تحقیقی

دارای رتبه علمی-پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

جداسازی، شناسایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *لیستریامونوسیتوژنز* در نمونه های گوشت قرمز

محمد کارگر
دانشیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، ایران

انسیه ابراهیمی
کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، ایران

جاوید امینی
دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمان ، ایران

اکرم نجفی
دانشجوی دکتری میکروبیولوژی دریا ، گروه میکروبیولوژی دریا، مرکز تحقیقات زیست فن آوری دریایی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، ایران

بابک خیرخواه
استادیارمیکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمان، ایران

نویسنده مسئول: محمد کارگر

پست الکترونیک: mkargar@jia.ac.ir
تلفن : ۰۹۱۷۳۱۴۹۲۰۳
آدرس: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، ایران

دریافت: ۹۳/۱/۱٦
ویرایش پایانی: ۹۳/٦/۲۵
پذیرش: ۹۳/٦/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: *لیستریامونوسیتوژنز از باکتری های منتقل شونده از راه مواد غذایی و عامل بسیاری از موارد بیماری اسپورادیک و اپیدمیک در انسان است. این پژوهش با هدف ارزیابی شیوع لیستریا مونوسیتوژنز جدا شده از سطح گوشت قرمز و بررسی مقاوت آنتی بیوتیکی جدایه ها انجام شده است.*

روش بررسی: *در این مطالعه مقطعی - توصیفی، ۴۰۰ نمونه گوشت قرمز از کشتارگاه صنعتی دام شهر کرمان جمع آوری شد. ابتدا نمونه ها در محیط SEB(Simultaneous Enrichment Broth) غنی سازی و سپس در محیط های اختصاصی پالکام آگار و TSBYE(Tryptic Soy Broth Yeast Extract Broth) کشت داده شدند. از آزمون های بیوشیمیایی و روش PCR برای تعیین هویت و از روش انتشار دیسک به منظور ارزیابی حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه ها استفاده شد.*

یافته ها: *از مجموع نمونه های گوشت مورد بررسی، از ۱۲ نمونه گوشت (۳٪) گونه های مختلف لیستریا جداسازی گردید. ژن حدت hly در ۸ (۲٪) نمونه لیستریا مونوسیتوژنز شناسایی شد. همچنین اختلاف معنی داری بین جداسازی لیستریا مونوسیتوژنز از گوشت گوسفند در مقایسه با گوشت گاو وجود داشت. تمامی جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک های کلینداماسین، آمیکاسین و کلرامفنیکل مقاوم و نسبت به پنی سیلین حساسیت داشتند.*

نتیجه گیری: *نتایج نشان داد که میزان آلودگی نمونه های گوشت قرمز در شهر کرمان بسیار پایین است. با توجه به پتانسیل آلودگی گوشت قرمز به لیستریا ضرورت پایش مستمر و تدوین یک برنامه دقیق برای شناسایی این باکتری در کشور وجود دارد.*

واژه های کلیدی: *لیستریا مونوسیتوژنز، ژن hly، گوشت قرمز، آنتی بیوتیک، کرمان*

آدرس مقاله
کارگر م، ابراهیمی ا، امینی ج، نجفی ا، خیرخواه" جداسازی، شناسایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *لیستریامونوسیتوژنز* در نمونه های گوشت قرمز" مجله علوم آزمایشگاهی، ویژه نامه مقاومت دارویی در میکرو ارگانیسم ها، دوره هشتم(شماره ۴):۲۷-۳۳

مقدمه

لیستریا مونوسیتوژنز یکی از مهم ترین باکتری هایی است که از طریق شیرخام، شیر پاستوریزه، سبزیجات به ویژه کلم و گوشت به انسان منتقل می گردد (۱-۳). تا قبل از گزارش آلودگی مواد غذایی با این باکتری، از لیستریوز به عنوان زئونوز، یعنی بیماری منتقله از جانوران به انسان نام می بردند. اما پس از آن به عنوان بیماری منتقله از مواد غذایی شناخته شد(۴،۱). میزان مرگ و میر ناشی از لیستریوزیس، پایین بودن دوز باکتری برای ایجاد عفونت، فراوانی در طبیعت، آلودگی بسیاری از غذاها، تحمل غلظت بالای نمک، رشد در pH و دمای پایین از ویژگی های مهم این باکتری به شمار می آید (۷،۵). پایش *لیستریا مونوسیتوژنز* در نمونه های بالینی و مواد غذایی به دلیل نرخ بالای مرگ و میر تا حدود ۳۰ درصد در بین نوزادان و افراد مسن و نیز میزان بروز سالانه ۲ تا ۱۰ مورد در هر یک میلیون نفر، توسط سازمان بهداشت جهانی توصیه شده است(۹،۸). تهاجم و تکثیر داخل سلولی *لیستریا* با واسطه پروتئین هایی مانند اینترنالین، همولیزین، لیستریولیزین O و فسفولیپاز C صورت می گیرد. سرکوب ایمنی موضعی در هنگام تماس جنین و مادر در جفت ممکن است به دنبال باکتریمی گذرای مادر باعث تسهیل عفونت داخل رحمی گردد (۱۰-۱۲). مطالعات مختلف حضور ژن های بیماری زایی مانند *mpl, hly, plcA, plcB, prfA ,actA* را در *لیستریا مونوسیتوژنز* به اثبات رسانده است (۱۴،۱۳). ژن های حدت در افزایش بیماری زایی و شیوع میکروب های بیماری زا نقش بسزایی دارند. ژن *hly*، *لیستریا مونوسیتوژنز* به عنوان هدف شناسایی و تعیین کیفیت عفونت *لیستریا مونوسیتوژنز* به وسیله روش PCR انتخاب می شود (۱۵-۱۷). بر اساس نتایج ارزیابی بالینی، PCR-*hly* حساسیت بیشتری نسبت به کشت باکتریایی استاندارد و آزمایشات مستقیم دارد. PCR-*hly* ، تشخص لیستریوزیس سیستم عصبی مرکزی را در زمان اطمینان از استریل بودن کشت امکان پذیر می نماید (۱۹،۱۸). بر اساس اعلام مرکز کنترل بیماری ها، *لیستریا مونوسیتوژنز* به طور معمول به آنتی بیوتیک های پنی سیلین، کلرامفنیکل و تتراسایکلین حساس و نسبت به سفالوسپورین ها مقاوم می باشد (۹). این مطالعه با هدف ارزیابی مولکولی *لیستریا مونوسیتوژنز* جدا شده از سطح گوشت قرمز و نیز بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها در شهر کرمان انجام شده است.

روش بررسی

در این مطالعه مقطعی- توصیفی، ۴۰۰ نمونه گوشت گاو و گوسفند کشتارگاه صنعتی دام استان کرمان از مهرماه ۱۳۹۱ تا فروردین ماه ۱۳۹۲ جمع آوری شد و به روش های سوآپ و تکه ای مورد ارزیابی قرار گرفتند. در روش سوآپ ۹ میلی لیتر از محیط غنی کننده SEB به هر لوله آزمایش حاوی نمونه اضافه گردید و در روش تکه ای ۲۵ گرم از هر نمونه گوشت در شرایط استریل به درون لوله های حاوی ۲۲۵ میلی لیتر محیط غنی کننده SEB افزوده شد. لوله ها در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری و سپس مقداری از لوله های حاوی نمونه برداشته و به محیط غنی کننده ثانویه پالکام براث انتقال داده شد. محیط کشت به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری گردید. در ادامه مقداری از محیط در شرایط استریل بر روی محیط انتخابی Palcam Agr کشت داده شد. پلیت های کشت به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و از لحاظ مورفولوژی کلنی بررسی گردیدند. از کلنی های مشکوک به *لیستریا* بر روی محیط غیر انتخابی TSAYE کشت و در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری گردید. به منظور شناسایی بیشتر از رنگ آمیزی گرم و آزمون های بیوشیمیایی از جمله تخمیر قندهای رامنوز، گزیلوز، همولیز، تست کمپ خون گوسفند با *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده شد. نمونه های مشکوک به *لیستریا* تا زمان انجام روش PCR در محیط TSB به صورت گلیسیرینه و در دمای ۲۰- نگهداری شدند. برای انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) استخراج DNA از نمونه های مشکوک به لیستریا با استفاده از کیت DIAtom DAN Prep 100 (ژن فناوران) انجام گرفت. به منظور شناسایی ژن *hly* *لیستریا مونوسیتوژنز* از روش PCR و پرایمرهای اختصاصی *hly* (F:AGCACAACAAACTGAAGCAAAGGA) و

(R:ATTGTGATTCACTGTAAGCCATTTCGTCAT) استفاده گردید. واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در دستگاه ترموسایکلر (Biorad، آمریکا) با شرایط دمایی ۱ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۶۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. محصول PCR به ژل آگاروز ۱/۵ درصد دارای اتیدیوم برماید منتقل و با مارکر ۱۰۰ جفت بازی (پایاپژوهش پارس، ایران) الکتروفورز گردید. در این مطالعه از *لیستریا مونوسیتوژنز* ATCC 19114 که از مرکز کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی ایران تهیه گردید، به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی با روش انتشار دیسک و با استفاده از دیسک های پنی سیلین µg ۱۰، آمپی سیلین µg ۱۰، کوتریماکسازول µg ۲۵، جنتامایسین µg۱۰، کلیندامایسین µg ۲، آمیکاسین µg ۳۰، کلرامفنیکل µg ۳۰ شرکت پادتن طب، بر روی محیط مولر هینتون آگار انجام شد. نمونه ها به مدت ۱۶-۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت فنوتایپ مقاومت بر اساس دستورالعمل Clinical laboratory standard institut) CLSI) تعیین گردید (۲۰). به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده ها از نسخه نوزدهم نرم افزار SPSS و آزمون مجذور کای و آزمون فیشر استفاده گردید.

یافته ها

در پژوهش حاضر میزان آلودگی به *لیستریا مونوسیتوژنز* در ۸ نمونه (۲ درصد) مثبت گزارش شد. در روش تکه ای ۷ نمونه آلوده به جنس لیستریا تشخیص داده شد. با روش PCR مشخص گردید که از این تعداد ۵ نمونه آلوده به *لیستریا مونوسیتوژنز* بوده و در روش سوآپ که نمونه ها به صورت سطحی گرفته شدند، در مجموع ۵ نمونه حاوی باکتری لیستریا بود که ۳ نمونه با روش PCR به گونه *لیستریا مونوسیتوژنز* تعلق داشت (شکل ۱). در این مطالعه با آزمون دقیق فیشر مشخص گردید که بین جداسازی *لیستریا مونوسیتوژنز* و نوع گوشت و همچنین روش جداسازی تکه ای ارتباط معنی داری وجود دارد (p =۰/۰۳). ارزیابی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی لیستریا جداسازی شده در این مطالعه نشان داد که بیشترین میزان مقاومت به ترتیب به آنتی‌بیوتیک های کلرامفنیکل (۵۰٪) و کلیندامایسین (۲۵٪) می باشد. از طرفی کمترین میزان مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک پنی سیلین بود. به طوری که تمامی لیستریاهای جداسازی شده به این آنتی بیوتیک حساس بودند (جدول۱)

جدول۱-الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی *لیستریا مونوسیتوژنز* جداسازی شده از نمونه های گوشت

ماه	گاو	گوسفند	روش سواب	روش تکه ای
مهر	۰	۰	۰	۰
آبان	۱ (۵۰/۱۲)	۰	۱ (۵۰/۱۲)	۰
آذر	۱ (۵۰/۱۲)	۱ (۵۰/۱۲)	۱ (۵۰/۱۲)	۱ (۵۰/۱۲)
دی	۰	۰	۰	۰
بهمن	۰	۱ (۵۰/۱۲)	۰	۱ (۵۰/۱۲)
اسفند	۰	۲(۲۵)	۰	۲(۲۵)
فروردین	۱ (۵۰/۱۲)	۱ (۵۰/۱۲)	۱ (۵۰/۱۲)	۱ (۵۰/۱۲)
جمع	۳(۵۰/۳۷)	۵(۵۰/۶۲)	۳(۵۰/۳۷)	۵(۵۰/۶۲)

بحث

امروزه با توجه به مرگ و میر ناشی از *لیستریا مونوسیتوژنز* در بین نوزادان و افراد مسن و ضایعاتی که بر جای می گذارد همچنین انتقال عفونت از راه جفت به جنین و انتقال آن از طریق مواد غذایی، این باکتری به عنوان یک خطر جدی تلقی می گردد. عوامل زیادی می توانند بر شیوع *لیستریا* در گوشت و محصولات آن تأثیر گذار می باشد و مطالعات مختلف، میزان متفاوتی از شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* را در گوشت دام های مختلف گزارش کرده اند (۲۲،۲۱). بررسی های Bunci در یوگسلاوی (۲۳) و Capitaو همکاران (۲۴)، در اسپانیا نشان داد که میزان آلودگی گوشت های قرمز چرخ شده در این کشور ها به ترتیب ۶۹ و ۳۲ درصد بوده است. Kassa و همکاران *لیستریا مونوسیتوژنز* را از ۳۹/۱ درصد نمونه های گوشت خام، ۱۵/۲ درصد محصولات گوشتی پخته شده و سه درصد از محصولات لبنی کارخانه ای جداسازی نمودند (۲۵). شیوع واقعی *لیستریا مونوسیتوژنز* در ایران ناشناخته می باشد و اطلاعات کمی در مورد حضور *لیستریا مونوسیتوژنز* در محصولات غذایی که در ایران مصرف می شود در دسترس است. عادت های غذا خوردن ایرانیان نیز با الگوی کشورهای غربی متفاوت است. غذاهای مصرفی در ایران به صورت محلی تولید می شود (۲۶). جلالی و عابدی در سال ۲۰۰۸ بررسی خود در مورد میزان آلودگی به *لیستریا مونوسیتوژنز* در نمونه های مواد غذایی اصفهان به روش PCR اعلام نمودند که میزان آلودگی گوشت چرخ شده گاو و گوشت منجمد گوسفند به *لیستریا مونوسیتوژنز و لیستریا ایوانووی* صفر بوده است (۲۶). رحیمی و همکاران در سال ۲۰۰۸ میزان آلودگی گوشت گاو در کشتارگاه های اصفهان را ۳ درصد گزارش نمودند (۲۷). همچنین خلیلی و همکاران در سال ۲۰۱۳ میزان آلودگی گوشت های گوسفندی به لیستریا را ۲/۵ درصد اعلام نمودند (۲۸). این یافته ها با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر که نشان دهنده شیوع ۲ درصدی لیستریا در نمونه های مورد بررسی بوده، مطابقت دارد. ارزیابی الگوی مقاومت آنتی بـیوتیکی گونه های لیستریا در نقاط مختلف نشان می دهد که مقاومت آنتی بیوتیکی *لیستریا* نسبت به اولین مورد گزارش مقاومت این باکتری به آنتی بیوتیک ها در سال ۱۹۹۰، افزایشی نداشته اما سویه هایی نیز ظهور پیدا کرده اند که به یک یا چند آنتی بیوتیک مقاوم شده اند. همچنین گونه *لیستریا مونوسیتوژنز* موجود در مواد غذایی و محیط های غذایی به آنتی بیوتیک هایی که به طور معمول در درمان لیستریوزیس دامپزشکی و انسانی استفاده می شوند، حساس می باشند (۲۹). در مطالعه خلیلی و همکاران ارزیابی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی گونه های *لیستریای* جدا شده از گوشت گوسفندان در شهرکرد، نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های فلوکسین، کولیستین، فورازولیدون و پنی سیلین بوده است (۳۰). Rosaو همکاران در سال ۲۰۱۱ در اسپانیا با استفاده از روش انتشار دیسک مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* جدا شده از طیور را در برابر ۱۵ آنتی بیوتیک در دامپزشکی استفاده می شود، ارزیابی کردند و نشان دادند که بیشترین مقاومت به ترتیب در برابر نالیدیکسیک اسید، نئومایسین، اینروفلوکسین، فورازولیدون، سیپروفلوکساسین و استرپتومایسین بوده است (۳۰). از ۵ جدایه *لیستریا مونوسیتوژنز* جداسازی شده در کشور اردن، مقاومت نسبت به دو آنتی بیوتیک، تتراسایکلین و تیل میکوزین بیشتر از بقیه آنتی بیوتیک های مورد بررسی با روش تعیین رقت بوده است (۳۱). Yucelو همکاران نیز در سال ۲۰۰۵ در ترکیه بیشترین مقاومت *لیستریامونوسیتوژنز* را *نسبت* به آنتی بیوتیک های سفالوتین و نالیدیکسیک اسید گزارش نمودند (۳۲). در مطالعه حاضر ارزیابی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی *لیستریا* جداسازی شده نشان دهنده مقاومت ۵۰ و ۲۵ درصدی سویه ها به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک های کلرامفنیکل و کلینداماسین بوده است. از طرفی تمامی لیستریاهای جداسازی شده به آنتی بیوتیک پنی سیلین حساس بودند. این امر می تواند در اثر عدم استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها در موارد درمانی در منطقه و عدم پیدایش مقاومت نسبت به آنها باشد. عـوامل مختلفی در ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های

مختلف وجود داردکه از جمله می توان به مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها اشاره کرد. بنابراین توجه به چگونگی و میزان مصرف آنتی بیوتیک ها علیه بیماری لیستریوزیس از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است.

نتیجه گیری

پائین بودن درصد آلودگی گوشت قرمز به لیستریا در کرمان دلیل برعدم وجود یا پایین بودن میزان این باکتری در محیط و طبیعت نیست. بلکه این درصد پایین را می توان به عواملی چون فصل جمع آوری نمونه و مکان های نمونه گیری نسبت داد. با توجه به پتانسیل آلودگی گوشت قرمز به *لیستریا* ضرورت پایش مستمر و تدوین یک برنامه دقیق برای شناسایی این باکتری در کشور وجود دارد. همچنین از آنجایی که بیماری لیستریوز یک بیماری مشترک بین انسان و حیوان می باشد، توجه به چگونگی و میزان مصرف آنتی بیوتیک ها به منظور جلوگیری از مقاومت دارویی اهمیت بسیار زیادی دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم و دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان به دلیل حمایت های اجرایی از این پژوهش اعلام می دارند.

References

1. Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes a food-borne patlhogen*. Microbiol Rev. 1991; 55(3): 476-511.

2. Leclercq A. *Atypical colonial morphology and low recoveries of Listeria monocytogenes strains on Oxford, Palcam, rapid'L.mono and ALOA solid media*. Food Microbiol. 2004; 57(2): 251-258.

3. Menaa C, Almeidaa G, Carneiroa LS, Teixeiraa P, Tim Hogga, Gibbs PA. *Incidence of L. monocytogenes in different food product commercialized in Portugal.* J Food Microbiol. 2004; 21(2): 213-216.

4. Asano K, Sashinami H, Osanai A, Asano Y, Nakane A. *Autolysin amidase of L. monocytogenes promotes efficient colonization of mouse hepatocytes and enhances host immune response.* Int J Med Microbiol. 2011; 301(6): 480-7.

5. Cown MM. *Plant products as antimicrobal agent***.** Clin Microbial Rev. 1999; 12(4): 564-582.

6. Aguado V, Vitas AL, Garcia-Jalon I. *Charecterization of Listeria monocytogenes and Listeria innocua from a vegetable processing plant by RAPD and REA.* Int Food Microbial. 2004; 90(3): 34-107.

7. Guillet C, Join-Lambert O, Le Monnier A, Leclercq A, Mechaï F, Mamzer-Bruneel MF, et al. *Human listeriosis caused by Listeria ivanovi* . Emerg Infect Dis. 2010; 16(1): 136-138.

8. Autio T. *Tracing the sources of Listeria monocytogenes contamination and listeriosis using molecular tools*. Department of Food and Environmental Hygiene Faculty of Veterinary Medicine University of Helsinki Finland. 2003.

9. Rocourt J, Benembarek P, Toyofuku H, Schlundt J. *Quantitive risk assessment of listeria. monocytogenes ready to eat foods: The FAO/WHO Approach*. FEMS Immunol Med Microbiol. 2003; 35(3): 236-267.

10. Behari J, Youngman P. *Regulation of hly expression in Listeria monocytogenes by carbon sources and Ph occurs through separate mechanisms mediated by PRFA*. Infect Immun. 1998; 66(8): 3635-3642.

11. Doumith M, Cazalet C, Simoes N, Frangeul L, Jacquet C, Kunst F, et al. *New aspects regarding evolution and virulence of L. monocytogenes revealed by comparative genomics and DNA arrays***.** Infect Immun. 2004; 72(2): 1072-1083.

12. Washington W, Stephen A. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 6th ed. Lippinvott Williams. Philadelphia. 2006; 35: 765-773.

13. de las Heras A, Cain RJ, Bielecka MK, Vázquez-Boland JA. *Regulation of Listeria virulence: PrfA master and commander*. Current Opinion Microbiol. 2011; 14(2): 118-127.

14. Sleator RD, Gahan CG, Mand Hill C. *Postgenomic of osmotolerance in Listeria monocytogenes.* Appl Environ Microbiol. 2003; 69(1): 1-9.

15. Burtun W, Blais M. *Identification of presumptive positive Listeria monocytogenes from foods and environmental samples by the Polymerase Chain Reaction (PCR).*Health Canada, Food Nut. 2006; 3: 22-27.

16. Jiang L, Chen J, xu J, Zhang X, Wang S, Zhao H, et al. *Virulence characterization and genotypic analyses of Listeria monocytogenes isolates from food and processing environments in Eastern China.* Int J Food Microbiol. 2008; 121(1): 53-59.

17. Kargar M, Ghasemi A. *Role of Listeria monocytogenes hly gene isolated from fresh cheese in human habitual abortion in Marvdasht.* Iran J Clin Infect Dis. 2009; 4(4): 214-218.

18.. Le Monnier A, Abachin E, Beretti JL, Berche P, Kayal S. *Diagnosis of Listeria monocytogenes meningoenc encephalitis by real-time PCR for the hly genes*. J Clin Microbiol. 2011; 49(11): 3917-23.

19. Zhang D, Zhang H, Yang L, Guo J, Li X, Feng Y. *Simultaneous detection of Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Salmonella enterica and Escherichia coli O157:H7 in food samples using multiplex PCR method*. J Food Safe. 2009; 29(3): 348-363.

20. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement.* M100S222012. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012.

21. Fenlon DR, Wilson J, Donachie W. *The incidence and level of Listeria monocytogenes contamination of food sources at primary production and initial processing.* J Appl Bacteriol. 1996; 81(6): 641-650.

22. Fillice GA*L. monocytogenes in neonates*. J Infect Dis. 1978; 138(1): 17-23.

23. Bunci S. *The incidence of Listeria monocytogenes in slaughtered animals, in meat, and in meat products in Yugoslavia.* Int J Food Microbiol. 1991; 12(2-3): 173-180.

24. Capita R, Alonso-Calleja C, García-Fernández MC, Moreno B. *Occurrence of Listeria species in retail poultry meat and comparison of a cultural/ immunoassay for their detection.* Int J Food Microbiol. 2001; 65(1-2): 75-82.

25. Gebretsadik S, Kassa T, Alemayehu H, Huruy K, Kebede N. *Isolation of Listeria monocytogenes from food animal origin*. Acta Alimentaris. 1996; 25(1): 83-91.

26. Jalali M, Abedi D. *Prevalence of Listeria species in food products in Isfahan, Iran*. Int J Food Microbiol. 2008; 122(3): 336-340.

27. Rahimi E, Momtaz H, Hemmatzadeh F. *The prevalence of Escherichia coli O157:H7, Listeria monocytogenes and Campylobacter spp. on bovine carcasses in Isfahan, Iran*. Iran J Vet Res. 2008; 9(4): 365-370.[Persian]

28. Khalili Borujeni F, Moshtaghi H, Bonyadian M. *Study on contamination of sheep meat in Shahrekord area with Listeria ivanovii and determination its antibiotic resistance pattern.* Iran J Med Microbiol. 2013; 7(1): 15-21.[Persian]

29. Conter M1, Paludi D, Zanardi E, Ghidini S, Vergara A, Ianieri A. *Characterization of antimicrobial resistance of foodborne Listeria monocytogenes*. Int J Food Microbiol. 2009; 128(3): 497-500.

30. Rosa C, Miguel P, Carlos A, Alonso-Calleja C, Capita R. *Increase over time in the prevalence of multiple antibiotic resistance among isolates of Listeria monocytogenes from poultry in Spain.* Food Control. 2012; 23(1): 37-41.

31. Osaili TM, Alaboudi AR, Nesiar EA. *Prevalence of Listeria* i*. and antibiotic susceptibility of L. monocytogenes isolated from raw chicken and ready to eat chicken products in Jordan.* Food Control. 2011; 22: 586-590.

32. Yucel N, Cltak S, Onder M. *Prevalence and antibiotic resistance of Listeria species in meat products in Ankara, Turkey.* Food Microbiol. 2005; 22(2-3): 241-245.

Isolation, Identification and Antibiotic Resistance Profile of *Listeria Monocytogenes* Strains in Red Meats

Kargar, M. (PhD)
Associate Professor of Microbiology, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Iran

Ebrahimi, E. (MSc)
MSc of Microbiology, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Iran

Amini, J. (MSc)
PhD Student of Microbiology, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Kerman Branch, Iran

Najafi, A. (MSc)
PhD Student of Marine Microbiology, Department of Marine Microbiology, The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

Kheirkhah, B. (PhD)
Assistant Professor of Microbiology, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Kerman Branch, Iran

Corresponding Author: Kargar, M.

Email: mkargar@jia.ac.ir

Received: 5 Apr 2014
Revised: 16 Sep 2014
Accepted: 21 Sep 2014

Abstract

Background and Objective: *Listeria monocytogenes* is a bacterium transferred by foods and is the agent of many sporadic and epidemic diseases in humans. This study aimed to investigate the prevalence of *L. monocytogenes* and to determinine their antibiotic resistance profile in red meats.

Material and Methods: this cross-sectional study was performed on 400 red meat samples obtained from industrial slaughterhouses placed in Kerman, Iran. First, the samples were enriched with Simultaneous Enrichment Broth (SEB), and then plated onto Palcam agar and Tryptic Soy Broth Yeast Extract Broth (TSAYE). After identification of the isolates based on biochemical tests and PCR, the isolates were checked for their antibiotic resistance profile using disk Diffusion

Results: of 400 samples**,** 12 samples (3%) were contaminated with different species of *Listeria*. Using PCR, *hly* gene was recognized in eight samples (2%) of L. *monocytogenes*. Furthermore, there was a significant difference in isolation rate of lamb samples compared to cow ones. While all of the isolates were resistant to clindamycin, amikacin and chloramphenicol, they were sensitive to penicillin.

Conclusion: in spite of low rate of infection in red meat samples in Kerman city, due to high risk of *Listeria* contamination in red meats, we recommend applying a routine screening to identify this bacterium in our county.

Keywords: *Listeria Monocytogenes, Hly Gene,* Red Meat, Antibiotic, Kerman

This paper should be cited as: Kargar M, Ebrahimi E, Amini J, Najafi A, Kheirkhah B. [Isolation, Identification and Antibiotic Resistance Profile of Listeria Monocytogenes Strains in Red Meats]. mljgoums. 2014; 8(Suppl 4): [Article in Persian]