



بررسی فراوانی ژن های انتروسین در جدایه های انتروکوکوس فاسیوم جدا شده از گوشت قرمز در شهر کرد

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

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

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

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



* نویسنده مسئول: ee_tajbakhsh@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۹

چکیده

باکتریوسین ها پروتئین هایی هستند که توسط باکتری ها به ویژه باکتری های اسید لاکتیک تولید می شوند که خاصیت ضد میکروبی دارند و برای نگهداری غذاها استفاده می شوند. *L50A* و *L50B* ترکیباتی هستند که توسط برخی از سویه های انتروکوکوس فاسیوم تولید می شوند. مطالعه حاضر به منظور جداسازی و تعیین فراوانی ژن انتروسین *L50A* و *L50B* در جدایه های انتروکوکوس فاسیوم از گوشت در شهرستان شهرکرد انجام شد. در این تحقیق ۸۰ نمونه گوشت تهیه شد و شیوع ژن های انتروسین *L50A* و *L50B* مورد بررسی قرار گرفتند. جداسازی باکتری ها با استفاده از روش های بیوشیمیایی میکروبیولوژی مانند تست بایل اسکولین، رشد در ۶/۵ درصد NaCl، تخمیر پیرووات و تکنیک های مولکولی انجام شد. در حضور پرایمرهای اختصاصی مربوط به ژن های انتروسین، فراوانی ژن های *L50A* و *L50B* تعیین شد. در این تحقیق از مجموع ۸۰ نمونه مورد مطالعه ۶۶ نمونه (۸۲/۵ درصد) آلوده به انتروکوک شناسایی شد که تعداد ۳۵ نمونه (۴۳/۷۵ درصد) آلوده به باکتری انتروکوکوس فاسیوم تشخیص داده شدند. *L50A* در ۱۵ جدایه (۴۲/۸۵ درصد) و *L50B* در ۱۴ جدایه (۴۰ درصد) گزارش شد. با توجه به آلودگی نسبتاً بالای انتروکوکوس فاسیوم در گوشت، سایر مطالعات برای خواص ضد میکروبی انتروسین های تولید شده توسط این باکتری توصیه می شود.

کلمات کلیدی: انتروکوکوس فاسیوم، انتروسین، گوشت، *L50B*، *L50A*

انتروکوکها از انواع باکتری های منتقله از مواد غذایی به شمار می روند و به طور وسیعی در محیط پراکنده هستند، این باکتری ها معمولاً در دستگاه گوارش انسان یا حیوانات، در آب، خاک، گیاهان و سبزیجات ساکن می باشند (۱ و ۲). انتروکوکها به عنوان بخش مهمی از میکروفلور طبیعی بسیاری از فرآورده های لبنی تشخیص داده شده و در بعضی از پنیرها؛ آن ها بر لاکتوباسیل ها و لاکتوکوکسی ها غالب هستند. این باکتری ها کاربردهای مهمی در صنعت لبنیات دارند و به طور فراوان در محصولات لبنی یافت می شوند (۳-۵). آن ها همچنین قسمتی از فلور میکروبی طبیعی روده بعضی از پستانداران و انسان را تشکیل می دهند. مقاومت استثنایی این باکتری ها باعث توانایی رشد آن ها در محیط خارج روده ای می گردد و می توانند در محیط های اسیدی و قلیایی رشد کنند. *انتروکوکوس فکالیس*، *انتروکوکوس فاسیوم* و *انتروکوکوس دورانس* گونه هایی هستند که بیشترین فراوانی را در بین سایر گونه ها به خود اختصاص داده اند (۳، ۴ و ۶). انتروکوکوسها نه تنها یکی از اعضای مهم فلور نرمال دستگاه گوارش اکثر موجودات خونگرم نظیر انسان هستند، بلکه توانایی ایجاد زمینه های گسترده ای از بیماری های عفونی را دارا هستند و به عنوان یکی از عوامل عمده ایجادکننده عفونت های جدید در بیماران بستری در بیمارستان مطرح می باشند. شایع ترین عوامل مسبب عفونت های جدید در بیمارستان ها، *انتروکوکوس فکالیس* و *انتروکوکوس فاسیوم* می باشند (۳ و ۷). بسیاری از فرآورده های گوشتی تخمیر شده نیز حاوی انتروکوک هستند و فواید زیادی از جمله سهم آن ها در رسیدن و بهبود عطر، خواص پروبیوتیک و تولید مواد ضد میکروبی به آن ها نسبت داده شده است (۸). مقاومت نسبت به درجه حرارت پاستوریزه شدن؛ سازش پذیری به انواع محیط ها و شرایط مختلف رشد (درجه حرارت بالا و پایین، گستره pH و تحمل غلظت نمک) از خصوصیات انتروکوکها می باشد. انواع زیادی از میکروارگانیسم ها یا توکسین های آن ها با مکانیسم های مختلف در ایجاد بیماری های منتقله از غذا نقش دارند. پژوهش های متعدد حاکی از آن است که گونه های تولیدکننده باکتریوسین ها شامل: لاکتوباسیلوس^۱، لاکتوکوکوس^۲، استرپتوکوکوس^۳ و انتروکوکوس می باشند (۹ و ۱۰). باکتریوسین ها؛ پپتیدهای کوچکی با فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری های گرم مثبت شامل: باکتری های عامل فساد یا باکتری های بیماری زا می باشند و سریعاً به وسیله پروتئازها در دستگاه گوارش انسان تجزیه می شوند (۱۱ و ۱۲). باکتریوسین های جدا شده از باکتری های اسیدلاکتیک، به چهار گروه تقسیم می شوند و به تازگی گروهی از آن ها شناسایی شده و در گروه V قرار می گیرند. کلاس I باکتریوسین ها پپتیدهای مانع کننده کوچکی می باشند. کلاس II باکتریوسین ها شامل پروتئین های کوچک و مقاوم به حرارت می باشند و شامل کلاس IIa، کلاس IIb و کلاس IIc می باشند؛ کلاس III باکتریوسین ها شامل پروتئین های بزرگ می باشد که مقاوم به حرارت نمی باشند؛ کلاس IV باکتریوسین ها به عنوان باکتریوسین های پیچیده حاوی چربی یا کربوهیدرات می باشند. باکتریوسین تولید شده توسط انتروکوکوسها را، انتروسین^۴ می نامند. انتروسین ها در کلاس I، کلاس IIa، کلاس IIc و کلاس III قرار داده می شوند (۴، ۱۳ و ۱۴). انتروسین ها عمدتاً توسط *انتروکوکوس فاسیوم*، *انتروکوکوس فکالیس* ترشح می شوند (۴ و ۱۵). انتروسین ها مانند بیشتر باکتریوسین ها غشاء سیتوپلاسمی را هدف اولیه قرار می دهند؛ آن ها در غشاء سیتوپلاسمی منفذ ایجاد کرده و باعث از بین رفتن آن می شوند (۴). مطالعات متعدد نشان می دهد انتروسین ها باعث کاهش باکتری های بیماری زا در دستگاه گوارش حیوانات می شوند (۴ و ۱۵). به دلیل فعالیت این ترکیبات 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

1. *Lactobacillus*
2. *Lactococcus*

3. *Streptococcus*
4. Enterocin



مجله بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان

فراوان قرار گرفته است (۱۳ و ۱۶). از آنجا که تاکنون تحقیقی در مورد فراوانی ژن‌های *انتروسین L50A* و *L50B* تولید شده توسط *انتروکوکوس فاسیوم* در گوشت قرمز در شهرستان شهرکرد صورت نگرفته است در این تحقیق بر آن شدیم تا به فراوانی این ژن‌ها در جدایه‌های *انتروکوکوس فاسیوم* جدا شده از گوشت قرمز در شهرستان شهرکرد بپردازیم.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

در این تحقیق سویه‌های باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* طی شش ماه از ۸۰ نمونه گوشت قرمز از مراکز عرضه گوشت بازار شهرکرد جمع‌آوری شد.

جداسازی سویه‌های جنس *انتروکوکوس*

برای جداسازی باکتری‌های *انتروکوکوس* از محیط کشت اختصاصی کانامایسین اسکولین-آزیدآگار استفاده شد. برای این منظور 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 گرمخانه‌گذاری شدند. کلنی‌های رشد یافته در هر پلیت پس از سپری شدن مدت گرمخانه‌گذاری مورد بررسی قرار گرفتند (۱۷).

شناسایی با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی

تمام سویه‌ها به وسیله رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، اکسیداز، رشد در حضور ۶/۵ درصد نمک و تخمیر قندهای آرابینوز، مانیتول، سوربیتول، لاکتوز و سوربوز تعیین هویت گردیدند. *انتروکوکوس فاسیوم* کوکسی گرم مثبت، کاتالاز منفی و بی‌حرکت می‌باشد. قندهای ساکارز، لاکتوز، مالتوز و مانیتول را تخمیر می‌کند اما قادر به تخمیر قندهای سوربیتول و زایلوز نمی‌باشد. هم‌چنین قادر به هیدرولیز محیط بایل اسکولین آگار نیز می‌باشد (۶).

تشخیص مولکولی جنس و گونه باکتری‌های جدا شده

در این تحقیق برای تشخیص جنس *انتروکوکوس* از واکنش زنجیره پلیمرز مرتبط با *16srRNA* و نیز جهت شناسایی گونه سویه‌هایی که از طریق PCR جنس آن‌ها *انتروکوکوس* تشخیص داده شده است، از واکنش زنجیره پلیمرز ژن سوپر اکسید دیسموتاز وابسته به منگنز استفاده می‌شود. استخراج DNA با استفاده کیت استخراج DNA (شرکت سینا ژن) و طبق راهنمای آن استخراج شد. واکنش PCR برای جنس *انتروکوکوس* و گونه *فاسیوم* مشترک بوده و به شرح زیر در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر متشکل از DNA استخراج شده ۱ میکرو لیتر، PCR buffer 10x (۲/۵ میکرو لیتر)، ۱ میکرو لیتر dNTP (۱۰ mM)، (۵۰ mM) Mgcl2 (۰/۳ میکرو لیتر)، هر کدام از پرایمرهای R و F (۱ میکرو لیتر)، آنزیم تک پلیمرز (۰/۲ میکرو لیتر) Smar Taq DNA Polymerase و ۱/۸ میکرو لیتر آب مقطر صورت گرفت. برنامه واکنش زنجیره پلیمرز برای تکثیر ژن *16srRNA* و ژن *فاسیوم* بدین شرح بود: ۵ دقیقه دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سلسیوس، سپس محصولات با ۳۰ سیکل از دناتوراسیون در ۹۵ درجه سلسیوس برای ۳۰ ثانیه، اتصال در ۵۵ درجه سلسیوس برای یک دقیقه و گسترش در ۷۲ درجه سلسیوس برای یک دقیقه تکثیر یافتند. چهار میکرو لیتر از محصولات واکنش زنجیره پلیمرز در ژل آگارز دو درصد الکتروفورز شده و سپس با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید مشاهده شد (۶).

آزمایش PCR به منظور ردیابی ژن های انتروسین *L50A* و *L50B* در جدایه های انتروکوکوس فاسیوم به منظور بررسی فراوانی ژن مربوط به انتروسین های *L50A* و *L50B* تولید شده توسط باکتری از توالی پرایمرهای نشان داده شده در جدول شماره یک استفاده شد. با توجه به نزدیک بودن اندازه باندها برای هر ژن واکنش PCR جداگانه انجام شد. واکنش PCR برای هر ژن در حجم نهایی ۲۵ میکرو صورت گرفت (۱۸).

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ردیابی ژن ها

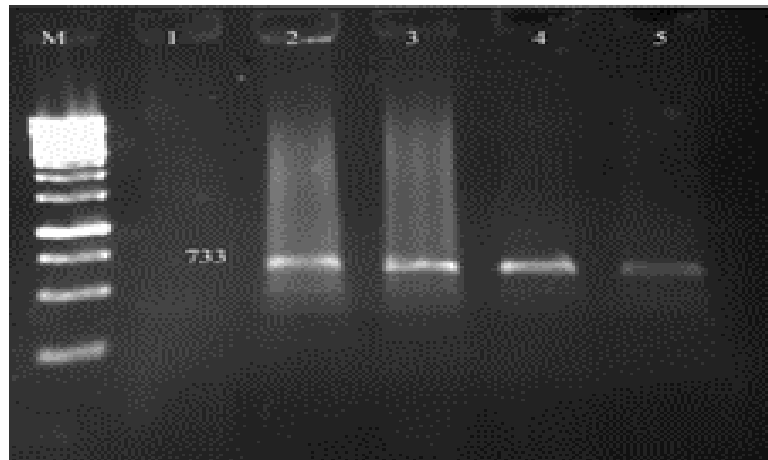
Genes	Oligonucleotide Sequence (5'-3')	Size (bp)	Annealing	References
<i>16srRNA</i>	TCAACCGGGGAGGGT	733	55	6
<i>Enterococcus</i>	ATTACTAGCGATTCCGG			
<i>E. faecium</i>	ACA ATAGAAGAATTATTATCTG CGG CTG CTT TTT TGA ATT CTT CT	214	55	6
<i>Enterocin L50A</i>	ATGGGAGCAATCGCAAAA TTAAATATGTTTTTTAATCCA	135	45	18
<i>Enterocin L50B</i>	ATGGGAGCAATCGCAAAA TTAATGTCTTTTTAGCCA	280	45	18

نتایج

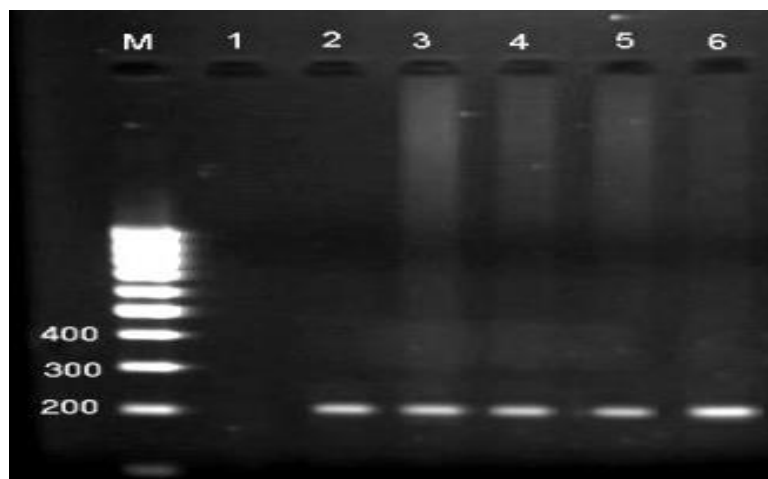
ردیابی ژن *16srRNA* / انتروکوکوس

به منظور تشخیص قطعی جنس انتروکوکوس در حضور توالی ژن *16srRNA*، باکتری های جدا شده مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی نمونه ها با داشتن باند ۷۳۳ جفت بازی مثبت تشخیص داده شدند. نتایج در شکل شماره یک نشان داده شده است. در این تحقیق براساس آزمایشات مولکولی میکروبی از مجموع ۸۰ نمونه گوشت مورد مطالعه ۶۶ نمونه (۸۲/۵ درصد) گوشت آلوده به انتروکوک شناسایی شد که تعداد ۳۵ نمونه (۴۳/۷۵ درصد) آلوده به باکتری انتروکوکوس فاسیوم تشخیص داده شدند. شکل شماره دو الکتروفورز محصولات PCR جهت ردیابی گونه انتروکوکوس فاسیوم را نشان می دهد.

مجله بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان



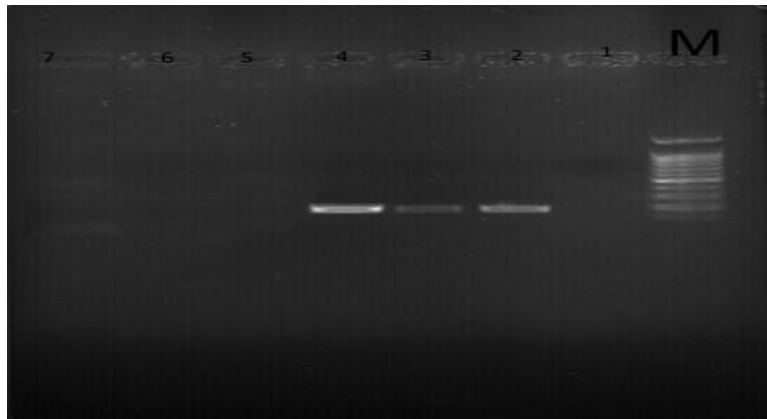
شکل ۱. الکتروفورز محصولات PCR ژن *16srRNA* انتروکوکوس. ستون M: مارکر ۱۰۰۰ جفت بازی فرمنتاز. ستون ۱: کنترل منفی، ستون‌های ۲-۵: باند ۷۳۳ جفت بازی مربوط به نمونه‌های مورد بررسی



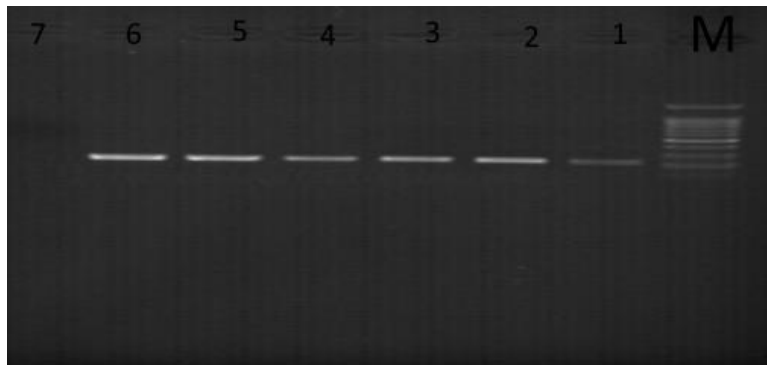
شکل ۲. الکتروفورز محصولات PCR جهت ردیابی گونه انتروکوکوس فاسیوم. ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمنتاز، ستون ۱: کنترل منفی، ستون‌های (۲-۶): نمونه مثبت مورد بررسی واجد باند ۲۱۴ جفت باز

نتایج مرتبط به ردیابی ژن‌های انتروسین *L50A* و *L50B* در جدایه‌های انتروکوکوس فاسیوم

در این تحقیق از ۳۵ ایزوله انتروکوکوس فاسیوم جدا شده از گوشت قرمز، ژن مربوط به انتروسین *L50A* در ۱۵ ایزوله (۴۲/۸۵ درصد) و ژن مربوط به انتروسین *L50B* در ۱۴ ایزوله (۴۰ درصد) گزارش گردید (شکل ۳ و ۴).



شکل ۳. الکتروفورز محصولات PCR جهت ردیابی ژن مربوط به *L50A*. ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمنتاز، ستون ۱: کنترل منفی، ستون های (۲-۴): نمونه های مثبت مورد بررسی واجد باند ۱۳۵ جفت باز



شکل ۴. الکتروفورز محصولات PCR جهت ردیابی ژن مربوط به *L50B*. ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمنتاز، ستون ۷: کنترل منفی، ستون های (۱-۶): نمونه های مثبت مورد بررسی واجد باند ۲۸۰ جفت باز

بحث

توانایی انتروکوکها جهت تولید باکتریوسینها (پپتیدهای ضد میکروبی مترشح به خارج) سنتز شونده به صورت ریبوزومی به خوبی شناخته شده است. فراوانی و تنوع بالای ژن های ساختاری انتروسین به همراه احتمال بالای بروز ترکیب ژن ها در بین سویه ها، منجر به افزایش امکان جداسازی سویه های تولیدکننده باکتریوسین مؤثر جهت استفاده در علوم پزشکی، صنایع غذایی، پروبیوتیک جهت ارتقاء سلامت حیوانات یا انسان و نیز به کارگیری در دامپزشکی شده است (۱۷ و ۱۹). اخیراً انتروسینها به علت قابلیت استفاده از آنها به عنوان نگهدارنده های زیستی در مواد غذایی انسانی و حیوانی بسیار مورد توجه قرار گرفته اند (۵، ۷، ۹ و ۱۷). مطالعات مختلف توانایی انتروسینها یا سویه های تولیدکننده انتروسینها را در کنترل یا کاهش باکتری های پاتوژن در مسیر گوارشی (معددهای - روده های) انسان و حیوانات (گونه های کمپیلوباکتر، سالمونلا و / شریشیاکلی) اثبات کرده اند (۷ و ۲۰). انتروسینها غشاء سیتوپلاسمی را هدف اولیه قرار می دهند و باعث از بین رفتن آن می شوند (۴ و ۱۲). در این تحقیق از مجموع ۸۰ نمونه مورد مطالعه ۶۶ نمونه (۸۲/۵ درصد) آلوده به انتروکوک شناسایی شد که تعداد ۳۵ نمونه (۴۳/۷۵ درصد) آلوده به باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* تشخیص داده شدند. از ۳۵ ایزوله *انتروکوکوس فاسیوم* جدا شده از گوشت قرمز، ژن مربوط به *انتروسین L50A* در ۱۵ ایزوله (۴۲/۸۵ درصد) و ژن مربوط به *انتروسین L50B* در ۱۴ ایزوله (۴۰ درصد) گزارش گردید. در



مجله بیماری های قابل انتقال بین انسان و حیوان

بیشتر تحقیقات انجام شده در سراسر جهان، گروه‌بندی و شناسایی سویه‌های انتروکوک با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی و فنوتیپیک، تنها برای سویه‌هایی مشخص که معمولاً از نمونه‌های انسانی جدا می‌شوند انجام می‌شود؛ بنابراین ممکن است شناسایی دقیق سویه‌های جدا شده از منابع غیر انسانی به دلیل حضور همزمان چند گونه در یک نمونه، به روش بیوشیمیایی میسر نباشد. برای تشخیص جنس انتروکوکوس همانند سایر جنس‌های باکتریایی معمولاً از واکنش PCR مرتبط با *16s rRNA* استفاده می‌شود. در این تحقیق نیز برای تایید جدایه‌های انتروکوکوس و *انتروکوکوس فکالیس* از تکنیک PCR استفاده شد، که صالحی و همکاران نیز از این تکنیک جهت تایید جدایه‌های خود استفاده کردند (۶). اوزدمیر و همکاران، فراوانی‌های ژن *انتروسین A, B, P* و *L50A/B* در ایزوله‌های انتروکوک جدا شده از منابع مختلف به ترتیب ۱۰۰ درصد، ۹۸/۱ درصد، ۷۲/۲ درصد و ۶۲/۹ درصد گزارش کردند که نتایج این تحقیق برخلاف نتایج تحقیق ما است (۲۱). استرومپفوا و همکاران نیز جهت بررسی حضور ژن‌های *انتروسین A, B, P, L50B* و *A* را در ۴۲۷ سویه انتروکوکوسی از منشأ مختلف (حیوان و غذا) از تکنیک PCR استفاده کردند، بر اساس نتایج آنها ۲۳۴ سویه حاوی یک یا چند ژن ساختمانی انتروسین بودند. *انتروسین‌های A* و *P* بیشترین ژن‌های ساختمانی یافت شده در بین سویه‌های انتروکوکوس بودند. ژن *انتروسین A* بیشتر در میان سویه‌های *انتروکوکوس فاسیوم* یافت شد. ولی ژن‌های *انتروسین B, L50B, P* بیشتر در هر دو سویه *انتروکوکوس فاسیوم* و *انتروکوکوس فکالیس* یافت شدند (۲۲). صالحی و همکاران فراوانی ژن ساختاری *انتروسین A* را ۷۳/۸ درصد در نمونه‌های حیوانی گزارش کردند (۶). تفاوت درصد حضور ژن‌های *انتروسین* در تحقیقات مختلف احتمالاً به دلیل متفاوت بودن حیوانات و منابع مورد بررسی و نیز تفاوت اقلیم‌های جغرافیایی می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها

تحقیقات بسیار محدودی در مورد فراوانی ژن‌های *انتروسین L50A* و *L50B* صورت گرفته است. تحقیق حاضر حاکی از شیوع نسبتاً زیاد این ژن‌ها در ایزوله‌های *انتروکوکوس فاسیوم* جدا شده از گوشت قرمز می‌باشد. با توجه به شیوع نسبتاً زیاد ژن‌های *انتروسین L50A* و *L50B* در ایزوله‌های *انتروکوکوس فاسیوم* جدا شده از گوشت قرمز تحقیقات بیشتر جهت بررسی خواص ضد میکروبی این ترکیبات ضروری به نظر می‌رسد.

تقدیر و تشکر

از تمامی کسانی که در نگارش این مقاله یاری رسانده‌اند تشکر می‌نماییم.

تعارض منافع

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

فهرست منابع

- [1]. Radmehr M, Khashei Varnamkhasti K, Tajbakhsh E. Accuracy of REP-PCR Method in Genotyping of *Enterococcus faecium* Isolated From Red Meat as a Cause of Foodborne Infections. *Armaghane Danesh*. 2021;26(1):104-16.
- [2]. Dapkevicius MdLE, Sgardioli B, Câmara SP, Poeta P, Malcata FXJF. Current trends of enterococci in dairy products: A comprehensive review of their multiple roles. 2021;10(4):821.
- [3]. 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.

- [4]. Mirhosseini M, Nahvi I, Emtiazi G, Tavasoli MJWASJ. Culture-dependent and culture-independent qualitative analysis of dairy products for bacteriocin production by lactic acid bacteria. *World Applied Sciences Journal*. 2008;5(1):20-24.
- [5]. Ronconi MC, Merino LAJEIMC. Prevalencia de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* con resistencia de alto nivel a aminoglucósidos en las ciudades de Resistencia y Corrientes, República Argentina. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2000;18(2):71-3.
- [6]. 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.
- [7]. Murray BE. The life and times of *Enterococcus*. *Clinical Microbiology Reviews*. 1990;3:46-65.
- [8]. Barbosa J, Gibbs PA, Teixeira P. Virulence factors among enterococci isolated from traditional fermented meat products produced in the North of Portugal. *Food Control*. 2010;21(5):651-6.
- [9]. Cosentino S, Podda G S, Corda A, Fadda ME, Deplano M, Pisano MB. Molecular detection of virulence factors and antibiotic resistance pattern in clinical *Enterococcus faecalis* strains in Sardinia. *Journal of preventive medicine and hygiene*. 2010;51(1):31-36
- [10]. Giraffa G. Enterococci from foods. *FEMS Microbiology Reviews*. 2002;26(2):163-71.
- [11]. De Vuyst L, Foulquié Moreno MR, Revets H. Screening for enterocins and detection of hemolysin and vancomycin resistance in enterococci of different origins. *International Journal of Food Microbiology*. 2003;84(3):299-318.
- [12]. Cleveland J, Montville TJ, Nes IF, Chikindas ML. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*. 2001;71(1):1-20.
- [13]. Pandey N, Malik RK, Kaushik JK, Singroha G. Gassericin A: a circular bacteriocin produced by lactic acid bacteria *Lactobacillus gasserii*. *World journal of microbiology & biotechnology*. 2013;29(11):1977-87.
- [14]. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*. 2000;13(4):686-707.
- [15]. 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.
- [16]. Hickey RM, Twomey DP, Ross RP, Hill CJM. Production of enterolysin A by a raw milk enterococcal isolate exhibiting multiple virulence factors. 2003;149(3):655-64.
- [17]. Barzam E, Tajbakhsh E, Rahimi E. Prevalence of enterocins produced by *Enterococcus faecalis* isolated from traditional dairy products in Shahrekord City. *Journal of Food Microbiology*. 2015;2(2):79-87.
- [18]. Kubašová I, Diep DB, Ovchinnikov KV, Lauková A, & Stropfová V. Bacteriocin production and distribution of bacteriocin-encoding genes in enterococci from dogs. *International journal of antimicrobial agents*. 2020;55(2):105859.
- [19]. Messi P, Guerrieri E, de Niederhäusern 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]. Piard JC, Desmazeaud M. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria.2: bacteriocins and other antibacterial substances. *Lait*. 1991;72:113-42.
- [21]. 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.
- [22]. Stropfová 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 10;132(3-4):293-301.



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



Research Article

**Prevalence of enterocin genes in *Enterococcus faecium* strains isolated from red meat in Shahrekord, Iran**Parisa Behshood ¹, Elahe Tajbakhsh ^{2*}, Fahimeh Nourbakhsh ³

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

***Corresponding author:** ee_tajbakhsh@yahoo.com

Received: 2022/06/30

Accepted: 2022/07/19

Abstract

Bacteriocins are proteins produced by bacteria, especially lactic acid bacteria, which have antimicrobial properties and are used to preserve foods. *L50A* and *L50B* are the compounds produced by some *Enterococcus faecium* strains. The present study was conducted to isolate and determine the frequency of enterocin *L50A* and *L50B* genes in *E. faecium* isolates from meat in Shahrekord, Iran. In this research, 80 meat samples were prepared, and the prevalence of *L50A* and *L50B* enterocin genes were studied. The bacteria were isolated using biochemical microbiology methods such as the bile esculin test, growth in NaCl 6.5%, pyruvate fermentation, and molecular techniques. In the presence of specific primers for enterocin genes, the frequency of *L50A* and *L50B* genes was determined. In this research, out of a total of 80 studied samples, 66 samples (82.5%) were infected with *Enterococcus*, of which 35 samples (43.75%) were infected with *E. faecium* bacteria. *L50A* was determined in 15 isolates (42.85%), and *L50B* was determined in 14 isolates (40%). Due to the relatively high contamination of *E. faecium* in meat, other studies for antimicrobial properties of enterocins produced by this bacterium are recommended

Keywords: *Enterococcus faecium*, Enterocin, Meat, *L50A*, *L50B***How to cite this article:** Prevalence of enterocin genes in *Enterococcus faecium* strains isolated from red meat in Shahrekord, Iran. Journal of Zoonosis. 2022; 2 (1): 37-45.