بررسی فراوانی انتروسین‌های تولید شده در ایزوله‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از فراورده‌های شیر سنتی در شهرستان شهرکرد

الهه برزم[1]، الهه تاج‌بخش[2*]، ابراهیم رحیمی[3]

۱.دانش آموخته گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی،ایران.

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

۳. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران.

[*]نویسنده مسئول: *ee_tajbakhsh@yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۲۵

چکیده

باکتریوسین‌ها پروتئین‌های تولید شده توسط باکتری‌ها به خصوص باکتری‌های اسید لاکتیک هستند که خاصیت ضد میکروبی دارند و برای نگهداری غذا به کار می‌روند. در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای به این باکتری‌ها در جهت بهره‌گیری از آن‌ها به عنوان نگه دارنده‌های مواد غذایی معطوف شده‌است.در این تحقیق تعداد ۱۲۰ نمونه فراورده شیر سنتی مختلف، پس از جداسازی باکتری و تشخیص قطعی در حضور پرایمرهای اختصاصی مربوط به ژن‌های *انتروسین* مورد بررسی قرار گرفتند. ژن مربوط به *انتروسین A* در ۱۴ ایزوله (۳۱/۸۱ درصد)، ژن مربوط به *انتروسین P* در ۱۳ ایزوله (۲۹/۵۴ درصد)، ژن مربوط به *انتروسین As-48* در ۹ ایزوله (۲۰/۴۵ درصد). وجود هم‌زمان چند ژن با همدیگر در ۶ ایزوله (۱۳/۶۳ درصد) مشاهده گردید به‌طوری‌که ژن مربوط به *انتروسین‌های A* و *P* در ۲ ایزوله (۴/۵۴ ٪)، ژن مربوط به *انتروسین‌های A* و *As48* در ۷ ایزوله (۱۵/۰۹درصد)، ژن مربوط به *انتروسین‌های A, P* و *As48* در ۵ ایزوله (۱۱/۳۶ درصد) مشاهده گردید. با توجه به حضور تعداد نسبتا زیادی از ژن‌های *انتروسین* در ایزوله‌های *انتروکوکوس فکالیس* جداشده از فراورده‌هایشیر سنتی انجام تحقیقات جهت بررسی خواص ضد میکروبی *انتروسین‌های* تولید شده توسط این باکتری ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: فراورده‌های شیر سنتی، *انتروکوکوس فکالیس*، *انتروسین*.

مقدمه

انتروکوک‌ها به طور وسیعی در محیط پراکنده می‌باشند. این باکتری‌ها معمولا در دستگاه گوارش انسان یا حیوانات، در سطح آب، خاک، گیاهان و سبزیجات ساکن می‌باشند(Furlaneto et al., 2014). ارگانیسم‌هایی گرم مثبت، کاتالازمنفی، تخم مرغی شکل و غیر هاگ‌زا، بی‌هوازی اختیاری، جور تخمیر[1]با احتیاجات غذایی پیچیده هستند (Ogier and Serror, 2008; Morandi et al., 2006; Girrafa, 2003; Suzziet al., 2000 ;Huycke et al., 1998). این باکتری‌ها کاربردهای مهمی در صنعت شیر دارند و فراورده‌های شیر خصوصا در پنیر دارند. *انتروکوکوس فاسیوم*و *انتروکوکوس فکالیس* گونه‌هایی هستند که بیشترین فراوانی را در بین سایر گونه‌ها به خود اختصاص می‌دهند و به طور فراوان در فراورده‌های شیر یافت می‌شوند (ÖzdenThncer and Tuncer, 2013) وجود *انتروکوک*ها در محصولات لبنی، نتیجه شرایط غیر بهداشتی می‌باشد. اما به دلیل تولید *باکتریوسین*، از رشد باکتری‌های بیماری‌زا ممانعت به

[1]- Homofermentative

عمل می‌آورند. به همین دلیل این باکتری‌ها از دیدگاه تکنولوژی حائز اهمیت می‌باشند (Mirhosseini et al., 2009).

باکتریوسین‌ها پروتئین‌هایی هستند که خاصیت ضد میکروبی دارند و توسط گروه‌های مختلفی از باکتری‌ها به خصوص باکتری‌های اسید لاکتیک تولید می‌شوند و طیف گسترده‌ای از ممانعت‌کنندگی را دارا می‌باشند و برای نگهداری غذا به کار می‌روند. باکتری‌های اسید لاکتیک عمدتا از محصولاتی مانند شیر و محصولات گوشتی منشاء می‌گیرند و طیف وسیعی دارند. این توانایی ضد میکروبی آن‌ها برای توسعه بسیاری از فرآورده‌های تخمیری به کار می‌رود. اگر چه ممکن است بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی قادر به تولید باکتریوسین باشند ولی در سال‌های اخیر توجه ویژه بر روی شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک و *باکتریوسین*‌های حاصله در صنایع غذایی در جهت بهره‌گیری از آن‌ها به عنوان نگهدارنده‌های مواد غذایی معطوف شده‌است (Gomez et al., 2002). باکتریوسین‌ها در باکتری‌های گرم مثبت کوچک بوده و سبب افزایش نفوذپذیری غشاء می‌شوند. باکتریوسین باکتری‌های گرم منفی بزرگ و پیچیده‌اند که به رسپتورهای[1] ویژه‌ای روی غشاء خارجی سلول هدف باند می‌شوند. سازماندهی ژنتیکی *باکتریوسین*‌های تولید شده توسط باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی باهم متفاوت است، باکتری‌های گرم مثبت دارای ۸ تا ۱۲ ژن در مقایسه با ۲ تا ۳ ژن نیازمند برای باکتری‌های گرم منفی است (Uguen and Uguen., 2002). مطالعات متعدد نشان می‌دهد، *انتروسین*‌ها باعث کاهش باکتری‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش حیوانات می‌شوند. *انتروکوکوس فکالیس* به واسطه ترشح *انتروسین* به عنوان نگهدارنده مواد غذایی استفاده می‌شود. اولین *انتروسین* خالص شده انتروسین *AS-48* می‌باشد و توسط *انتروکوکوس فکالیس* تولید می‌شود (Pandey et al., 2013). *انتروکوکوس فکالیس* از جمله میکروارگانیسم‌هایی می‌باشد که عمدتا در روده یافت می‌شود حضور زیاد آن‌ها در مواد غذایی دلیلی بر آلودگی مدفوعی می‌باشد (Murray, 1990; Masud, 1989). جنبه مفید این باکتری نقش پروبیوتیکی آن‌ها می‌باشد و جنبه مضرشان نقش آن‌ها در مسمومیت غذایی می‌باشد. از بین تولیدات شیری، بستنی و پنیر از جمله محصولاتی می‌باشند که به صورت دست‌ساز و سنتی به طور گسترده توسط اقشار مختلف مردم استفاده می‌شوند. تراکم بیش از حد آن‌ها در مواد غذایی بیان‌گر وضعیت نامطلوب بهداشتی می‌باشد (Murray, 1990). هدف از انجام این تحقیق بررسی فراوانی ژن‌های *انتروسین* *Enterocin P*, *Enterocin A*, و *Enterocin AS-48* در ایزوله‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از فراورده‌های شیر سنتی در شهرستان شهرکرد می‌باشد.

مواد و روش کار

در این تحقیق تعداد ۱۲۰ نمونه فرآورده شیر سنتی مختلف از قبیل ۲۰ نمونه شیر، ۲۰ نمونه دوغ، ۲۰ نمونه ماست، ۲۰ نمونه دوراغ، ۲۰ نمونه کشک و ۲۰ نمونه قارا از تیرماه تا مهر ۱۳۹۳ از فروشگاه‌های عرضه فرآورده‌های شیر سنتیدر شهرستان شهرکرد، به منظور بررسی ژن‌های *انتروسین* *Enterocin P*, *Enterocin A* و *Enterocin AS-48* مورد بررسی قرار گرفتند. در این تحقیق از سویه *انتروکوکوس فکالیس* ATCC 29212 تهیه شده از مرکز پژوهش‌های علمی وصنعتی به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. به منظور شناسایی *انتروکوکوس فکالیس* نمونه‌های جمع‌آوری شده در محیط بلاد آگار (ساخت شرکت مرک، آلمان) وکشت داده شدند و بعد از ۲۴ ساعت گرم‌خانه گذاری، نمونه‌هاازلحاظ ریخت‌شناسی نوع پرگنه، رنگ‌آمیزی گرم، حرکت و تست کاتالاز مورد بررسی قرار گرفتند. جهت تایید *انتروکوکوس فکالیس* از آزمون‌های بیوشیمیایی نظیر هیدرولیز محیط بایل اسکولین آگار (ساخت شرکت کیو لب)، رشد در ۶/۵ درصد نمک، تخمیر قندهای لاکتوز، سوربیتول، مانیتول، آرابینوز، سوربوز، استفاده گردید (بخشی، ۱۳۸۸؛ ادیب فر، ۱۳۷۵). به

[1]- Receptor

منظور تشخیص مولکولی و تائید تشخیص باکتری‌های رشد کرده بر روی محیط کشت، استخراج DNA با استفاده کیت استخراج DNA ساخت شرکت سیناژن، مطابق دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. ردیابی ژن‌های *16srDNA* و *انتروسین‌ها* Enterocin *A*, *Enterocin P* و *Enterocin As-48* در حضور زوج پرایمرهای نشان داده شده در (جدول۱) صورت گرفت (میرحسینی،۱۳۹۱). به منظور کمیت سنجی DNA استخراج شده از دستگاه بایوفوتومتر (اپندورف آلمان) استفاده شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ و آزمون مربع کای انجام گردید.

جدول۱- توالی پرایمرهای مربوط به ژن‌های *16srDNA* و انتروسین‌های *Enterocin A ,Enterocin p, Enterocin As-48*

ژن	توالی پرایمر	دمای انلینگ	اندازه محصول	منبع	PCRبرنامه دمایی
16srDNA	RW01 AACTGGAGGAAGGTGGGGAT DG74 AGGAGGTGATCCAACCGCA	۵۸	۳۷۰	۳	۹۵ درجه ۵ دقیقه، ۳۴ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۹۰ ثانیه، ۵۸ درجه ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۴۵ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۷ دقیقه
Enterocin A	EntA F: TTGCTAATGCTAGTCCACGACC EntAR: CGTCAACACTTGCATTGCCGAA	۵۵	۱۳۷	۳	۹۵ درجه ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۹۰ ثانیه، ۵۵ درجه ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۴۵ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۷ دقیقه
Enterocin p	EntPF: GACAGACCCTCACGAATA EntPR: AGTTCATCATGCTGTAGTA	۶۱	۸۷	۳	۹۵ درجه ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۹۰ ثانیه، ۵۸ درجه ۳۰ ثانیه، ۶۱ درجه ۴۵ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۷ دقیقه
Entrocin AS-48	EntAs48F: AGCAAAAGTTCAATCGTTGC EntAs48R:GTCTGTCTTTTCACTTGTTTCT	۵۶	۲۳۷	۳	۹۵ درجه ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۹۰ ثانیه، ۵۶ درجه ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۴۵ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۷ دقیقه

نتایج

واکنش PCR به صورت جداگانه برای هر ژن، در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر متشکل از DNA استخراج شده، ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer10x، ۰/۵ میکرولیتر Mix dNTP (10mM)، ۰/۷۵ میکرولیتر Mgcl2 (50mM)، ۲ میکرولیتر پرایمرهای F و R، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم SmarTaq DNA Polymerase و ۱۸/۰۵ میکرولیتر آبمقطر صورت گرفت. برنامه دمایی PCR برای ژن‌های مذکور در جدول ۱ نشان داده شده‌است.

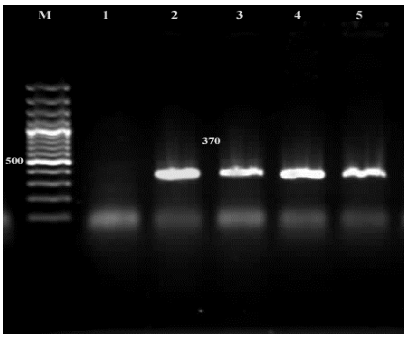
مطالعه حاضر با هدف تعیین *انتروسین‌های* *Enterocin A ,Enterocin p* و *Enterocin As-48* در ایزوله‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از فراورده‌های شیر صورت گرفت.*انتروکوکوس فکالیس* کوکسی گرم مثبت، کاتالاز منفی و بی‌حرکت می‌باشد. این باکتری قندهای سوربیتول، مانیتول و لاکتوز را تخمیر می‌کند، اما قادر به تخمیر قندهای آرابینوز و سوربوز نمی‌باشد. هم‌چنین قادر به هیدرولیز محیط بایل اسکولین آگار نیز می‌باشد. در این

تحقیق از مجموع ۱۲۰ نمونه مورد مطالعه تعداد ۴۴ نمونه (۳۶/۶۶ درصد) آلوده به باکتری *انتروکوکوس فکالیس* که همان‌گونه که در جدول (۲) نشان داده شده‌است، بیشترین میزان آلودگی مربوط به شیر و ماست می‌باشد.

جدول ۲- تعداد و درصد موارد مثبت آلوده به *انتروکوکوس فکالیس* در فراورده‌های شیر شهرستان شهرکرد

نوع ماده غذایی	موارد آلوده به *انتروکوکوس فکالیس*	
	تعداد	درصد
شیر	۱۲	٪۲۷/۳
ماست	۱۲	٪۲۷/۳
دوغ	۴	٪ ۹/۱
دوراغ	۴	٪ ۹/۱
کشک	۸	٪ ۱۸/۲
قارا	۴	٪ ۹/۱
جمع کل	۴۴	٪ ۱۰۰

پس از استخراج DNA و بررسی کیفیت DNA های استخراج شده روی ژل آگارز ۲/۵٪ به منظور تشخیص قطعی باکتری*انتروکوکوس فکالیس* درحضور توالی ژن *16srDNA*، باکتری‌های جدا شده مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی نمونه‌ها با داشتن باند ۳۷۰ جفت بازی مثبت تشخیص داده شدند.نتایج در شکل (۱) نشان داده شده‌است.



شکل ۱- الکتروفورز محصولات PCR ژن *16srDNA انتروکوکوس فکالیس*. *ستون* M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمنتاز. ستون ۱: ستون ۱: کنترل منفی. ستون ۲ کنترل مثبت. ستون‌های ۳، ۴ و ۵ باند ۳۷۰ جفت بازی مربوط به نمونه‌های مورد بررسی.

در این تحقیق از ۴۴ ایزوله *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از فرآورده‌های شیر سنتی، ژن مربوط به *انتروسین A* در ۱۴ایزوله (۳۱/۸۱ درصد)، ژن مربوط به *انتروسین P* در ۱۳ ایزوله (۲۹/۵۴درصد)، ژن مربوط به *انتروسین -As 48* در ۹ ایزوله (۲۰/۴۵درصد). وجود هم‌زمان ژن مربوط به *انتروسین‌های A* و *P* در ۲ ایزوله (۴/۵۴درصد)، ژن مربوط به *انتروسین‌های A* و *As48* در ۷ ایزوله (۱۵/۰۹درصد)، ژن مربوط به *انتروسین‌های A* , *P* و *As48* در ۵ ایزوله (۱۱/۳۶درصد) گزارش گردید. نتایج به تفکیک در جدول (۳) نشان داده شده‌است.

جدول ۳- فراوانی ژن‌های *Enterocin A, p, As-48* در ایزوله‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از فرآورده‌های شیر سنتی

ژن	شیر	ماست	دوغ	دوراغ	کشک	قارا
انتروسین A	۳ (٪۲۵)	۴ (٪۳۳/۳۳)	۱ (٪۲۵)	۱ (٪۲۵)	۳ (٪۳/۵)	۲ (٪۵۰)
انتروسین P	۳ (٪۲۵)	۴ (٪۳۳/۳۳)	۱ (٪۲۵)	۱ (٪۲۵)	۲	۲ (٪۵۰)
انتروسین As48	۲ (٪۶۶/۱۶)	۲ (٪۱۶/۶۶)	۱ (٪۲۵)	۱ (٪۲۵)	۱ (٪۱۲/۵)	۲ (٪۵۰)
انتروسین A+P	-	۲ (٪۱۶/۶۶)	-	-	-	-
انتروسین A+As48	-	۲ (٪۱۶/۶۶)	۱ (٪۲۵)	-	۴ (٪۵۰)	-
انتروسین As48A+P	-	۲ (٪۱۶/۶۶)	-	۱ (٪۲۵)	-	۲ (٪۵۰)

در تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون دقیق فیشر بین ژن‌های مورد نظر و نوع فرآورده شیر سنتی ارتباطی آماری معنی‌دار مشاهده نگردید (p-value=0/864> 0/05).

بحث

باکتریوسین‌ها به صورت پلی‌پپتیدهایی که دارای فعالیت باکتریوسیدالی هستند توسط ریبوزوم‌ها سنتز می‌شوند. توانایی سنتز یک یا چند *باکتریوسین* توسط باکتری یک برتری محسوب می‌گردد زیرا می‌تواند باکتری‌های رقیب را حذف کندو فرصتی را برای بقا وتکثیر خود فراهم کند. *انتروسین‌ها* غشاء سیتوپلاسمی را هدف اولیه قرار می‌دهند و باعث از بین رفتن آن می‌شوند (Strompfov et al., 2008). در این تحقیق از مجموع ۱۲۰ نمونه مورد مطالعه تعداد ۴۴ نمونه (٪۳۶/۶۶) آلوده به باکتری *انتروکوکوس فکالیس* گزارش گردید. در حالی که بررسی‌های انجام شده، توسط سایر محققین بر روی ۸۵ نمونه بستنی، آلودگی به *انتروکوک* ٪۸۱ گزارش گردید که نسبت به نتایج حاصل از تحقیق ما بسیار بیشتر می‌باشد (Aleksieva, 1980). درتحقیق دیگر انجام شده توسط Aleksieva که برروی، ۲۷۰ نمونه شیر خام و پاستوریزه صورت گرفت، گونه‌های *انتروکوکوس فاسیوم* و *انتروکوکوس فکالیس* به ترتیب ٪۴۳/۲ و ٪۲۴/۶گزارش گردید (Aleksieva, 1976). Dardir و همکاران فراوانی *انتروکوکوس فکالیس*، *انتروکوکوس فاسیوم*، *انتروکوکوس کالسی فلاوس*، *انتروکوکوس گالیناروم* و *انتروکوکوس هیره* در فرآورده‌های شیر را به ترتیب ٪۳۶/۷۶، ٪۵۶/۷۶، ٪۱/۶، ٪۳/۳ و ٪۱/۶ گزارش کردند (Dardir et al., 2011). تحقیقات انجام شده نشان دهنده فعالیت باز دارندگی *انتروسین‌ها* در برابر باکتری‌های دیگر می‌باشد. به‌طوری‌که فعالیت بازدارندگی *انتروسین‌ها* را در برابر باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* و *استافیلوکوکوس ارئوس* و دیگر گونه‌ها را گزارش کردند (Aymerich et al., 1996). Ozdemir و همکاران فراوانی ژن‌های *انتروسین A*، *B*، *P* و *L50A/B* در ایزوله‌های *انتروکوک* جدا شده از

منابع مختلف را به ترتیب ۱۰۰٪، ۹۸/۱٪، ۷۲/۲٪ و ۶۲/۹٪گزارش کردند (Ozdemir et al., 2011). در صورتی‌که در تحقیق ما ژن مربوط به *انتروسین A*، ۳۱/۸۱٪ و ژن مربوط به *انتروسین P*، ۲۹/۵۴٪ گزارش گردید که نسبت به مطالعه انجام شده از فراوانی کمتری برخوردار می‌باشد. در تحقیق ما فراوانی ژن *انتروسین As-48* ۲۰/۴۵٪ گزارش گردید. *انتروسین As-48* دارای فعالیت سایتولیزینی می‌باشد و تنها در ایزوله‌هایی که دارای فعالیت همولایزینی می‌باشند گزارش گردیده است. وجود هم‌زمان دو ژن با همدیگر در مطالعه Ozdemir و همکاران ۱۱/۱٪ موارد گزارش گردید (Ozdemir et al., 2011). در صورتی‌که در مطالعه حاضر وجود هم‌زمان چند ژن با همدیگر در ۱۳/۶۳٪ مشاهده گردید به طوری‌که ژن مربوط به *انتروسین های A و P* در ۴/۵۴٪، ژن مربوط به *انتروسین‌های A* و *As48* در ۱۵/۰۹٪، ژن مربوط به *انتروسین‌های As-48A* و *P* در ۱۱/۳۶٪ مشاهده گردید.در تحقیقی که بر روی ۶۱ ایزوله *انتروکوک* جدا شده از منابع مختلف صورت گرفت، فراوانی ژن‌های *انتروسین* ۵۷/۴٪ گزارش گردیدکه تقریبا مشابه نتایج حاصل از تحقیق ما می‌باشد (Pangallo et al., 2004). Strompfov و همکاران حضور ژن *انتروسین A*، *B*، *P* و *L50B* را در ۴۲۷ سویه *انتروکوکسی*(۳۶۸ *انتروکوکوس فاسیوم* و ۵۹ *انتروکوکوس فکالیس*) از منشا مختلف (حیوان، غذا) با استفاده از تکنیک PCR مورد بررسی قرار دادند. 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 (Strompfov et al., 2008).

در مطالعه‌ای دیگر انجام شده توسط میرحسینی که بر روی ۲۶ نمونه شیر و فرآورده‌های آن با روش مستقل از کشت، حضور ژن‌های *انتروسین A, P, As-48* مورد بررسی قرارگرفت. در این مطالعه در همه نمونه‌ها تنها *انتروسین A* گزارش گردید (میرحسینی، ۱۳۹۱). تولید *باکتریوسین* یک فرآیند تنظیم شده‌است. به عبارت دیگر شرایط محیطی در تولید *باکتریوسین* تأثیر دارند. تعدادی از *باکتریوسین*‌ها در محیط جامد تولید می‌شوند ولی در محیط مایع نولید نمی‌شوند. بنابراین فراوانی وجود ژن‌های ساختمانی می‌تواند بعد از به کارگیری متد ایده‌آل برای بررسی تولید *باکتریوسین* تخمین زده شود (میرحسینی، ۱۳۹۱).

نتایج این تحقیق و سایر تحقیقات حضور تعداد زیادی از ژن‌های *انتروسین* در ایزوله‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از فرآورده‌های شیر را نشان می‌دهد. و تأیید می‌کند که تولید *انتروسین* به طور وسیع در شیر و محصولات حاصل از شیر اتفاق می‌افتد. گسترش وسیع ژن‌های *انتروسین* در بین *انتروکوک*‌ها ممکن است به علت توانایی *انتروکوک*‌ها برای انتشار و دریافت مواد ژنتیکی بین سویه‌ها و هم‌چنین بین جنس‌ها باشد. (Strompfov et al., 2008). *انتروسین A* به طور وسیع در میان *انتروکوکسی*‌ها گسترده است. و فعالیت ضد *لیستریایی* قوی نشان می‌دهد (Messi et al., 2006; Mirhosseini et al., 2009).

منابع

۱. ادیب فر، پرویز. (۱۳۷۵). میکروب شناسی پزشکی. انتشارات نشر ایران، صفحه ۱۴۶- ۱۴۵.

۲. بخشی، زهره و بخشی، محبوبه. (۱۳۸۸). باکتری‌شناسی تشخیصی عملی. چاپ اول، انتشارات جعفری، صفحه۸۳-۸۲.

۳. میرحسینی، محبوبه. (۱۳۹۱). شناسایی *انتروکوکوس* تولیدکننده *باکتریوسین* در محصولات لبنی به‌وسیله PCR. مجله زیست شناسی ایران، دوره ۲۵، شماره ۳، صفحه ۳۵۱ -۳۵۷.

۴. یوسفی، لیلا، عزت‌پناه، حمید و مژگانی، ناهید. (۱۳۹۰). بررسی ویژگی‌های شبه *انتروسین*‌های تولید شده توسط دو سویه از *انتروکوکوس‌های* جدا شده از شیر میش و بز. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، شماره ۲۰،صفحه ۴۲-۳۳.

5. Aleksieva, V. 1976. Find of *entrococci* in sour cream and butter. Vet Med Nauki. 13(2): 49-59.

6. Aleksieva, V. 1980. *Enterococci* and coliform content in white brine cheese. Vet Med Nauki. 17: 85-91.

7. Aymerich, T., Holo, H., Havarstein, L.S, Hugas, M., Garriga, M., Nes, I.F. 1996. Biochemical and genetic characterization of enterocin*A* from *Enterococcus faecium,* a new anti listerialbacteriocin in the pediocin family of bacteriocins. Appl Environ Microbiol.62: 1676-1682.

8. Dardir, H.A, Aba-Alkhail, N.A, Abdel-All, A.A. 2011. Safety evaluation of *enterococcal* strains isolated from dairy products and clinical samples using RT- PCR.WJDFS. 6: 234-240.

9. Furlaneto, L., Rocha, K., CarolaHenique, F., Giazzi, A., and Furlaneto, C. 2014. Antimicrobial resistance in *Enterococcus sp* isolated from Soft cheese in southern Brazil. AdvMicrobiol. 4:175-181.

10. Girrafa, G. 2003. Functionality of *enterococci* in dairy product. Int J Food Microbiol.88: 215-222.

11. Gomez, R., Munoz, M., Ancos, B., and cano, M.P. 2002. New procedure for the detection of lactic acid bacteria in vegetables producing antibacterial substances.LebensonWiss Technol. 35: 284-288.

12. Huycke, M.N., Sahm, D.F, Gilmore, M.S. 1998. Multiple- drug resistant *enterococci*: The nature of the problem and an agenda for the future. Emerg Infect Dis. 4: 239-249.

13. Masud, T. 1989. Microbiological quality and public health significance of ice-cream. J Pak Med Assoc. 39: 102-104.

14. Messi, P., Guerrieri, E., Niederha¨usern, S., Sabia, C., Bondi, M. 2006. Vancomycin resistant *enterococci (*VRE) in meat and environmental. Int J Food Microbiol. 107: 218-222.

15. Mirhosseini, M., Nahvi, I., Emtiazi, G., Tavasoli, M. 2009. Culture-dependent and culture in dependent qualitative analysis of dairy products for bacteriocin production by lactic acid bacteria.World ApplSci J. 5: 20-24.

16. Morandi, S., Brasca, M., Andrighetto, C., Lombardi, A., and Lodi, Roberta. 2006. Technological and molecular characterization of

enterococci isolated from north-west Italian dairy products. Int Dairy J. 16: 867-875.

17. Murray, B.E. 1990. The life and times of *Enterococcus*. ClinMicrobiol Rev. 3: 46-65.

18. Ogier, J.C., Serror, P. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Enterococcus* genus. Int J Food Microbiol.126: 291-301.

19. Ozdemir, G.B, Oryasın, E., Ozteber, M., Bozdogan, B. 2011. Phenotypic and genotypic characterization of bacteriocins in *enterococcal* isolates of different sources. Indian J Microbiol. 51: 182-187.

20. ÖzdenThncer, B., Tuncer, Y**.** 2013. Occurrence of enterocin genes, virulence factors, and antibiotic resistance in bacteriocin- producer *Enterococcus faecium*strains isolated from Turkish tulumcheese.Turk J Biol. 37: 443-449.

21. Pandey, N., Malik, R.K., Kaushik, J.K., Singroha, G. 2013. Gassericin A: a circular bacteriocin produced by lactic acid bacteria *Lactobacillus*gasseri.World J MicrobiolBiotechnol. 29: 1977-1987.

22. Pangallo, D., Harichova, J., Karelova, E., Drahovska, H., Chovanova, K. Ferianc, P., Turna, J., and Timko, J. 2004. Molecular investigation of *enterococci* isolated from different environmental sources.Biologia, Bratislava. 59: 829-837.

23. Strompfov, V., Laukova, A., Simonova, M., Marcinakova, M. 2008. Occurrence of the structural entrocin*A, P, B, L50B* genes in *enterococci* of different origin.VetMicrobiol. 132: 293-301.

24. Suzzi, G., Caruso, M., Gardini, F., Lombardi, A., Vannini, L., and Guerzoni, M.E., 2000. A survey of the *enterococci* isolated from an artisanal Italian goat's cheese (*Semicottocaprino*). J ApplMicrobiol. 89: 267-274.

25. Uguen M, Uguen P. 2002. The LcnC homologue cannot replace LctT in lacticin 481 export. FEMS MicrobiolLett. 208: 199-103.

Prevalence of entrocins produced by *Entrococcus faecalis* isolated from traditional dairy products in Shahrekord City

Barzam E[1], Tajbakhsh E[2*], Rahimi E[3]

1- Under Graduated Of Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2- Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

3- Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

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

Abstract

Bacteriocins are proteins produced by bacteria especially Acid lactic bacteria having antimicrobial characteristics and used for food preservation. In recent years, especial considerations have been taken to detection of acid lactic bacteria and *Bacteriocins* in food industries to use them as food preservatives. In this study, 120 samples of different traditional dairy products were examined to investigate genes of *Enterocin*, *Entrain A, Enterocin P* and *Enterocin AS*-48. After separation and detection of bacteria in presence of special primers related to *Enterocin*genes, their frequencies were studied. Among 120 samples, 44 (36.36%) were contaminated to *Enterococcusfireclays*. The gene related to *Enterocin*A in 14 isolates (31/81%), the gene related to *Enterocin* P in 13 isolates (29/54%), the gene related to *Enterocin*As-48 in 9 isolates (20/45%), the simultaneous presence of the gene related to *Enterocin*A and P in 2 isolates (4/54%), the gene related to *Enterocins* A and As-48 in 7 isolates (15/09%) and the gene related to *Enterocins* A, P and As-48 in 5 isolates (11/36%) were observed. According to the presence of a lot of *Enterocin*genes in *Enterococcusfaecalis* separated from dairy products, doing research on antimicrobial characteristics of *Enterocins* produced by this bacterium is of great necessity.

Keywords: Dairy products, *Enterococcus faecalis*, *Enterocin* genes.