تشخیص سریع مولکولی سالامونلا تیفی به روش PCR از زن invA در نمونه‌های مواد غذایی

چکیده

مقدمه: به دلیل این که سالامونلا تیفی یک باتوزن روده‌ای مهم و آلوده کننده آب و غذا می‌باشد، تشخیص سریع و دقیق آن در آب و مواد غذایی بسیار حائز اهمیت است. امروزه تشخیص سریع باکتری های بیماری زا با تکنیک‌های نوبن در مواد غذایی از اهمیت زیادی برخوردار است. هدف از انجام این مطالعه جداسازی سالامونلا تیفی در مواد غذایی invA آلوده با روش PCR با استفاده از زن invA .

مواد و روش ها: بعد از استخراج DNA با دو روش استاندارد، ابتدا روش مولکولی توسط پرایمرها PCR با روی یک از سوش های باکتری‌ای استاندارد تنظیم گردید. سپس با استفاده از روش PCR اختصاصی زن invA باکتری مورد نظر در نمونه‌های غذایی آلوده جداسازی گردید.

یافته های پژوهش: نتایج این مطالعه نشان داد که زن invA مناسب ترین توالی برای جداسازی سالامونلا تیفی در مواد غذایی آلوده می‌باشد. همچنین روش PCR طراحی شده در این مطالعه برای جداسازی سریع باکتری بیماری زای سالامونلا تیفی در نمونه‌های غذایی آلوده دارای حساسیت (با کی تاپ بلئل جداسازی 1/890018) و اختصاصیت بالا می‌باشد.

بحث و تاثییه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که روش مولکولی PCR به‌همراه شده در این مطالعه روشی مناسب جهت تشخیص سریع باکتری بیماری زای سالامونلا تیفی در نمونه‌های غذایی آلوده بوده و می‌تواند به عنوان یک برای روش های رایج و مرسوم عملی به کار گرفته شود.

واژه های کلیدی: سالامونلا تیفی، تشخیص مولکولی، مواد غذایی, PCR

لیست مراجعه مسلول: مکرر تحقیقات پیوست مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (امج)

Email: rmirnejadreza@yahoo.com
مقدمه

بیماری‌های ناهنجاری از مصرف غذا (Food-borne diseases) یا گرفتگی از مصرف غذا در نقاط مختلف جهان را در بر می‌گیرند. به علت موارد متعدد آمریکا، پس از بیماری‌های تنفسی و رژی در دو مرحله دوم، اهمیت قرار دادن طبق‌گرایی و کنترل بیماری‌های غذا (CDC) می‌باشد.

عوامل باکتری و مایکروبیوم 200 درصد عون‌هایی و سایر عوامل‌های غذایی، از جمله غذا و تنش‌های عصبی توسط سالمندان انجام گرفته‌اند. در این مطالعه انجام شده است (10) و در زمینه تشخیص عامل حشضای سالمندان به صورت PCR مطالعه‌ای انجام گرفته‌است. به همین دلیل در این مطالعه تشخیص سریع سالمندانی تیفی در موارد غذایی آن را به روش PCR انجام داده‌اند.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع آزمایش‌گاهی و تجاری (Experimental) است. سوش های استاندارد PTCC باکتری سالمندانی Tیفی 1609 و PTCC استرشباکی‌ای 35218 از مرکز کلیسیون Qار ها و باکتری‌های منفی و غیره این آزمایش‌گاهی، سازمان پژوهش‌های علوم و منعیت ایران و محیط‌های کشت به مخازن مایکروعبدی مرکز LB agar و LB broth می‌گردد.

برای انجام تشخیص DNA رنگ‌بندی بروماید مقدار میزان تیمینی زنگ اندرورام به صورت باکری یافت شده یاخته توجه به این که تبلیغاتی روش الکتروفورس و DNA رنگ آمیزی با یکی یا دومین روش در DNA بهترین شرایط یک تأملگی می‌باشد، تحقیقات خاص گردیده‌اند. در مورد قریب‌قاﺮن تکنیک باند انتخاب شده 180/12 گردید.

نتایج

بیماری‌های غذا (Food-borne diseases) از نظر تغییراتی از مصرف غذا، امکان پذیر است که بیماری‌های غذا از طریق تغییراتی از مصرف غذا، امکان‌پذیر است که بیماری‌های غذا از طریق تغییراتی از مصرف غذا، امکان‌پذیر است که بیماری‌های غدا
توسط نرم افزار 

کامل آن استخراج گروید.

تعیین میزان/اختصاصی ووقت PCR جهت تعیین میزان

اختصاصیهای این و داده که سکانس ، استخراج شده از DNA مانند برای

شاخصی سالموتا تیفی در موارد غنیان آلوده می باشد.

استخراج رنگ: برای استخراج رنگ از روش فل و

set up کلروفورم استفاده می شود. برای این ترجمه های

PCR نمودن آزمایش وتکنیک این چنین ایفای کار/یک

استاندارد به 1 میلی لتر سرم فیزیولوژی وارد می شود و سیس

سانتیفیزور گردید (5000 دور مدت 5 دقیقه) به

Salt Tris EDTA با تریت کردن به

بـ بـ با حاصل 5000 هزار مولکول. از

SDS میکروبیتر

و دارد به اندازه گوید. پس از

270 میکروبیتر استند داده که آن انفوده و 10

tکن شده داده شد. سپس در 4 گرد نواز

سانتیفیزور شده و به محولی 250 میکروبیتر

ایزوزپولین اضافه به مدت 20 دقیقه در یک یک

دما 25 درجه نگهداری و پس از سانتیفیزور

گردید (1500 دور مدت 4 دقیقه 4 درجه

سانتیمتریا). با در این رقم

75 میکروبیتر اگه

افوده و به خوبی مخلوط گردید و به مدت 10 دقیقه

با 1500 سانتیفیزور شده به تریت حاصل

50 پریس PCR با اضافه کرده و جهت انجام

استفاده گرید.

تعیین میزان/اختصاصی ووقت PCR

با بررسی و مقایسه

سکانس ها با سکانس های استخراج شده مربوط به هر

یک از ویا متوافق با کاتریپای/مشخص گردید که تولی عای

به دست آمده دقیق مربوط به باکتری های مورد نظر

می باشد.

تعیین میزان/اختصاصی ووقت PCR برای تعیین

میزان/اختصاصی ووقت PCR هر یک از جفت برای گروید

با زنون که های با پروائلی/زدیک های در بخش طبیعی گروید گرفت و تختی این که هیج گونه باندی در این

ویا و انتخاب طبیعی گروید در یک

برای برای گروید استفاده کاملا اختصاصی عامل

می کنند.

تعیین میزان حساسیت PCR برای انجام واکنش

طرح شرایط به بهنین گروید و الکتروروز

حساسیت PCR محسون پس از انجام واکنش

PCR محسون پس از انجام واکنش 110 گرفت. واکنش تا 158/115 درصد تحقیق

مورد بررسی قرار گرفت. واکنش تا 158/115

45 درجه سانتیمتریا گردید (5000 دور مدت 5 دقیقه).

از این ترجمه برای نویسنده، گروید میکروبیتر

سکانس با شکست گروید پس از دریافت تحقیق از شرکت دیجیتال سکانس، مسکرک ماهالی

این با استفاده از N7 در سایت ترجمه کرده و نویسنده به

به همراه شرکت Bioneer, امکان مطالعه

Aboriginal particles.

Ghiglia Proteus

PCR با همان شرایط قبل و برای استفاده شده انجام

گردید.

DNA محسون

PCR گردید. برای این منظور، برای تاریخ

امضای مولکول مربوط به هر

یک از ویا متوافق با پروائلی/مشخص گردید که تولی عای

به دست آمده دقیق مربوط به باکتری های مورد نظر

می باشد.

تعیین میزان اختصاصی بودن

PCR برای تعیین

میزان/اختصاصی ووقت PCR هر یک از جفت برای گروید

با زنون که های با پروائلی/زدیک های در بخش طبیعی گروید گرفت و تختی این که هیج گونه باندی در این

ویا و انتخاب طبیعی گروید در یک

برای برای گروید استفاده کاملا اختصاصی عامل

می کنند.

تعیین میزان حساسیت PCR برای انجام واکنش

طرح شرایط به بهنین گروید و الکتروروز

حساسیت PCR محسون پس از انجام واکنش 110 گرفت. واکنش تا 158/115 درصد تحقیق

مورد بررسی قرار گرفت. واکنش تا 158/115

45 درجه سانتیمتریا گردید (5000 دور مدت 5 دقیقه).

از این ترجمه برای نویسنده، گروید میکروبیتر

سکانس با شکست گروید پس از دریافت تحقیق از شرکت دیجیتال سکانس، مسکرک ماهالی

این با استفاده از N7 در سایت ترجمه کرده و نویسنده به

به همراه شرکت Bioneer, امکان مطالعه

Aboriginal particles.

Ghiglia Proteus

PCR با همان شرایط قبل و برای استفاده شده انجام

گردید.

DNA محسون

PCR گردید. برای این منظور، برای تاریخ

امضای مولکول مربوط به هر

یک از ویا متوافق با پروائلی/مشخص گردید که تولی عای

به دست آمده دقیق مربوط به باکتری های مورد نظر

می باشد.

تعیین میزان اختصاصی بودن

PCR برای تعیین

میزان/اختصاصی ووقت PCR هر یک از جفت برای گروید

با زنون که های با پروائلی/زدیک های در بخش طبیعی گروید گرفت و تختی این که هیج گونه باندی در این

ویا و انتخاب طبیعی گروید در یک

برای برای گروید استفاده کاملا اختصاصی عامل

می کنند.

تعیین میزان حساسیت PCR برای انجام واکنش

طرح شرایط به بهنین گروید و الکتروروز

حساسیت PCR محسون پس از انجام واکنش 110 گرفت. واکنش تا 158/115 درصد تحقیق

مورد بررسی قرار گرفت. واکنش تا 158/115

45 درجه سانتیمتریا گردید (5000 دور مدت 5 دقیقه).

از این ترجمه برای نویسنده، گروید میکروبیتر

سکانس با شکست گروید پس از دریافت تحقیق از شرکت دیجیتال سکانس، مسکرک ماهالی

این با استفاده از N7 در سایت ترجمه کرده و نویسنده به

به همراه شرکت Bioneer, امکان مطالعه

Aboriginal particles.
تشخیص سریع مولکولی سالمنلا تیفی به روش PCR با استفاده از آن invA درنمونه‌های... - رضا موززد و همکاران

URI Genomics & Sequencing Center

عدد کپی‌ها = 
\[
\frac{\text{این عدد}}{\frac{\text{گفتار} \times 6.022 \times 10^{23}}{\text{طول و شیء}}} \times \frac{\text{طول و شیء}}{\text{طول و شیء}}
\]

ترین زنونیک انجام شده است. با توجه به این که زنونیک در نمونه اولیه برای باکتری سالمنلا 955 نگ/μl بوده است. برای محاسبه حساسیت واتکش چندین رفت تهیه گردید و سپس این رفت های PCR گذشته آن. تجربه این که رفت PCR این وضعیت 1/100 زنون اولیه باند حاصل می‌گردد. از این رو PCR می‌توان طبق جدول 2 حساسیت یا تعیین نمود.

بر این اساس، متوسط حساسیت PCR طراحی شده برای تشخیص این باکتری می‌توان تعداد کی نامبر باکتری که با این تکنیک قابل تشخیص است را از فرمول که توسط Andrew Staroscik thumbnail4.1 سکانس برای انتخاب شده به منظور تشخیص سالمنلا تیفی

جدول شماره 1. سکانسو برای انتخاب شده به منظور تشخیص سالمنلا تیفی

<table>
<thead>
<tr>
<th>Primers</th>
<th>Sequences</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Forward</td>
<td>5-acc acg ctc ttt cgt ctg g-3</td>
</tr>
<tr>
<td>Reverse</td>
<td>5-gaa ctg act acg tag acg ctc-3</td>
</tr>
</tbody>
</table>

جدول شماره 2. میزان حساسیت تشخیصی لیزر مولکولی PCR برای هر یک از عوامل

<table>
<thead>
<tr>
<th>باکتری</th>
<th>غلظت زنون اولیه (ng/μl)</th>
<th>رفت زنون اولیه (ng/μl)</th>
<th>طول زنون باکتری</th>
<th>کی نامبر قالب تشخیص</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Salmonella</td>
<td>955</td>
<td>9.55</td>
<td>4,685,848 pb</td>
<td>1.89×108</td>
</tr>
</tbody>
</table>

تصویر شماره 1. تصویر زل الکتروفرز سالمنلا تیفی. رنگ 1 کنترل منفی، رنگ 2 و 3 از نظر زن invA سالمنلا تیفی در موارد غذایی آلوده مثبت می‌باشد. رنگ 4 کنترل تاکس سالمنلا تیفی (PTCC: 1609) ردیف 5 مارکر (100bp DNA ladder, SM#333)
بحث و نتیجه‌گیری

امروزه کنتراکت پذیرشی مواد غذایی در جوامع بشری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد که همواره شروع بیماری‌های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده‌ای بی‌مصرفی در برابر سطح بهداشت پایین تر تلقی می‌گردد. عوامل مختلف باکتری‌ای و انگلی آب و مواد غذایی آن‌ها که می‌کند و انسان‌ها با خوردن این مواد به بیماری‌های مختلف از جمله سرمومیت غذایی متاثر می‌گردند. یکی از این عوامل مهم بیماری‌های سالمونئالیا می‌باشد. سالمونئالیا با این هرم‌گونه هستند که از طریق آب و مواد غذایی به انسان منتقل و باعث بروز سرمومیت‌های غذایی، عینکی‌نی و توب‌روادی می‌شوند.

در این مطالعه، شناسایی سالمونئالیا تیفی با استفاده از برایه‌های زن invA و Jamshidi و Santos PCR یکینکی می‌باشد. جهت شناسایی سالمونئالیا در مواد غذایی به‌صورت شیر و مصر پس از آن مطالعه نیاز داشت که تکنیک روشنی مبنای جهت شناسایی سالمونئالیا به خصوص سالمونئالیا در مواد غذایی مورد مطالعه قرار گرفت. با استفاده از invA و Park CH Jiang CH inversion به سیار روی موارد سالمونئالیا می‌باشد. سالمونئالیا با این هرم‌گونه هستند که از طریق آب و مواد غذایی به انسان منتقل و باعث بروز سرمومیت‌های غذایی و Hennessy و Hammarlund در سال 1987 و Ryan H. Hepplethwaite در سال 2001 پژوهشی خود را انجام داده‌اند.

در این مطالعه، شناسایی سالمونئالیا تیفی با استفاده از invA و Jamshidi و Santos PCR یکینکی می‌باشد. جهت شناسایی سالمونئالیا در مواد غذایی به‌صورت شیر و مصر پس از آن مطالعه نیاز داشت که تکنیک روشنی مبنای جهت شناسایی سالمونئالیا به خصوص سالمونئالیا در مواد غذایی مورد مطالعه قرار گرفت. با استفاده از invA و Park CH Jiang CH inversion به سیار روی موارد سالمونئالیا می‌باشد. سالمونئالیا با این هرم‌گونه هستند که از طریق آب و مواد غذایی به انسان منتقل و باعث بروز سرمومیت‌های غذایی و Hennessy و Hammarlund در سال 1987 و Ryan H. Hepplethwaite در سال 2001 پژوهشی خود را انجام داده‌اند.

در این مطالعه، شناسایی سالمونئالیا تیفی با استفاده از invA و Jamshidi و Santos PCR یکینکی می‌باشد. جهت شناسایی سالمونئالیا در مواد غذایی به‌صورت شیر و مصر پس از آن مطالعه نیاز داشت که تکنیک روشنی مبنای جهت شناسایی سالمونئالیا به خصوص سالمونئالیا در مواد غذایی مورد مطالعه قرار گرفت. با استفاده از invA و Park CH Jiang CH inversion به سیار روی موارد سالمونئالیا می‌باشد. سالمونئالیا با این هرم‌گونه هستند که از طریق آب و مواد غذایی به انسان منتقل و باعث بروز سرمومیت‌های غذایی و Hennessy و Hammarlund در سال 1987 و Ryan H. Hepplethwaite در سال 2001 پژوهشی خود را انجام داده‌اند.

در این مطالعه، شناسایی سالمونئالیا تیفی با استفاده از invA و Jamshidi و Santos PCR یکینکی می‌باشد. جهت شناسایی سالمونئالیا در مواد غذایی به‌صورت شیر و مصر پس از آن مطالعه نیاز داشت که تکنیک روشنی مبنای جهت شناسایی سالمونئالیا به خصوص سالمونئالیا در مواد غذایی مورد مطالعه قرار گرفت. با استفاده از invA و Park CH Jiang CH inversion به سیار روی موارد سالمونئالیا می‌باشد. سالمونئالیا با این هرم‌گونه هستند که از طریق آب و مواد غذایی به انسان منتقل و باعث بروز سرمومیت‌های غذایی و Hennessy و Hammarlund در سال 1987 و Ryan H. Hepplethwaite در سال 2001 پژوهشی خود را انجام داده‌اند.

در این مطالعه، شناسایی سالمونئالیا تیفی با استفاده از invA و Jamshidi و Santos PCR یکی‌نکی می‌باشد. جهت شناسایی سالمونئالیا در مواد غذایی به‌صورت شیر و مصر پس از آن مطالعه نیاز داشت که تکنیک روشنی مبنای جهت شناسایی سالمونئالیا به خصوص سالمونئالیا در مواد غذایی مورد مطالعه قرار گرفت. با استفاده از invA و Park CH Jiang CH inversion به سیار روی موارد سالمونئالیا می‌باشد. سالمونئالیا با این هرم‌گونه هستند که از طریق آب و مواد غذایی به انسان منتقل و باعث بروز سرمومیت‌های غذایی و Hennessy و Hammarlund در سال 1987 و Ryan H. Hepplethwaite در سال 2001 پژوهشی خود را انجام داده‌اند.
References


Molecular Detection of Salmonella typhi in Food Samples by PCR Using invA Gene

Ahmadi A¹, Ghorbanali Zadegan M¹, Najafi A¹, Tavakoli H.R², Mirnejad R*¹

(Received: 7 Oct. 2011 Accepted: 5 Mar. 2012)

Abstract

Introduction: Salmonella typhi is an important enteric pathogen that can be transmitted via food and water. So, careful and rapid identification of this organism is very important. Today, new techniques in rapid diagnosis of pathogenic bacteria in food are important. The purpose of this study was molecular detection of S. typhi in food samples by PCR using invA gene.

Materials & Methods: After extraction of genomic DNA by two standard methods, molecular method of PCR by specific primer of invA gene on any of the standard strains of bacteria was set. Then, using the PCR method, S. typhi was detected in samples of contaminated food.

Findings: The results showed that invA gene is the suitable sequence for detection of S. typhi in contaminated foods. Also, designed PCR method in this study is a method with high sensitive (detectable copy number is 1.89×10⁸) and specificity for rapid detection of S. typhi in contaminated food.

Discussion & Conclusion: The results of this study shows that PCR method is safe, fast and sensitive for rapid detection and identification of bacteria in contaminated foods and can be an appropriate substitute method for the current and conventional methods.

Keywords: Salmonella typhi, molecular detection, PCR, food

1. Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Military Health Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
*(corresponding author)