Prf A gene in Listeria monocytogenes isolated from food

R. Baharvand*

*M.Sc. in Microbiology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 10:12 +0330 on Thursday March 21st 2019

Abstract

Background: Listeria is a gram-positive bacterium and a facultative food- borne intracellular pathogen. Prf A gene regulates the expression of other genes and is important in virulence.

Objective: The aim of this study was to identify Prf A gene in Listeria monocytogenes isolated from food samples.

Methods: This cross - sectional study was conducted in 212 different food samples collected from different cities in 2012. Listeria monocytogenes was isolated using the cold enrichment method. The Prf A gene was identified using polymerase chain reaction (PCR). Data were analyzed using Chi- square test.

Findings: Of 212 samples, 41 (%19.33) were positive for Listeria spp. Of 41, 22 (%53.6) were Listeria monocytogenes, 15 (%36.5) were L. innocua, 3 (%7.3) were L. welshimri and 1 (%2.4) was L. seeligeri. The Prf A gene was found in 28.5% of L. monocytogenes isolated from vegetable samples and in 100% L. monocytogenes isolated from other samples.

Conclusion: Confirmation of the presence of L. monocytogenes in food and the Prf A gene may be helpful to prevent diseases caused by Listeria.

Keywords: Listeria Monocytogenes, Prf A Protein, Polymerase Chain Reaction, Food

Citation: Baharvand R. Prf A gene in Listeria monocytogenes isolated from food. J Qazvin Univ Med Sci. 2015; 19 (1): 24-31.

Corresponding Address: Robab Baharvand, Golha 1, Golha Ave., Ferdosi Ave., Eastern Goldasht, Khoramabad, Iran
Email: r.baharvand@yahoo.com
Tel: +98-910-6040943
Received: 12 Apr 2014
Accepted: 14 Oct 2014

بررسی حضور ژن prf A در لیستریا مونوسیتوژنز جداسازی شده از مواد غذایی

رباب بهاروند*

* کارشناس ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: خرم آباد، گلدشت شرقی، خیابان فردوسی، خیابان گل‌ها، گل‌های یکم، تلفن ۰۹۱۰۶۰۴۰۹۴۳
Email: r.baharvand@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۱/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۲۲

چکیده

زمینه: لیستریا باکتری گرم مثبت و درون سلولی اختیاریست که از طریق غذا انتقال می‌یابد. ژن prf A تنظیم‌کننده بیان سایر ژن‌های بیماری‌زاست و در بیماری‌زایی باکتری نقش دارد.

هدف: مطالعه به منظور تعیین حضور ژن prf A در لیستریا مونوسیتوژنز جداسازی شده از مواد غذایی مختلف انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تحلیلی در سال ۱۳۹۱ بر روی ۲۱۲ نمونه غذایی مختلف جمع‌آوری شده از شهرهای مختلف انجام شد. لیستریا مونوسیتوژنز با روش غنی‌سازی در سرما جداسازی و حضور ژن prf A توسط روش PCR بررسی شد. داده‌ها با آزمون آماری کای دو تحلیل شدند.

یافته‌ها: از ۲۱۲ نمونه غذایی مورد بررسی، ۴۱ مورد (۱۹/۳۳٪) گونه لیستریا مثبت گزارش شد که ۲۲ نمونه (۵۳/۶٪) لیستریا مونوسیتوژنز، ۱۵ مورد (۳۶/۵٪) لیستریا اینوکوآ، ۳ مورد (۷/۳٪) لیستریا ولشیمری و ۱ مورد (۲/۴٪) لیستریا سیلیگری بود. حضور ژن prf A در لیستریا مونوسیتوژنز جداسازی شده از تمام نمونه‌ها ۱۰۰٪ بود به جز نمونه سبزی‌ها که ۲۸/۵٪ گزارش شد.

نتیجه‌گیری: با تأیید حضور باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در مواد غذایی و حضور ژن prf A شاید بتوان به راه‌هایی جهت پیشگیری از بیماری‌های ناشی از این باکتری دست یافت.

کلیدواژه‌ها: لیستریا مونوسیتوژنز، پروتئین Prf A، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، غذا

مقدمه:

لیستریا باکتری گرم مثبت، بی‌هوازی، بدون اسپور، میله‌ای شکل، با محتوای G+C پایین است. این جنس شامل شش گونه زیر است: لیستریا مونوسیتوژنز (Listeria monocytogenes)، لیستریا ولشیمیری (Listeria welshimeri)، لیستریا ایوانووی (Listeria ivanovii)، لیستریا گرایی (Listeria grayi)، لیستریا اینوکوآ (Listeria innocua) و لیستریا سیلگری (Listeria seeligeri). اگرچه تنها لیستریا مونوسیتوژنز پاتوژن عمده انسان است، ولی وجود بیماری‌های ناشی از لیستریا ایوانووی، لیستریا سیلگری و لیستریا اینوکوآ به صورت نادر گزارش شده است.[1] لیستریا مونوسیتوژنز، پاتوژنی است که از طریق غذا منتقل می‌شود و با چندین عفونت تهاجمی شدید در انسان و حیوان‌ها در ارتباط است. شیوع عفونت تهاجمی لیستریوزیس سالیانه ۲ تا ۹ مورد در هر میلیون نفر است و تقریباً به ندرت رخ می‌دهد. اما یکی از شدیدترین عفونت‌های انتقال یافته از راه غذاست که میزان مرگ و میر آن بالا و در حدود ۳۰ درصد است. بررسی‌های مختلف دلالت بر این دارند که انواع غذا، مانند محصول‌های لبنی، محصول‌های گوشتی، سبزی‌ها و غذاهای دریایی منابع لیستریوزیس ناشی از غذا هستند. نگرانی عمده مربوط به غذاهای آماده مصرف است که در یخچال نگه‌داری می‌شوند و تحت حرارت قابل ملاحظه‌ای قرار نمی‌گیرند.[2] باکتری لیستریا مونوسیتوژنز،

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 10:12 +0330 on Thursday March 21st 2019

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 10:12 +0330 on Thursday March 21st 2019

باکتری فرصت طلب و پاتوژن درون سلولی است که به علت عفونت‌های انسانی ناشی از مواد غذایی در سراسر جهان بسیار مهم است.[۳] گونه‌های باکتری لیستریا قادر به تحمل شرایط سخت مانند pH پایین، درجه حرارت پایین (دمای یخچال) و نمک بالا هستند.[۴] برخلاف بسیاری از پاتوژن‌های روده‌ای دیگر، لیستریا مونوسیتوژنز به علت توانایی رشد در دمای یخچال و تأثیر بر سلامت غذا، به طور قابل ملاحظه‌ای مورد توجه قرار گرفته است. در نتیجه با سرد کردن تا ۴ درجه سلسیوس نمی‌توان اطمینان حاصل کرد که از رشد ارگانیسمی تا این حد خطرناک جلوگیری شده است. به علاوه به خاطر زنده ماندن و تکثیر در دمای یخچال، لیستریا مونوسیتوژنز می‌تواند باعث بیماری از طریق مواد غذایی منجمد شده شود. به علت خصوصیت همه جایی بودن، لیستریا مونوسیتوژنز به راحتی وارد زنجیره غذایی انسان می‌شود و به سرعت تکثیر می‌یابد.[۵]

لیستریوزیس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های باکتریایی مشترک بین انسان و دام می‌باشد. علایم بالینی لیستریوزیس عبارتند از: مننژیت، مننژوانسفالیت، سپتی‌سمی، گاستروانتریت، عفونت‌های قبل از زایمان و سقط جنین.[۶] پروتئین‌های مؤثر در عفونت درون سلولی لیستریا عبارتند از: فسفولیپاز Plc A و Plc B ، پروتئین‌های تهاجمی InlA و InlB، توکسین تشکیل‌دهنده منفذ یا لیستریولیزین O و ActA که باعث حرکت درون سلولی باکتری می‌شود. این عوامل بیماری‌زایی، تحت کنترل تنظیم‌کننده رونویسی prf A تولید می‌شوند که متعلق به خانواده Crp/Fnr و فعال‌کننده رونویسی است. prf A خود تنظیم شونده است.[۷] هدف از این مطالعه جداسازی باکتری لیستریا مونوسیتوژنز از نمونه‌های مواد غذایی و نمونه‌های بالینی اهدایی و بررسی حضور ژن prf A در این باکتری بوده است.

❋مواد و روش‌ها:

این مطالعه تحلیلی در سال ۱۳۹۱ بر روی ۲۱۲ نمونه غذایی (لبنی، گوشتی و سبزی‌ها) از شهرهای تهران، خرم‌آباد، بابل و ورامین انجام شد که با روش نمونه‌گیری تصادفی جمع‌آوری و در آزمایشگاه محمودیه دانشگاه آزاد واحد تهران شمال بررسی شدند. برای تعیین حجم نمونه از فرمول $n = z^2 p(1-p)/d^2$ با خطای α=۰/۰۵٪ استفاده شد. با توجه به امکانات موجود در آزمایشگاه برای انجام این تحقیق از استانداردهای جهانی ۱۰۷۹۳ و ۱۱۵۵۳ و روش ارایه شده توسط مؤسسه استاندارد تحقیقات صنعتی ایران استفاده شد که تغییراتی بر روی آن‌ها اعمال گردید.

نمونه‌های لبنی (شیر خام، پنیر نرم، کره و ماست) به صورت تصادفی از مغازه‌های مختلف شهر تهران و بابلسر جمع‌آوری شدند. نمونه‌گیری از شیر و ماست در بطری‌های در پوش‌دار بود که طی حداکثر دو ساعت به آزمایشگاه منتقل شدند. برای نمونه‌گیری از کره و پنیر، از کاغذهای آلومینیومی استفاده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس ۲۵ میلی‌لیتر از نمونه به وسیله پی پت استریل به ۲۲۵ میلی‌لیتر محیط غنی‌کننده BHI اضافه شد. تمام نمونه‌ها به مدت هفت تا بیست روز در دمای ۴ درجه سیلسیوس یخچال قرار داده شدند تا باکتری به طریقه غنی‌سازی در سرما به دست آید.

فرآورده‌های گوشتی (۳۰ نمونه گوشت گرفته شده از کشتارگاه شهر خرم‌آباد، ۱۰ نمونه مرغ منجمد و فریز شده از فروشگاه‌های شهر تهران و خرم‌آباد و ۵ نمونه سوسیس، ۵ نمونه کوکتل و ۱۰ نمونه ژامبون به شکل بسته‌بندی شده) در اسرع وقت به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های گوشتی در کنار شعله و با استفاده اسکالپل در اندازه‌های ۲۵ گرمی برش داده شدند و در محیط BHI broth و Listeria enrichment broth کشت داده شدند. محیط حاوی نمونه‌ها در یخچال و در دمای ۴ درجه سیلسیوس به مدت یک هفته نگه‌داری شد.

۸۲ نمونه سبزی‌ها (۲۳ نمونه کاهو، ۱۹ نمونه کلم سفید، ۱۵ نمونه قرمز، ۱۳ نمونه کرفس و ۱۲ نمونه جعفری) از مزارع اطراف بهشت زهرای تهران و زمین‌های

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 10:12 +0330 on Thursday March 21st 2019

کشاورزی ورامین و ۹ مغازه میوه فروشی و غذاهای آماده مصرف در سطح شهر تهران تهیه شد. نمونه‌ها درون کیسه‌های فریزر استریل و به طور مجزا درون فلاسک حاوی یخ گذاشته و به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها جداگانه درون هاون چینی استریل له و به درون محیط BHI broth و Listeria enrichment broth منتقل و در یخچال به مدت یک هفته نگه‌داری شدند.

نمونه‌های غذایی مورد بررسی بعد از ۷ روز به دفعات روی محیط BHI agar، مولر هینتون و محیط اختصاصی Listeria enrichment agar کشت داده شدند. کلنی رشد یافته با آزمایش‌های مختلف بیوشیمیایی زیر بررسی شد: حرکت، کاتالاز، اکسیداز، بایل- اسکولین، MR-VP، گلوکز، مالتوز، مانیتول، رامنوز و گزیلوز. با توجه به شرایط رشد لیستریا مونوسیتوژنز، این باکتری با روش غنی‌سازی در سرما طی مدت زمان نسبتاً طولانی (حدود ۶ ماه) جدا شد. سپس کلنی باکتری به محیط نگه‌دارنده پپتون گلیسرول منتقل و در دمای ۲۰- درجه سیلسیوس نگه‌داری شد. برای استخراج DNA، ابتدا نمونه باکتری به مدت ۲۴ ساعت روی محیط LB برده شد و در انکوباتور شیکردار قرار گرفت و از کیت MBST (ساخت ایران System Transfer Molecular Biological) مطابق با دستور کار موجود در کیت استفاده شد. جهت بررسی حضور ژن prf A در روش PCR، ابتدا پرایمر مربوط به این ژن در سایت NCBI، بلاست گردید و بعد از تأیید، پرایمر از شرکت روبین طب خریداری و حضور باند DNA با استفاده از ژل الکتروفورز بررسی شد. پرایمرهای مورد استفاده برای واکنش PCR عبارت بودند از:

پرایمر رفت:

Forward: LIS-F: TCA TCG ACG GCA ACC TCG G

و پرایمر برگشت:

Reverse: LIS-R: TGA GCA ACG TAT CCT CCA GAG T

در روش PCR، ابتدا مستر میکس (Master mix) در حجم ۲۵ میکرولیتر تهیه و در لوله‌هایی ۰/۲ میلی‌لیتری توزیع شد. مواد استفاده شده برای آزمایش PCR عبارت بودند از: ۱۸/۳ میکرولیتر آب مقطر، ۱ میکرولیتر بافر ۱۰x، ۱ میکرولیتر پرایمر F (به غلظت ۱۳ پیکومول)، ۱ میکرولیتر پرایمر R (به غلظت ۱۳ پیکومول)، ۱ میکرولیتر dNTP (به غلظت ۱۰ میلی‌مولار)، ۱ میکرولیتر DNA الگو (به غلظت ۱۰۰ نانوگرم)، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq polymerse (به غلظت ۵/۲-۱ واحد در ۱۰۰ میکرولیتر) و ۱/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم. برنامه PCR برای ژن prf A شامل ۴۰ سیکل و به صورت زیر استفاده شد: Pre denaturation: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، Denaturation: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، Annealing: ۵۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، Extention: ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، Post extention: ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه. سپس محصول PCR برای بررسی وجود یا عدم وجود باند ژن مورد نظر الکتروفورز شد. برای انجام الکتروفورز ابتدا ژل با استفاده از محلول TAE ۰/۱ تهیه گردید. مقدار ۶ میکرولیتر از محصول PCR با ۳ میکرولیتر بافر لودینگ، با سمپلر به خوبی مخلوط و سپس به درون چاهک‌ها در ژل اضافه شد. به چاهک اول ۳ میکرولیتر مارکر DNA Ladder (mi-8201) (شرکت فرمنتاز- آلمان) اضافه و الکتروفورز با ولتاژ ۴۵ انجام شد. در پایان، ژل به مدت ۱۵ دقیقه درون رنگ اتیدیوم بروماید قرار داده شد و سپس در آب مقطر شستشو داده شد و در زیر نور UV وجود یا عدم وجود باند مورد نظر بررسی گردید. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS ۱۶ و آزمون آماری کای دو در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ تحلیل شدند.

❋ یافته‌ها:

از ۲۱۲ نمونه غذایی مورد بررسی ۴۱ مورد (۱۹/۳۳ درصد)، گونه لیستریا مثبت گزارش گردید. بیش‌ترین گونه جدا شده از این ۴۱ مورد، ۲۲ نمونه (۵۳/۶ درصد) لیستریا مونوسیتوژنز بود. از فرآورده‌های لبنی در ماست و کره، از فرآورده‌های گوشتی در کوکتل و سوسیس و از سبزی‌ها

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 10:12 +0330 on Thursday March 21st 2019

در کلم قرمز و جعفری باکتری مشاهده نشد. بیش‌ترین باکتری لیستریا مونوسیتوژنز به ترتیب از پنیر نرم، کاهو و کلم سفید جداسازی گردید (جدول شماره ۱).

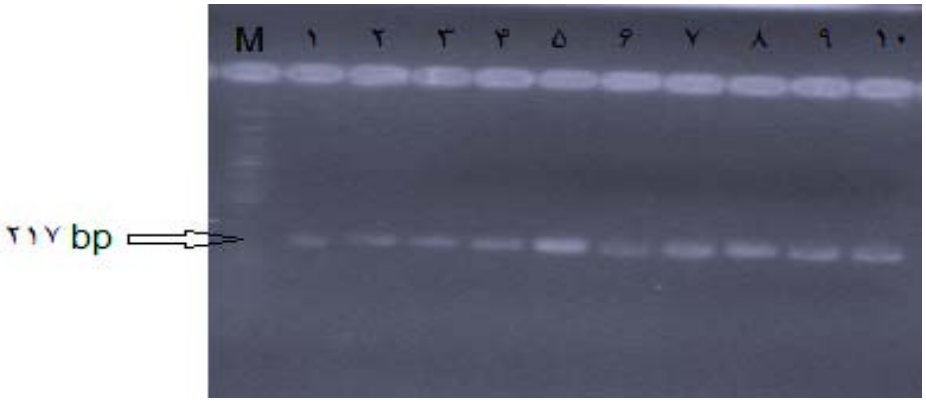
حضور ژن prf A در لیستریا مونوسیتوژنز جداسازی شده از نمونه‌های لبنی، گوشتی، نمونه‌های بالینی و سویه استاندارد خریداری شده از مؤسسه رازی، ۱۰۰ درصد و در سبزی‌ها ۲۸/۵ درصد بود (جدول شماره ۲ و شکل شماره ۱).

جدول ۱- شیوع گونه‌های لیستریایی در نمونه‌های غذایی مورد بررسی

فرآورده / تعداد نمونه / گونه لیستریا		گوشت (۳۰)	مرغ (۱۰)	ژامبون (۱۰)	شیر (۳۰)	پنیر (۱۵)	پنیر نرم (۱۵)	کاهو (۲۳)	کلم سفید (۱۹)	کرفس (۱۳)	مجموع ۱۶۵
مونوسیتوژنز	تعداد	۲	۱	۱	۲	۲	۶	۴	۳	۱	۲۲
	درصد	۶/۶	۱۰	۱۰	۶/۶	۱۳/۳	۴۰	۱۷/۳	۱۵/۷	۷/۶	۵۳/۶
اینوکوآ	تعداد	۲	۱	۰	۱	۲	۲	۴	۳	۰	۱۵
	درصد	۶/۶	۱۰	۰	۳/۳	۱۳/۳	۱۳/۳	۱۷/۳	۱۵/۷	۰	۳۶/۵
ولشیمری	تعداد	۱	۰	۰	۰	۱	۱	۰	۰	۰	۳
	درصد	۳/۳	۰	۰	۰	۶/۶	۶/۶	۰	۰	۰	۷/۳
سلیگری	تعداد	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۰	۱
	درصد	۰	۰	۰	۰	۰	۶/۶	۰	۰	۰	۲/۴

جدول۲- فراوانی ژن prf A در لیستریا مونوسیتوژنزهای جدا شده

نمونه	لیستریا مونوسیتوژنز جدا شده (تعداد)	ژن prf A (تعداد)	(درصد)
بالینی	۴	۴	۱۰۰
استاندارد	۱	۱	۱۰۰
محصول‌های گوشتی	۴	۴	۱۰۰
محصول‌های لبنی	۱۰	۱۰	۱۰۰
سبزی‌ها	۲	۷	۲۸/۵



شکل ۱- الکتروفورز ۲ درصد بر روی ژل آگارز از محصول PCR و تکثیر قطعه bp ۲۱۷ از ژن prf A

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 10:12 +0330 on Thursday March 21st 2019

❋بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه شیوع گونه‌های لیستریایی در انواع مختلف مواد غذایی را نشان داد. انجام آزمون‌های باکتریولوژی و به دنبال آن آزمون PCR، مشخص کرد که مواد غذایی چه به صورت خام چه به صورت فرآوری شده، مستعد آلوده شدن با باکتری لیستریا مونوسیتوژنز هستند.

بیش‌تر مطالعه‌های انجام شده از روش غنی‌سازی در سرما و نگه‌داری نمونه به مدت یک ماه یا بیش‌تر در یخچال، جهت جداسازی گونه‌های مختلف لیستریا استفاده کرده‌اند که با مطالعه حاضر همخوانی دارد.[۸-۱۱] در بررسی حاضر، بیش‌ترین آلودگی لیستریا مونوسیتوژنز (۴۰ درصد) در پنیر نرم مشاهده شد و نمونه‌های ماست فاقد آلودگی بودند. این یافته با نتایج به دست آمده در مطالعه جعفری نژاد و همچنین جانسون و همکاران مبنی بر شیوع ۴۲/۵ درصد لیستریا مونوسیتوژنز در نمونه‌های پنیر نرم مطابقت داشت، ولی در خصوص شیوع ۲۵ درصد در نمونه ماست، همخوانی نداشت.[۱۲و۱۳] در پژوهش حاضر هیچ‌گونه آلودگی لیستریایی در نمونه‌های کره گزارش نشد که با نتایج جعفری نژاد و مطالعه انجام شده در فنلاند همخوانی داشت.[۱۴] در مطالعه ارسلان و همکاران در سال ۲۰۰۸ در ترکیه شیوع ۳۳/۱ درصد گونه‌های مختلف لیستریا در نمونه‌های پنیر سفید خانگی نشان داده شد.[۱۵] می‌توان دلیل این شیوع بالا را صرفاً به خانگی بودن پنیرها و عدم استفاده از پوشش مناسب هنگام نگه‌داری پنیر در منزل نسبت داد. عبدالعزیز و همکاران در سال ۲۰۰۹ و محمد اشرف و همکاران در سال ۲۰۱۰، از ۱۰۰ نمونه محصول گوشتی، ۵ مورد (۵ درصد) لیستریا مونوسیتوژنز جدا کردند که با مطالعه حاضر همخوانی دارد.[۱۶و۱۷] کلارک و همکاران در سال ۲۰۱۰ در کانادا، ۸۰ نمونه غذای آماده مصرف را آزمایش کردند که ۸ مورد (۱۰ درصد) برای لیستریا مثبت بود (لیستریا ولشیمیری ۴/۸ درصد، لیستریا اینوکوآ ۲/۸ درصد و لیستریا مونوسیتوژنز ۲/۸ درصد) و با بررسی فعلی همخوانی نداشت که ۳/۳ درصد در نمونه گوشت گزارش گردید.[۱۸] ویهاشنی و همکاران از مارس ۲۰۱۰ تا اکتبر ۲۰۱۰، از ۱۳۴ نمونه غذایی مختلف ۵۱ نمونه (۳۸ درصد) لیستریا مونوسیتوژنز جدا کردند.[۱۹] در واقع میزان آلودگی مواد مختلف غذایی، می‌تواند متغیر باشد؛ زیرا عوامل مختلفی از جمله pH، میزان فعالیت آب و حضور مواد مغذی، در فراهم کردن شرایط مناسب جهت رشد لیستریا مونوسیتوژنز مؤثر هستند. در بررسی الشیخ و همکاران بر روی ۵۰۰ نمونه گوشت مرغ با روش ISO، لیستریا مونوسیتوژنز ۱۳/۶ درصد، لیستریا ایوانووی ۱۹/۸ درصد، لیستریا گرایی ۴/۶ درصد، لیستریا سیلیجری ۱ درصد و لیستریا ولشیمیری ۲ درصد جدا شد.[۲۰] این یافته‌ها با مطالعه حاضر مغایرت داشت که می‌تواند به دلیل استفاده از محیط‌های اختصاصی و همچنین عدم رعایت سطح بهداشت در کارخانه یا انتقال آلودگی توسط کارکنان در نمونه‌های مورد بررسی باشد. همچنین در مطالعه حاضر، احتمالاً استفاده از آنتی بیوتیک‌ها طی پرورش دادن طیور تا حد زیادی از رشد لیستریا مونوسیتوژنز جلوگیری کرده است. در مطالعه حاضر هیچ موردی از باکتری لیستریا در نمونه‌های سوسیس و کوکتل مشاهده نشد، در حالی که در مطالعه بونسیس در یوگسلاوی ۶۹ درصد نمونه‌های سوسیس گوشت گاو و خوک باکتری لیستریا مونوسیتوژنز داشتند.[۲۱] محمد سعید و همکاران در مصر برای شناسایی لیستریا مونوسیتوژنز، جدا شده از تخم مرغ، از روش PCR و پرایمرهای مربوط به ژن prf A استفاده کردند که از ۱۰۰ نمونه مورد بررسی، ۷ نمونه به عنوان لیستریا مونوسیتوژنز شناخته شدند و هر ۷ نمونه ژن prf A داشتند که با مطالعه حاضر همخوانی داشت.[۲۲] در سال ۲۰۱۰ اشرف محمد و همکاران دو پرایمر LIS-F و LIS-R را براساس ژن prf A برای لیستریا مونوسیتوژنز طراحی کردند و از ۱۳ نمونه لیستریایی مورد بررسی، ۵ نمونه محصول ۲۱۷ bp را تکثیر دادند که ویژه ژن prf A در لیستریا مونوسیتوژنز است.[۱۷] نتایج مطالعه آن‌ها با نتایج

مطالعه حاضر همخوانی داشت، زیرا در مطالعه حاضر، ۱۰۰ درصد نمونه‌های مورد بررسی دارای ژن prf A بودند (به جز سبزی‌ها). این تشابه بیان‌گر این موضوع است که سویه‌های مربوط به دو منطقه جغرافیایی خاصیت بیماری‌زایی بالایی داشتند.[۱۷] های جین و همکاران نیز برای تمایز بین لیستریا مونوسیتوژنز و سویه‌های دیگر لیستریا از دسته ژن بیماری‌زا pVGC و prf A، از روش PCR استفاده کردند.[۲۳] در مجموع، یافته‌های این مطالعه شیوع گونه‌های لیستریایی در انواع مختلف مواد غذایی را نشان داد. انجام آزمون‌های باکتریولوژی و به دنبال آن آزمون PCR، مشخص کرد که مواد غذایی چه به صورت خام چه به صورت فرآوری شده، مستعد آلوده شدن با باکتری لیستریا مونوسیتوژنز هستند. پیشنهاد می‌شود از ژن prf برای اثبات وجود لیستریا مونوسیتوژنز، بدون کشت در روش PCR استفاده شود.

❋سپاس‌گزاری:

از همکاری خانم‌ها لیدا لطف الهی و مرضیه شفیعی و جناب آقای محمد رضا کریمی قدردانی می‌شود.

❋مراجع:

1. Perrin M, Bremer M, Delamare C. Fatal cases of Listeria innocua bacteremia. J Clin Microbiol 2003 Nov; 41 (11): 5308-9

2. Rocourt J, Hogue A, Toyofuku H, et al. Listeria and listeriosis: risk assessment as a new tool to unravel a multifaceted problem. Am J Infect Control 2001 Aug; 29 (4): 225-7

3. Sleator RD, Gahan CG, Hill C. A postgenomic appraisal of osmotolerance in Listeria monocytogenes. Appl Environ Microbiol 2003 Jan; 69 (1): 1-9

4. Heinzen RA, Hayes SF, Peacock MG, Hackstadt T. Directional actin polymerization associated with spotted fever group Rickettsia infection of Vero cells. Infect Immun 1993 May; 61 (5): 1926-35

5. Shayan R, Satary M, Forozande M. Isolation and identification of Listeria monocytogenes in vaginal samples by polymerase chain reaction. Moddarres Medical Journal. 2008; 12: 51-8 [In Persian]

6. Acha PN, Szyfres B. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. 3 ed. Pan American Health Organization Washington D.C, U.S.A: Scientific and Technical Publication No. 580 2010. 408 (3): 168-76

7. Freitag NE, Rong L, Portnoy DA. Regulation of the prfA transcriptional activator of Listeria monocytogenes: multiple promoter elements contribute to intracellular growth and cell-to-cell spread. Infect Immun 1993 Jun; 61 (6): 2537–44

8. Molla B. Listeria monocytogenes and other Listeria species in retail meat and milk product in Addis Ababa, Ethiopia. Ethiop J Health Sci 2008; 18 (3): 208-12

9. Gnanou Besse N, Audinet N, Kerouanton A, et al. Evolution of Listeria populations in food samples undergoing enrichment culturing. Int J Food Microbiol 2005 Oct 15; 104 (2): 123-34

10. Kargar M, Ghasemi A. Role of Listeria monocytogenes hlyA gene isolated from fresh cheese in human habitual abortion in Marvdasht. Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases 2009; 4 (4): 214-8

11. Jami S, Jamshidi A, Khanzadi S. The presence of listeria.spp in raw milk samples in Mashhad, Iran. World Appl Sci J 2010; 10 (2): 249-53

12. Jafarinejad A. Prevalence of Listeria monocytogenes in dairy meat and view plasmids electrophoresis. Iranian Clinical Microbiology 2009; 11 (1): 10-24

13. Johansson T, Ahola-Luttila H, Pirhonen T, et al. Improved detection of Listeria

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 10:12 +0330 on Thursday March 21st 2019

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 10:12 +0330 on Thursday March 21st 2019

monocytogenes in soft mould- ripened cheese. J Appl Microbiol 2000 May; 88 (5): 870-6

14. Lyytikainen O, Autio T, Maijala R, et al. An outbreak of Listeria monocytogenes serotype 3a infections from butter in Finland. J Infect Dis 2000 May; 181 (15): 1838-41

15. Arsalan S, Zdemir F. Prevalence and antimicrobial resistance of Listeria spp. in homemade white cheese. Food Control 2008; 19 (4): 360-3

16. Abd EL-Aziz Doaa. Microbiological and chemical hazard of some meat product. Medicine Assiut University. vet World. 2009; 3 (8): 353-9

17. Ashraf Mohamed Abd El-Malek A, Fathi Hassan Ali S, Hassanein R, et al. Occurence of Listeria species in meat, chicken, products and human stools in assiut city, Egypt with PCR use for rapid identification of Listeria monocytogenes. Veterinary World 2010 Aug; 3 (8): 353-9

18. Clark J. Policy on Listeria monocytogene in Ready-to-Eat foods. Bureau of Microbial Hazards, Food Directorate, Health Products and Food Branch. 2010

19. Shrinithivihahshini ND. Occurrence of Listeria monocytogenes in food and ready to eat food products available in Tiruchirappalli, Tamil Nadu, India. World J Life Sci 2011; 1 (4): 70

20. Alsheikh ADI, Mohammed GE, Abdalla MA. First isolation and identification of Listeria monocytogenes from fresh raw dressed broiler chicken in Sudan. Res J Microbiol 2012; 7 (6): 319-26

21. Buncic S. The incidence of Listeria monocytogenes in slaughtered animal, in meat and in meat products in Yugoslavi. Int J Food Microbiol 1991 Feb; 12 (2-3): 173-80

22. Sayed M, Abdel-Azeem M, Farghaly M, Hassanein R. Using of PCR assay for identification of Listeria monocytogenes recovered from table eggs. Veterinary World 2009; 2 (12): 453-5

23. Jung HJ, Park SH, Ha SD. Species-specific detection of Listeria monocytogenes using polymerase chain reaction assays targeting the prfA virulence gene cluster. Biosci Biotechnol Biochem 2009 Jun; 73 (6): 1412-5