

## مقاله علمی - پژوهشی:

# اختلافات جدایه‌های بالینی و غذایی باکتری *Listeria monocytogenes* در میزان بیان ژن‌های *prfA*, *sigB*, *lmo1847*, *lmo1634*, *hly*, *inLA* میگو

اسماعیل عبدالهزاده<sup>۱\*</sup>، امید جعفری<sup>۱</sup>، محمد حسن‌زاده صابر<sup>۱</sup>

\*Abdollahzadeh@rocketmail.com

۱-انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: فروردین ۱۴۰۳

## چکیده

یک بیماری مهم با نرخ مرگ‌ومیر بالاست (تا ۳۰ درصد) که باکتری *Listeria monocytogenes* آن را ایجاد می‌کند. امروزه، تحقیقات نشان می‌دهد، باکتری *L. monocytogenes* در محصولات شیلاتی شیوع دارد. لذا، بررسی و کنترل بیان ژن‌های بیماری‌زا و ژن‌های عامل چسبندگی سویه‌های مختلف این باکتری در مواد غذایی حائز اهمیت است. در مطالعه حاضر، میزان بیان ژن‌های *prfA*, *sigB*, *lmo1847*, *lmo1634*, *hly*, *inLA* تحت تاثیر نمک طعام و آبلیمو در آبگوشت میگو مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون t مستقل نشان داد که میزان بیان *prfA* در تیمارهای مرتبط با سویه بالینی به صورت معنی‌داری بیشتر از میزان بیان در سویه غذایی بود ( $p < 0.05$ ). به طور مشابه، میانگین بیان هر دو ژن عامل چسبندگی (*lmo1634* و *lmo1847*) و ژن عامل استرس (*sigB*) برای سویه بالینی به صورت معنی‌داری بیشتر از سویه غذایی بود. نقش آبلیمو در افزایش بیان ژن‌های بیماری‌زا و چسبندگی در دو جدایه غذایی و بالینی به صورت معنی‌داری بیشتر از سطوح مختلف نمک طعام بود ( $p < 0.05$ ). در مجموع، می‌توان اظهار داشت که میزان بیان ژن‌های کلیدی چسبندگی و بیماری‌زا تحت تاثیر نگهدارنده‌ها و استرس‌های محیطی در سویه‌های مختلف *L. monocytogenes* متفاوت است.

**کلمات کلیدی:** *Listeria monocytogenes*, تنظیم رونویسی ژن، میگو، بیماری‌زا

\*نویسنده مسئول



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

#### مقدمه

(LIPI-1)<sup>۱</sup> گفته می‌شود. این جزیره بیماری‌زا بین دو ژن *orfx* و *prfA* واقع شده که خود شامل شش ژن به نام‌های *actA*, *mplhly*, *plcA*, *prfA* رونویسی *PrfA*, عمدهاً رونویسی همه این ژن‌ها را کنترل می‌کند (Nadon *et al.*, 2002; Dussurget 2008). در بدن میزبان، بیان هر کدام از ژن‌های بیماری‌زا دارای عملکرد اختصاصی خاص خود است. برای مثال، بیان ژن *inlA* باعث عبور باکتری از سلول‌های میزبان می‌شود. بیان ژن *hly* باعث القاء آپاپتوز<sup>۲</sup> لتفوستی، سرکوب سیتوکین‌های پیش‌التهابی، سبب تخریب غشاء واکوئلی شده و موجب رهایش باکتری به داخل سیتوپلاسم سلول میزبان می‌گردد. ژن *sigB* باعث تنظیم ژن‌های بیماری‌زا در پاسخ به محرك‌های استرس‌زا می‌شود. افزایش بیان ژن *lmo1634* باعث تولید پروتئین چسبندگی لیستریا (LAP) می‌شود که انتقال باکتری را از سد روده تسهیل می‌کند. علاوه بر *lmo1634* ژن *lmo1847* نیز در چسبندگی باکتری نقش مهمی دارد (Lopes-Luz *et al.*, 2021; Lakicevic *et al.*, 2022).

تعیین اثرات ژن‌های دخیل در بیماری‌زا و ارزیابی اثرات ترکیبات غذایی در میزان بیان آنها، موضوع مهم تحقیقات مختلفی بوده است. زیرا کنترل ژن‌های بیماری‌زا به خصوص ژن‌های چسبندگی در کاهش عفونت‌های Listeriosis موثر است. مطالعات پیشین بر چندین ژن به خصوص ژن‌های موجود در جزیره بیماری‌زا *Listeria* (LIPI-1) و اینترنالین‌ها، برای ایجاد ارتباط بین حضور و پتانسیل بیماری‌زا آنها به شکست انجمادی. با این حال، بروز جهش‌های اختصاصی نقطه‌ای به صورت موققیت‌آمیزی با قابلیت بیماری‌زا ایزوله‌های معینی ارتباط داده شده است. میزان بیان ژن‌های کلیدی دخیل در بیماری‌زا باکتری *L. monocytogenes* با عوامل مختلف محیطی نظری مقادیر pH بیرون سلولی (Behari and Youngman, 1998) و مواد غذایی (Wang *et al.*, 2022), دما (Lukowiak *et al.*, 2004), حضور ترکیبات گیاهی و مواد موثره آنها (Guan *et al.*, 2023)، کربوهیدرات‌ها

*Listeria monocytogenes* تا بی‌هوای اختیاری میله‌ای شکل، پاتوژن درون سلولی فرصت‌طلب و عامل عمدۀ عفونت‌های انسانی ناشی از غذا در سراسر جهان است. این باکتری در نوزادان، افراد سالخورد، افراد دارای نقص سیستم ایمنی و زنان باردار موجب ایجاد بیماری Listeriosis است (Välimaa *et al.*, 2015; Fagerlund *et al.*, 2016) در ایالت متحده آمریکا (۲۰۱۳)، ۱۹/۵ درصد مبتلایان به Listeriosis جان خود را از دست دادند.

اغلب عفونت‌های ناشی از بیماری Listeriosis به صورت موردی بروز پیدا می‌کند، اما همه‌گیری‌های ناشی از این بیماری نیز بهوفور در سراسر جهان گزارش شده است. باکتری *L. monocytogenes* به صورت پراکنده در سطح خاک، سبزیجات، مدفوع حیوانات، کانال‌های آب و رودخانه‌ها، کودها، گیاهان و حیوانات حضور دارد. این باکتری در خاک، تا ۲۹۵ روز و در مواد گیاهی تا ۱۰-۱۲ سال زنده می‌ماند (Swaminathan and Gerner-Smidt, 2007; Abolhasani *et al.*, 2020).

امروزه گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد، مصرف محصولات غذایی آماده مصرف نظیر محصولات شیلاتی دودی، هات داگ، شیر و پنیر، منشأ بروز بیماری بوده‌اند (Jensen *et al.*, 2016). در مطالعه Abdollahzadeh و همکاران (۲۰۱۶) از مجموع ۲۰۱ نمونه ماهی، میگو و ناگت (ماهی و میگو) جمع آوری شده از سطح تهران و کرج، حدود ۸/۸ درصد آلوده به *Listeria* بوده‌اند. نتایج تحقیق Yadollahi و Momtaz (۲۰۱۳) در شهرهای اصفهان و شهرکرد، میزان شیوع جنس *L. monocytogenes* در ماهیان خام به ترتیب حدود ۱۰/۴۵ و ۷/۲۵ درصد بوده است.

ویژگی‌های کلیدی که *L. monocytogenes* را قادر به زنده ماندن و انتشار درون سلول‌های میزبان می‌کند شامل توانایی برای ورود به سلول‌های میزبان و انتشار سلول به سلول آنهاست. زندگی انگلی درون سلولی، احتیاج به بیان یکسری از ژن‌ها دارد. بسیاری از این ژن‌ها در کلاستر ژنی 9-kb *Listeria* جمع شده‌اند که به آنها جزیره بیماری‌زا

<sup>1</sup> *Listeria Pathogenicity Island 1*(LIPI-1)

<sup>2</sup> (رونده فیزیولوژیک مرگ سلول)

اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. کشت های مورد نیاز برای ادامه آزمایش ها در TSA شیب دار در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت حداقل ۴ هفته نگهداری شدند. جهت شمارش باکتری های تلقيق شده به نمونه های گوشت، ابتدا رقت های سریالی با کمک سرم فیزیولوژی تهیه و سپس از هر رقت، ۱۰۰ میکرولیتر با محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) به صورت آمیخته مخلوط و پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند (Pilevar et al., 2020).

### آماده سازی آب گوشت میگو

جهت تهیه آب گوشت میگو، ابتدا گوشت میگو (*Litopenaeus vannamei*) دو بار چرخ شده و به نسبت برابر (w/w) با آب مقطر مخلوط گردید. پس از یک ساعت میکس کردن با کمک مخلوط کن، سوپرناتانت رویی با کمک دو بار سانتریفیوژ در ۴۰۰۰ g به مدت ده دقیقه استخراج شد. سپس سوپرناتانت رویی فیلتر (با کمک گاز) و استریل شد. آب گوشت میگو تا زمان تلقيق باکتری، در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

### تلقيق باکتری *Listeria*

جهت تهیه میزان تلقيق از باکتری های مورد آزمایش، با لوب استریل، انتقال باکتری از میکروتیوب های اپندرف به محیط آب گوشت BHI و نگهداری به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه انجام گردید. مجدداً کشت دومی از این کشت ۱۸ ساعته اول در آب گوشت BHI دیگر تهیه شده و با لوب استریل از این کشت های ۱۸ ساعته دوم درون لوله های دارای آب گوشت قلب و مغز که قبلاً استریل شده بودند، کشت داده شد و از لوله های کشت داده شده سریال های رقت تهیه شده و با استفاده از دستگاه اسپیکتو فوتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر، جذب نوری لوله های مذکور خوانده شد (Abdollahzadeh et al., 2014). از محیط PCA برای شمارش میکروبی و به دست آوردن منحنی کالیبراسیون استفاده گردید. میزان جذب نوری /۱۰۰-۰/۰ Log CFU/ml معادل ۷ Log CFU/ml ۷ تلقيق شد.

(Milenbachs et al., 1997; Shi et al., 2013) باکتریوسین ها (Sheikh-Zeinoddin et al., 2000; Bowman et al., 2022) (Melian et al., 2008)، فرآیند فشار هیدرواستاتیک بالا، ضد غ Fonni کننده های مختلف، لاکتات و دی استات (Kastbjerg et al., 2010; Stasiewicz et al., 2011) به خوبی به مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج تحقیقات نشان می دهد، میزان بیان ژن های بیماری زا متأثر از عوامل مختلف محیطی مختلف است. با وجود این، فقط تعداد اندکی از مطالعات در محیط واقعی غذا، انجام شده است.

تاکنون مطالعه ای بر بررسی تفاوت بیان ژن های چسبندگی و بیماری زایی سویه های مختلف (*L. monocytogenes* (بالینی و غذایی) در محیط غذایی میگو انجام نپذیرفته، لذا، در تحقیق حاضر بیان ژن های عامل چسبندگی و بیماری زایی *L. monocytogenes* دو سویه مختلف غذایی و بالینی تحت تاثیر نمک طعام و آبلیمو در آب گوشت میگو، مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش کار

#### آماده سازی سویه ها

در تحقیق حاضر، از دو سویه *Listeria monocytogenes* که سابقاً از نمونه های غذایی و بالینی جداسازی شده بودند، استفاده گردید. در تحقیقات گذشته نویسنده گان، سویه های جداسازی شده با روش PCR و آزمون های بیوشیمیایی در کنار سویه استاندارد *L. monocytogenes* مورد تایید قرار گرفت (Abdollahzadeh et al., 2016). همچنین باکتری های مورد استفاده در تحقیق حاضر، در آزمایشگاه همکار سازمان بهداشت جهانی در انسستیتو پاستور فرانسه ثبت و مورد تأیید قرار گرفته است (شماره های رفرانس ۱۷/۰۱۰۲۵ برای سویه غذایی و ۱۷/۰۱۰۲۶ برای سویه بالینی). به منظور نگهداری طولانی مدت، باکتری ها در محیط حاوی گلیسرول (۲۵ درصد) و TSB (۷۵ درصد حجمی/حجمی) در دمای -۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پس از دو بار پاساژ در TSB به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد احیاء شدند. سپس در محیط کلی های تک، جداسازی شده و به ۱۰ میلی لیتر TSA

و میزان ۸٪ میکرولیتر پرایمر (F و R) بود. مراحل RT-PCR شامل ۱۵ دقیقه نگهداری اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و سپس ۴۰ سیکل در دماهای مختلف (۲۵ ثانیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در ۶۰ درجه و ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد) بود (Hosseini *et al.*, 2024).

### روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

ابتدا میزان بیان به دست آمده برای ژن‌های هدف (Ct) با کمک ژن رفرنس (16s) نرمال سازی شد. سپس میزان بیان نسبی ژن‌ها با کمک فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و روش ۲۳ صورت پذیرفت. جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون K-S استفاده گردید. جهت بررسی اختلافات معنی‌دار بین تیمارهای مختلف، از آزمون t مستقل و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (با آزمون تعقیبی دانکن) استفاده شد. اختلافات بین میانگین‌های میزان بیان، در سطح  $p < 0.05$  معنی‌دار گزارش شد.

### نتایج

جهت مقایسه دو سویه *Listeria monocytogenes* مورد مطالعه، میانگین بیان ژن‌های مختلف برای هر دو جدایه غذایی و بالینی محاسبه شد (جدول ۲). نتایج آزمون t مستقل نشان داد میانگین بیان ژن‌های *hly* و *inLA* در همه تیمارهای مورد مطالعه (دو سطح مختلف نمک طعام و آبلیمو)، در دو سویه تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $p > 0.05$ ). در مقابل، نتایج آزمون t مستقل برای ژن *prfA* نشان داد که میزان بیان در تیمارهای سویه بالینی به صورت معنی‌داری بیشتر از میزان بیان سویه غذایی است ( $p < 0.05$ ). به طور مشابه، میانگین بیان هر دو ژن چسبندگی (*lmo1847* و *lmo1634*) و ژن استرس (*sigB*) در تیمارهای مورد مطالعه برای سویه بالینی به صورت معنی‌داری بیشتر از سویه غذایی بود ( $p < 0.05$ ).

در سویه غذایی، میزان بیان ژن‌های بیماری‌زاوی، چسبندگی و استرس پس از ۴۸ ساعت نگهداری (۳۷ درجه سانتی‌گراد) در دو تیمار نمک طعام (۵ و ۲ درصد) و تیمار آبلیمو (۵۰ میکرولیتر بر میلی لیتر) به صورت معنی‌داری بیشتر از تیمار

بر اساس مطالعات پیشین و انجام پیش آزمون، غلظت نمک طعام و آبلیمو (غلظت‌های کمتر از MIC و MBC) بهنحوی انتخاب شد که باعث مرگ و میر جمعیت میکروبی تلقیح شده به میگو نشود. تیمارهای مختلفی از نمک طعام (۲ و ۵ درصد) و آبلیمو (۲۵ و ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر) در آبگوشت میگو تهیه شد (Pilevar *et al.*, 2020; Abdollahzadeh *et al.*, 2021 (دمای اپتیمم رشد) و ۱۲ (به عنوان دمای نامناسب یخچالی) درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند (Huang *et al.*, 2023).

بررسی بیان ژن‌های بیماری‌زاوی و چسبندگی در آبگوشت میگو نمونه‌برداری از تیمارهای مختلف آبگوشت میگو در ساعت صفر و ۴۸ ساعت نگهداری انجام پذیرفت. با کمک سانتریفیوز یخچال دار (در دو دمای ۱۲ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد) سوپرناتانت میگو از بایومس باکتریایی جداسازی شد (با دور ۲۰۰ g به مدت ۵ دقیقه) و بایومس باکتریایی با میکرولیتر از محلول RNAlater مخلوط گردید. آزمایش‌ها سه تکرار انجام پذیرفت (Hadjilouka *et al.*, 2016; Hadjilouka *et al.*, 2024).

جهت استخراج RNA، از کیت GeneAll Hybrid-R™ استفاده گردید. از محلول RiboEx (موجود در کیت) به منظور غیرفعال‌سازی RNases استفاده شد. پرایمرهای مورد استفاده شامل ژن‌های رفرنس<sup>۱</sup>، بیماری‌زاوی و چسبندگی بودند (جدول ۱). ژن 16S به عنوان ژن مرجع (رفرنس) انتخاب و کمیت و کیفیت نمونه‌های RNA استخراجی با کمک دستگاه نانودرایپ ارزیابی شد (Hadjilouka *et al.*, 2016).

### واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بی‌درنگ (Real-Time PCR)

آزمایش‌های بیان ژن در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام پذیرفت. ترکیب واکنش شامل ۱۲/۲ میکرولیتر آب، ۲ میکرولیتر cDNA، ۱۰ میکرولیتر مستر میکس high Rox

<sup>۱</sup> Housekeeping

بیماری‌زایی بود. همچنین نقش آبلیمو در افزایش بیان ژن‌های بیماری‌زایی و چسبندگی به صورت معنی‌داری بیشتر از سطوح مختلف نمک طعام بود ( $p < 0.05$ ).

شاهد (بدون افزودنی و نگهدارنده) بود ( $p < 0.05$ ). نتایج نسبتاً مشابهی برای سویه بالینی برای ژن‌های مذکور حاصل شد با این تفاوت که تیمار ترکیبی نمک طعام و آبلیمو دارای بیشترین تاثیر در افزایش بیان ژن‌هایی چسبندگی و

جدول ۱: توالی پراپرمهای مورد استفاده در آزمایش‌های بیان ژن

Table 1: The primer sequences used for gene expression experiments

Gene	Sequences	target	References
1 16s	GATGCATAGCCGACCTGAGA CTCCGTCAAGACTTTCGTCCA	Housekeeping gene	(Hadjilouka <i>et al.</i> , 2016)
2 hly	TACATTAGTGGAAAGATGG ACATTCAAGCTATTATTACA	virulence gene	(Hadjilouka <i>et al.</i> , 2016)
3 inlA	TGTTACAAGAACCTACGGCACCAACAA TTGGCGCTATATTGGCATATAAGGTGATG	virulence gene	(Tiong and Muriana, 2016)
4 lmo1634	GTTGTTGCCGGC GTTACAC CGCGATA ATTGCTTTGAAAAGA	adhesion gene	(Upadhyay <i>et al.</i> , 2012)
5 lmo1847	GCGTGGATCC GCATGAAT GCATCCG CAGCACTTTGAAT	adhesion gene	(Upadhyay <i>et al.</i> , 2012)
6 sigB	CCAAGAAAATGGCGATCAAGAC CGTTGCATCATATCTTCTAAAGCT	stress response gene	(Hadjilouka <i>et al.</i> , 2016)
7 prfA	CGGGAAAGCTTGGCTCTATTG GCTAACAGCTGAGCTATGTGC	transcriptional activator of virulence genes	(Upadhyay <i>et al.</i> , 2012)

جدول ۲: مقایسه میزان بیان ژن دو سویه غذایی و بالینی *Listeria monocytogenes* در محیط آبگوشت میگو پس از ۴۸ ساعت در معرض قرارگیری با دو غلظت نمک طعام (۲ و ۵ درصد) و دو غلظت آبلیمو (۲۵ و ۵۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گرادTable 2: Comparison of gene expression of two food and clinical isolates of *Listeria monocytogenes* in shrimp broth after 48 hours of exposure to two concentrations of NaCl (2 and 5%) and two concentrations of lime juice (25 and 50 microliters/ml) at 37 degrees Celsius

Gene	Isolate types	Gene expression (the delta Ct average of treatments)
hly	Food	$12.40 \pm 1.12^a$
	Clinical	$12.67 \pm 2.74^a$
prfA	Food	$11.07 \pm 1.04^b$
	Clinical	$8.04 \pm 3.84^a$
inlA	Food	$16.11 \pm 1.79^a$
	Clinical	$14.54 \pm 3.13^a$
imo1634	Food	$19.84 \pm 1.59^a$
	Clinical	$14.01 \pm 3.38^b$
imo1847	Food	$17.00 \pm 1.64^a$
	Clinical	$12.08 \pm 3.27^b$
sigB	Food	$19.22 \pm 1.64^a$
	Clinical	$13.79 \pm 3.29^b$

دلتا سی تی کمتر معادل با بیان بیشتر در نظر گرفته شده است. حروف کوچک نشان‌دهنده تفاوت‌های معنی‌دار در تمامی تیمارهای در سویه‌های غذایی و بالینی است.

if delta CT has a small value, the gene is highly expressed. Small letters indicate significant differences between food and clinical isolates in studied treatments.

بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون  $t$  مستقل نشان داد، میانگین بیان ژن‌های چسبندگی (*lmo1847* و *lmo1634*) در دو سویه مورد مطالعه پس از ۴۸ ساعت نگهداری در تیمارهای

به منظور بررسی تأثیر همزمان کاهش دما (۱۲ درجه سانتی‌گراد) و حضور نگهدارنده‌ها بر دو سویه غذایی و بالینی، میزان بیان ژن‌های چسبندگی و استرس مورد

شاهد به صورت معنی‌داری کاهش یافت. به طور مشابه، میزان بیان ژن استرس (*sigB*) در تیمارهای مورد مطالعه نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد ( $p<0.05$ ). در سویه بالینی، میزان بیان ژن *lmo1634* در اکثر تیمارهای مورد مطالعه (به جز تیمار ترکیبی نمک طعام و آبلیمو)، نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشتند. برای ژن چسبندگی *lmo1847* میزان بیان در تمامی تیمارها نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت (جدول ۳).

مختلف در سویه بالینی به صورت معنی‌داری بیشتر از سویه غذایی بود، اما تفاوت معنی‌داری در میزان بیان ژن استرس (*sigB*) در دو سویه مد نظر مشاهده نشد ( $p>0.05$ ). نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه برای سویه غذایی در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد نشان داد که نمک طعام (پس از ۴۸ ساعت نگهداری) موجب کاهش معنی‌دار میزان بیان ژن *lmo1634* می‌شود. اگرچه آبلیمو باعث کاهش بیان ژن *lmo1634* شد اما این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. میزان بیان ژن *lmo1847* در تمامی تیمارها نسبت به گروه

جدول ۳: مقایسه میزان بیان ژن دو سویه غذایی و بالینی در محیط آبگوشت میگو پس از ۴۸ ساعت در معرض قرارگیری با دو غلظت نمک طعام (۲ و ۵ درصد) و دو غلظت آبلیمو (۲۵ و ۵۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد

**Table 3: Comparison of gene expression of two food and clinical strains of *Listeria monocytogenes* in shrimp broth after 48 hours of exposure to two concentrations of NaCl (2 and 5%) and two concentrations of lime juice (25 and 50 microliters/ml) at 12 degrees Celsius**

Gene	Isolate types	Gene expression (the delta Ct average of treatments)
lmo1634	Food	15.55±1.22 <sup>a</sup>
	Clinical	13.89±1.24 <sup>b</sup>
lmo1847	Food	14.34±3.14 <sup>a</sup>
	Clinical	12.97±2.09 <sup>b</sup>
sigB	Food	15.50±1.80 <sup>a</sup>
	Clinical	15.19±1.30 <sup>a</sup>

دلتا سی تی کمتر معادل با بیان بیشتر در نظر گرفته شده است. حروف کوچک نشان‌دهنده تفاوت‌های معنی‌دار در تمامی تیمارهای غذایی و بالینی است.

if delta CT has a small value, the gene is highly expressed. Small letters indicate significant differences between food and clinical isolates in studied treatments.

## بحث

باکتری *Listeria monocytogenes* یک پاتوژن غذایی مهم در محصولات گوشت و فرآورده‌های گوشتی به‌شمار می‌رود. بررسی تفاوت‌های بین سویه‌های این باکتری (غذایی و بالینی)، می‌تواند به شناخت بیشتر این باکتری و مکانیسم‌های دخیل در بیماری‌زایی آن منجر شود. علاوه‌بر این، مطالعه ژن‌های دخیل در چسبندگی و بیماری‌زایی باکتری می‌تواند به توسعه روش‌های مناسب جهت نگهداری این مواد غذایی و تعیین میزان مناسب نگهدارنده‌های غذایی بیانجامد (Hosseini *et al.*, 2024).

در تحقیق حاضر، اختلافات بین دو جدایه مختلف *L. monocytogenes* (جاداسازی شده از محصولات شیلاتی و سویه بالینی)، در سطح مولکولی مورد بررسی قرار گرفت.

با جمع‌بندی نتایج حاصل از دو سویه مورد مطالعه می‌توان اظهار داشت که میزان بیان ژن‌های چسبندگی و استرس پس از ۴۸ ساعت در معرض قرارگیری با نگهدارنده‌ها کاهش می‌یابد. میزان بیان ژن‌های چسبندگی و استرس تیمار شاهد سویه غذایی (بدون نگهدارنده) پس از ۴۸ ساعت نگهداری در سه دمای ۱۲، ۲۲ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد مورد مطالعه قرار گرفت (نتایج نشان داده نشده است). نتایج نشان داد، میزان بیان ژن‌های چسبندگی و استرس با کاهش دما افزایش می‌یابد. به طور مشابه، در تیمار شاهد سویه بالینی میزان بیان ژن‌های چسبندگی و استرس در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد، بیشتر از سایر دماهای مورد مطالعه بود.

2023). نتایج تحقیق Cheng و همکاران (۲۰۲۳) نشان داد، سویه غذایی *L. monocytogenes* نسبت به محیط اسیدی مقاوم‌تر است.

Rantsiou و همکاران (۲۰۱۲) میزان بیان ۵۴ ژن موثر در بیماری‌زایی، چسبندگی و استرس را در ۳ سویه مختلف مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد، تفاوتی در میزان بیان ژن در بین سویه‌ها زمانی که در محیط کشت است (Melian et al., 2022) بود. در مطالعه‌ای که اخیراً بر *BHI* حضور دارند، وجود ندارد. اما زمانی که سویه‌ها به محیط غذایی (آبگوشت و سوسیس) تلقیح می‌شوند، میزان بیان ژن‌های *iap* و *gadC* به همراه ژن‌های مختلف اینترنالین به صورت آماری متفاوت خواهد بود. نتایج این تحقیق با یافته‌های پژوهش حاضر که مؤید تفاوت معنی‌دار سویه‌های مختلف (غذایی و بالینی) در آبگوشت گوشت میگو است، تطابق دارد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد، میزان بیان ژن‌های چسبندگی و استرس با کاهش دما افزایش می‌یابد. به طور مشابه، برای سویه بالینی نیز تیمار شاهد در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد، میزان بیان ژن‌های چسبندگی و استرس آن بیشتر از سایر دماهای مورد مطالعه بود. نتایج تحقیق حاضر تاحدی با نتایج مطالعه Hadjilouka و همکاران (۲۰۱۶) همخوانی داشت. در مطالعه Hadjilouka و همکاران (۲۰۱۶) میزان بیان ژن‌های کلیدی در بیماری‌زایی باکتری *L. monocytogenes* در محیط کشت مایع، ملون و سبزی مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه مذکور از محیط *BHI* به عنوان محیط کشت مایع استفاده شد. میزان بیان ژن‌های *lmo2627*, *inlJ*, *inlB*, *inlA*, *sigB*, *plcB*, *plcA*, *hly* و *lmo2470* در سه دمای نگهداری ۴، ۱۰ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد با کمک RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه Hadjilouka و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد، میزان بیان ژن *sigB* در آبگوشت محیط کشت در دمای ۳۰ درجه نسبت به دو دمای ۱۰ و ۴ درجه سانتی‌گراد افزایش یافته، اما در دماهای مشابه میزان بیان این ژن در سبزیجات کاهش یافت. همچنین میزان بیان *hly* (ژن بیماری‌زایی) در ملون در دمای ۱۰ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای ۴ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت. تحقیقات نشان می‌دهد، ژن *hly* لیستریولایزین O (LLO) تولید می‌کند که یک سم

مطالعات مختلفی بر اثر نگهدارنده‌های مختلف در میزان بیان ژن‌های فیلامنتیشن، بیماری‌زایی و چسبندگی *L. monocytogenes* انجام شده است. مطالعات نشان می‌دهد، نگهدارنده‌های غذایی به میزان زیاد در میزان بیان ژن‌های عامل بیماری‌زایی یا چسبندگی موثر هستند. علاوه بر نگهدارنده‌ها، حضور پروپوتوکیها و باکتریوسین‌ها در بیان بسیاری از ژن‌های بیماری‌زا *L. monocytogenes* موثر است (Wang et al., 2022). در مطالعه‌ای که اخیراً بر *L. monocytogenes* مواد غذایی می‌تواند موجب چسبندگی بیشتر و متعاقباً تشکیل بیوفیلم گردد (Liu et al., 2022).

در مطالعه Liu و همکاران (۲۰۱۷) میزان بیان ژن‌های *L. monocytogenes* در پاسخ به دو نگهدارنده غذایی سدیم لاكتات و سدیم دی استات در محیط کشت TSB مورد بررسی قرار گرفت. استفاده ترکیبی دو نگهدارنده سدیم لاكتات و سدیم دی استات منجر به کم شدن بیان ژن‌های موثر در گلیکولیز (*fbaA*, *eno*, *pykA*) و (*pgm*) و افزایش بیان ژن‌های دخیل در ترمیم DNA (ژن *radC*)، تقسیم سلولی (*ftsE*) و سنتز ساختار سلولی (سنتر فلاژلهای *flgK* و *fliD*) شد. همچنین میزان *fliF* با Filamentation کمک فلوسایتومتری<sup>۱</sup> مورد پایش قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده ترکیبی از این دو نگهدارنده موجب *L. monocytogenes* در Filamentation نتایج مطالعه‌ای که اخیراً بر اثر نگهدارنده‌ها در میگو انجام شده است، نشان داد سطوح مختلف نمک طعام و آبلیمو پس از ۴۸ ساعت می‌تواند منجر به کاهش میزان بیان ژن‌های استرس و چسبندگی گردد، اما میزان بیان ژن‌های بیماری‌زایی در محیط گوشت چرخ شده میگو پس از ۴۸ ساعت افزایش می‌یابد (Hosseini et al., 2024). مطالعات نشان می‌دهد، میزان مقاومت و بازماندگی سویه‌های مختلف *L. monocytogenes* (بالینی و غذایی) نسبت به استرس حرارتی و غلظت اسید متفاوت است (Cheng et al., 2022).

<sup>۱</sup> Flow cytometry

(روش سلول‌شناسی که به بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی سلول‌ها یا اجزاء مختلف آنها می‌پردازد).

قرلآلای رنگین کمان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج محققان نشان داد افزودن غلظت‌های کمتر از MIC اسنس آویشن باعث افزایش معنی‌دار ژن‌های بیماری‌زا L. *monocytogenes* می‌شود.

در تحقیق حاضر، برای نخستین بار اختلافات بین جدایه‌های باکتری *L. monocytogenes* در آبگوشت گوشت میگو تحت تاثیر نگهدارنده‌های غذایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تحقیق حاضر نشان داد، میزان بیان ژن‌های بیماری‌زا و چسبندگی در این باکتری بستگی به نوع سویه مورد مطالعه دارد. در این مطالعه هتروژنیتی سویه‌های مختلف *L. monocytogenes* در پتانسیل بیماری‌زا، تأیید شد.

### منابع

- Abdollahzadeh, E., Rezaei, M. and Hosseini, H., 2014.** Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control*, 35(1):177-183. DOI:10.1016/j.foodcont.2013.07.004
- Abdollahzadeh, E., Ojagh, S.M., Hosseini, H., Irajian, G. and Ghaemi, E.A., 2016.** Prevalence and molecular characterization of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* isolated from fish, shrimp, and cooked ready-to-eat (RTE) aquatic products in Iran. *LWT-Food Science and Technology*, 73:205-211. DOI:10.1016/j.lwt.2016.06.020
- Abdollahzadeh, E., Hosseini, H., Ojagh, S.M., Koushki, M.R., Moghaddam, L.A. 2021.**, Secondary modeling and strain variability of *Listeria monocytogenes* isolated from seafood and clinical samples at various environmental conditions using high-throughput turbidity method. *Applied Food Biotechnology*, 8(3):225-236. DOI:10.22037/afb.v8i3.33746

ضروری برای فرار باکتری از بیگانه‌خوارها<sup>1</sup> به شمار می‌رود. ژن‌های *plcA* و *plcB* نیز به ترتیب فسفوتیدیل اینوزیتول فسفولیپاز C (PI-PLC) و فسفاتیدیل کولین فوسفولیپاز C (PI-PLC) تولید می‌کنند. هر دو این فسفولیپازها با LLO همکاری می‌کنند و برای رهایش باکتری از واکوئل فاگوسیت موثرند و به باکتری اجازه می‌دهد به سیتوپلاسم سلوں نفوذ کند (Lopes-Luz *et al.*, 2021; Lakicevic *et al.*, 2022).

در تحقیق Alessandria و همکاران (۲۰۱۳) میزان بیان ژن‌های *plcA* و *plcB* هفت سویه مختلف *Listeria* در پنیر در دو دمای نگهداری (۴ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. در رابطه با ژن *hly* و *plcA*، هیچ تفاوت معنی‌داری بین ۲۴ و ۴۸ ساعت نگهداری وجود نداشت. اما میزان بیان ژن *sigB* در بین سویه‌ها متفاوت بود که این یافته‌ها نشان می‌دهد، نوع سویه در بیان برخی از ژن‌ها اثرگذار است. ژن‌های *lmo1847* و *lmo1666* و *lmo1634* به ترتیب موجب رونویسی پروتئین چسبندگی *Listeria* پروتئین B چسبندگی (LAP-B) *Listeria* و پروتئین اتصال دهنده چسبندگی می‌شود که نقش موثری در اتصال باکتری به میزان ایفاء می‌کنند (Mattila *et al.*, 2020; Lakicevic *et al.*, 2022). همچنین ژن *imo2558* در ارتقاء چسبندگی به اپیتیلیال سلوی پستانداران موثر است (Tiong and Muriana, 2016). در تحقیق حاضر، میزان بیان ژن‌های چسبندگی، بیماری‌زا و استرس سویه غذایی پس از ۴۸ ساعت نگهداری (۳۷ درجه سانتی‌گراد) در دو سطح ۵ و ۲ درصد نمک طعام و سطح ۵۰ میکرولیتر بر میلی لیتر آبلیمو به صورت معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد (بدون افزودنی و نگهدارنده) بود. نتایج نسبتاً مشابهی برای سویه بالینی برای ژن‌های بیماری‌زا، چسبندگی و استرس حاصل شد. این نتایج به صورت کامل با مطالعه انجام شده در آبگوشت قرلآلای رنگین کمان همخوانی داشت (Pilevar et al., 2020). در مطالعه Pilevar و همکاران (۲۰۲۰) بیان ژن‌های *inlB*, *hly*, *prfA*, *inlA* و *inlB* متعلق به *L. monocytogenes* در آبگوشت و گوشت چرخ شده ماهی

<sup>1</sup> Phagosome

- Abolhasani, M.H., Talebi, Z. and Payami Khomeran, M., 2020.** Survey of pollution in areas of Anzali wetland to *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* by microbial culture and PCR and their relationship to the pH and electrical conductivity of water. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 29(3):143-153. [in Persian]
- Alessandria, V., Rantsiou, K., Dolci, P., Zeppa, G. and Cocolin, L., 2013.** A comparison of gene expression of *Listeria monocytogenes* in vitro and in the soft cheese Crescenza. *International Journal of Dairy Technology*, 66(1):83-89. DOI:10.1111/1471-0307.12008
- Behari, J. and Youngman, P., 1998.** Regulation of *hly* Expression in *Listeria monocytogenes* by Carbon Sources and pH Occurs through Separate Mechanisms Mediated by *PrfA*. *Infection and Immunity*, 66(8):3635-3642.  
DOI:10.1128/iai.66.8.3635-3642.1998
- Bowman, J.P., Bittencourt, C.R. and Ross, T., 2008.** Differential gene expression of *Listeria monocytogenes* during high hydrostatic pressure processing. *Microbiology*, 154(2):462-475.  
DOI:10.1099/mic.0.2007/010314-0
- Cheng, Y., Wang, X., Liu, Y., Qin, X., Li, Z. and Dong, Q., 2023.** Growth and survival characteristics of *Listeria monocytogenes* of different sources and subtypes. *LWT-Food Science and Technology*, 184, 115-119.  
DOI:10.1016/j.lwt.2023.115114
- Dussurget, O., 2008.** New insights into determinants of *Listeria monocytogenes* virulence. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 270:1-38.  
DOI:10.1016/S1937-6448(08)01401-9
- Fagerlund, A., Langsrud, S., Schirmer, B.C., Mørretrø, T. and Heir, E., 2016.** Genome analysis of *Listeria monocytogenes* sequence type 8 strains persisting in salmon and poultry processing environments and comparison with related strains. *PLoS One*, 11(3):e0151117.  
DOI:10.1371/journal.pone.0151117
- Guan, P., Wang, X., Dong, Z., Song, M., Zhu, H. and Suo, B., 2023.** Cinnamaldehyde inactivates *Listeria monocytogenes* at a low temperature in ground pork by disturbing the expression of stress regulatory genes. *Food Bioscience*, 51:102277.  
DOI:10.1016/j.fbio.2022.102277
- Hadjilouka, A., Molfeta, C., Panagiotopoulou, O., Paramithiotis, S., Mataragas, M. and Drosinos, E.H., 2016.** Expression of *Listeria monocytogenes* key virulence genes during growth in liquid medium, on rocket and melon at 4, 10 and 30 °C. *Food Microbiology*, 55:7-15.  
DOI:10.1016/j.fm.2015.11.008
- Hosseini, H., Abdollahzadeh, E. and Pilevar, Z., 2024.** Addition of lime juice and NaCl to minced seafood may stimulate the expression of *Listeria monocytogenes* virulence, adhesion, and stress response genes. *Food Science Nutrition*, 00:1-8.  
DOI:10.1002/fsn3.4064
- Huang, L., Hwang, C.A. and Sheen, S., 2023.** Shelf-life boundaries of *Listeria monocytogenes* in cold smoked salmon during refrigerated storage and temperature abuse. *Food Research International*, 173:113362.  
DOI:10.1016/j.foodres.2023.113362

- Jensen, A.K., Björkman, J.T., Ethelberg, S., Kiil, K., Kemp, M. and Nielsen, E.M., 2016.** Molecular Typing and Epidemiology of Human Listeriosis Cases, Denmark, 2002–20121. *Emerging Infectious Diseases*, 22(4):625-633. DOI:10.3201/eid2204.150998
- Kastbjerg, V.G., Larsen, M.H., Gram, L. and Ingmer, H., 2010.** Influence of sublethal concentrations of common disinfectants on expression of virulence genes in *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(1):303-309. DOI:10.1128/AEM.00925-09
- Lakicevic, B.Z., Den Besten, H.M. and De Biase, D., 2022.** Landscape of stress response and virulence genes among *Listeria monocytogenes* strains. *Frontiers in Microbiology*, 12:738470. DOI:10.3389/fmicb.2021.738470
- Liu, X., Basu, U., Miller, P. and McMullen, L.M., 2017.** Differential gene expression and filamentation of *Listeria monocytogenes* 08-5923 exposed to sodium lactate and sodium diacetate. *Food Microbiology*, 63:153-158. DOI:10.1016/j.fm.2016.11.009
- Lopes-Luz, L., Mendonça, M., Bernardes Fogaça, M., Kipnis, A., Bhunia, A.K. and Bührer-Sékula, S., 2021.** *Listeria monocytogenes*: review of pathogenesis and virulence determinants-targeted immunological assays. *Critical Reviews in Microbiology*, 47(5):647-666. DOI:10.1080/1040841X.2021.1911930
- Lukowiak, A.M., Mueller, K. J., Freitag, N.E. and Youngman, P., 2004.** Dereulation of *Listeria monocytogenes* virulence gene expression by two distinct and semi-independent pathways. *Microbiology*, 150(2):321-333. DOI:10.1099/mic.0.26718-0
- Mattila, M., Somervuo, P., Korkeala, H., Stephan, R. and Tasara, T., 2020.** Transcriptomic and Phenotypic Analyses of the Sigma B-Dependent Characteristics and the Synergism between Sigma B and Sigma L in *Listeria monocytogenes* EGD-e. *Microorganisms*, 8(11), 1644. DOI:10.3390/microorganisms8111644
- Melian, C., Bentencourt, E., Castellano, P., Ploper, D., Vignolo, G. and Mendoza, L.M., 2022.** Biofilm genes expression of *Listeria monocytogenes* exposed to *Latilactobacillus curvatus* bacteriocins at 10 °C. *International Journal of Food Microbiology*, 370:109648. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109648
- Milenbachs, A.A., Brown, D.P., Moors, M. and Youngman, P., 1997.** Carbon-source regulation of virulence gene expression in *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology*, 23(5):1075-1085. DOI:10.1046/j.1365-2958.1997.2711634.x
- Momtaz, H. and Yadollahi, S., 2013.** Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh seafood samples in Iran. *Diagnostic Pathology*, 8:149. DOI:10.1186/1746-1596-8-149
- Nadon, C.-A., Bowen, B.-M., Wiedmann, M. and Boor, K.-J., 2002.** Sigma B contributes to *PrfA*-mediated virulence in *Listeria monocytogenes*. *Infection and Immunity*, 70:3948 -3952. DOI:10.1128/IAI.70.7.3948-3952.2002
- Pilevar, Z., Hosseini, H., Abdollahzadeh, E., Shojaee-Aliabadi, S., Tajedin, E., Yousefi, M., Bahrami, A. and Khosroshahi, N.K., 2020.** Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil, time, and temperature on the expression of *Listeria monocytogenes*

- virulence genes in broth and minced rainbow trout. *Food Control*, 109:106863. DOI:10.1016/j.foodcont.2019.106863
- Rantsiou, K., Greppi, A., Garosi, M., Acquadro, A., Mataragas, M. and Cocolin, L., 2012.** Strain dependent expression of stress response and virulence genes of *Listeria monocytogenes* in meat juices as determined by microarray. *International Journal of Food Microbiology*, 152(3):116-122. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.009
- Sheikh-Zeinoddin, M., Perehinec, T.M., Hill, S.E. and Rees, C.E., 2000.** Maillard reaction causes suppression of virulence gene expression in *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 61(1):41-49. DOI:10.1016/s0168-1605(00)00371-8
- Shi, H., Trinh, Q., Xu, W., Luo, Y., Tian, W. and Huang, K., 2013.** The transcriptional response of virulence genes in *Listeria monocytogenes* during inactivation by nisin. *Food Control*, 31(2):519-524. DOI:10.1016/j.foodcont.2012.11.008
- Stasiewicz, M.J., Wiedmann, M. and Bergholz, T.M., 2011.** The transcriptional response of *Listeria monocytogenes* during adaptation to growth on lactate and diacetate includes synergistic changes that increase fermentative acetoin production. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(15):5294-5306. DOI:10.1128/AEM.02976-10
- Swaminathan, B. and Gerner-Smidt, P., 2007.** The epidemiology of human listeriosis. *Microbes and Infection*, 9(10):1236-1243. DOI:10.1016/j.micinf.2007.05.011
- Tiong, H.K. and Muriana, P.M., 2016.** RT-qPCR analysis of 15 genes encoding putative surface proteins involved in adherence of *Listeria monocytogenes*. *Pathogens*, 5(4), 60. DOI:10.3390/pathogens5040060
- Upadhyay, A., Johny, A.K., Amalaradjou, M.A.R., Baskaran, S.A., Kim, K.S. and Venkitanarayanan, K., 2012.** Plant-derived antimicrobials reduce *Listeria monocytogenes* virulence factors in vitro, and down-regulate expression of virulence genes. *International Journal of Food Microbiology*, 157(1):88-94. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.018
- Välimäa, A.-L., Tilsala-Timisjärvi, A. and Virtanen, E., 2015.** Rapid detection and identification methods for *Listeria monocytogenes* in the food chain—A review. *Food Control*, 55:103-114. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.02.037
- Wang, Y., Sun, L., Hu, L., Wang, Z., Wang, X. and Dong, Q., 2022.** Adhesion and kinetics of biofilm formation and related gene expression of *Listeria monocytogenes* in response to nutritional stress. *Food Research International*, 156:111-143. DOI:10.1016/j.foodres.2022.111143

## Differences between clinical and food isolates of *Listeria monocytogenes* in transcription levels of *inlA*, *hly*, *lmo1634*, *lmo1847*, *sigB*, and *prfA* genes in shrimp broth

Abdollahzadeh E.<sup>1\*</sup>; Jafari O.<sup>1</sup>; Hassanzadeh Saber M.<sup>1</sup>

\*abdollahzadeh@rocketmail.com

1-International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

### Abstract

Listeriosis, an important illness with a high mortality rate (up to 30%), is caused by *Listeria monocytogenes*. Nowadays, there are several reports that display the prevalence of *L. monocytogenes* in fisheries products. Therefore, it is important to investigate and control the expression of virulence genes and adhesion-related genes in different strains of this bacterium in foodstuffs. In this study, the expression levels of *inlA*, *hly*, *lmo1634*, *lmo1847*, *sigB*, and *prfA* genes in two isolates (food and clinical) were investigated under the influence of NaCl and lime juice in the shrimp broth. The results of the independent t-test for the *prfA* gene demonstrated that the expression level in the treatments of clinical strain was significantly higher than the food strain ( $p<0.05$ ). Similarly, the average expression of both adhesion genes (*lmo1847* and *lmo1634*) and stress gene (*sigB*) in the studied treatments for the clinical strain was significantly higher than the food strain. In both strains, the role of lime juice in increasing the expression of virulence and adhesion genes was significantly higher than in NaCl treatments ( $p<0.05$ ). Overall, it can be stated that the transcription level of virulence- and adhesion-related genes upon exposure to preservatives may be different in the various *L. monocytogenes* isolates.

**Keywords:** *Listeria monocytogenes*, Transcriptional regulation of gene, Shrimp, Pathogenicity

\*Corresponding author