



بررسی فراوانی ژن های انتروسین A، انتروسین P و انتروسین As-48 در ایزوله های

انتروکوکوس فکالیس جدا شده از گوشت مرغ در شهرستان شهرکرد

فهیمه نوربخش^۱، الهه تاجبخش^۲، پریسا بهشود^{۳*}

۱. مرکز تحقیقات سم شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

۲. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران.

۳. گروه میکروبی شناسی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران.



* نویسنده مسئول: Parisa_behshood@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۲

چکیده

باکتریوسین های تولید شده توسط باکتری ها خاصیت ضد میکروبی دارند و برای نگهداری غذا به کار می روند. در مطالعات اخیر توجه ویژه ای به این باکتری ها جهت بهره گیری از آن ها به عنوان نگهدارنده های مواد غذایی معطوف شده است. در این مطالعه تعداد ۱۰۰ نمونه گوشت مرغ، پس از جداسازی باکتری و تشخیص قطعی در حضور پرایمرهای اختصاصی مربوط به ژن های انتروسین مورد بررسی قرار گرفتند. ژن مربوط به انتروسین A در ۱۷ ایزوله (۳۲/۰۷ درصد)، ژن مربوط به انتروسین P در ۱۶ ایزوله (۳۰/۱۸ درصد)، ژن مربوط به انتروسین As-48 در ۱۱ ایزوله (۲۱ درصد) بود. وجود هم زمان چند ژن با همدیگر در ۱۰ ایزوله (۱۸/۸۶ درصد) مشاهده گردید به طوری که ژن مربوط به انتروسین های A و P در ۳ ایزوله (۹/۴۳ درصد)، ژن مربوط به انتروسین های A و As48 در ۲ ایزوله (۳/۷۷ درصد)، ژن مربوط به انتروسین های P، A و As48 در ۳ ایزوله (۵/۶۶ درصد) مشاهده گردید. با توجه به حضور تعداد نسبتاً زیادی از ژن های انتروسین در ایزوله های انتروکوکوس فکالیس جدا شده از گوشت مرغ، انجام تحقیقات جهت بررسی خواص ضد میکروبی انتروسین های تولید شده توسط این باکتری ضروری به نظر می رسد.

کلمات کلیدی: گوشت مرغ، انتروکوکوس فکالیس، انتروسین A، انتروسین P، انتروسین As-48

مقدمه

انتروکوکوس ها باکتری های گرم مثبت و بی هوازی می باشند و در دستگاه گوارش پستانداران، مدفوع انسان، محصولات لبنی، سطح گیاهان و حشرات یافت می شوند. این ارگانسیم ها به دلیل توانایی خود برای انطباق با تنش های محیطی حائز اهمیت می باشند. استحکام ذاتی که این باکتری ها دارند به آن ها اجازه می دهد که به راحتی در محیط زیست گسترش پیدا کنند (۱). گزارش شده در طیور، انتروکوکوس ها با سپتی سمی، اندوکاردیت و سایر بیماری ها مرتبط هستند. مصرف بی رویه و بدون نظارت آنتی بیوتیک ها و هم استفاده از بعضی آنتی بیوتیک ها در غذای دام و طیور یکی از عوامل ظهور انتروکوکوس های مقاوم به مواد ضد میکروبی است. امروزه نگرانی هایی در مورد انتقال انتروکوکوس های مقاوم به مواد ضد میکروبی از طریق غذا به انسان گزارش شده است (۲ و ۳). گونه های مختلف انتروکوکوس طیف وسیعی از میکروبیوم روده انسان و حیوانات را به خود اختصاص داده اند (۴ و ۵). *انتروکوکوس فکالیس* و *انتروکوکوس فاسیوم* اغلب گونه های جدا شده از نمونه های مواد غذایی و بالینی هستند که توانایی برای زنده ماندن در شرایط نامناسب زیست محیطی را دارا هستند. امروزه آن ها را عامل ۶۵ درصد عفونت های بیمارستانی ذکر می کنند (۶، ۷ و ۸). انتروکوکوس ها اغلب در محصولات طبیعی تهیه شده از مواد خام (شیر و گوشت) و محصولات تیمار حرارت دیده اند یافت می شوند، زیرا مقاومت نسبت به درجه حرارت، پاستوریزه شدن، سازش پذیری به انواع محیط ها و شرایط مختلف رشد دارند (۹). امروزه توانایی انتروکوکوس ها برای تولید پپتیدهای ضد میکروبی خارج سلولی آزاد شده (باکتریوسین ها) از طریق ریبوزوم، به خوبی شناخته شده است (۷). باکتریوسین تولید شده توسط انتروکوکوس ها را، انتروسین می نامند. باکتریوسین ها، پپتیدهای کوچک با فعالیت ضد میکروبی می باشند. فراوانی و تنوع بالای ژن های ساختاری انتروسین به همراه احتمال بالای بروز نوترکیبی ژن ها در بین سویه ها، منجر به افزایش امکان جداسازی سویه های تولیدکننده باکتریوسین مؤثر جهت استفاده در علوم پزشکی، صنایع غذایی و پروبیوتیک جهت ارتقاء سلامت حیوانات یا انسان شده است (۸ و ۱۰).

امروزه به دلیل فعالیت باکتریوسین ها علیه پاتوژن های منتقل شونده از طریق مواد غذایی و نیز تقاضای مصرف کنندگان برای حفاظت طبیعی بیشتر، باکتریوسین ها به عنوان نگهدارنده های زیستی در مواد غذایی پیشنهاد می شوند و استفاده از آن ها در مواد غذایی مورد مطالعه فراوان قرار گرفته است (۷ و ۱۱).

گزارش شده مهم ترین انتروسین های تولید شده توسط انتروکوکوس ها، انتروسین A، انتروسین *As-48* و انتروسین P هستند. انتروسین *As-48* اولین انتروسین خالص شده توسط *انتروکوکوس فکالیس* بود. این انتروسین به عنوان آنتی بیوتیک پپتیدی حلقوی توصیف شده است. توانایی سنتز یک یا چند باکتریوسین توسط باکتری یک برتری محسوب می گردد زیرا می تواند باکتری های رقیب را حذف کند و فرصتی را برای بقا و تکثیر خود فراهم کند (۱۲-۱۴). از آن جا که تاکنون تحقیقی در مورد فراوانی ژن های انتروسین A، انتروسین P و انتروسین *As-48* تولید شده توسط *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از گوشت مرغ در شهرستان شهرکرد صورت نگرفته است، هدف از این مطالعه بررسی فراوانی انتروسین های تولید شده توسط *انتروکوکوس فکالیس* در گوشت مرغ در شهرستان شهرکرد بود.



مجله بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان

مواد و روش‌ها

جداسازی سویه‌های میکروبی و شرایط کشت

در این تحقیق تعداد ۱۰۰ نمونه گوشت مرغ از فروشگاه‌های عرضه گوشت طیور در شهرستان شهرکرد، به‌منظور بررسی فراوانی ژن‌های *انتروسین A, P* و *AS-48* مورد بررسی قرار گرفتند. در این تحقیق از *انتروکوکوس فکالیس ATCC 29212* به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. به‌منظور جداسازی باکتری پنج گرم از هر نمونه گوشت توزین و با ۱۰ میلی‌لیتر بافر PBS مخلوط و یکنواخت گردید. سپس مقدار ۳۰۰ میکرولیتر از محلول مورد نظر در یک پلیت حاوی محیط کانامایسین اسکولین آگار پخش گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند (۱۵ و ۱۶). کلنی‌های رشد یافته در هر پلیت پس از سپری شدن مدت انکوباسیون مورد بررسی قرار گرفتند. تمام سویه‌ها از نظر رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، اکسیداز، رشد در حضور ۶/۵ درصد نمک و تخمیر قندهای آرابینوز، مانیتول، سوربیتول، لاکتوز و سوربوز تعیین هویت گردیدند (۱۵ و ۱۶).

تشخیص مولکولی جنس و گونه باکتری‌های ایزوله شده

به‌منظور تشخیص مولکولی و تائید تشخیص باکتری‌های رشد کرده بر روی محیط کشت، استخراج DNA با استفاده کیت استخراج DNA (شرکت سیناژن) و طبق راهنمای آن انجام شد. جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده از نمونه‌های مورد مطالعه از روش الکتروفورز روی ژل آگارز استفاده شد. به‌منظور کمیت‌سنجی DNA استخراج شده از دستگاه بیوفوتومتر استفاده شد، نمونه‌های DNA که دارای کیفیت مناسب و کمیتی معادل ۵۰ نانوگرم بودند جهت مراحل بعدی و انجام آزمایش PCR انتخاب گردیدند (۱۶).

آزمایش PCR به‌منظور ردیابی ژن *16SrRNA*/انتروکوکوس فکالیس

ردیابی ژن *16SrRNA*/انتروکوکوس فکالیس طبق پروتوکل صلاح و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام شد (۱۷).

آزمایش PCR به‌منظور ردیابی ژن‌های *انتروسین A, انتروسین P* و *AS-48*

ردیابی ژن‌های *EnterocinA, Enterocine p, Enterocine AS-48* انتروکوکوس فکالیس در حضور زوج پرایمرهای نشان داده شده در جدول شماره یک انجام گرفت. واکنش PCR به‌صورت جداگانه برای هر چهار ژن، در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد شرایط واکنش و پرایمرها در جدول شماره یک نشان داده شده است.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در این واکنش

ژن	توالی پرایمر (5'-3')	Annealing (°C)	اندازه محصول (bp)	منبع	برنامه PCR
16S rRNA	CCGAGTGCTTGCCTCAATTGG CTCTTATGCCATGCGGCATAAAC	۶۸	۱۳۸	۱۷	۹۵ درجه ۱۵ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۴ درجه ۲۰ ثانیه، ۶۸ درجه ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه ۱۵ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۷ دقیقه
					۹۴ درجه ۴ دقیقه، ۴۰ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۴۵ ثانیه، ۵۸ درجه ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۳۵ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه
Enterocin A	AAATATTATGGAAATGGAGTGTAT GCACTTCCCTGGAATTGCTC	۵۸	۱۵۵	۱۸	۹۴ درجه ۴ دقیقه، ۴۰ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۴۵ ثانیه، ۵۶ درجه ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۳۵ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه
					۹۴ درجه ۴ دقیقه، ۴۰ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۴۵ ثانیه، ۵۶ درجه ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۳۵ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه
Enterocin P	TATGGTAATGGTGTATTATTGTAA ATGTCCCATACCTGCCAAAC	۵۶	۱۲۱	۱۸	۹۴ درجه ۴ دقیقه، ۴۰ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۴۵ ثانیه، ۵۸ درجه ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۳۵ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه
					۹۴ درجه ۴ دقیقه، ۴۰ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۴۵ ثانیه، ۵۸ درجه ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۳۵ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه
Enterocin AS-48	GAGGAGTATCATGGTTAAAGA ATATTGTTAAATTACCAA	۵۶	۳۳۹	۱۸	۹۴ درجه ۴ دقیقه، ۴۰ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۴۵ ثانیه، ۵۸ درجه ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۳۵ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه
					۹۴ درجه ۴ دقیقه، ۴۰ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۴۵ ثانیه، ۵۸ درجه ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۳۵ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه

نتایج

نتایج مربوط به بررسی های میکروبیولوژی

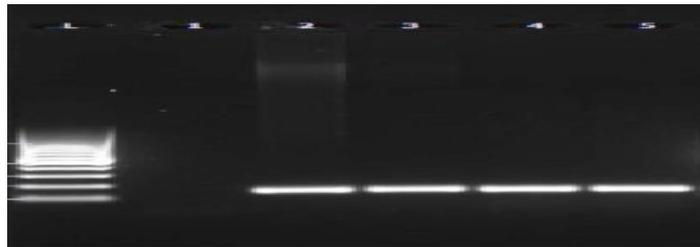
مطالعه حاضر باهدف تعیین اتروسین های *A, p, As-48* در ایزوله های استروکوکوس فکالیس جدا شده از گوشت مرغ در شهرستان شهرکرد صورت گرفت. استروکوکوس فکالیس کوکسی گرم مثبت، کاتالاز منفی و بی حرکت می باشد. این باکتری قندهای سوربیتول، مانیتول و لاکتوز را تخمیر می کند، اما قادر به تخمیر قندهای آرابینوز و سوربوز نمی باشد. هم چنین قادر به هیدرولیز

مجله بیماری های قابل انتقال بین انسان و حیوان

محیط بایل اسکولین آگار نیز می باشد. در این تحقیق از مجموع ۱۰۰ نمونه گوشت مورد مطالعه ۵۳ نمونه (۵۳ درصد) آلوده به باکتری *انتروکوکوس فکالیس* تشخیص داده شد.

نتایج مربوط به ردیابی ژن *16S rRNA* انتروکوکوس فکالیس

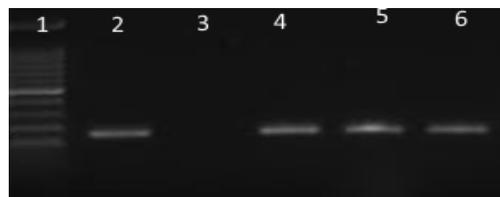
پس از استخراج DNA و بررسی کیفیت DNA های استخراج شده روی ژل آگارز یک درصد به منظور تشخیص قطعی باکتری *انتروکوکوس فکالیس* در حضور توالی ژن *16S rRNA*، باکتری های جدا شده مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی نمونه های دارای باند ۱۳۸ جفت بازی مثبت تشخیص داده شدند. نتایج در شکل (۱) نشان داده شده است.



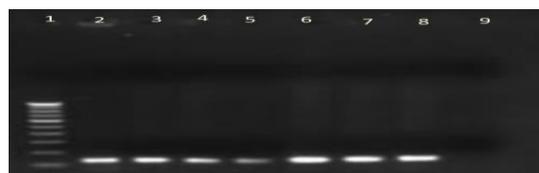
شکل ۱. الکتروفورز محصولات PCR ژن *16S rRNA* انتروکوکوس فکالیس. ستون L: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتاز. ستون ۱: کنترل منفی. ستون ۲ کنترل مثبت. ستون های ۳، ۴ و ۵ باند ۱۳۸ جفت بازی مربوط به نمونه های مورد بررسی.

نتایج مربوط به ردیابی ژن های انتروسین های *A, p, As-48* در ایزوله های انتروکوکوس فکالیس جدا شده از گوشت مرغ

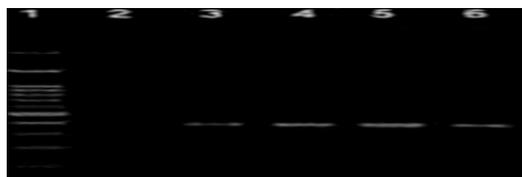
در این تحقیق از ۵۳ ایزوله انتروکوکوس فکالیس جدا شده از گوشت مرغ ژن مربوط به انتروسین *A* در ۱۷ ایزوله (۳۲/۰۷ درصد)، ژن مربوط به انتروسین *P* در ۱۶ ایزوله (۳۰/۱۸ درصد)، ژن مربوط به انتروسین *As-48* در ۱۱ ایزوله (۲۱ درصد) گزارش گردید. وجود هم زمان چند ژن باهم در ۱۰ ایزوله (۱۸/۸۶ درصد) مشاهده گردید به طوری که ژن مربوط به انتروسین های *A* و *P* در سه ایزوله (۹/۴۳ درصد)، ژن مربوط به انتروسین *A* و *As-48* در ۲ ایزوله (۳/۷۷ درصد) و ژن مربوط به *A* و *As-48* و *P* در سه ایزوله (۵/۶۶ درصد) مشاهده گردید (شکل ۲-۴).



شکل ۲. الکتروفورز محصولات PCR ژن *Enterocin A*. ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتاز. ستون ۲: کنترل مثبت، ستون ۳: کنترل منفی. ستون های ۴، ۵ و ۶ باند ۱۵۵ جفت بازی مربوط به نمونه های مثبت مورد بررسی.



شکل ۳. الکتروفورز محصولات PCR ژن *Enterocin p*. ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتاز، ستون ۹: کنترل منفی. ستون های ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و ۱۲۱ جفت بازی مربوط به نمونه های مثبت مورد بررسی.



شکل ۴. الکتروفورز محصولات PCR ژن *Enterocin As-48* ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتناز : ستون ۲: کنترل منفی. ستون های ۳، ۴، ۵ و ۶ باند ۳۳۹ جفت بازی مربوط به نمونه های مثبت مورد بررسی

بحث

باکتریوسین ها دسته ای از مواد هستند که توسط باکتری ها تولید می شوند و از رشد سایر باکتری ها ممانعت می کنند. باکتریوسین های سنتز شده توسط ریبوزوم ها دارای فعالیت باکتریوسیدالی هستند و سریعاً به وسیله پروتئازها در دستگاه گوارش انسان تجزیه می شوند (۷ و ۹). مطالعات Messi و همکاران در سال ۲۰۰۶، نشان می دهد انتروکوک ها با تولید باکتریوسین در محصولات لبنی، در رسیدن، تولید عطر و طعم در پنیر دارای نقش به سزایی هستند (۱۹). مقاومت نسبت به درجه حرارت پاستوریزه شدن، سازش پذیری به انواع سوبستراها و شرایط مختلف رشد، از خصوصیات انتروکوک ها می باشند. برخی از سویه های انتروکوکوس، عامل عفونت های بالینی مانند اندوکاردیت و عفونت های دستگاه ادراری و عفونت های نوزادان می باشند. سویه های انتروکوک ها قادر به تولید باکتریوسین هستند. باکتری های اسیدلاکتیک مانند انتروکوکوس، به دلیل تولید باکتریوسین، از رشد باکتری های پاتوژن ممانعت به عمل می آورند. به همین دلیل این باکتری ها از دیدگاه زیست فناوری حائز اهمیت می باشند (۲۰). تحقیقات انجام شده نشان دهنده فعالیت بازدارندگی انتروسین ها در برابر باکتری های دیگر می باشد. به طوری که Aymerich و همکاران در سال ۱۹۹۶ فعالیت بازدارندگی انتروسین ها را در برابر باکتری لیستریا مونوسیتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس و دیگر گونه ها را گزارش کردند (۲۱). در تحقیق انجام شده توسط Ozdemir و همکاران در ۲۰۱۱ که بر روی ۵۷ ایزوله انتروکوکوس جدا شده از منابع مختلف صورت گرفت، در ۴۰ ایزوله (۷۰/۲۰ درصد) فعالیت ضد میکروبی علیه گونه های استافیلوکوکوس، باسیلوس و لیستریا مشاهده گردید. در این تحقیق فراوانی ژن های انتروسین در ایزوله های انتروکوک جدا شده از منابع مختلف ۹۴/۷ درصد گزارش گردید که نسبت به تحقیق ما بسیار بیشتر است. همچنین در این تحقیق فراوانی ژن های انتروسین A و انتروسین B را به ترتیب ۱۰۰ درصد و ۹۸/۱ درصد گزارش کردند (۲۲). در صورتی که در تحقیق ما ژن مربوط به انتروسین A (۳۲/۰۷ درصد) و ژن مربوط به انتروسین P (۳۰/۱۸ درصد) گزارش گردید که نسبت به تحقیق Ozdemir و همکاران از فراوانی کمتری برخوردار است. مشخص گردیده که انتروسین B همیشه با انتروسین A همراه می باشد. همچنین فراوانی ژن های انتروسین P و انتروسین L50A/B به ترتیب ۷۲/۲ درصد و ۶۲/۹ درصد گزارش گردید (۲۲). در تحقیق Ozdemir و همکاران ژن انتروسین As-48 گزارش نگردید، در صورتی که در تحقیق ما فراوانی این ژن ۲۱ درصد گزارش گردید. انتروسین As-48 یک آنتی بیوتیک می باشد که دارای فعالیت سایتولیزینی می باشد و تنها در ایزوله هایی که دارای فعالیت همولایزینی می باشند گزارش گردیده است. همچنین در تحقیق Ozdemir و همکاران وجود هم زمان دو ژن با همدیگر در ۱۱/۱ درصد موارد گزارش شد در صورتی که در تحقیق ما وجود هم زمان چند ژن با همدیگر در ۱۸/۸۶ درصد مشاهده گردید، به طوری که در تحقیق ما، ژن مربوط به انتروسین A+P در ۹/۴۳ درصد، ژن مربوط به انتروسین های A+As48 در ۳/۷۷ درصد، ژن مربوط به انتروسین های A, P, As48 در ۵/۶۶ درصد مشاهده گردید (۲۲). در تحقیق انجام شده توسط Pangallo و همکاران که بر روی ۶۱ ایزوله انتروکوک جدا شده از منابع



مجله بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان

مختلف صورت گرفت، فراوانی ژن‌های انتروسین ۵۷/۴ درصد گزارش گردید (۲۳). Strompfv و همکاران در سال ۲۰۰۸ حضور ژن انتروسین A، B، P و L50B را در ۴۲۷ سویه انتروکوکوسی از منشأ مختلف (حیوان، غذا) با استفاده از تکنیک PCR بررسی کردند (۳۶۸/انتروکوکوس فاسیوم و ۵۹/انتروکوکوس فکالیس). بر اساس نتایج PCR، ۲۳۴ سویه حاوی یک یا چند ژن ساختمانی انتروسین بودند. انتروسین P و A بیشترین ژن‌های ساختمانی یافت شده در میان سویه‌های انتروکوکوس بودند. انتروسین A بیشتر در انتروکوکوس فاسیوم یافت شد ولی ژن انتروسین P، B و L50B بیشتر در هر دو سویه انتروکوکوس فاسیوم و انتروکوکوس فکالیس یافت شدند (۲۴). Sparo و همکاران در سال ۲۰۰۸ حضور ژن انتروسین A، B، P و L50B را در ۴۲۷ سویه انتروکوکوسی از منشأ مختلف (حیوان، غذا) با استفاده از تکنیک PCR بررسی کردند (۲۵). در تحقیق انجام شده توسط میر حسینی و همکاران در سال ۱۳۹۱، ۲۶ نمونه شیر و فراورده لبنی با روش مستقل از کشت حضور ژن‌های انتروسین A، P، As-48 را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق در همه نمونه‌ها تنها انتروسین A گزارش گردید (۲۶). با توجه به اینکه انتروکوکوس‌ها در دستگاه گوارش انسان و حیوان و پرندگان کلینیزه شده و باعث بیماری می‌شوند لذا این باکتری‌ها از لحاظ دام پزشکی و بیماری‌های پرندگان نیز حائز اهمیت می‌باشند (۱۶). بیان ژن به علت فقدان فاکتور القای نسخه‌برداری و یا رخداد ژن‌های مقاومت چندگانه به باکتریوسین ممکن است به‌طور وسیع روی طیف ضد میکروبی باکتریوسین تولید شده توسط یک گونه خاص اثر کند. فقدان فعالیت ضد میکروبی ضرورتاً نقص ژن تولید باکتریوسین را معنی نمی‌دهد. تولید باکتریوسین یک فرآیند تنظیم شده است. به‌عبارت دیگر شرایط محیطی در تولید باکتریوسین تأثیر دارند. تعدادی از باکتریوسین‌ها در محیط جامد تولید می‌شوند ولی در محیط مایع تولید نمی‌شوند. بنابراین فراوانی وجود ژن‌های ساختمانی می‌تواند بعد از به کارگیری متد ایده آل برای بررسی تولید باکتریوسین و شرایط اپتیمم تولید باکتریوسین و به‌کارگیری سویه حساس به باکتریوسین تخمین زده شود.

نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها

نتایج این تحقیق نشان داد سویه‌های تولید کننده انتروسین در گوشت مرغ فراوان هستند. روش PCR روش حساسی برای شناسایی این سویه‌ها می‌باشد. با توجه به حضور تعداد نسبتاً زیادی از ژن‌های انتروسین در ایزوله‌های انتروکوکوس فکالیس جدا شده از گوشت مرغ، انجام تحقیقات بیشتر جهت بررسی خواص ضد میکروبی انتروسین‌های تولید شده توسط این باکتری ضروری به نظر می‌رسد.

تقدیر و تشکر

از تمامی کسانی که در جمع آوری نمونه همکاری کردند سپاسگزاریم.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تضاد منافی بین نویسندگان وجود ندارد و این مقاله با اطلاع و هماهنگی آنها ارسال شده است.

فهرست منابع

- [1]. Christopher LP, Kapatral V, Vaisvil B, Emel G, Deveaux LC. Draft Genome Sequence of a New Homofermentative, Lactic Acid-Producing Enterococcus faecalis Isolate, CBRD01. Genome Announcements. 2014;2(2):e00147-14.
- [2]. Zarzecka U, Zadernowska A, Chajęcka-Wierzchowska W. Effects of osmotic and high pressure stress on expression of virulence factors among Enterococcus spp. isolated from food of animal origin. Food Microbiology. 2022;102:103900.

- [3]. Manson AL, Van Tyne D, Straub TJ, Clock S, Crupain M, Rangan U, et al. Chicken meat-associated enterococci. Influence of agricultural antibiotic use and connection to the clinic. 2019;85(22):e01559-19.
- [4]. Todd EW. A Comparative Serological Study of Streptolysins Derived from Human and from Animal Infections, with Notes on Pneumococcal Haemolysin, Tetanolysin and Staphylococcus Toxin. *Journal of Pathology and Bacteriology*. 1934;39:299-321.
- [5]. Ho PL, Tse CW, Mak GC, Chow KH, Ng TK. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* arrives in Hong Kong. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;54(4):845-6.
- [6]. Weinstein RA, Hayden MK. Insights into the epidemiology and control of infection with vancomycin-resistant enterococci. *Clinical infectious diseases*. 2000;31(4):1058-65..
- [7]. Salehi M, Hatami Z. Molecular Occurrence of Enterocin A Gene among *Enterococcus faecium* Strains Isolated from Gastro-Intestinal Tract and Antimicrobial Effect of this Bacteriocin Against Clinical Pathogens. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2014;8(1):18-26.
- [8]. Franz CM, Stiles ME, Schleifer KH, Holzapfel WH. Enterococci in foods—a conundrum for food safety. *International journal of food microbiology*. 2003;88(2-3):105-22.
- [9]. Feizabadi MM, Maleknejad P, Asgharzadeh A, Asadi S, Shokrzadeh L, Sayadi S. Prevalence of aminoglycoside-modifying enzymes genes among isolates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in Iran. *Microbial Drug Resistance*. 2006;12(4):265-8.
- [10]. Franz CM, Van Belkum MJ, Holzapfel WH, Abriouel H, Gálvez A. Diversity of enterococcal bacteriocins and their grouping in a new classification scheme. *FEMS microbiology reviews*. 2007;31(3):293-310.
- [11]. Yousefi L, Ehsani M, Fazeli M, Mojgani N, Ezatpanah H. Characterization of enterocin-like substances produced by two strains of *Enterococci* isolated from ewe's and goat's milks. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 2011;6(1):33-42.
- [12]. Vuyst LD, Vandamme EJ. Lactic acid bacteria and bacteriocins: their practical importance. In *Bacteriocins of lactic acid bacteria 1994* (pp. 1-11). Springer, Boston, MA.
- [13]. Pandey N, Malik RK, Kaushik JK, Singroha G. Gassericin A: a circular bacteriocin produced by lactic acid bacteria *Lactobacillus gasseri*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2013;29(11):1977-87.
- [14]. Mirhosseini M. Identification of bacteriocin producing *Enterococcus* in dairy products by PCR. *Iranian Journal of Biology*. 2012:351-357.
- [15]. Frank JA, Reich CI, Sharma S, Weisbaum JS, Wilson BA, Olsen GJ. Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. *Applied and environmental microbiology*. 2008;74(8):2461-70.
- [16]. Karimian H, Tajbakhsh E, Rahimi E. Prevalence of antibiotic resistance genes in *Enterococcus faecalis* isolated from meat in Shahrekord. *Journal of Food Microbiology*. 2018;5(3):1-9.
- [17]. Salah R, Dar-Odeh N, Abu Hammad O, Shehabi AA. Prevalence of putative virulence factors and antimicrobial susceptibility of *Enterococcus faecalis* isolates from patients with dental Diseases. *BMC oral Health*. 2008;8(1):1-7.
- [18]. Hassan M, Brede DA, Diep DB, Nes IF, Lotfipour F, Hojabri Z. Efficient inactivation of multi-antibiotics resistant nosocomial enterococci by purified hiracin bacteriocin. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 2015;5(3):393.
- [19]. Messi P, Guerrieri E, De Niederhaeusern S, Sabia C, Bondi M. Vancomycin-resistant enterococci (VRE) in meat and environmental samples. *International journal of food microbiology*. 2006;107(2):218-22.
- [20]. Yousefi L, Ehsani M, Fazeli M, Mojgani N, Ezatpanah H. Characterization of enterocin-like substances produced by two strains of *Enterococci* isolated from ewe's and goat's milks. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 2011;6(1):33-42.
- [21]. Aymerich T, Holo H, Håvarstein LS, Hugas M, Garriga M, Nes IF. Biochemical and genetic characterization of enterocin A from *Enterococcus faecium*, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins. *Applied and Environmental Microbiology*. 1996;62(5):1676-82.
- [22]. Özdemir GB, Oryaşın E, Bıyık HH, Özteber M, Bozdoğan B. Phenotypic and genotypic characterization of bacteriocins in enterococcal isolates of different sources. *Indian journal of microbiology*. 2011;51(2):182-7.



مجله بیماری های قابل انتقال بین انسان و حیوان

- [23]. Pangallo D, Harichová J, Karellová E, Drahovská H, Chovanová K, Ferianc P, Turna J, Timko J. Molecular investigation of enterococci isolated from different environmental sources. *Biologia*. 2004;59(6):829-37.
- [24]. Strompfová V, Lauková A, Simonová M, Marciňáková M. Occurrence of the structural enterocin A, P, B, L50B genes in enterococci of different origin. *Veterinary Microbiology*. 2008;132(3-4):293-301.
- [25]. Sparo MD, Jones DG, Sánchez Bruni SF. In vitro efficacy of the novel peptide CECT7121 against bacteria isolated from mastitic dairy cattle. *Letters in applied microbiology*. 2009;48(2):187-92.
- [26]. Mirhosseini M, Nahvi I, Emtiazi G, Tavasoli M. Culture-dependent and culture-independent qualitative analysis of dairy products for bacteriocin production by lactic acid bacteria. *World Applied Sciences Journal*. 2008;5(1):20-4.



"This journal is following of Committee on Publication Ethics (COPE) and complies with the highest ethical standards in accordance with ethical laws".

Research Article



Examining the frequency of *enterocin A*, *enterocin P* and *enterocin As-48* genes in *Enterococcus faecalis* strains isolated from chicken meat in Shahrekord city

Fahimeh Nourbakhsh¹, Elahe Tajbakhsh², Parisa Behshood^{3*}

1. Ph.D. Medical Toxicology Research Centre, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
2. Ph.D. Department of Biology, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
3. Ph.D. Department of Microbiology, Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.



*Corresponding author: Parisa_behshood@yahoo.com

Received: 2022/05/12

Accepted: 2022/06/19

Abstract

Bacteriocins produced by bacteria have antimicrobial properties and are used to preserve food. In recent studies, special attention has been paid to these bacteria in order to use them as food preservatives. In this study, 100 chicken meat samples were analyzed after bacterial isolation and definitive diagnosis in the presence of specific primers related to enterocin genes. The gene related to *enterocin A* was in 17 isolates (32.07%), the gene related to *enterocin P* was in 16 isolates (30.18%), the gene related to *enterocin As-48* was in 11 isolates (21%). The simultaneous presence of several genes with each other was observed in 10 isolates (18.86%), so that the gene related to *enterocins A* and *P* in 3 isolates (9.43%), *enterocins A* and *As48* in 2 isolates (3.77%). The gene related to *enterocins A*, *P* and *As48* was observed in 3 isolates (5.66%). Considering the presence of a relatively large number of enterocin genes in *Enterococcus faecalis* isolates isolated from chicken meat, conducting research to investigate the antimicrobial properties of enterocins produced by this bacterium seems necessary.

Keywords: Chicken meat, *Enterococcus faecalis*, *enterocin A*, *enterocin P*, *enterocin As-48*.

How to cite this article: Nourbakhsh F, Tajbakhsh E, Behshood P. Examining the frequency of enterocin A, enterocin P and enterocin As-48 genes in *Enterococcus faecalis* strains isolated from chicken meat in Shahrekord city. Journal of Zoonosis. 2022; 2 (1): 46-55.