



بررسی آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز در پنیرهای سفید محلی ایرانی

افشین آخوندزاده بستی^۱، بیژن مرادی^۲، زهره مشاک^{۳*}

۱- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲- کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

۳- دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

دریافت مقاله: ۰۵ فروردین ۱۴۰۳، بازنگری: ۲۷ خرداد ۱۴۰۳، پذیرش نهایی: ۲۹ خرداد ۱۴۰۳

 10.22034/nfvm.2024.447823.1233

چکیده

لیستریا مونوسیتوژنز به عنوان یک باکتری گرم مثبت عامل ایجاد عفونت فرصت طلب بسیار کشنده در انسان است که از طریق طیف وسیعی از مواد خوراکی از جمله فراورده های لبنی، گوشتی و سبزیجات قابل انتقال به انسان است. هر چند پنیر سفید محلی در کشور ایران تحت شرایط خوب تولید صورت نمی گیرد، اما تا کنون بررسی جامعی در باره شیوع سروتیپ های مختلف لیستریا مونوسیتوژنز در این فراورده در کشور انجام نشده است. به این منظور شهرهای بابل، قائم شهر، آمل، ارومیه، همدان، تهران و گرمسار به عنوان شهرهایی با مصرف بالای پنیر سفید محلی انتخاب شدند و در مجموع تعداد ۳۴۳ نمونه پنیر محلی ایرانی از مراکز فروش این شهرها جمع آوری و به آزمایشگاه بهداشت و کنترل مواد غذایی منتقل گردید. جداسازی و شناسایی لیستریا مونوسیتوژنز در نمونه ها به کمک غنی سازی اولیه و کشت در محیط انتخابی انجام شده، گونه های جداسازی شده با روش های بیوشیمیایی مورد تأیید قرار گرفتند و سپس سروتیپ هر گونه تعیین گردید. در نهایت شمارش نمونه های مثبت با روش بیشترین تعداد احتمالی ۵ لوله ای انجام شد. در مجموع ۹ مورد از ۳۴۳ نمونه تحت بررسی از نظر وجود لیستریا مونوسیتوژنز مثبت تشخیص داده شد. بیشترین موارد آلودگی از شهر ارومیه (۳ مورد) جداسازی شد. با توجه به احتمال بقای این باکتری در طی فرآوری پنیر سفید محلی، به نظر می رسد نظارت بر نحوه تولید، نگهداری و عرضه این فراورده باید افزایش یابد و تا حد امکان تولید این محصول در کارگاه هایی انجام شود که تحت نظر نهادهای قانونی فعالیت می کنند.

واژگان کلیدی: پنیر سفید محلی ایرانی، لیستریا مونوسیتوژنز، بیشترین تعداد احتمالی، سروتیپ

مقدمه

فرآوری لبنیات سنتی از جمله پنیر سفید محلی، در کشور ایران از نظر بهبود رژیم غذایی مصرف‌کننده و معیشت تولیدکنندگان آنها اهمیت زیادی دارد. افراد زیادی برای محصولات لبنی سنتی به دلیل طعم خاص و خواص تغذیه‌ای مفیدشان ارزش بیشتری قائل هستند (۱-۳). به طوری که، نظرسنجی از مصرف‌کنندگان توسط استال و همکاران (۲۰۰۸) در کنیا و اتیوپی نشان داد که محصولات سنتی هر چند کیفیت میکروبی ضعیف‌تری دارند اما بر محصولات کارخانه‌ای ترجیح داده می‌شوند، زیرا مصرف‌کنندگان به ترتیب طعم و قیمت آنها را ترجیح می‌دهند (۴).

لیستریا مونوسیتوژنز به عنوان یک باکتری میله‌ای گرم مثبت، متحرک، بدون اسپور و عامل ایجاد عفونت فرصت‌طلب و حتی کشنده در انسان است که از طریق طیف وسیعی از مواد خوراکی از جمله فراورده‌های لبنی، گوشتی و سبزیجات قابل انتقال به انسان است. لیستریوز که توسط *لیستریا مونوسیتوژنز* ایجاد می‌شود، عموماً یک بیماری خوش‌خیم برای افراد دارای سیستم ایمنی است. بین ۲ الی ۱۰ درصد افراد بدون بروز علائم بالینی این باکتری را در روده کوچک خود داشته و حامل این میکروارگانیسم محسوب می‌شوند. با این وجود لیستریا می‌تواند برای برخی از افراد، از جمله نوزادان، افراد مسن و بیماران نقص ایمنی، و همچنین افرادی که از دیابت یا بیماری‌های کبدی و کلیوی رنج می‌برند مضر باشد (۵، ۶). مرگ مرتبط با لیستریوز در حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد موارد برای بیماران گروه‌های آسیب‌پذیر رخ می‌دهد (۷). علائم لیستریوز شامل بروز اسهال، تهوع، تب و تشنج است که در فرم تهاجمی منجر به سپتی‌سمی و مننژیت می‌شود. همچنین در خانم‌های باردار می‌تواند منجر به بروز سقط و تولد نوزاد مرده شود (۵، ۶، ۸). در سال ۲۰۱۵، ۲۰۰۶ مورد لیستریوز در اتحادیه اروپا گزارش گردید که منتج به مرگ ۲۷۰ نفر شد. (۸).

در چندین مطالعه نشان داده شده است که میزان

باکتری‌های پاتوژن در محصولات لبنی به کنترل آلودگی در طی مراحل تولید و عرضه بستگی دارد. محمد و همکاران (۲۰۱۸) ویژگی‌های میکروبیولوژیکی پنیر سفید سودانی را بررسی کردند و نشان دادند که در پنیر تولید شده به روش مدرن، کیفیت میکروبی آن بهبود یافته است. پنیر سفید محلی کشور سودان که در کارخانه‌های لبنی تولید می‌شود برای مصرف ایمن‌تر از پنیرهایی می‌باشد که به طور سنتی تولید می‌شوند و برای بهبود کیفیت نیاز به اعمال اقدامات اصلاحی بیشتری دارند (۹). در مطالعه استونیکا کوپیک و همکاران (۲۰۱۹) لبنیات سنتی در مقایسه با لبنیات تجاری آلودگی باکتریایی و قارچی بالاتری را نشان دادند، که علت آن را انتقال دستی شیر خام در روش سنتی در مقایسه با روش تجاری دانستند (۱۰). به طور خلاصه، اگرچه محتوای میکروبی محصولات صنعتی و سنتی ممکن است در طول فرآوری کنترل شود، اما انجام رویه‌های غیر بهداشتی، استفاده از شیر خام آلوده، ظروف غیر بهداشتی، بسته‌بندی نامناسب، عدم نگهداری مناسب محصول و در مجموع فرآوری محصول بدون رعایت شرایط خوب تولید، ممکن است آنها را ناامن کند. پنیرهای محلی اغلب از شیر غیرپاستوریزه تهیه می‌شود، بنابراین وجود میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در شیر مورد استفاده برای تولید پنیر از اهمیت خاصی برخوردار است (۲، ۳، ۷، ۹).

ویژگی‌های خاص باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* احتمال شیوع این میکروارگانیسم را در فراورده‌های لبنی به ویژه پنیر سفید بیشتر کرده است. جنس لیستریا توانایی تحمل شرایط محیطی مختلف از جمله دمای ۱/۰- الی ۴۵ درجه سلسیوس، pH بین ۴/۵ الی ۹/۵ و نمک ۱۰ درصد را دارد و می‌تواند با تعداد بیش از 10^3 میکروارگانیسم در لیتر بقای خود را در حین پاستوریزاسیون ناقص حفظ نماید (۱۱-۱۳). بزرگ‌ترین شیوع لیستریوز توسط پنیر مکزیک در سال ۱۹۸۵ توسط مصرف پنیر سنتی مکزیک رخ داده است که در پی آن ۱۴۸ نفر جان خود را از دست دادند (۱۴).

بررسی آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز در پنیرهای سفید محلی ایرانی

عبیدات و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که پراکندگی سروتیپ‌های مختلف لیستریا مونوسیتوژنز در مناطق مختلف جغرافیایی با یکدیگر متفاوت است و مقاومت آنتی‌بیوتیکی این میکروارگانیسم با نوع سروتیپ آن همبستگی دارد (۱۵). هر چند مطالعات پراکنده‌ای در ایران در مورد میزان شیوع لیستریا در شیر و فرآورده‌های آن انجام شده است، اما تا کنون بررسی جامعی درباره شیوع سروتیپ‌های مختلف لیستریا مونوسیتوژنز در این فرآورده در شهرهای مختلف کشور انجام نشده است.

با توجه به این که این باکتری از نمونه‌های پنیر محلی قابل جداسازی است و سروتیپ‌های جداسازی شده باکتری فوق در نقاط مختلف می‌توانند با هم متفاوت باشند، لذا هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی کمی نمونه‌های پنیر محلی نقاط مختلف ایران از نظر آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز است.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری: شهرهای بابل، قائم‌شهر، آمل، ارومیه، همدان، تهران و گرمسار به‌عنوان شهرهایی با مصرف بالای پنیر سفید محلی انتخاب شده و طی سال‌های ۱۴۰۰ الی ۱۴۰۲ به ترتیب ۳۰، ۳۰، ۵۳، ۶۰، ۶۰، ۶۰ و ۵۰ نمونه، در مجموع تعداد ۳۴۳ نمونه پنیر محلی ایرانی از مراکز فروش فرآورده‌های لبنی خریداری شد. نمونه‌ها هر یک به مقدار ۱۰۰ الی ۱۵۰ گرم، در ظروف استریل جمع‌آوری و در کنار یخ و طی ۲ الی ۸ ساعت به آزمایشگاه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل شد.

شناسایی لیستریا مونوسیتوژنز: جداسازی و شناسایی لیستریا مونوسیتوژنز به روش اصلاحی کشور کانادا برای دستورالعمل سازمان غذا و داروی ایالات متحده انجام گرفت (۱۶). به کمک قاشق استریل میزان ۲۵ گرم از هر نمونه برداشته شده و در ۲۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت غنی‌کننده لیستریا (Listeria Enrichment Broth) (مرک/ آلمان) حاوی ۳۷/۵ گرم بر لیتر تیوسیانات پتاسیم (مرک/ آلمان) و ۰/۰۵ گرم بر لیتر

اسید نالیدیکسیک (سیگما/ ایالات متحده) منتقل شد. پس از هم‌زدن به مدت 15 ± 1 دقیقه، محیط کشت‌های غنی‌کننده به مدت ۴۴ الی ۴۸ ساعت در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس از محیط‌های مذکور میزان ۰/۱ میلی‌لیتر برداشته و روی پلیت محیط کشت انتخابی پالکام (PALCAM Listeria Selective Agar) (مرک/ آلمان) محتوی ۰/۰۵ گرم بر لیتر اسید نالیدیکسیک به‌صورت خطی کشت داده شد و به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت در دمای 35 ± 1 درجه سلسیوس قرار گرفت. کلنی‌های خاکستری با هاله مشکی به‌عنوان میکروارگانیسم‌های مشکوک به لیستریا مونوسیتوژنز در نظر گرفته شد.

تأیید میکروارگانیسم‌های جداسازی شده:

میکروارگانیسم‌های جداسازی شده طی مرحله قبل در پلیت برین هارت اینفیوژن (Brain Heart Infusion agar) (مرک/ آلمان) به‌صورت خطی کشت داده شد و به مدت ۱۸ الی ۲۴ ساعت در دمای 35 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای میکروارگانیسم‌های جداسازی شده آزمون‌های لام مرطوب (Wet Mount) با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ برابر به‌صورت میکروسکوپ فاز کنتراست، رنگ گرم (Gram Staining)، تحرک در دمای ۲۵ و ۳۵ درجه سلسیوس، کاتالاز، همولیز و تخمیر قندهای رامنوز، زایلوز و مانیتول انجام شد. میکروارگانیسم‌های دارای حرکت چرخشی در لام مرطوب، با مورفولوژی کوکوباسیل گرم مثبت در رنگ‌آمیزی گرم، دارای تحرک در دو دمای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد، کاتالاز و همولیز مثبت و دارای توانایی تخمیر قندهای رامنوز، زایلوز و مانیتول به‌عنوان لیستریا مونوسیتوژنز شناسایی شدند.

سروتایپینگ: باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژنز

جداسازی شده با آنتی‌سرم اختصاصی (دیفکو/ ایالات متحده) تیمار شد و با توجه به واکنش مشاهده شده، سروتیپ هر میکروارگانیسم شناسایی شد (۱۷).

شمارش لیستریا مونوسیتوژنز: نمونه‌های پنیر که

از نظر حضور لیستریا مونوسیتوژنز مثبت تشخیص داده

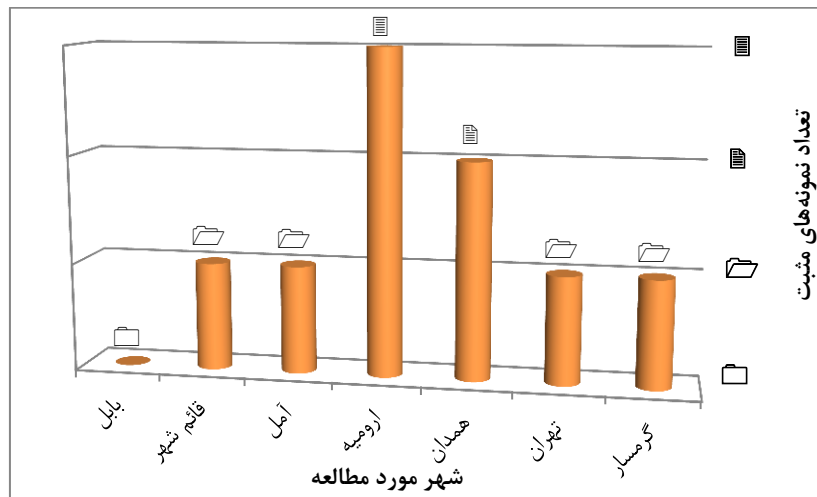
شده بودند جهت شمارش به روش بیشترین تعداد احتمالی (Most Probable Number) یا MPN انتخاب شدند. به این منظور از نمونه‌های مذکور رقت‌های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱، از هر رقت ۵ لوله در محیط کشت غنی‌کننده لیستریا تهیه شد. محیط کشت‌ها به مدت ۴۴ الی ۴۸ ساعت در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس از هر لوله ۰/۱ میلی‌لیتر برداشته شد و در محیط کشت اختصاصی لیستریا پالکام آگار کشت داده شد. به کمک بررسی رشد در پلیت‌ها تعداد لوله‌های مثبت مشخص شده و با توجه به مقادیر ارائه شده در جدول MPN، تعداد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در نمونه‌های مثبت بر حسب MPN/g گزارش شد.

تحت سیستم عامل ویندوز مورد استفاده قرار گرفت. مقایسه نتایج به دست آمده از شمارش میکروبی بین شهرهای مختلف و همچنین بین سروتیپ‌های مختلف به کمک آزمون واریانس یک‌طرفه غیر پارامتری (کروسکال-والیس) و آزمون تعقیبی دان با حد احتمال ۰/۰۵ انجام شد. نمودار مربوطه به کمک نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2017 ترسیم شد.

نتایج

از مجموع ۳۴۳ نمونه پنیر سفید محلی مورد بررسی ۹ نمونه (۲/۶ درصد) دارای باکتری لیستریا مونوسیتوژنز تشخیص داده شد. تعداد نمونه‌های دارای لیستریا مونوسیتوژنز به تفکیک شهرها در نمودار ۱ نشان داده شده است.

تحلیل آماری: برای انجام محاسبات آماری نرم‌افزار



نمودار ۱- فراوانی نمونه‌های پنیر سفید محلی دارای باکتری لیستریا مونوسیتوژنز به تفکیک شهرهای مورد مطالعه

مثبت) بود. جزئیات سروتیپ‌های شناسایی شده و شمارش تعداد باکتری در نمونه‌های مربوطه در جدول ۱ ذکر شده است. لازم به ذکر است که در ۲ مورد جداسازی شده از شهرهای آمل و قائم‌شهر میکروارگانیزم‌های جداسازی شده با هیچ یک از سرم‌های تجاری ضدلیستریا واکنش نداده و به صورت سروتیپ ناشناس باقی ماند.

بیشترین موارد آلودگی مربوط به شهر ارومیه (۳ مورد/ ۳۳/۳ درصد موارد مثبت) و پس از آن شهر همدان (۲ مورد/ ۲۲/۲ درصد موارد مثبت) بود.

بیشترین سروتیپ شناسایی شده سروتیپ 1/2a به تعداد ۴ مورد (۴۴/۴ درصد از موارد مثبت) و پس از آن سروتیپ 4b به تعداد ۳ مورد (۲۲/۲ درصد از موارد

بررسی آلودگی به لیستریا مونوسی‌توزنز در پنیرهای سفید محلی ایرانی

جدول ۱- شمارش تعداد باکتری لیستریا مونوسی‌توزنز و شناسایی سروتیپ‌های مربوطه در نمونه‌های پنیر سفید محلی آلوده به لیستریا مونوسی‌توزنز

ردیف	شمارش تعداد باکتری لیستریا مونوسی‌توزنز در نمونه (MPN/g)	سروتیپ باکتری شناسایی شده	شهر نمونه برداری
۱	۱/۸	4b	قائم شهر
۲	۱۱	-	آمل
۳	۵۸	4b	ارومیه
۴	۹۴	4b	ارومیه
۵	۱/۸	1/2a	ارومیه
۶	۳۸	1/2a	همدان
۷	۱/۸	1/2a	همدان
۸	۳۳	1/2a	تهران
۹	۲	-	گرمسار

هستند که برخی از پنیرهای سفید محلی ایران نیز از این نوع به‌شمار می‌آیند. مطالعات متعدد نشان داده است که بسیاری از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در طی تولید این فراورده از بین نمی‌روند و حتی لیستریا مونوسی‌توزنز قادر است در مراحل از فراوری پنیر، تکثیر یافته و خطر ابتلا را افزایش دهد (۱۹). لانگر و همکاران (۲۰۱۲) طبق گزارشات مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها طی سال‌های ۱۹۹۳ الی ۲۰۰۶ عنوان کردند که در این سال‌ها در نقاط مختلف جهان بالغ بر ۲۷ مورد شیوع بیماری غذازاد از طریق مصرف پنیر سنتی روی داده است (۲۱). همچنین طبق گزارش سازمان غذا و داروی ایالات متحده (۲۰۱۶) از بین ۱۶۰۶ پنیر نیمه‌نرم و سخت تهیه شده از شیر خام که بین سال‌های ۲۰۱۴ الی ۲۰۱۶ از سطح اروپا و ایالات متحده نمونه‌برداری شده بودند، ۱۰ مورد (۰/۶۲ درصد) آلوده به لیستریا مونوسی‌توزنز بودند (۲۲).

در مطالعات پیشین وجود این میکروارگانیسم در نمونه‌های پنیر سفید محلی کشور ایران مورد بررسی قرار گرفته است. بهادر و همکاران (۲۰۱۵) بین سال‌های ۲۰۱۰ و ۲۰۱۳ نمونه‌های لبنی و گوشتی جمع‌آوری شده از شهر تهران را به روش جداسازی در محیط انتخابی و تأیید ژنوتیپی مورد بررسی قرار دادند که در این بین ۵ نمونه از ۷۰ مورد پنیر (۷/۱۴ درصد) مثبت تشخیص داده شد (۲۳). میزان آلودگی نمونه‌های پنیر به این میکروارگانیسم در مطالعه نقی‌زاده حیدرلو و همکاران

میانگین تعداد باکتری‌های لیستریا مونوسی‌توزنز در نمونه‌های مثبت $26/79 \pm 32/42$ MPN/g بود. با توجه به نتایج تحلیل آماری تعداد شمارش باکتری لیستریا مونوسی‌توزنز در نمونه‌های مثبت، در شهر ارومیه به‌طور معناداری بیشتر از شهرهای قائم‌شهر، آمل و گرمسار بود ($p < 0/05$). ارتباط معناداری بین میزان آلودگی میکروبی و سروتیپ‌های جداسازی شده مشاهده نشد ($p > 0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری

لیستریوز به‌عنوان یک بیماری غذازاد نادر، هر ساله بین ۱/۴ الی ۱/۶ درصد افراد جهان را درگیر می‌کند. اما میزان بالای سقط جنین و همچنین مرگ و میر ناشی از این عفونت در افراد در معرض خطر، انتقال این بیماری را از طریق غذایی آماده مصرف به‌عنوان یک نگرانی قابل توجه برای سلامت عمومی تبدیل کرده است. به همین دلیل در سال‌های ابتدایی قرن حاضر سازمان‌ها و نهادهای قانونگذار از جمله سازمان جهانی کشاورزی و غذا، سازمان بهداشت جهانی، سازمان غذا و داروی ایالات متحده و کمیته تدوین راهنمای کدکس در بیانیه‌ها و استانداردهای جداگانه خطر انتقال این میکروارگانیسم را ارزیابی کرده و راهکارهایی را برای جلوگیری از آن ارائه نموده‌اند (۱۸-۲۰).

طبق اظهار سازمان بهداشت جهانی یکی از مهم‌ترین مواد غذایی در شیوع لیستریا مونوسی‌توزنز پنیرهای نرم

(۲۰۲۱) ۴ از ۴۴ مورد (۹/۰۹ درصد) بود. به این ترتیب که طیف وسیعی از نمونه‌های بالینی، غذایی و دامی مورد بررسی قرار گرفت و از بین مواد غذایی مختلف شامل پنیر، عصاره مرغ، عصاره گوشت، شیر و سوسیس، بیشترین آلودگی مربوط به نمونه‌های پنیر بود (۲۴). دهنوی و همکاران (۲۰۲۱) ۶۰ نمونه پنیر سنتی را از مراکز فروش سطح تهران تهیه نمودند که در این بین ۱ مورد (۱/۶۷ درصد) آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بود. با توجه به تنوع اقلیمی ایران، نامبردگان انجام مطالعات مشابه را در سایر نقاط کشور قویاً توصیه نمودند. در مطالعه حاضر شیوع لیستریا مونوسیتوژنز در ۳۴۳ نمونه جمع‌آوری شده از شهرهای مختلف کشور بررسی شد و در نهایت وجود لیستریا مونوسیتوژنز در ۹ نمونه (۲/۶۲ درصد) مورد تأیید قرار گرفت (۲۵).

تفاوت در نوع نمونه‌برداری، تعداد نمونه و روش‌های مختلف آزمایش، مقایسه مطالعات مختلف در این زمینه را با چالش مواجه ساخته است. ضمناً تفاوت جغرافیایی در نقاط مختلف کشور و همچنین تفاوت بین نحوه تهیه پنیر محلی در شهرهای مختلف می‌تواند یکی از دلایل تفاوت نتایج میزان شیوع لیستریا مونوسیتوژنز در مطالعات مختلف باشد. در مطالعه حاضر برای اولین بار، آلودگی پنیر سفید محلی به باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در ۷ شهر مختلف کشور مورد بررسی قرار گرفته است. محمودی (۲۰۱۰) وجود لیستریا مونوسیتوژنز را در نمونه‌های شیر خام و فراورده‌های لبنی ۲ تولیدکننده سنتی را در نورآباد ممسنی بررسی کرد که از بین ۶۰ نمونه پنیر سفید سنتی، ۳ نمونه (۵/۰ درصد) آلوده تشخیص داده شد. در این مطالعه هیچ‌یک از نمونه‌های ماست و دوغ آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز نبود که می‌تواند به دلیل pH پایین این فراورده‌ها باشد (۲۶). در مطالعه رحیمی و همکاران (۲۰۱۰) طی ۲ سال پی‌پی انواع فراورده‌های لبنی سنتی و تجاری، در ۱۱ شهر استان اصفهان از نظر وجود گونه‌های مختلف لیستریا بررسی شد که از بین ۶۰ نمونه پنیر سنتی، آلودگی ۹ مورد (۱۵/۰ درصد) به لیستریا

مونوسیتوژنز مورد تأیید قرار گرفت (۲۷). در این مطالعه هیچ یک از فراورده‌های تجاری تهیه شده با شیر پاستوریزه آلودگی به گونه‌های مختلف لیستریا را نشان ندادند. حاج حسینی و همکاران (۲۰۱۴) فراورده‌های مختلف گوشتی و لبنی را با روش استاندارد بین‌المللی و تأیید ژنتیکی بررسی کرده و نشان دادند که از ۲۰ نمونه پنیر نرم شهر قزوین ۹ مورد (۴۵ درصد) آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بوده است (۲۸). اکرمی مهاجری و همکاران (۲۰۱۷) با روشی مشابه، شیر خام و فراورده‌های سنتی شهر یزد را جهت مطالعه خود انتخاب کردند که از بین ۱۲۰ نمونه پنیر سنتی ۹ مورد (۷/۵ درصد) از نظر لیستریا مونوسیتوژنز مثبت بود (۱). مشاک و روشنی (۲۰۱۹) پنیر سنتی کوزه‌ای را در شهرهای سقز، بانه و سنندج از استان کردستان از نظر ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی مورد مطالعه قرار دادند. در نهایت هیچ‌یک از نمونه‌های مورد بررسی (صفر درصد) از نظر لیستریا مونوسیتوژنز مثبت تشخیص داده نشد که این امر می‌تواند به دلیل ماهیت سخت این نوع پنیر و نحوه فراوری آن (رسیدن در کوزه سفالی مدفون به مدت حداقل ۳ ماه) باشد (۲). در مطالعه حاضر برای اولین بار شیوع لیستریا مونوسیتوژنز در نمونه‌های پنیر سفید محلی چند شهر مختلف کشور بررسی شده که کمترین تعداد موارد مثبت مربوط به شهر بابل (صفر) و بیشترین موارد مربوط به شهر ارومیه (۳ مورد) بوده است که از نظر آماری اختلاف معناداری داشته‌اند ($p < 0.05$).

وجود اختلاف آلودگی در نتایج شهرهای مختلف می‌تواند به علت میزان رعایت نکات بهداشتی، شیوه فراوری، نحوه انتقال فراورده، وجود استارترهای لاکتیکی متفاوت و همچنین نوع سروتیپ باکتری آلوده کننده باشد (۲، ۹، ۲۹). در مطالعات پیشین نشان داده شده که حدت و مقاومت سروتیپ‌های مختلف لیستریا مونوسیتوژنز با هم متفاوت است (۱۷). بنابراین در مطالعه حاضر پس از جداسازی میکروارگانیزم، ویژگی‌های سروتیپی آن نیز بررسی شد که در مطالعات پیشین در کشور ما کمتر مورد

بررسی آلودگی به لیستریا مونوسی‌توزنز در پنیرهای سفید محلی ایرانی

مجموع ۸ سویه مختلف لیستریا مونوسی‌توزنز جداسازی شد. هر چند این مطالعه در ردیابی منشاء آلودگی، یافته‌های زیادی نداشت، اما یک مورد از سویه‌های جداسازی شده در سطوح کاری، اتاق رسیدن پنیر و اتاق فرآوری نیز جداسازی شد که نشان‌دهنده راه‌های دیگری برای انتقال این میکروارگانیسم، غیر از انتقال از طریق شیر خام است (۳۳). لطف‌اللهی و همکاران (۲۰۱۷) شناسایی سروتیپ باکتری‌های لیستریا مونوسی‌توزنز جداسازی شده از انسان، غذا و دام را در ایران انجام دادند. از ۱۳۰ نمونه پنیر مورد بررسی ۴ مورد (۳/۱ درصد) مثبت اعلام شد. با توجه به نتایج این مطالعه شیوع سروتیپ‌های بالینی که به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین G مقاوم بودند، به غیر از یک مورد جداسازی شده از پنیر، در سایر سویه‌های جداسازی شده از مواد غذایی یافت نشد (۳۴). در مطالعه عبدالوی و همکاران (۲۰۲۰) به‌طور مشابه چنین مطالعه‌ای بر روی نمونه‌های پنیر و موارد مرتبط با تولید آن در کشور الجزایر انجام شد. در این مطالعه پنیرها بر اساس نوع به سه دسته تقسیم شد. در ۱۵۰ نمونه مربوط به تولید پنیرهای فشرده مجموعاً ۶ گونه از شیر خام و یک مورد مربوطه به پنیر اصلاح شده، از ۱۳۵ نمونه مربوط به تولید پنیرهای نرم ۱ نمونه از شیر خام و از ۱۰۰ نمونه مربوط به پنیرهای سخت ۱۱ نمونه از پنیرهای رنده شده بسته‌بندی و ۱ نمونه از سطوح جداسازی شد (مجموعاً ۲۰ مورد از ۳۸۵ نمونه) که از این بین ۱۰، ۷، ۲ و ۱ نمونه به ترتیب متعلق به سروتیپ‌های 4b، 1/2b، 1/2a و 4c بودند (۳۵). در مطالعه کنونی نیز ۴ و ۳ سویه جداسازی شده به ترتیب متعلق به سروتیپ‌های 1/2a و 4b بودند. همچنین ۲ نمونه جداسازی شده از شهرهای گرمسار و آمل تعیین سروتیپ نشدند. هر چند تعداد نمونه‌های جداسازی شده در این مطالعه محدود است، اما به‌عنوان یکی از یافته‌ها سروتیپ 4b از نمونه‌های پنیر شهرهای قائم‌شهر و ارومیه واقع در شمال و شمال غرب کشور جداسازی شده‌اند. در حالی که سروتیپ 1/2a از نمونه‌های پنیر شهرهای همدان، تهران و ارومیه

توجه قرار گرفته است. در مطالعه گیلوت و همکاران (۱۹۹۶) طی سال‌های ۱۹۹۰ الی ۱۹۹۲ در کشور بلژیک، سویه‌های مختلف لیستریا مونوسی‌توزنز پس از جداسازی از افراد مبتلا و فراورده‌های غذایی، با روش سروتایپینگ افتراق داده شد. در این میان ۱۷۸ سویه لیستریا مونوسی‌توزنز از نمونه‌های پنیر جداسازی شد که بیشترین سروتیپ متعلق به گروه 1/2a (۷۹/۸ درصد) و سپس سروتیپ‌های 4b (۱۱/۸ درصد) و 1/2b (۵/۰ درصد) بود (۳۰). دا سیلوا و همکاران (۲۰۰۱) با روش‌های بیوشیمیایی، مولکولی و تکنیک‌های سروتایپینگ سویه‌های لیستریا مونوسی‌توزنز جداسازی شده از نمونه‌های پنیر برزیلی را بررسی نموده و بیان داشتند که ۵۹/۹، ۲۷/۵ و ۱۲/۶ درصد از میکروارگانیسم‌های مورد بررسی به ترتیب متعلق به سروتیپ‌های 1/2a، 1/2b و 4b بودند. لازم به ذکر است که هر چند برخی از سویه‌های جداسازی شده فاقد یک یا دو شاخص بیماری‌زا بودند، اما همگی حداقل یک شاخص بیماری‌زا را داشتند و این نشان‌دهنده اهمیت بالینی سه سروتیپ مذکور است (۳۱). پینتادو و همکاران (۲۰۰۵) در خلال سال‌های ۱۹۹۵ و ۱۹۹۶ به بررسی مشخصات سروتیپ‌های لیستریا مونوسی‌توزنز جداسازی شده از ۶۳ نمونه پنیر نرم کشور پرتغال پرداختند که این پنیرها با روش‌های سنتی و با استفاده از شیر خام گوسفند تهیه می‌شوند. از ۶۳ نمونه مورد بررسی ۲۹ مورد (۴۶ درصد) آلوده به لیستریا مونوسی‌توزنز بودند که از این بین ۲۰، ۳ و ۱ مورد به ترتیب دارای سروتیپ‌های 4b، 1/2b و 1/2a بودند و برای ۵ مورد، هیچ سروتیپی مورد شناسایی قرار نگرفت (۳۲). در مطالعه فاکس و همکاران (۲۰۱۱) عوامل بروز آلودگی لیستریا مونوسی‌توزنز در پنیر مورد توجه قرار گرفت و در گونه‌های جداسازی شده از نمونه‌های شیر خام، پنیر، محیط تولید و فروشگاه‌ها، در کنار روش‌های مولکولی از نظر سروتایپینگ هم بررسی شدند. در این مطالعه گسترده که شامل بررسی ۱۶ مرکز تولیدی پنیر در سال‌های ۲۰۰۷ و ۲۰۰۸ در کشور ایرلند بود، در

جداسازی شده است. این دو سروتیپ از نظر بالینی سروتیپ‌های مهمی محسوب می‌شوند و فراوانی شیوع این موارد با سایر مطالعات انجام شده مطابقت نسبی دارد.

طبق استاندارد EN ISO 11290-1: 2017 وجود آلودگی یه یک کلنی لیستریا مونوسی‌توژنز در ۲۵ گرم نمونه می‌تواند موجب مردود شدن آن ماده غذایی شود (۳۶). وابستگی بروز عفونت لیستریوز به سیستم ایمنی میزبان، تعیین دوز عفونت‌زا را برای آن با چالش روبرو کرده است. با این حال مطالعات مختلف تأکید کرده‌اند که ایجاد بیماری توسط لیستریا مونوسی‌توژنز تا حد زیادی به تعداد این باکتری در محصول آلوده بستگی دارد (۳۷). کابو و همکاران (۲۰۰۷) که در ایالت کاتالون کشور اسپانیا، آلودگی فراورده‌های آماده مصرف به لیستریا و سالمونلا را بررسی می‌کردند، نوعی روش نیمه کمی (تهیه رقت‌های ۱۰ برابر از هر نمونه و جستجوی میکروبی برای هر رقت) را برای ارزیابی تعداد میکروارگانیسم‌ها انتخاب کردند. در مجموع تعداد ۷۸ نمونه پنیر تازه مورد بررسی قرار گرفت که از این بین ۱ مورد (۱/۳ درصد) آلوده به لیستریا مونوسی‌توژنز با تعداد بین ۱۰ الی ۱۰۰ CFU/g بود (۳۸). موسوی و همکاران (۲۰۱۴) در یک مطالعه کوتاه به بررسی شیرهای مورد استفاده برای تهیه پنیر سنتی لیقوان در شهر تبریز پرداختند. وی از روش شمارش در محیط کشت اختصاصی پالکام آگار برای ارزیابی کمی نمونه‌ها استفاده کردند و دریافتند که از ۱۸ نمونه شیر مورد بررسی، ۹ نمونه (۵۰ درصد) آلوده به لیستریا مونوسی‌توژنز است و تعداد باکتری لیستریا مونوسی‌توژنز در نمونه‌های آلوده بین ۱۰ الی ۸۰ CFU/ml (به‌طور میانگین ۴۰ CFU/ml) گزارش شد. در مطالعه حاضر از روش ۵-MPN لوله‌ای برای شمارش لیستریا مونوسی‌توژنز استفاده شده است که به نظر می‌رسد نسبت به روش شمارش مستقیم برای شمارش مقادیر کم باکتری لیستریا مونوسی‌توژنز روش مناسب‌تری باشد (۳۹). آوولات و بسه (۲۰۱۶) در یک مطالعه مروری عنوان کردند که مقادیر کم باکتری لیستریا مونوسی‌توژنز در مواد غذایی دارای اهمیت

است و روش شمارش سطحی قادر به بررسی دقیق مقادیر باکتریایی کمتر از ۱۰۰ CFU نیست. بنابراین روش بررسی بیشترین تعداد احتمالی یا MPN را به‌عنوان یکی از روش‌های مناسب برای شمارش این میکروارگانیسم در فراورده‌های غذایی از جمله پنیر معرفی کردند (۴۰). جرارد و همکاران (۲۰۱۸) به جمع‌بندی مطالعات مهم در زمینه جداسازی لیستریا مونوسی‌توژنز از نمونه‌های پنیر پرداختند و کم بودن داده‌ها در زمینه شمارش این باکتری را به‌عنوان یک کمبود مهم در مطالعات مربوطه عنوان کردند (۴۱). با توجه به این که شمارش لیستریا مونوسی‌توژنز اطلاعات مفیدی از شیوع، بقا و بیماری‌زایی این میکروارگانیسم ارائه می‌کند، در مطالعه حاضر به‌عنوان یکی از محدود مطالعات در زمینه شمارش تعداد باکتری لیستریا مونوسی‌توژنز با روش بیشترین تعداد احتمالی MPN که روشی مناسب جهت ارزیابی تعداد کم میکروارگانیسم‌ها است، انجام شد که ۴ نمونه از موارد جداسازی شده دارای شمارش کمتر از ۱۰ MPN/g و ۵ نمونه دارای شمارش بین ۱۰ الی ۱۰۰ MPN/g بودند. بیشترین شمارش باکتری لیستریا مونوسی‌توژنز مربوط به شهر ارومیه و پس از آن شهرهای همدان و تهران بود، به‌طوری که شمارش میکروبی محاسبه شده در نمونه‌های مثبت شهر ارومیه به‌طور معناداری بیشتر از شهرهای قائم‌شهر، آمل و گرمسار بود ($p < 0.05$). در این مطالعه ارتباط معناداری بین میزان آلودگی میکروبی و سروتیپ‌های جداسازی شده مشاهده نشد. جهت بررسی دلایل بروز آلودگی بیشتر در شهر ارومیه بررسی‌های بیشتری درباره الگوی شیوع باکتری لیستریا، شرایط تولید پنیر سنتی و نحوه عرضه آن ضروری به نظر می‌رسد.

در مورد منشاء شیوع لیستریا مونوسی‌توژنز در انواع فراورده‌های لبنی و مخصوصاً پنیر و همچنین راهکارهای کاهش و حذف آن مطالعات بسیاری انجام شده است. بریتو و همکاران (۲۰۰۸) اقدام به بررسی آلودگی‌های لیستریایی در نمونه‌های پنیر محلی در کشور برزیل نمودند. از مجموع ۵۵ نمونه مورد بررسی ۲ مورد مثبت

بررسی آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز در پنیرهای سفید محلی ایرانی

شیر خام آلوده به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل شیوع لیستریوز عنوان شد، اما در کنار آن عواملی مانند عدم رعایت نکات بهداشتی و نبود نظارت از سوی مراجع معتبر، هشدار داده شد. با توجه به این که در مطالعه حاضر بیشترین موارد آلودگی در شهرهای ارومیه و همدان بوده است، نظارت بر نحوه تولید پنیر محلی در این مناطق اهمیت بالاتری دارد (۴۴). در مطالعه کلانتری پور و حنیفیان (۱۳۹۶) فراوانی، تنوع گونه‌ای و ویژگی‌های فنوتیپی سویه‌های لیستریای جداسازی شده از نمونه‌های پنیر سنتی شهر تبریز بررسی شد که از بین ۱۰۰ نمونه پنیر سنتی مورد بررسی ۵ نمونه آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بودند. سویه‌های جداسازی شده با تعداد ۸ واحد لگاریتمی تحت آزمون مقاومت حرارتی قرار گرفتند و در نهایت مشخص شد که همگی در دمای ترمیزاسیون (۶۳ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه) دارای مقاومت نسبی هستند، اما در برابر فرایند پاستوریزاسیون غیر فعال می‌شوند. در نهایت با توجه به مشاهده مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به همراه قابلیت تولید بیوفیلم در برخی از سویه‌ها، اعمال کنترل‌های بهداشتی بیشتر پیشنهاد شد. از سوی دیگر نوع پنیر و نحوه فرآوری آن می‌تواند در شیوع و بقای میکروبی مؤثر باشد (۴۵). خدمتی مرصع و همکاران (۱۳۹۸) در بازه زمانی پاییز ۱۳۹۶ الی تابستان ۱۳۹۷، آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز را در ۱۲۸ نمونه پنیر سنتی عرضه شده در شهر قزوین بررسی کردند که در این بین ۱۴ نمونه (۱۰/۹ درصد) مثبت بودند. از موارد آلوده ۱، ۱، ۹ و ۳ نمونه به‌ترتیب از نوع پنیر کوزه‌ای گوسفندی، کوزه‌ای گاوی، پنیر سفید و ليقوان بودند (۴۶). در مطالعه حاضر نمونه‌های پنیر مورد بررسی همگی از نوع پنیر سفید محلی بودند که از نظر قوام در دسته پنیرهای نرم و نیمه‌نرم طبقه‌بندی می‌شوند.

نتایج به‌دست آمده در این مطالعه تأییدکننده داده‌های سایر مطالعات انجام شده در سطح کشور است. تولید پنیرهای سنتی خارج از نظارت‌های بهداشتی موجب بروز خطرات بالقوه فراوانی است که ارائه آموزش‌های

بودند که هر دو مربوط به یک واحد تولیدکننده بود. جهت بررسی منشاء بروز این آلودگی نمونه‌های شیر خام، شیر پاستوریزه، پنیر و محیط تولید به‌طور کامل مورد بررسی قرار گرفت و در مجموع ۳۴۴ نمونه مثبت از این تولیدی جداسازی شد که همگی دارای سروتیپ 1/2a بودند. در نهایت ظروف مرحله خنک کردن و تجهیزات ناحیه نگهداری به‌عنوان منابع آلودگی معرفی و انجام مطالعات جامع در نقاط مختلف کشور برزیل توصیه شد. هر چند در مطالعات مختلف عدم پاستوریزاسیون شیر به‌عنوان یک عامل مهم بروز آلودگی در پنیرهای محلی ذکر شده است، اما در مطالعه مذکور هیچ‌یک از نمونه‌های شیر خام آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز نبودند (۴۲). در مطالعه مرادی و همکاران (۱۳۸۷) رفتار باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در روند تولید پنیر سفید ایرانی مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور پس از حرارت‌دهی ملایم شیر، سوسپانسیون میکروبی لیستریا مونوسیتوژنز به آن اضافه شد، به‌طوری که تعداد 10^3 باکتری در هر میلی‌لیتر شیر حاصل شد. سپس به نیمی از نمونه‌ها استارتر لاکتیکی و به سری دوم استارتر لاکتیکی اضافه نشد و در نهایت مشاهده شد که افزایش تعداد باکتری در طی دوره فرآوری در نمونه‌های دارای استارتر به‌طور معناداری کمتر از نمونه‌های فاقد استارتر است (۴۳). بنابراین به نظر می‌رسد که در صورت عدم استفاده از شیرهای استریلیزه برای تهیه پنیرهای محلی، خطر بروز آلودگی با باکتری لیستریا مونوسیتوژنز بیش از پیش افزایش یابد. از سوی دیگر یکی از دلایل کم بودن آلودگی به لیستریا در برخی از شهرها می‌تواند نوع استارتر بکار رفته در تهیه پنیر در آن منطقه باشد. در هر صورت بسط این فرضیه نیازمند انجام مطالعات گسترده‌تری است. شاملو و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی شیوع گونه‌های مختلف لیستریا در فراورده‌های لبنی شهر اصفهان پرداختند که از ۹۱ نمونه شیر خام مورد بررسی ۴ مورد (۴/۳۹ درصد) آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز بودند، در حالی که در سایر فراورده‌های لبنی شامل پنیرهای سنتی، این میکروارگانیسم مشاهده نشد. بنابراین هر چند

نمونه‌برداری از محصول نهایی پیش از عرضه به مشتری راه مناسبی برای رصد این گونه آلودگی‌ها می‌باشد. بررسی ارتباط فلور میکروبی پنیرهای محلی و آلودگی به لیستریا مونوسیژنوز می‌تواند به عرضه استارترهای لاکتیکی بهینه، جهت تولید ایمن این فراورده کمک شایانی نماید (۲، ۲۹، ۳۴، ۳۷، ۳۹، ۴۴).

سیاسگزاری

بدین‌وسیله گروه نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از واحد بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ابراز می‌دارد.

References

1- Akrami-Mohajeri F, Derakhshan Z, Ferrante M, Hamidiyan N, Soleymani M, Conti GO, et al. The prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria spp* in raw milk and traditional dairy products delivered in Yazd, central Iran (2016). *Food Chem Toxicol*. 2018; 114: 141-4.

2- Mashak Z, Rooshani J. The survey of chemical and microbial characteristics of traditional Koozeh-Cheese (Koopeh) in Kurdistan province. *New Find Vet Microbiol*. 2019; 2(1): 67-80 [In Persian].

3- Vaziri S, Norouzi M. Investigation of the contamination level of local Liqvan Tabriz cheeses with coliforms and *Escherichia coli* in Maragheh city. *Iran J Med Microbiol*. 2011; 5(7): 23-27 [In Persian].

4- Staal SJ, Nin Pratt A, Jabbar MA. Dairy development for the resource poor. Part 2: Kenya and Ethiopia. Dairy development case studies. PPLPI Working Paper 44-2, Rome: Food and Agriculture Organization. 2008; P: 17-26.

5- Doorduyn Y, De Jager CM, Van Der Zwaluw WK, Wannet WJ, Van Der Ende A, Spanjaard L, et al. Invasive *Listeria monocytogenes* infections in the Netherlands, 1995–2003. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006; 25: 433-42.

6- Buchanan RL, Gorris LG, Hayman MM, Jackson TC, Whiting RC. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food control*. 2017; 75: 1-3.

7- Sanaa M, Coroller L, Cerf O. Risk assessment of listeriosis linked to the consumption of two

مناسب برای تولیدکنندگان در زمینه بهداشت دام و شیردوشی، شیوه‌های پاستوریزه کردن شیر خام، روش بهینه نظافت ظروف و محیط و نحوه صحیح نگهداری محصول می‌تواند در کاهش آنها مؤثر باشد. همچنین نظارت بر نحوه تولید، نگهداری و عرضه این فراورده باید افزایش یابد و تا حد امکان تولید این محصول در کارگاه‌هایی انجام شود که تحت نظر نهادهای قانونی فعالیت می‌کنند. با توجه به این که فراهم کردن شرایط مناسب بهداشتی و محدود کردن تولید به افراد دارای مجوز بهداشتی با چالش‌های متعددی روبرو است،

soft cheeses made from raw milk: Camembert of Normandy and Brie of Meaux. *Risk Anal*. 2004; 24(2): 389-99.

8- European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA J*. 2016; 14(12): e04634.

9- Mohamed OA, El Zubeir IE. Comparative study on chemical and microbiological properties of white cheese produced by traditional and modern factories. *Ann Food Sci Technol*. 2018; 19(1): 115-20.

10- Stobnicka-Kupiec A, Golofit-Szymczak M, Górny R. Microbial contamination level and microbial diversity of occupational environment in commercial and traditional dairy plants. *Ann Agric Environ Med*. 2019; 26(4): 555-65.

11- Fleming DW, Cochi SL, MacDonald KL, Brondum J, Hayes PS, Plikaytis BD, et al. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *N Engl J Med*. 1985; 312(7): 404-7.

12- Greenwood MH, Roberts D, Burden P. The occurrence of *Listeria* species in milk and dairy products: a national survey in England and Wales. *Int J Food Microbiol*. 1991; 12(2-3): 197-206.

13- Wilson IG. Occurrence of *Listeria* species in ready to eat foods. *Epidemiol Infect*. 1995; 115(3): 519-26.

14- James SM, Fannin SL, Agee BA, Hall B,

- Parker E, Vogt J, et al.** Listeriosis outbreak associated with Mexican-style cheese. *Morb Mortal Wkly Rep.* 1985; 34: 357-9.
- 15- Obaidat MM, Bani Salman AE, Lafi SQ, Al Abboodi AR.** Characterization of *Listeria monocytogenes* from three countries and antibiotic resistance differences among countries and *Listeria monocytogenes* serogroups. *Lett Appl Microbiol.* 2015; 60(6): 609-14.
- 16- Warburton DW, Farber JM, Armstrong A, Caldeira R, Tiwari NP, Babiuk T, et al.** Canadian comparative study of modified versions of the “FDA” and “USDA” methods for the detection of *Listeria monocytogenes*. *J Food Prot.* 1991; 54(9): 669-76.
- 17- Seeliger HP, Höhne K.** Serotyping of *Listeria monocytogenes* and related species. Vol. 13. Methods in microbiology. Würzburg: University of Würzburg, Academic Press; 1979, P: 31-49.
- 18- US FDA, Centers for Disease Control and Prevention.** Quantitative assessment of relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. College Park, Md: US Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition; 2003.
- 19- World Health Organization.** Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: technical report. Geneva: Food & Agriculture Org.; 2004.
- 20- Codex Alimentarius Commission.** Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control *Listeria monocytogenes* in foods. CAC/GL 61. Rome: Food and Agriculture Organization and World Health Organization; 2007.
- 21- Langer AJ, Ayers T, Grass J, Lynch M, Angulo FJ, Mahon BE.** Nonpasteurized dairy products, disease outbreaks, and state laws—United States, 1993–2006. *Emerg Infect Dis.* 2012; 18(3): 385-91.
- 22- US FDA, FY 2014 – 2016 Microbiological Sampling Assignment - Summary Report: Raw Milk Cheese Aged 60 Days.** Silver Spring: Center for Food Safety and Applied Nutrition; 2016.
- 23- Bahador A, Kalani BS, Valian F, Irajian G, Lotfollahi L.** Phenotypic and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy and meat products. *Avicenna J Clin Microbiol Infect.* 2015; 2(3): 1-6.
- 24- Heidarlo MN, Lotfollahi L, Yousefi S, Lohrasbi V, Irajian G, Talebi M.** Analysis of virulence genes and molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolates from human, food, and livestock from 2008 to 2016 in Iran. *Trop Anim Health Prod.* 2021; 53: 1-9.
- 25- Dehnavi M, Khanjari A, Rezaei E.** Prevalence of *Listeria monocytogenes* in traditional cheeses obtained from food sale centers of Tehran, Iran. *J Food Hyg Saf.* 2021; 7(3): 135-40.
- 26- Mahmoodi MM.** Occurrence of *Listeria monocytogenes* in raw milk and dairy products in Noorabad, Iran. *J Anim Vet Adv.* 2010; 9(1): 16-9.
- 27- Rahimi E, Ameri M, Momtaz H.** Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran. *Food Control.* 2010; 21(11): 1448-52.
- 28- Haj Hosseini A, Sharifan A, Tabatabaee A.** Isolation of *Listeria monocytogenes* from meat and dairy products. *J Med Microbiol Infect Dis.* 2014; 2(4): 159-62.
- 29- Rabinejad F, Ahani AA, Danesh A.** Surveying contamination rate of local lactic cheese with *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Gorgan in 2017. *J Torbat Heydariyeh Univ Med Sci.* 2020, 7(4): 49-57 [In Persian].
- 30- Gilot P, Genicot A, Andre P.** Serotyping and esterase typing for analysis of *Listeria monocytogenes* populations recovered from foodstuffs and from human patients with listeriosis in Belgium. *J Clin Microbiol.* 1996; 34(4): 1007-10.
- 31- da Silva MC, Destro MT, Hofer E, Tibana A.** Characterization and evaluation of some virulence markers of *Listeria monocytogenes* strains isolated from Brazilian cheeses using molecular, biochemical and serotyping techniques. *Int J Food Microbiol.* 2001; 63(3): 275-80.
- 32- Pintado CM, Oliveira A, Pampulha ME, Ferreira MA.** Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from soft cheese. *Food Microbiol.* 2005; 22(1): 79-85.
- 33- Fox E, Hunt K, O'Brien M, Jordan K.** *Listeria monocytogenes* in Irish farmhouse cheese processing environments. *Int J Food Microbiol.* 2011; 145: 39-45.
- 34- Lotfollahi L, Chaharbalesh A, Rezaee MA, Hasani A.** Prevalence, antimicrobial susceptibility and multiplex PCR-serotyping of *Listeria monocytogenes* isolated from humans, foods and livestock in Iran. *Microb Pathog.* 2017; 107: 425-9.
- 35- Abdellaoui L, Bouayad L, Bensefia SA, Hamdi TM.** Serotyping and antibiotic sensitivity of *Listeria monocytogenes* isolated from cheeses

produced in the region of Algiers (Algeria). *Veterinaria*. 2020; 69(1): 43-9.

36- International Organization for Standardization. ISO 11290-1 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria spp.* Part 1: Detection method. 2nd ed. Geneva: ISO publications. 2017; P: 6.

37- National Advisory Committee on microbiological criteria for foods. Recommendations by The National Advisory Committee on microbiological criteria for foods. The ecology of *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol*. 1991; 14(3-4): 216-9.

38- Cabedo L, Barrot LP, Canelles AT. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and Salmonella in ready-to-eat food in Catalonia, Spain. *J Food Protect*. 2008; 71(4): 855-9.

39- Moosavy MH, Esmaceli S, Mostafavi E, Amiri FB. Isolation of *Listeria monocytogenes* from milks used for Iranian traditional cheese in Lighvan cheese factories. *Ann Agric Environ Med*. 2014; 21(4): 728-9.

40- Auvolat A, Besse NG. The challenge of enumerating *Listeria monocytogenes* in food. *Food Microbiol*. 2016; 53: 135-49.

41- Gérard A, El-Hajjaji S, Niyonzima E, Daube G, Sindic M. Prevalence and survival of *Listeria monocytogenes* in various types of cheese - A review. *Int J Dairy Technol*. 2018; 71(4): 825-

43.

42- Brito JR, Santos EM, Arcuri EF, Lange CC, Brito MA, Souza GN, et al. Retail survey of Brazilian milk and Minas frescal cheese and a contaminated dairy plant to establish prevalence, relatedness, and sources of *Listeria monocytogenes* isolates. *Appl Environ Microbiol*. 2008; 74(15): 4954-61.

43- Moradi B, Mashak Z, Moradi B, AmirMozafari N. The study of behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture processing of Feta Cheese. *Vet Sci*. 7 (1): 965-972. [In Persian]

44- 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): 1-5.

45- Kalantaripour A, Hanifian S. *Listeria* isolated from traditional cheeses of Tabriz area: Occurrence, diversity and phenotypic characteristics. *J Food Microbiol*. 2017; 4(2): 83-96. [In Persian]

46- Khedmati Morasa H, Mahmoudi R, Ghajarbeygi P, Mosavi S, Shahsavari S, et al. *Listeria monocytogenes* contamination in unpasteurized traditional cheese products in Qazvin, Iran. *J Mazandaran Uni Med Sci*. 2019; 29(178): 115-26. [In Persian]

analysis and effects on wheat dough performance and bread quality. *LWT*. 2017; 75: 656-62.



Investigating the contamination of *Listeria monocytogenes* in Iranian local white cheese

Afshin Akhondzadeh Basti¹, Bizhan Moradi², Zohreh Mashak^{*3}

1- Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

2- Graduated student, Department of Microbiology, Faculty of Science, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

3- Associate Professor, Department of Food Hygiene, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

Receive: March 24, 2024; Revise: June 16, 2024; Accept: June 18, 2024

 10.22034/nfvm.2024.447823.1233

Summary

Listeria monocytogenes, as Gram-positive bacteria, is the cause of a opportunistic fatal infection in humans, which can be transmitted via a wide range of food products, including dairy, meat, and vegetables. Local white cheese in Iran is not produced under good manufacturing practices, however a comprehensive study about the prevalence of different serotypes of *Listeria monocytogenes* in this product has not been done yet. Babol, Qaemshahr, Amol, Urmia, Hamedan, Tehran and Garmsar cities were selected as areas with high consumption of local white cheese, and 343 samples were collected from the dairy shops and delivered to the Food Safety and Hygiene Laboratory. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes*, from cheese samples were carried out by pre-enrichment and cultivation in the selective media, the isolates were confirmed by biochemical methods, and then the serotype of each species was determined. Finally, the positive samples was enumerated using the five-tubes most probable number method. 9 cases of 343 samples were contaminated for *Listeria monocytogenes*. Most positive cases were isolated from Urmia city (3 cases). Considering the possibility of the survival of this organism during the processing of local white cheese, it seems that the monitoring of the manufacturing, storage and supply should be increased for this product and as much as possible, the production should be done in plants under the supervision of regulatory organizations.

Keywords: Iranian local white cheese, *Listeria monocytogenes*, Most Probable Number, Serotype