تکثیر ،کلونینگ و بیان ژن نوترکیب bp۲۶(omp۲۸)باکتریB. Melitensisجدا شده از استان مرکزی و تخلیص پروتئین BP26

مریم عزیزپور مغوان[۱]،سید داود حسینی*[۲]، حسین بصیری[۳]، ندا اکبری [۳]، میترا نظام آبادی[۴] ، صابر اسکندری[۵]، محسن ساریخانی[۶]
۱_دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی واحد علوم و تحقیقات استان مرکزی ۲_استادیار ، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی مرکزی (اراک)
۳_استادیار ، گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک ۴_کارشناس میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک ۵_کارشناسی ارشد بیولوژی دریا ،
موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی مرکزی (اراک) ۶_دانشجوی دکتری ویروس شناسی، مرکز تحقیقات هندوستان

مقدمه و هدف: بروسلوز بیماری ناتوان کننده ای است که و هزینه گزافی را بر اقتصاد و اجتماع تحمیل می کند . بنابراین استفاده از بهترین ، دقیق ترین و به صرفه ترین روش برای تشخیص این بیماری ضروری می باشد . عامل شایع بروسلوز در ایران B. melitensis بوده و پروتئین BP۲۶ این باکتری خاصیت آنتی ژنیسیته خوبی دارد. بنابراین هدف از این تحقیق تولید پروتئین BP۲۶ نوترکیب از باکتریB. Melitensis توسط وکتور بیانیpET-۲۸a می باشد .

موادوروش کار: در این مطالعه از باکتری کشت شده تخلیص DNA ژنومیک به روش پروتئیناز K و فنل/کلرفرم ، انجام شد .سپس با توجه به اطلاعات توالی ژن B. melitensis bp۲۶ موجود در بانک اطلاعات ژن ، برای ژن مذکور پرایمر طراحی شده و واکنش PCR راه اندازی، بهینه سازی و انجام شد. در ادامه محصول PCRابتدا در وکتور PTZ۵۷R/T الحاق گردید و پس از آن در وکتور pET-۲۸aکلون گردید . وکتور نوترکیب به میزبان (E. coli BL۲۱(DE۳ منتقل گردید و پروتئین نوترکیب و با ستون کروماتوگرافی Ni-NTA علیه His tag تخلیص گردید .

نتایج وبحث: اندازه ژن به دست آمده از واکنش زنجیره ای پلیمراز با اندازه بخشی از ژنB. melitensis bp۲۶ موجود در بانک اطلاعات ژن مطابقت داشت . ژن bp۲۶ بدون القاء با IPTG به میزان کم بیان شده و با افزودن آن به غلظت ۱ mM به محیط کشت در ساعت سوم ، حداکثر بیان را مشاهده نمودیم . تولید پروتئین نوترکیب BP۲۶ از باکتری B. melitensis بومی استان مرکزی با استفاده ازناقل پلاسمیدی pET-۲۸a امکان پذیر گردید . با توجه به اهمیت این پروتئین و به منظور بررسی های بیشتر در آینده ، امکان تولید آن در کشور فراهم شد .

واژه های کلیدی: B. melitensis، ژن bp۲۶ ، OMP۲۸ ، بروسلوز

بررسی تغییرات شمارش استافیلوکوکوس اورئوس در طی فرایند خط تولید سوسیس کوکتل ساده در یکی از کارخانه های فراورده های گوشتی حومهٔ تهران

آراسب دباغ مقدم*[۱]، نوردهر رکنی[۲]، نرجس چراغی[۳]، ماندانا ابراهیمی[۴]، مهزاد آقازاده مشگی[۵]، عارف امیرخانی[۶]، حمید عزت پناه[۷]
۱- عضو هیات علمی گروه پزشکی اجتماعی و بهداشت و معاون بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی ارتش ج.ا. ایران ۲- استاد گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و عضو فرهنگستان علوم جمهوری اسلامی ایران ۳- دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۴- دامپزشک مسول فنی- بهداشتی در بخش خصوصی ۵- استادیار دانشکده تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران ۶- دانشیار بخش اپیدمیولوژی و آمار حیاتی انستیتو پاستور ایران ۷- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
پست الکترونیک نویسنده مسؤول: **dr_arasb@yahoo.com**

مقدمه وهدف: رشد استافیلوکوکوس اورئوس در سوسیس به علت ترشح انتروتوکسین موجب به خطر افتادن سلامت مصرف کنندگان می شود. انتروتوکسین ها به حرارت مقاومند و سوسیس از بهترین حمایت کننده های رشد استافیلوکوکوس اورئوس می باشد. در این بررسی اثر مراحل مختلف فرآیند تهیه سوسیس کوکتل بر کیفیت میکروبی آن با توجه به شاخص استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار: جامعهٔ آماری، نمونه های سوسیس کوکتل یکی از کارخانه های تهران بود. نمونه گیری به روش غیرپارامتریک در روزهای زوج هفته از مراحل مختلف خط تولید انجام شد. حجم کل نمونه ۱۰۸ عدد بود. محل های نمونه برداری عبارت بودند از: گوشت بعد از ورود، بعد از قصابی، بعد از گیوتین، بعد از چرخ گوشت، بعد از کاتر، سوسیس خام و بعد از پخت. شمارش استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت طبق استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۱۱۹۴ انجام شد. تجزیه و تحلیل داده ها بر مبنای آزمون های آماری پارامتریک مانند آنالیز واریانس Z Test T Test , و غیر پارامتریک انجام شد.

نتایج و بحث: مشخص گردید که با P<۰/۰۵ معنی داری، تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت خارج شده از چرخ گوشت نسبت به خمیر و همچنین در سوسیس خام نسبت به سوسیس پخته کاهش، در حالی که در مقایسهٔ خمیر نسبت به سوسیس خام افزایش یافته است. احتمالاً افزودن نیتریت سدیم، رشد و تکثیر استافیلوکوکوس اورئوس را در مرحلهٔ خمیر به تأخیر می اندازد. در مورد کاهش این باکتری در مرحلهٔ پخت، حرارت زیاد سبب این امر می شود. در این بررسی افزایش تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در سوسیس خام نسبت به خمیر، معنی دار می باشد. خمیر از کاتر به درون ترولی های حمل ریخته و به دستگاه پرکن حمل می شود، سپس توسط پرکن، خمیر، داخل پوشش ها پر می شود و توسط سوسیس پیچ، دوسر سوسیس گره زده می شود و توسط سوسیس جمع کن روی میله ای قرار می گیرد. احتمالا سوسیس خام در یکی از مراحل فوق دچار آلودگی با استافیلوکوکوس اورئوس شده است. به جز ترولی های حمل خمیر، سایر مسیر به صورت بسته طی می شود و احتمالا ترولی ها بیشترین نقش را در آلودگی سوسیس خام بعد از مرحله خمیر داشته اند. گاهی خمیر قبل از ورود به دستگاه پرکن، مدت زمان مدیدی معطل می ماند که ممکن است در افزایش جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس موثر باشد. انجام پژوهش های مشابه روی سایر فراورده های گوشتی همچون همبرگر، ناگت و غیره مورد توصیه است.

واژه های کلیدی: انتروتوکسین- استافیلوکوکوس اورئوس- فراورده های گوشتی-تغییرات میکروبی