

## PSU Grant Report\_2013 (1.2)

รูปแบบรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ แบบที่ 1

(สำหรับโครงการเดี่ยวหรือโครงการย่อย)

### รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความหลากหลาย และนิเวศวิทยา ของ *Listeria* spp., *Listeria* prophages, *Listeria* phages  
ที่คัดแยกได้จากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

Diversity and ecology of *Listeria* spp., *Listeria* prophages, and *Listeria* phages  
isolated from seafood processing plants

### คณะนักวิจัย

Kitiya Vongkamjan, Soottawat Benjakul, Hue Thi Kim Vu, and Varaporn Vuddhakul

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก เงินรายได้มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2556 รหัสโครงการ AGR560575S

## ชื่อโครงการเดี่ยว

ความหลากหลาย และนิเวศวิทยา ของ *Listeria* spp., *Listeria* prophages, *Listeria* phages ที่คัดแยกได้จากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

Diversity and ecology of *Listeria* spp., *Listeria* prophages, and *Listeria* phages isolated from seafood processing plants

### 1. คณะนักวิจัย และหน่วยงานต้นสังกัด (คณะ/ภาควิชาหรือหน่วยงาน)

Kitiya Vongkamjan, Faculty of Agro-Industry Department of Food Technology,  
Prince of Songkla University

Soottawat Benjakul, Faculty of Agro-Industry Department of Food Technology,  
Prince of Songkla University

Hue Thi Kim Vu, Faculty of Agro-Industry Department of Food Technology,  
Prince of Songkla University

Varaporn Vuddhakul, Faculty of Science, Department of Microbiology,  
Prince of Songkla University

### 2. สารบัญญ รายการตาราง และ รายการภาพประกอบ

## Table of Content

Acknowledgement	4
Abstract	4
Introduction	6
Objectives	8
Literature Review	9
Materials and Methods	13
Results	18
Discussion	25
Conclusion	28
References	29
Recommendations	34

## Tables

<b>Table 1</b>	16
Strains of <i>Listeria</i> spp. for <i>Listeria</i> phage isolation and phage host range determination	
<b>Table 2</b>	19
Recovery of <i>Listeria</i> spp. and <i>Listeria</i> phages from raw material, finished products, and environmental samples collected from a seafood processing plant	
<b>Table 3</b>	20
RAPD patterns and serotypes of <i>L. monocytogenes</i> isolates from various sources	
<b>Table 4</b>	22
<i>Listeria</i> phages isolated from a seafood processing plant	
<b>Table 5</b>	23
Recovery of <i>Listeria</i> prophage by mitomycin C induction among isolates of <i>L. monocytogenes</i> and <i>Listeria</i> spp. from various sources	
<b>Table 6</b>	23
Lysis patterns of <i>Listeria</i> phages isolated from the seafood processing plant environments.	

### 3. กิตติกรรมประกาศ

#### Acknowledgement

This study is funded by Prince of Songkla University (Grant no. AGR560575S).

### 4. บทคัดย่อ

#### Abstract

*Listeria monocytogenes* is an important foodborne pathogen that can cause a severe infection in humans mainly by consumption of contaminated foods. This pathogen is commonly found in seafood processing plants, and has remained to be of a major challenge for elimination and control in the seafood industry worldwide. Monitoring the prevalence and diversity of *L. monocytogenes* together with phages specific to *Listeria* spp. (“*Listeria* phages”) will provide a better understanding on the bacterial host-phage ecology in food processing plant environments. Total of 595 samples were collected from raw material, finished seafood products and environmental samples from different locations of a seafood processing plant during 17 sampling visits in 1.5 years of study. *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. were found in 22 (3.7%) and 43 (7.2%) samples, respectively, whereas 29 *Listeria* phages were isolated from 9 (1.5%) phage-positive samples. *L. monocytogenes* isolates revealed 11 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) patterns. RAPD patterns suggest a presence of both common and specific *L. monocytogenes* subtypes within a single seafood processing plant. Although serotype 4b was observed at lower frequency, data indicate that isolates from this seafood processing plant belonged to the epidemiologically important serotypes 1/2a and 4b, implying a potential public health risk. Characterization of 29 *Listeria* phages revealed diverse host range, but slight genetic diversity as shown by a unique genome size of  $65 \pm 2$  kb. The majority of phages (27 phages; groups D, D-1, E, and F) were lineage III- and IV-specific as indicated by the lysis of *L. monocytogenes* strains belonged to these two lineages. Overall, this study suggests the occurrence of diverse *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. over time in the seafood processing plant environments. Host range diversity of *Listeria* phages isolated from this environment may play a role in the diversity of the *Listeria* hosts. New phages obtained here can be used for further studies for phage-based tools and biocontrol agents.

## บทคัดย่อ

*Listeria monocytogenes* เป็นเชื้อก่อโรคที่สำคัญซึ่งทำให้เกิดการติดเชื้ออย่างรุนแรงในคนจากการบริโภคอาหารปนเปื้อน เชื้อก่อโรคนี้นี้พบมากในโรงงานผลิตอาหารทะเลและยากต่อการกำจัดและควบคุม การติดตามความชุกและความหลากหลายของเชื้อก่อโรค *L. monocytogenes* ร่วมกับ phages ที่จำเพาะต่อ *Listeria* spp. ("*Listeria* phages") จะช่วยให้เข้าใจถึงระบบนิเวศของโฮสต์ – ฟาจของแบคทีเรียในสภาพแวดล้อมของโรงงานแปรรูปอาหาร การศึกษานี้ระหว่างการสุ่มตัวอย่างจำนวน 17 ครั้งในช่วงการศึกษา 1.5 ปีตัวอย่างจากวัตถุดิบ อาหารทะเลสำเร็จรูป และตัวอย่างสิ่งแวดล้อมจากสถานที่ต่างๆ ของโรงงานแปรรูปอาหารทะเลจำนวน 595 ตัวอย่าง พบว่ามี *L. monocytogenes* และ *Listeria* spp. ใน 22 (3.7%) และ 43 (7.2%) ตัวอย่างตามลำดับ และแยกได้ 29 *Listeria* phages จาก 9 ตัวอย่าง (1.5%) พบว่า *L. monocytogenes* มี 11 รูปแบบของ Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) แม้ว่าข้อมูล serotype 4b จะมีความถี่ต่ำข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าไอโซเลทจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลนี้มี serotypes ที่สำคัญทางระบาดวิทยา 1 / 2a และ 4b ซึ่งบ่งบอกถึงความเสี่ยงต่อสุขภาพของประชาชน ลักษณะของ *Listeria* phage 29 สายพันธุ์แสดงช่วงโฮสต์ที่หลากหลาย แต่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมเล็กน้อยที่แสดงโดยขนาดของจีโนมที่ไม่แตกต่างคือ  $65 \pm 2$  kb ส่วนใหญ่ของ *Listeria* phages (27 phages) จัดในกลุ่ม D, D-1, E และ F การศึกษานี้แสดงการพบ *L. monocytogenes* และ *Listeria* spp. ที่หลากหลายในสภาพแวดล้อมของโรงงานแปรรูปอาหารทะเล ความหลากหลายของ *Listeria* phages ที่แยกได้จากสภาพแวดล้อมนี้อาจมีบทบาทในความหลากหลายของ *Listeria* โฮสต์ ทั้งนี้ *Listeria* phages ที่แยกได้ใหม่สามารถนำไปใช้ในการศึกษาต่อไปสำหรับการเป็นสารควบคุมเชื้อทางชีวภาพ