پراکندگی ژن CtpA در لیستریا مونوسیتوژنز

*دکتر جمیله نوروزی I
دکتر نور امیرمظفری II
حسین مدیرروستا III

چکیده

زمینه و هدف: لیستریا مونوسیتوژنز، توانایی ایجاد بیماری‌های شدید و مهاجم در انسان و در بیش از ٤٠ گونه از حیوانات را دارد. لیستریا مونوسیتوژنز از طریق پنیر نرم، شیر، گوشت خام، سوسیس و غیره به انسان انتقال می‌یابد. هدف از این مطالعه، یافتن میزان فراوانی لیستریا مونوسیتوژنز در طیور، دام، سوسیس، لبنیات و مشاهده ژن CtpA(ژن انتقال دهنده مس) آن‌ها در الکتروفورز بعد از انجام PCR بوده است.

روش بررسی: ۱۸۰ نمونه از مغز، کبد و مدفوع طیور(مرغ‌های صنعتی) از ۳٦ مرغداری مختلف، ١٦٦ نمونه از کبد، مغز، مایع آمنیوتیک و مدفوع گاو، گوسفند، اسب و بز، ۸۰ نمونه از سوسیس، ۳۰۰ نمونه از لبنیات جمع‌آوری شده از مغازه‌های شهر کرج مورد بررسی قرار گرفت. لیستریا مونوسیتوژنز به روش غنی‌سازی در سرما و با روش استاندارد استرالیا ـ نیوزیلند جداسازی شد. DNA کروموزومی پس از استخراج، به منظور تکثیر ژن CtpA به وسیله PCR و برای مشاهده وجود باند CtpA الکتروفورز گردید.

یافته‌ها: لیستریا مونوسیتوژنز از نمونه‌های طیور جدا نشد. این باکتری از مغز و کبد بز و گوسفند(۱۲/۹۳درصد)، سوسیس(۲/۵٪)، پنیر محلی(۲/۹٪) و شیر(۲/۵٪) به دست آمد. با استفاده از PCR و جداسازی DNA از ۲۵ لیستریا مونوسیتوژنز ایزوله شده، ژن CtpA در ۲۰ درصد از موارد مشاهده گردید. DNA مشابه CtpA در تمام باکتری‌های جدا شده وجود نداشت. نتایج نشان داد که ۲۸/۷۵ درصد از لیستریا مونوسیتوژنزهای جدا شده از پنیر و ۲۰ درصد از باکتری‌های به دست آمده از حیوانات اهلی دارای ژن CtpA بودند.

نتیجه‌گیری: وجود ژن CtpA در ۲۰ درصد از باکتری‌های مورد بررسی نشان دهنده آن است که تمام این باکتری‌ها خاصیت بیماری‌زایی یکسانی ندارند. از طرفی، توالی ژن CtpA تشابه زیادی به پروتئین دو بیماری نقص در متابولیسم مس به نام بیماری منکز(Menkes) و بیماری ویلسون(Wilson) در انسان دارد، احتمال دارد که ارتباطی بین این دو بیماری و ژن CtpA در لیستریا مونوسیتوژنز وجود داشته باشد و شاید در آینده بتوان با تولید پروتئین CtpA موجود در لیستریا(ساخت واکسن) گامی در درمان این دو بیماری برداشت.

کلیدواژه‌ها: ۱ – لیستریا مونوسیتوژنز ۲ – ژن سی.تی.پی.ای ۳ – حیوانات اهلی ۴ – طیور ۵ – پنیر

تاریخ دریافت: ۸۳/۹/۱، تاریخ پذیرش: ۸٤/۲/۱۰

مقدمه

در تحقیقاتی که به منظور بررسی وجود لیستریامونوسیتوژنز در پنیر نرم انجام شد، سال ۱۹۹۱ در نروژ، ۱۱ درصد[۱]، سال ۱۹۹٤ در انگلستان ۰/٤ درصد[۲]، سال ۱۹۹۵ در استرالیا ۳/٤ درصد[۳] لیستریامونوسیتوژنز جدا شده است. در مطالعه انجام شده در سال ۱۹۹۸ در فنلاند، لیستریامونوسیتوژنز از پنیر نرم جدا نگردید.[٤]

I) استاد و .Ph.D میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران.(*مولف مسوول)
II) دانشیار و .Ph.D میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران.
III) کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران.

www.SID.ir

همچنین در مطالعات انجام شده در فنلاند، طی سال ۱۹۹٤، لیستریامونوسیتوژنز در بستنی جدا نشد[۵] ولی در سال ۱۹۹۹، ۰/۵ درصد از بستنی‌های مورد مطالعه آلوده به لیستریامونوسیتوژنز بودند.[٦] در فنلاند طی سال ۱۹۹۳ از گوشت خام طیور، ۲۷ درصد[۷] و در سال ۲۰۰۱ به میزان ٦۲ درصد[۸] لیستریامونوسیتوژنز جدا شده است. در پورتوی پرتغال، در سال ۲۰۰۲ با استفاده از روش Multiplex PCR(Polymerase chaian Reaction)، از نمونه طیور، ۲٦ مورد لیستریامونوسیتوژنز(٤۱٪) جدا شد.[۹] ژن CtpA(Copper transport Protein) در سال ۱۹۹۷ توسط Francis و Thomas شناسایی گردید.[۱۰] این ژن، پلی‌پپتیدی است که ٦۵۳ اسید آمینه را کد می‌کند و شباهت زیادی به کاتیون انتقال ATPآز دارد (Genbank Accession. Number: U 15554). این پروتئین به خانواده‌ای از پروتئین‌ها شباهت دارد که مسوول انتقال یون مس در ایوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها است. موتانت‌هایی از لیستریامونوسیتوژنز به غلظت کم یون مس در محیط کشت بسیار حساس بوده و در این شرایط، رونوشت‌های این ژن به طور فوق‌العاده‌ای کاهش می‌یابد.

با توجه به پراکندگی لیستریامونوسیتوژنز در محیط اطراف، نقش مهم CtpA در زنده ماندن این ارگانیزم در محیط طبیعی از طریق انتقال یون مس مشخص می‌گردد. توالی اسیدهای آمینه موجود در پروتئین‌های CtpA شباهت زیادی با پروتئین‌های مرتبط با اختلالات متابولیسم مس در سندرم ارثی Menkes[۱۱] و بیماری Wilson[۱۲] در انسان دارد. در بیماری منکز، ورود و خروج مس در سلول‌های روده دچار اختلال شده و کمبود شدید مس در بدن حاصل می‌شود. در بیماری ویلسون، ناتوانی در ورود مس از کبد به درون صفرا دیده شده که به مسمومیت ناشی از مس منجر می‌گردد. از طرفی، ATPآز در CtpA موجود در لیستریامونوسیتوژنز با پروتئین‌های باکتری که در جابه‌جایی مس دخالت دارند و همچنین با پروتئین‌هایی که در بیماری منکز و ویلسون ساخته می‌شود تشابه زیادی دارد.[۱۰] با توجه به این که، لیستریامونوسیتوژنز در محیط اطراف پراکنده است، یافته‌های فوق نشان می‌دهد که این ارگانیزم در محیط طبیعی خود با داشتن ATPآز CtpA در جابه‌جایی یون مس دخالت کرده و مقدار مس را در سلول ثابت نگاه می‌دارد تا زنده بماند. هدف از این مطالعه، یافتن میزان فراوانی لیستریامونوسیتوژنز در طیور، دام، سوسیس، لبنیات و مشاهده ژن CtpA(ژن انتقال دهنده مس) آن‌ها در الکتروفورز بعد از انجام PCR بوده است. از طرفی، چون توالی ژن CtpA، تشابه زیادی به پروتئین دو بیماری نقص در متابولیسم مس(منکز و ویلسون) در انسان دارد، به نظر می‌رسد ارتباطی بین این دو بیماری و ژن CtpA در لیستریامونوسیتوژنز وجود داشته باشد و شاید بتوان در آینده با تولید پروتئین CtpA موجود در لیستریا(ساخت واکسن) گامی در جهت درمان این دو بیماری برداشت.

روش بررسی

در این بررسی، ۱۸۰ نمونه از مغز، کبد، مدفوع طیور(مرغ‌های صنعتی از ۳٦ مرغداری مختلف) که در مجموع شامل ۵٤۰ نمونه می‌شد، ۱٦٦ نمونه از کبد، مغز، مایع آمنیوتیک و مدفوع گاو، گوسفند، اسب و بز که به کلینیک بیماری‌های موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی آورده می‌شد، ۸۰ نمونه از سوسیس و ۳۰۰ نمونه از لبنیات جمع‌آوری شده از مغازه‌های شهر کرج مورد بررسی قرار گرفت.

لیستریامونوسیتوژنز به روش غنی‌سازی در سرما و با روش استاندارد استرالیا ـ نیوزیلند جداسازی شد. جهت انجام آزمایش‌ها از محیط کشت پالکام و محیط سلکتیو اگار لیستریا با استفاده از جار شمع‌دار(۵ درصد گاز کربنیک) استفاده شد. کلنی‌های سیاه رنگی که بر روی محیط کشت پالکام و همچنین روی محیط لیستریا سلکتیو آگار رشد کرده بودند با انجام رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، اکسیداز، همولیز بر روی بلاد آگار، تست تخمیر قندها، تست تحرک و غیره شناسایی شدند.

DNA کروموزومی لیستریا با روش اصلاح شده Flamm[۱۳] به دست آمد. غلظت DNA با استفاده از

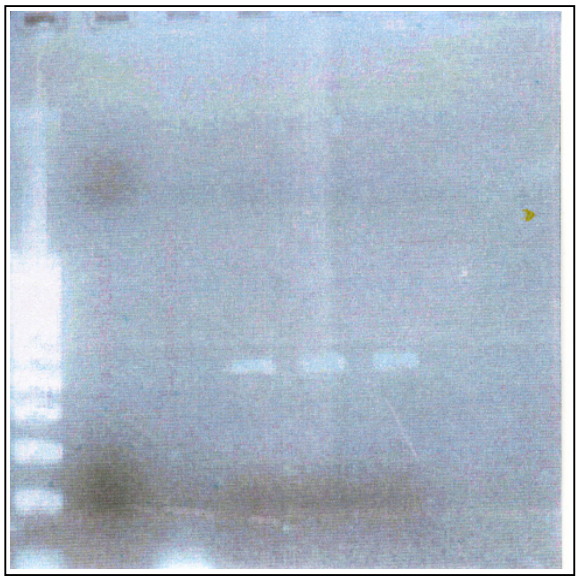
Archive of SID
www.SID.ir

اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه گرفته شد. PCR انجام شده مطابق شرایط معمولی بود که برای انجام آن از بافر PCR(۵µl)، کلرور منیزیم(۱/۵ml)، dNTPs(۱µl)، پرایمر R، F(هر کدام ۲/۵µl)، Taq پلی‌مراز (۱µl)، DNA مورد نظر(۲ µl) و آب دو بار تقطیر(۳۴/۵µl) استفاده شد و حجم کل محلول به ۵۰µl رسید. عمل الکتروفورز در حرارت اتاق بر روی ژل آگارز در محلول بافر TAE انجام شد. محلول بافر TAE شامل Tris، EDTA و اسیداستیک بود. ژل توسط محلول اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شد و در زیر نور اولتراویولت مشاهده و عکس‌برداری گردید.

یافته‌ها

لیستریامونوسیتوژنز از نمونه‌های مورد بررسی از ۳۶ مرغداری مختلف پرورش طیور صنعتی، از هر مرغداری ۵ پرنده(در مجموع ۵۴۰ نمونه) شامل انواع مختلف مرغ (گوشتی، تخم‌گذار، مادر) و بوقلمون به دست نیامد. از ۸۵ دام تلف شده(۱۰ گاو، ۷ گوساله، ۶۰ گوسفند، ۶ بز و ۲ اسب)، در ۱۱ مورد از مغز و ۴ مورد از کبد، لیستریامونوسیتوژنز جدا گردید. لیستریامونوسیتوژنز از ۳۰۰ نمونه لبنیات شامل ۲۴۰ نمونه پنیر، ۱۰ نمونه ماست، ۱۰ نمونه کشک و ۴۰ نمونه شیر خام، در ۷ مورد از پنیر و یک مورد از شیر خام به دست آمد.

پس از آن که DNA هر یک از باکتری‌های به دست آمده جدا شد، وجود یا عدم وجود ژن CtpA با استفاده از پرایمرهای مربوطه با انجام PCR مورد بررسی قرار گرفت که در ۵ مورد باندی با وزن مولکولی برابر با ژن CtpA(۵۵۸bp) در ژل الکتروفورز مشاهده گردید که در شکل ۱ نشان داده شده است. از ۷ مورد لیستریامونوسیتوژنز جدا شده از پنیر در دو مورد (۲۷/۵۷٪)، از ۱۰ مورد لیستریامونوسیتوژنز به دست آمده از گوسفند در یک مورد مغز(۱۰٪) و از ۵ مورد لیستریامونوسیتوژنز حاصل از بز در دو مورد کبد و مغز (۴۰٪) ژن CtpA جدا شد.



تصویر شماره ۱- باندهای ژن CtpA روی ژل آگارز (مارکر۱۰۰bp)

بحث

امروزه لیستریامونوسیتوژنز به عنوان پاتوژن مهم منتقل شونده از راه غذا شناخته شده است. بیماری لیستریوز در اثر مصرف فرآورده‌های غذایی آلوده مانند پنیر نرم، شیر، سبزیجات خام و شسته نشده، گوشت خوب پخته نشده و یا از طریق جفت از مادر به فرزند قابل انتقال است. مواردی از اپیدمی در اثر مصرف شیر پاستوریزه نشده، پنیر و سوسیس مشاهده شده است.

لیستریامونوسیتوژنز در زنان باردار موجب سقط جنین، زایمان قبل از موعد یا زایمان نوزاد زنده آلوده با این باکتری می‌شود. علایم کلینیکی لیستریوز تهاجمی معمولاً شدید بوده و به صورت سقط جنین، سپسیس(sepsis) و منتژوانسفالیت بروز می‌کند.[۱۴] به همین دلیل، بررسی وجود این باکتری در نمونه‌های مواد غذایی ضروری به نظر می‌رسد. در سال ۱۹۹۸ در برزیل از ۱۰۳ نمونه انواع مختلف پنیر، ۱۱ مورد (۱۰/۶۸٪) لیستریامونوسیتوژنز جدا شد. بیشترین وقوع لیستریامونوسیتوژنز به طور عمده در پنیرهایی که در خانه ساخته شده بودند، مشاهده شد(در برزیل پنیر نرم و سفید به طور تازه مصرف می‌شود).[۱۵] در بررسی حاضر، که از

Archive of SID
www.SID.ir

پنیرهای محلی و پنیر پاستوریزه نشده از فروشگاه‌ها و روستاهای اطراف کرج استفاده شد، میزان آلودگی بسیار کمتر و از ۲۴۰ نمونه، در هفت مورد(۲/۹۲٪) لیستریامونوسیتوژنز جدا شد.

در تحقیقاتی که برای بررسی وجود لیستریامونوسیتوژنز در شیر خام به عمل آمده است در سال ۱۹۹۰ در فنلاند، ۱/۷درصد[۱۶] و در بریتانیا در سال ۱۹۹۱، ۳/۶درصد[۱۷] با لیستریامونوسیتوژنز آلودگی داشته‌اند. در صورتی که در این بررسی از ۴۰ نمونه شیر پاستوریزه نشده، در یک مورد(۲/۵٪) باکتری جدا شد. در مطالعه حاضر از ۱۰ نمونه ماست و ۱۰ نمونه کشک هیچ گونه‌ای از لیستریا جدا نشد که می‌تواند بیانگر این باشد که روش پاستوریزاسیون و با حرارت دادن شیر در کاهش آلودگی با این باکتری موثر است. همچنین در ایرلند شمالی، در سال ۲۰۰۳ از ۲۰۵ نمونه گوشت طیور بسته‌بندی شده که از دو مرکز بزرگ فروش تهیه شده بود، در سه مورد سالمونلا جدا شد و از ۸۰ نمونه که برای بررسی لیستریا مورد استفاده قرار گرفت در ۳۸ مورد انواع گونه‌های مختلف لیستریا جدا گردید که ۱۴ مورد از آن لیستریامونوسیتوژنز (۱۸٪) بود. این امر نشان داد که روش‌های جلوگیری از آلودگی سالمونلا که در صنایع به کار می‌رود در مورد حذف لیستریا چندان موثر نبوده است.[۱۸] در این تحقیق از ۱۸۰ نمونه مغز، کبد و مدفوع طیور تلف شده که به کلینیک بیماری‌های طیور موسسه رازی جهت تشخیص بیماری آورده شده بودند شامل مرغ گوشتی، مرغ تخم‌گذار، مرغ مادر و بوقلمون که سنی بین دو هفته تا دو سال داشتند جهت جداسازی لیستریا استفاده گردید. در این موارد هیچ یک از گونه‌های لیستریا جدا نشد. این امر احتمالاً به علت مراقبت کافی طیور در ایران (یا مصرف آنتی‌بیوتیک) بوده است. از گوشت خام گاو در سال ۱۹۹۴ در بریتانیا ۲۵درصد[۲]، در سال ۲۰۰۱ در مکزیک ۱۶درصد[۱۷]، و در سوئیس در همان سال ۶/۳درصد[۱۹] لیستریامونوسیتوژنز جدا شده است. طی بررسی حاضر، آزمایش مشابهی بر روی ۸۵ رأس دام تلف شده شامل ۱۰ گاو، هفت گوساله، ۶۰ گوسفند، شش بز و دو اسب انجام شد و بر حسب نوع نمونه از قسمت‌های مختلف(مغز، کبد، مدفوع و مایع آمنیوتیک) نمونه‌برداری انجام گرفت که از نمونه‌های گاو، گوساله و اسب، لیستریا جدا نشد. در ۶۰ گوسفند آزمایش شده، لیستریامونوسیتوژنز در ۱۰ مورد(۱۶/۶٪) و در شش بز آزمایش شده در پنج مورد (۸۳/۳٪) لیستریامونوسیتوژنز جدا گردید.

در سال ۱۹۹۲ در ایتالیا از سوسیس تهیه شده از گوشت گاو ۱۴درصد[۲۰] و در امریکا در سال ۱۹۹۴، ۷/۵درصد[۲۱] لیستریامونوسیتوژنز جدا شده است. ولی در این بررسی از ۸۰ نمونه سوسیس که از کارخانه‌های مختلف جهت جداسازی لیستریا تهیه شده بود، میزان آلودگی به لیستریامونوسیتوژنز بسیار کم‌تر (۲/۵٪) بود. در این تحقیق از ۲۵ باکتری جدا شده، با استفاده از روش Flamm و همکارانش[۱۳]، DNA استخراج شد و با استفاده از روش PCR، ژن CtpA تکثیر شد و فرآورده PCR در ژل آگارز، الکتروفورز گردید. در پنج مورد(۲۰٪)، باندی برابر با وزن مولکولی ژن CtpA(۵۵۸bp) مشاهده شد.[۲۲، ۲۳] این یافته‌ها احتمالاً نشان دهنده آن است که این باکتری‌ها، خاصیت بیماری‌زایی یکسانی ندارند.

نتیجه‌گیری

به طور کلی، نتایج این بررسی نشان داد که مرغداران در تهیه مواد غذایی مرغ‌های صنعتی بسیار مراقب بوده و یا به علت افزودن آنتی‌بیوتیک‌ها در غذای مرغ‌ها امکان جداسازی لیستریامونوسیتوژنز از مرغ‌های صنعتی وجود نداشت. آلودگی سوسیس، پنیر و شیر با این باکتری‌ها ممکن است در هنگام تهیه آن‌ها رخ داده باشد. چون وجود ژن CtpA در لیستریامونوسیتوژنز برای پایداری و ایجاد بیماری در موش آلوده ضروری است، بنابراین، ژن CtpA در بیماری‌زایی این باکتری اهمیت دارد، به همین دلیل توزیع ژن CtpA در بین لیستریامونوسیتوژنزهای جدا شده از منابع مختلف مورد بررسی قرار گرفت. چون توالی ژن CtpA، تشابه زیادی به پروتئین دو بیماری نقص در متابولیسم مس، بیماری منکز (Menkes) و بیماری ویلسون(Wilson) در انسان دارد،

Archive of SID
www.SID.ir

احتمال دارد که ارتباطی بین این دو بیماری و ژن CtpA در لیستریامونوسیتوژنز وجود داشته باشد و شاید بتوان در آینده با تولید پروتئین CtpA موجود در لیستریا(ساخت واکسن) گام مهمی در درمان این دو بیماری برداشت.

منابع

1- Rorvik LM, Yndestad M. Listeria monocytogenes in foods in Norway. Int. J. Food microbiol; 1991. 13: 97-104.

2- MacGowan AP, Bowker K, McLauchlin J, Bennett PM, Reeves DS. The occurrence and seasonal changes in the isolation of Listeria spp in shop bought food stuffs, human faeces, sewage and soil from urban sources. Int. J. Food microbiol; 1994. 21: 325-34.

3- Arnold GJ, Coble J. Incidence of listeria species in foods in NSW. Food Australia; 1995. 47: 71-5.

4- Pirhonen T. The microbiological quality of fresh cheese and soft cheese in retail trade. National Food Administration. Helsinki. Research notes; 1998. 14: 7.

5- Fieandt E, Makela P. An investigation of the basic microbiological quality of foods: I. ice creams, II. Processed foods. National Fod Administration. Helsinki. Research notes; 1994. 9: 37.

6- Miettinen MK, Bjrkroth KJ, Korkeala HJ. Characterization of listeria monocytogenes from an ice-cream plant by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis. Int. J. Food Microbiol; 1999. 46: 187-92.

7- Fieandt E. Investigation of the microbiological quality of meat and meat products offered for sale during 1992-1993. National Food Administration. Helsinki. Research notes; 1993. 14: 41.

8- Melchers K, Weitzenegger T, Buhmann A, Steinhilber W, Sach G, Schafer KP. Cloning and membrane topology of a P type Atpase from helicobacter pylori. Biological Chemistry; 1996. 271: 445-57.

9- Antunes P, Reu C, Sousa JC, Pestana N, Peixe L. Incidence and susceptibility to antimicrobial agents of Listeria Spp. and Listeria monocytogenes isolated from poultry carcasses in Porto Portugal. J. Fod Port; 2002. 65(12): 1888-93.

10- Francis MS, Thomas CJ. The listeria monocytogenes gene CtpA encodes a putative p-type ATPase involved in copper transport. Mol. Gan. Genet; 1997. 235: 484-491.

11- Vulpe C, Levinson B, Witney S, Packman S, Gitscheir J. Isolation of candidate gene for menkes disease and evidence that it encodes a copper transporting Atpase. Nature ene; 1993. 5: 7-13.

12- Bull PC, Thomas GR, Rummenes JM, Forbes JR, Cox DW. The wilson disease gene is a putative coper transporting P-type ATPase similar to the menkes gene. Nature Gene; 1993. 5: 327-337.

13- Flamm RK, Hinrichs DJ, Thomshow MF. Introduction of pAmβ1 ito listeria monocytogenes by conjugation and homology between native listeria monosytogenes plasmids. Infect. Imun; 1984. 44: 157-61.

14- Vazquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Dominguez-Bernal G, Goebel W, et al. Listeria pathognesis and molecular virulence determinants. Clinical microbiology Reviews; 2001. 4(3): 584-640.

15- Da Silva MCD, Hofer E, Tibana A. Incidence of listeria monocytogenes in cheese produced in Rio de Jeneiro, Brazil. Food Protection; 1998. 61: 354-356.

16- Hitbold EM, Safley SA, Ziegler HK. The presentation of class I and class II epitopes of listeriolysin O is regulaged by intracellular localization and by intercellular spread of listeria monocytogenes. J. Immunol; 1996. 157: 1163-1175.

17- Heredia N, Garcia S, Rojas G, Salazar L. Microbiological condition of ground meat retailed in Monterrey, Mexico. J. Food Prot; 2001. 64: 1249-51.

18- Soultos N, Koidis P, Madden RH. Presence of listeria and salmonlla spp. in retail chicken in Northern Ireland. Lett. Appl. Microbiol; 2003. 37(5): 421-23.

19- Faber JM, Sanders GW, Johnston MA. A survey of various food for the presence of listeria monocytogenes. Journal of food protection; 1989. 52: 456-58.

20- Comi G, Frigerio R, Cantoni C. Listeria monocytogenes serotypes in italian meat products. Lett. Appl. Microbiol; 1992. 15: 168-71.

21- WangC, Muriana P. Incidence of listeria monocytogenes in packages of retail franks. J Food Prot; 1994. 57: 382-6.

22- Jones P. "Gel Electrophoresis: Nucleic Acid, Essential Techques" 1st ed. Newyork: Johan Wiley & Sons Ltd; 1995. P: 149-153.

23- Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JS, Smith JA, et al. "Short Protocols in Molecular Biology". 1st ed. Newyork: Johan wiley & sons Ltd; 2002. p: 1-35.

Archive of SID

www.SID.ir

Distribution of ctpA Gene in Listeriamonocytogenes

***J. Nowroozi, Ph.D.**[I] ***N. Amir Mozafari, Ph.D.**[II]
***H. Modir Rusta, MSc**[III]

Abstract

Background & Aim: Listeria monocytogenes has potentiality to cause serious invasive disease in humans and in more than 40 animal species. L. monocytogenes is transmitted from soft cheese, milk, raw meat and sausages to human. The present study was undertaken to find the frequency of L. monocytogenes in poultry, domestic animals, sausage, cheese, milk, and also to determine ctpA(copper transport) gene among them after doing PCR on gel electrophoresis.

Materials & Methods: 180 samples from brain, liver and feces of poultry(industrial hens) from 36 birderies, 166 samples of liver, brain, amniotic fluid and feces of cow, horse, sheep and goat, 80 samples of sausage, and 300 samples of dairy from shops in Karaj city were collected. L. monocytogenes was isolated by cold enrichment and standard Australia/New Zealand method. Chromosomal DNA was prepared and used for PCR amplification of ctpA. Then, PCR products ran on agarose gel electrophoresis for detection of the ctpA band.

Results: L. monocytogenes was not isolated from poultry samples. These bacteria were isolated from brain and liver of goat and sheep(12.93%), sausage(2.5%), local cheese(2.9%), and milk(2.5%). By using PCR to identify the homologus DNA in 25 L. monocytogenes isolates, 20% of them contained ctpA determinant. DNA homologus to ctpA was not detected in all isolates. Our results showed that 28.57% of cheese and 20% of domestic animal isolates, contained ctpA gene in chromosome DNA.

Conclusion: Since ctpA gene was not existent in all isolated bacteria, this might indicate that all the strains do not have the same virulence. CtpA showed significant similarity to the proteins associated with copper metabolism disorders in humans, Menkes disease and Wilson disease. There might be a relationship between these two diseases and ctpA gene in L. monocytogenes. By producing ctpA protein of Listeria to make vaccines it is possible to prevent above diseases in future.

Key Words: **1) Listeriamonocytogenes** **2) ctpA Gene** **3) Domestic Animals** **4) Poultry** **5) Cheese**

Archive of SID

*I) Professor of Microbiology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.(*Corresponding Author)*
II) Associate Professor of Microbiology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.
III) MSc in Microbiology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

www.SID.ir