارشی در سیستم سلامت ایران محسوب نمی‌شود و به علت مصرف شیر خام و مصرف فراورده‌های آن در کشور و مصرف مواد غذایی آماده، احتمال بروز لیستریوزیس وجود دارد تأیید آلودگی مواد غذایی به لیستریا در ایران لازم است اقدامات مقتضی انجام شود. از جهت دیگر به دلیل میزان مرگ و میر بالای ناشی از لیستریوزیس که در افراد سالم 25-30% و در افراد با نقص ایمنی 70% است ضرورت دارد آگاهی دقیقی از این باکتری در مواد غذایی، فراورده‌های دامی و مواد بالینی وجود داشته باشد. کاهش لیستریوزیس در کشورهای صنعتی حاکی از استفاده از روش‌های کنترل میکروبی در تولید مواد غذایی در آن کشورها دارد. در این کشورها با استفاده از سیستم HACCP و کنترل نقاط بحرانی در تولید مواد غذایی

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که با توجه به این که برای تهیه فراورده‌های لبنی سنتی از شیر خام پاستوریزه نشده استفاده شده و به دلیل عدم پاستوریزاسیون امکان مرگ و میر بالایی در گروه‌های آسیب‌پذیر بالا می‌رود، لذا لزوم تدوین آیین‌نامه‌های بهداشتی در مورد خطرات آن ضروری به نظر می‌رسد. همچنین با توجه به تدوین استانداردهای لیستریا در مورد مواد غذایی پرخطر در کشورهای صنعتی، تدوین آن در کشور ما هم پیشنهاد می‌شود.

و همچنین ارائه‌ی آموزش‌های عمومی در رابطه با ایمنی مواد غذایی، توانسته‌اند میزان لیستریوزیس را کاهش دهند. در اغلب موارد پیشگیری از لیستریوزیس متکی بر ایمنی و سلامت مواد غذایی تولیدی و عدم آلودگی ثانویه مواد غذایی است. از آنجا که تولید فراورده‌های لبنی سنتی در ایران در کارگاه‌های کوچک فاقد مجوز بهداشتی بوده و در این کارگاه‌ها از شیر خام یا پاستوریزه نشده استفاده می‌شود، لذا تهیه‌ی یک واکسن مناسب برای گروه‌های پرخطر می‌تواند روش کنترل مناسبی بوده و از طرف دیگر اجباری شدن استاندارد جستجوی لیستریا در مواد غذایی ضروری به نظر می‌رسد.

## • References

- McLauchlin J, Mitchell R, Smerdon W, 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.
- Lyytikäinen 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. *Journal of Infectious Diseases.* 2000;181(5):1838-41.
- Shamloo E, Jalali M, Mirlohi M, Madani G, Metcalf D, Merasi MR. Prevalence of *Listeria* species in raw milk and traditional dairy products in Isfahan, Iran. *Int J Environ Health Eng.* 2015;4(1):1.
- Lukinmaa S, Miettinen M, Nakari U-M, 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.
- 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):111-9.
- Pak S-I, Spahr U, Jemmi T, Salman M. Risk factors for *L. monocytogenes* contamination of dairy products in Switzerland, 1990–1999. *Prev Vet Med.* 2002;53(1):55-65.
- Meyer-Broseta S, Diot A, Bastian S, Rivi J, Cerf O. Estimation of low bacterial concentration: *Listeria monocytogenes* in raw milk. *Int J Food Microbiol.* 2003;80(1):1-15.
- Vazquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Dominguez-Bernal G, Goebel W, et al. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14(3):584.
- 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.
- Goulet V, Hedberg C, Le Monnier A, De Valk H. Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(5):734.
- Shayanfar N, Jalilvand A. Listeriosis: Two Reported Cases From Iran. *Razi Journal of Medical Sciences.* 2004;11(42):565-70.
- Cito G, Luisi S, Faldini E, Calonaci G, Sanseverino F, Torricelli M, et al. Listeriosis in pregnancy: a case report. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2005;18(6):367-8.
- Craig S, Permezel M, Doyle L, Mildenhall L, Garland S. Perinatal infection with *Listeria monocytogenes*. *Aust New Zeal J Obstet Gynaecol.* 1996;36(3):286-90.
- Jackson K, Iwamoto M, Swerdlow D. Pregnancy-associated listeriosis. *Epidemiol Infect.* 2010;138(10):1503-9.
- Janakiraman V. Listeriosis in pregnancy: diagnosis, treatment, and prevention. *Reviews in Obstetrics and Gynecology.* 2008;1(4):179.
- Lurie S, Feinstein M, Mamet Y. *Listeria monocytogenes* reinfection in a pregnant woman. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology.* 1999;106(5):509-10.
- Vermeulen A, Gysemans KPM, Bernaerts K, Geeraerd AH, Van Impe JF, Debevere J, et al. Influence of pH, water activity and acetic acid concentration on *Listeria monocytogenes* at 7 °C: Data collection for the development of a growth/no growth model. *Int J Food Microbiol.* 2007;114(3):332-41.
- Jalali M, Abedi D. Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran. *Int J Food Microbiol.* 2008;122(3):336-40.
- Fitter S, Heuzenroeder M, Thomas C. A combined PCR and selective enrichment method for rapid detection of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Microbiology.* 1992;73(1):53-9.
- Shamloo Aghakhani E, Jalali M, Mirlohi M, Abdi Moghadam Z, Maracy MR, Yaran M. Prevalence of *Listeria* species in raw milk in Isfahan, J. Isfahan Med. Sch. 2012;30(204).
- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999;5(5):607.
- McLauchlin J, Mitchell R, Smerdon W, 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.
23. Doganay M. Listeriosis: clinical presentation. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2003;35(3):173-5.
24. Mahmoodi MM. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Raw Milk and Dairy Products in Noorabad, Iran. *J. Anim. Vet. Adv.* 2010;9(1):16-9.
25. Moshtaghi H, Mohamadpour AA. Incidence of *Listeria* spp. in raw milk in Shahrekord, Iran. *Foodborne Pathog. Dis.* 2007;4(1):107-10.
26. Rahimi E, Ameri M, Momtaz H. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran. *Food Contr.* 2010;21(11):1448-52.
27. Rahimi E, Momtaz H, Sharifzadeh A, Behzadnia A, Ashtari M, Esfahani S, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from traditional dairy products in Chahar Mahal & Bakhtiari, Iran. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine.* 2012;15(2):115-22.
28. Akman D, Duran N, DIĞRAK M. Prevalence of *Listeria* Species in Ice Creams Sold in The Cities of Kahramanmaraş and Adana. *Turk J Med Sci.* 2004;34(4):257-62.

## Frequency of *Listeria* Species in Raw Milk and Traditional Dairy Products in Isfahan, Iran

Abdimoghadam Z<sup>1</sup>, Shamloo E<sup>\*2</sup>, Mortazavian AM<sup>3</sup>, Atefi M<sup>1</sup>

- 1- Ph.D Student in Food Science and Technology, Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
- 2- \*Corresponding author: Ph.D Student in Food Science and Technology, Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: e.shamloo@sbtu.ac.ir
- 3- Associate Prof., Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received 20 Jan, 2015

Accepted 25 Apr, 2015

**Background and Objectives:** *Listeria monocytogenes* is a psychrophilic bacterium with drought-resistant characteristics and also stable in osmotic stress; these abilities of *Listeria* make it grow in food stuff, leading to contamination. The aim of this study was to assess the frequency of *Listeria* species in raw milk and traditional unpasteurized dairy products in Isfahan, Iran.

**Materials and Methods:** A total of 292 samples of raw milk and traditional, unpasteurized dairy products was examined for 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.

**Results:** Of 292 samples, 21 (7.19%) and 4 (1.36%) were positive for *Listeria* spp. and pathogenic *L. monocytogenes*, respectively. The prevalence of *Listeria* spp. in raw milk, ice cream, cream, and freni was 5/91 (5.49%), 12/63 (19.04%), 3/27 (11.11%) and 1/25 (4%), respectively. *Listeria* was not detected from yogurt, butter, kashk, and cheese. *Listeria innocua* at 16/21 (5.44%) was the most prevalent species isolated, followed by *L. monocytogenes* at 4/21 (19%) and *L. seeligeri* at 1/21 (4.7%). 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 and traditional dairy products 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 of the risks of Listeriosis transmission indicates the need for implementation of a food safety education program. In addition, the Iranian food safety authorities should urgently set up an effective standard to screen all susceptible food products for presence of *Listeria*

**Keywords:** Raw milk, Traditional dairy, *Listeria monocytogenes*