

تشخیص سریع مولکولی سالمونلا تیفی به روش PCR با استفاده از ژن invA در نمونه های مواد غذائی

علی احمدی^{*}، مهدی قربانعلی زادگان^۱، علی نجفی^۱، حمید رضا توکلی^۲، رضا میرنژاد^۱

- (۱) مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)
- (۲) مرکز تحقیقات بهداشت نظامی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)

تاریخ پذیرش: ۹۰/۷/۱۵

تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۱۲

چکیده

مقدمه: به دلیل این که سالمونلا تیفی یک پاتوژن روده ای مهم و آلوده کننده آب و غذا می باشد، تشخیص سریع و دقیق آن در آب و مواد غذائی بسیار حائز اهمیت است. امروزه تشخیص سریع باکتری های بیماری زا با تکنیک های نوین در مواد غذایی از اهمیت زیادی برخوردار است. هدف از انجام این مطالعه جداسازی سالمونلا تیفی در مواد غذایی آلوده با روش PCR با استفاده از ژن invA بوده است.

مواد و روش ها: بعد از استخراج DNA با دو روش استاندارد، ابتدا روش مولکولی PCR توسط پرایمرهای اختصاصی ژن invA بر روی هر یک از سوش های باکتریایی استاندارد تنظیم گردید. سپس با استفاده از روش PCR باکتری مورد نظر در نمونه های غذایی آلوده جداسازی گردید.

یافته های پژوهش: نتایج این مطالعه نشان داد که ژن invA مناسب ترین توالی برای جداسازی سالمونلا تیفی در مواد غذائی آلوده می باشد. هم چنین روش PCR طراحی شده در این مطالعه برای جداسازی سریع باکتری بیماری زای سالمونلا تیفی در نمونه های غذایی آلوده، دارای حساسیت (با کپی نامیر قابل جداسازی $10^8 \times 10^9$) و اختصاصیت بالا می باشد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که روش مولکولی PCR بهینه شده در این مطالعه روشی مناسب جهت تشخیص سریع باکتری بیماری زای سالمونلا تیفی در نمونه های غذایی آلوده بوده و می تواند به عنوان جایگزینی مناسب برای روش های رایج و مرسوم فعلی به کار گرفته شود.

واژه های کلیدی: سالمونلا تیفی، تشخیص مولکولی، PCR، مواد غذائی

* نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)

Email: rimirnejadreza@yahoo.com

مقدمه

بسیار بالا بوده و با کمک آن ها در زمان بسیار کمتری میکرووارگانیسم مورد نظر شناسایی می گردد. به طوری که امروزه در مراکز تحقیقاتی و آزمایشگاه های بالینی در داخل و خارج کشور از روش مولکولی PCR جهت شناسائی سالمونلاها و سایر پاتوژن ها در نمونه های بالینی استفاده فراوانی می شود،^(۸,۹) در خصوص تشخیص عوامل آلوده کننده مواد غذائی به خصوص سالمونلاها با روش مولکولی در ایران مطالعاتی انجام شده است.^(۱۰) ولی در زمینه تشخیص سالمونلا تیفی با استفاده از ژن های اختصاصی، مطالعه ای صورت نگرفته، به همین دلیل در این مطالعه تشخیص سریع سالمونلا تیفی در مواد غذایی آلوده با روش PCR با استفاده از ژن invA طراحی گردید.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر از نوع آزمایشگاهی و تجربی(Experimental) است. سوش های استاندارد باکتری سالمونلا تیفی 1609 : PTCC، لیستریا مونوسیتوژن 1163 : PTCC و اشرشیاکلی 35218 : ATCC، از مرکز کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی و عفونی ایران، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران و محیط ای کشت Merck از شرکت LB broth و LB agar گردید. بعد از کشت باکتری های فوق بر اساس میزان حساسیت رنگ اتیدیوم بروماید مقدار DNA تعیین گردید. با توجه به این که توانایی روش الکتروفوروز در رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید در تعیین DNA در بهترین شرایط یک نانوگرم می باشد، نمونه خالص شده از محیط کشت به صورت رقت سریالی ۱/۲ تا ۱/۸۰ رقیق گردید و ضعیف ترین باند انتخاب شد.^(۹)

پرایمر؛ پس از بررسی منابع تشخیص سالمونلا تیفی با استفاده از PCR، تمام ژن ها و پرایمرهایی که تاکنون استفاده شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. پرایمرهای مربوط به ژن invA انتخاب و مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس میزان حساسیت و اختصاصیت پرایمرها و نتایج آنالیز آن ها با نرم افزار ملکولی BLAST پرایمر مطلوبی که مشخصات آن در جدول شماره ۱ ذکر شده است، برای تشخیص سالمونلا تیفی انتخاب گردید. بررسی نرم افزار مولکولی

بیماری های ناشی از مصرف غذا(Food-borne diseases) طیف وسیعی از بیماری ها در نقاط مختلف جهان را در بر می گیرند. به عنوان مثال، در ایالات متحده آمریکا، پس از بیماری های تنفسی و ریوی در درجه دوم اهمیت قرار دارند. طبق گزارش مرکز کنترل بیماری ها(CDC) عوامل باکتریال عامل ایجاد ۷۰ درصد عفونت ها و مسمومیت های غذایی هستند. گزارش های متعددی از بروز اپیدمی مسمومیت های غذایی توسط سالمونلا در نقاط مختلف جهان وجود دارد. به عنوان نمونه می توان به بزرگ ترین اپیدمی سالمونلوز ناشی از سالمونلا تیفی موریوم در سال ۱۹۸۵ در ایالات متحده اشاره نمود که به دلیل آلوده شدن شیر پاستوریزه شده در کارخانه رخداد و طی آن ۱۷۰۰۰۰ نفر دچار مسمومیت گردیدند.^(۱) در سال ۱۹۹۴ نیز به دلیل آلودگی بستنی پاستوریزه به سالمونلا انتریتیدیس ۲۲۴۰۰۰ نفر در ایالت آمریکا دچار عفونت غذایی گردیدند.^(۲)

جداسازی و تشخیص میکرووارگانیسم های بیماری زا در آب و مواد غذایی یکی از موضوعات بسیار مهم در بهداشت مواد غذایی محسوب می گردد. در حال حاضر، تشخیص وجود باکتری ها در مواد غذایی با دو روش کلی سنتی و مدرن انجام می گیرد.^(۳) روش های سنتی در مقایسه با روش های نوین، به دلیل نیاز به انجام آزمایشات افتراقی و تکمیلی، روش هایی وقت گیر و علی رغم کم هزینه بودن گاهی مشکل ساز می باشند. این خلاصه به ویژه در موقعی که اعلام سریع نتایج از نظر پزشکی و اقتصادی حائز اهمیت است بیشتر احساس می گردد.^(۴,۵) اساس این روش ها عموماً کشت باکتری در محیط های مختلف و تولید کلنی های قابل رویت در یک محیط جامد انتخابی و انجام آزمایشات بیوشیمیابی در محیط های مایع است. در مورد برخی باکتری ها مانند سالمونلاها حتی مجبور هستیم از مواحل پیش غذی سازی، غنی سازی و کشت در محیط جامد انتخابی استفاده نمائیم.^(۶,۷) خوشبختانه، با کشف روش های سریع تشخیص مولکولی این مشکلات تا حد زیادی مرتفع گردیده است، زیرا این روش ها دارای سرعت و دقت

توسط نرم افزار Contig manager سکانس های کامل آن استخراج گردید.

تعیین میزان اختصاصی بودن PCR جهت تعیین میزان اختصاصیت هر یک از واکنش های PCR و پرایمرهای استفاده شده، ابتدا توسط نرم افزار Blast موجود در سایت NCBI پرایمرهای استفاده شده آنالیز شده و از نظر اختصاصی بودن مورد بررسی قرار گرفت. هم چنین برای اطمینان بیشتر، در عمل نیز جهت سویه های باکتریایی نزدیک همانند باکتری های E.coli، Enterobacter، Shigella، Proteus PCR واکنش با همان شرایط قبلی و پرایمرهای استفاده شده انجام گردید.

تعیین میزان حساسیت PCR بر حسب غلظت DNA ژنومیک: برای این منظور، ابتدا غلظت DNA ژنومیک استخراج شده از هر یک از باکتری ها به رویی که قبلا ذکر گردید اندازه گیری شد. سپس از این DNA های استخراج شده، برای هر یک از باکتری ها رقت تهیه گردید و در نهایت از این رقت های تهیه شده واکنش PCR انجام شد تا حساسیت کار اندازه گیری شود.

یافته های پژوهش

تأثیر مخصوصات PCR: با بررسی و مقایسه سکانس ها با سکانس های استخراج شده مربوط به هر یک از عوامل باکتریایی مشخص گردید که توالی های به دست آمده دقیقا مربوط به باکتری های مورد نظر می باشند.

تعیین میزان اختصاصی بودن PCR برای تعیین میزان اختصاصی بودن پرایمرهای مورد استفاده، هر یک از جفت پرایمرها با ژنوم گونه های باکتریایی نزدیک که در بخش دوم ذکر شده اند مورد آزمایش قرار گرفت و نتیجه این که هیچ گونه باندی در این واکنش ها حاصل نشد. در نتیجه، مشخص گردید که پرایمرهای مورد استفاده کاملاً اختصاصی عمل می کنند.

تعیین میزان حساسیت PCR پس از انجام واکنش PCR طبق شرایط بهینه شده بخش دوم و الکتروفورز مخصوصات PCR توسط ژل آکارز ۱/۵ درصد نتیجه مورد بررسی قرار گرفت. واکنش تا رقت ۱/۱۰۰ از

این ژن و پرایمرهای ارایه شده نشان داد که سکانس انتخاب شده از ژن invA مناسب ترین توالی برای شناسایی سالمونولا تیفی در مواد غذائی آلوود می باشد. استخراج ژنوم: برای استخراج ژنوم از روش فل و کلروفرم استفاده شد. به این ترتیب که برای set up نمودن آزمایش PCR ابتدا چند کلنسی از باکتری های استاندارد به ۱ میلی لیتر سرم فیزیولوژی وارد و سپس سانتریفیوژ گردید(۵۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه)، به رسوب حاصل ۵۰۰ میکرولیتر بافر Salt Tris EDTA افزوده و پس از ۱۰ دقیقه مخلوط نمودن، ۱۸۰ میکرولیتر SDS دو درصد به آن اضافه گردید. پس از آن ۳۷۵ میکرولیتر استات سدیم به آن افزوده و ۱۰ بار تکان شدید داده شد. سپس در ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شده و به محلول رویی ۷۵۰ میکرولیتر ایزوبروپانول اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در یخچال منهای ۲۰ درجه نگهداری و پس از آن سانتریفیوژ گردید(۱۵۰۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی گراد). به رسوب حاصل ۳۷۵ میکرولیتر اتانول ۷۰ افزوده و به خوبی مخلوط گردید و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد. به رسوب حاصل ۲۵ میکرولیتر بافر TE اضافه کرده و جهت انجام PCR استفاده گردید.

بهینه سازی مواد لازم برای واکنش PCR: برای رسیدن به این هدف، چند بار فرآیند PCR با ژنوم سویه های استاندارد انجام شد و در هر مرحله یکی از غلظت های مواد اولیه(پرایمرها، MgCl₂ و dNTP، آنزیم Taq پلی مراز) استفاده گردید و در نهایت مناسب ترین مقدار مواد لازم برای انجام PCR انتخاب شد. دمای اتصال پرایمرها، پروفایل های حرارتی و زمان در واکنش تغییر داده شد تا بهترین شرایط PCR فراهم گردد. جهت بهینه سازی دمای اتصال پرایمرها(Annealing) از درجه حرارت های ۵۶، ۵۷، ۵۸ و ۵۹ درجه سانتی گراد استفاده شد.

جهت تأیید مخصوصات PCR پس از انجام واکنش PCR محصول به همراه پرایمر اختصاصی جهت تعیین سکانس به شرکت Bioneer کره ارسال گردید. پس از دریافت نتیجه از شرکت مذکور، سکانس های ارسالی ابتدا توسط نرم افزار Chromas خوانده شد و سپس

URI Genomics & Sequencing ۲۰۰۴ در سایت Center ارائه شده است استفاده نمود.

number of copies =
(amount*6.022×1023)/(length*1×109*650)

number=

(ng * number/mole)/(bp* ng/g * g/ mole of bp)

ژن invA مربوط به باکتری سالمونلا: با توجه به شرایط بینه شده از نظر مواد مصرفی در واکنش و سیکل حرارتی مناسب، واکنش PCR برای ژن invA با پرایمرهای اختصاصی آن انجام شد و نهایتاً باند ۹۴۲ جفت بازی حاصل گردید که نتیجه آن در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است.

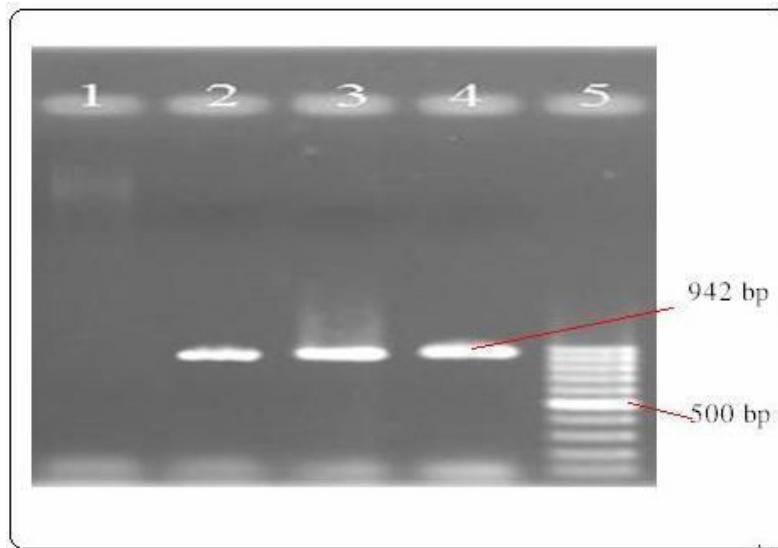
DNA ژنومیک انجام شده است. با توجه به این که غلظت DNA ژنومیک در نمونه اولیه برای باکتری سالمونلا $955 \text{ ng}/\mu\text{l}$ بوده است، برای محاسبه حساسیت واکنش چندین رقت تهیه گردید و سپس از این رقت های PCR گذاشته شد. نتیجه این که تا رقت ۱/۱۰۰ ژنوم اولیه باند حاصل می گردد. از این رو می توان طبق جدول ۲ حساسیت PCR را تعیین نمود. بر این اساس، متوسط حساسیت PCR طراحی شده برای تشخیص این باکتری می توان تعداد کپی نامبر باکتری که با این تکنیک قابل تشخیص است را از فرمولی که بواسطه Andrew Staroscik در سال

جدول شماره ۱. سکانس پرایمر انتخاب شده به منظور تشخیص سالمونلا تیفی

Primers	Sequences
Forward	5-acc acg ctc ttt cgt ctg g-3
Reverse	5-gaa ctg act acg tag acg ctc-3

جدول شماره ۲. میزان حساسیت تشخیصی روش مولکولی PCR برای هر یک از عوامل

پی نامبر قابل تشخیص	طول ژنوم باکتری	رقت ۱/۱۰۰ (ng/ μl)	غلظت ژنوم اولیه (ng/ μl)	باکتری
4,685,848 pb	1.89×108	9.55	955	Salmonella



تصویر شماره ۱. تصویر ژل الکتروفورز سالمونلا تیفی. ردیف ۱ کنترل منفی، ردیف ۲ و ۳ از نظر ژن invA سالمونلا تیفی در مواد غذائی آلوود مثبت می باشند. ردیف ۴ کنترول مثبت سالمونلا تیفی (PTCC : 1609)، ردیف ۵ مارکر (100bp DNA ladder, SM#333).

بحث و نتیجه گیری

امروزه کنترل بهداشت مواد غذایی در جوامع بشری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد که همواره شیوع بیماری‌های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده یکی از مشکلات مهم به ویژه در جوامع دارای سطح بهداشت پایین تر تلقی می‌گردد. عوامل مختلف باکتریائی و انگلی آب و مواد غذایی را آلوده می‌کنند و انسان‌ها با خوردن این مواد به بیماری‌های مختلف از جمله مسمومیت غذایی مبتلا می‌گردند. یکی از این عوامل مهم بیماری زا سالمونلاها می‌باشند. سالمونلاها باسیل‌های گرم منفی هستند که از طریق آب و مواد غذایی به انسان منتقل و باعث بروز مسمومیت‌های غذایی، سپتی سمی و تب روده ای (حصبه یا تیفوئید) می‌گردند.^(۱,۲,۳,۱۱)

مواد غذایی آلوده با روش PCR با استفاده از ژن invA انجام گردید. همانند مطالعه Santos و Park و Jamshidi و همکارانش که نشان دادند روش PCR تکنیکی مناسب جهت شناسائی سالمونلاها در مواد غذایی به خصوص شیر و مرغ است، این مطالعه نیز نشان داد که تکنیک PCR روشی مناسب جهت شناسائی سالمونلاها به خصوص سالمونلا در نمونه‌های مواد غذایی در مقایسه با سایر روش‌های معمول می‌باشد.^(۱۰,۱۳,۱۴) در این مطالعه، شناسائی سالمونلا تیفی با استفاده از پرایمرهای ژن invA انجام شده و مشخص شد که این روش در تشخیص سریع و دقیق سالمونلا تیفی بسیار مناسب است که این مشابه مطالعات Chiu CH و Feder و Suo و همکارانش می‌باشد که اثبات نمودند روش مولکولی PCR با استفاده از ژن‌های ویرولانس مانند invA بسیار سریع تر و دقیق تر از سایر روش‌ها به ویژه کشت می‌باشد، زیرا روش‌های سنتی روش‌هایی هستند که غالباً وقت گیر بوده و علی رغم کم هزینه بودن همواره برای میکروب شناسان مشکل ساز هستند و خصوصاً هنگامی که اعلام سریع نتایج از نظر اقتصادی و پزشکی واجد اهمیت است، این مشکل بیشتر احساس می‌گردد. خوبشخانه در روش‌های جدید و سریع که امروزه برای تشخیص و جداسازی باکتری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، این مشکلات مرتفع گردیده و با تکنیک‌های مبتنی بر روش‌های فیزیکی، شیمیایی، ایمونولوژیکی و در راس آن‌ها روش‌های مولکولی می‌تواند در اسرع وقت نتایج را اعلام نمود.^(۱۵,۱۶,۱۷) به طورکلی، با توجه به تغییرات گوناگونی که امروزه در فنوتیپ باکتری‌ها پاتوژن به صورت طبیعی و یا دستکاری‌های ژنتیکی و عمده صورت می‌گیرد و باعث اختلال در تشخیص این باکتری‌ها به روش‌های سنتی می‌شود، از روش‌های مولکولی PCR که سریع تر و دقیق تر نیز می‌باشند به عنوان جایگزینی مناسب برای روش‌های رایج و مرسوم فعلی برای شناسائی باکتری‌ها در مواد غذایی آلوده می‌توان استفاده کرد. نتایج این مطالعه نشان داد که روش مولکولی PCR بهینه شده ژن invA، روشی مناسب

در ایالات متحده آمریکا، بین سال‌های ۱۹۷۷ تا ۱۹۸۱ تقریباً ۹۵۴ اپیدمی ثبت شده که همگی به علت مصرف غذای آلوده ایجاد شده‌اند. طبق این گزارشات، ۴۹ درصد موارد عفونت و مسمومیت غذایی در این کشور ناشی از سالمونلا بوده است و طبق گزارش Hennessy و همکاران در سال ۱۹۸۷ و Ryan همکاران در سال ۲۰۰۱ آلودگی فرآورده‌های لبنی (شیر و بستنی) در دو نوبت منجر به بروز دو اپیدمی در ایالات متحده گردید که در خلال آن‌ها به ترتیب ۱۷۰۰۰ و ۲۲۴۰۰ نفر دچار مسمومیت گردیدند و عامل آن سالمونلا انتریتیدیس و تیفی موریوم معرفی گردید.^(۱,۲) متأسفانه، در کشورهای جهان سوم و حتی در بسیاری از کشورهای اروپایی آمار دقیقی از اپیدمی‌ها و به ویژه تعداد انواع مسمومیت‌ها و بیماری‌های ناشی از مصرف غذای آلوده در دسترس نیست.^(۱۰,۱۲) در کشور ما ایران، حدود ۲۵ درصد از مواد غذایی به دلیل فساد از بین می‌رونده و به دلایل دیگر مانند سهل انگاری و عدم رعایت موازین بهداشتی همه ساله شاهد بروز انواع اپیدمی‌های ناشی از مصرف مواد غذایی هستیم.^(۱۰)

با توجه به اهمیتی که ذکر گردید تشخیص سریع و دقیق این عوامل در مواد غذایی می‌تواند یکی از راه‌های پیشگیری از همه گیری‌های وسیع باشد. در این راستا این مطالعه جهت تشخیص سالمونلا تیفی در

سپاس گزاری

نویسندها این مقاله از مراکز تحقیقاتی بیولوژی مولکولی و بهداشت دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج) به خاطر پشتیبانی مالی و اجرای آن تقدیر و تشکر می نمایند.

References

- 1-Ryan CA, Nickels MK, Hargrett-Bean NT, Potter ME, Endo T, Mayer L, et al. Massive outbreak of antimicrobial resistant salmonellosis traced to pasteurized milk. *JAMA* 1987;258:3269-74.
- 2-Hennessy TW, Hedberg CW, Slutsker L, White KE, Besser-Wiek JM, Moen ME, et al. A national outbreak of *Salmonella* enteritidis infections from ice cream. *N Engl J Med* 1996;334:1281-6.
- 3-Carrique-Mas JJ, Davies RH. Sampling and bacteriological detection of *Salmonella* in poultry and poultry premises: a review. *Rev Sci Tech* 2008;27:665-77.
- 4-Tavakoli H, Bayat M, Kousha A, Panahi P. The application of chromogenic culture media for rapid detection of food and water borne pathogen. *American-Eurasian J Agric & Environ Sci* 2008;4:693-8.
- 5-Dwivedi HP, Jaykus LA. Detection of pathogens in foods: the current state-of-the-art and future directions. *Crit Rev Microbiol* 2011;37:40-63.
- 6-Jasson V, Jacxsens L, Luning P, Rajkovic A, Uyttendaele M. Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. *Food Microbiol* 2010;27:710-30.
- 7-Wain J, Hosoglu S. The laboratory diagnosis of enteric fever. *J Infect Dev Ctries* 2008; 2:421-5.
- 8-Abubakar I, Irvine L, Aldus CF, Wyatt GM, Fordham R, Schelenz S, et al. A systematic review of the clinical, public health and cost-effectiveness of rapid diagnostic tests for the detection and identification of bacterial intestinal pathogens in faeces and food. *Health Technol Assess* 2007;11:211-16.
- 9-Lukinmaa S, Nakari UM, Eklund M, Siitonen A. Application of molecular genetics methods in diagnostics and epidemiology of food-borne bacterial pathogens. *APMIS* 2004;112:908-29.
- 10-Jamshidi A, Bassami MR, Afshari-Nic S. Identification of *Salmonella* spp. and *Salmonella typhimurium* by a multiplex PCR-based assay from poultry carcasses in Mashhad- Iran. *Int J Vet Res* 2009;1:43-8.
- 11-Aldridge P, Gerner J, Karlinsey JE, Hughes KT. Transcriptional and translational control of the *salmonella* fliC gene. *J Bacteriol* 2006;188:4487-96.
- 12-Herikstad H, Motarjemi Y, Tauxe RV. *Salmonella* surveillance: a global survey of public health serotyping. *Epidemiol Infect* 2002;129:1-8.
- 13-Santos LR, Nascimento VP, Oliveira SD, Flores ML, Pontes AP, Ribeiro R, et al. Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of *Salmonella* in inoculated chicken meat. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2001;43:247-50.
- 14-Park YS, Lee SR, Kim YG. Detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in kimchi by multiplex polymerase chain reaction (mPCR). *J Microbiol* 2006;44:92-7.
- 15-Feder I, Nietfeld JC, Galland J, Yeary T, Sargeant JM, Oberst R, et al. Comparison of cultivation and PCR-hybridization for detection of *Salmonella* in porcine fecal and water samples. *J Clin Microbiol* 2001;39: 2477-84.
- 16-Chiu CH, Ou JT. Rapid identification of *Salmonella* serovars in feces by specific detection of virulence genes, invA and spvC, by an enrichment broth culture-multiplex PCR combination assay. *J Clin Microbiol* 1996;34:2619-22.
- 17-Suo B, He Y, Tu SI, Shi X. A multiplex real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157, and *Listeria monocytogenes* in meat products. *Foodborne Pathog Dis* 2010;7:619-28.

جهت تشخیص سریع باکتری بیماری زای سالمونلا تیفی در نمونه های غذایی آلووه است و می توان آن را جایگزین روش های تشخیصی سنتی در آزمایشگاه های مواد غذائی نمود.



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 1.89×10^8) 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)

