



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

پریسا بهشود<sup>۱</sup>، الهه تاجبخش<sup>۲\*</sup>، فهیمه نوربخش<sup>۳</sup>

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

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

۳. مرکز تحقیقات سم‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.



\* نویسنده مسئول: [ee\\_tajbakhsh@yahoo.com](mailto:ee_tajbakhsh@yahoo.com)

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۹

### چکیده

باکتریوسین‌ها پروتئین‌هایی هستند که توسط باکتری‌ها به ویژه باکتری‌های اسید لاکتیک تولید می‌شوند که خاصیت ضد میکروبی دارند و برای نگهداری غذاها استفاده می‌شوند. *L50A* و *L50B* ترکیباتی هستند که توسط برخی از سویه‌های انتروکوکوس فاسیوم تولید می‌شوند. مطالعه حاضر به منظور جداسازی و تعیین فراوانی ژن انتروسین *L50A* و *L50B* در جدایه‌های انتروکوکوس فاسیوم از گوشت در شهرستان شهرکرد انجام شد. در این تحقیق ۸۰ نمونه گوشت تهیه شد و شیوع ژن‌های انتروسین *L50A* و *L50B* مورد بررسی قرار گرفتند. جداسازی باکتری‌ها با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی میکروبیولوژی مانند تست بایل اسکولین، رشد در ۶/۵ درصد NaCl، تخمیر پیرووات و تکنیک‌های مولکولی انجام شد. در حضور پرایمرهای اختصاصی مربوط به ژن‌های انتروسین، فراوانی ژن‌های *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 انتروسین‌های تولید شده توسط این باکتری توصیه می‌شود.

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

## مقدمه

انتروکوک‌ها از انواع باکتری‌های منتقله از مواد غذایی به شمار می‌روند و به‌طور وسیعی در محیط پراکنده هستند، این باکتری‌ها معمولاً در دستگاه گوارش انسان یا حیوانات، در آب، خاک، گیاهان و سبزیجات ساکن می‌باشند (۱ و ۲). انتروکوک‌ها به‌عنوان بخش مهمی از میکروفلور طبیعی بسیاری از فرآورده‌های لبنی تشخیص داده شده و در بعضی از پنیرها؛ آن‌ها بر لاکتوباسیل‌ها و لاکتوکوکسی‌ها غالب هستند. این باکتری‌ها کاربردهای مهمی در صنعت لبنیات دارند و به‌طور فراوان در محصولات لبنی یافت می‌شوند (۳-۵). آن‌ها همچنین قسمتی از فلور میکروبی طبیعی روده بعضی از پستانداران و انسان را تشکیل می‌دهند. مقاومت استثنایی این باکتری‌ها باعث توانایی رشد آن‌ها در محیط خارج روده‌ای می‌گردد و می‌توانند در محیط‌های اسیدی و قلیایی رشد کنند. *انتروکوکوس فکالیس*، *انتروکوکوس فاسیوم* و *انتروکوکوس دورانس* گونه‌هایی هستند که بیشترین فراوانی را در بین سایر گونه‌ها به خود اختصاص داده‌اند (۳، ۴ و ۶). انتروکوکوس‌ها نه تنها یکی از اعضای مهم فلور نرمال دستگاه گوارش اکثر موجودات خونگرم نظیر انسان هستند، بلکه توانایی ایجاد زمینه‌های گسترده‌ای از بیماری‌های عفونی را دارا هستند و به‌عنوان یکی از عوامل عمده ایجادکننده عفونت‌های جدید در بیماران بستری در بیمارستان مطرح می‌باشند. شایع‌ترین عوامل مسبب عفونت‌های جدید در بیمارستان‌ها، *انتروکوکوس فکالیس* و *انتروکوکوس فاسیوم* می‌باشند (۳ و ۷). بسیاری از فرآورده‌های گوشتی تخمیر شده نیز حاوی انتروکوک هستند و فواید زیادی از جمله سهم آن‌ها در رسیدن و بهبود عطر، خواص پروبیوتیک و تولید مواد ضد میکروبی به آن‌ها نسبت داده شده است (۸). مقاومت نسبت به درجه حرارت پاستوریزه شدن؛ سازش پذیری به انواع محیط‌ها و شرایط مختلف رشد (درجه حرارت بالا و پایین، گستره pH و تحمل غلظت نمک) از خصوصیات انتروکوک‌ها می‌باشد. انواع زیادی از میکروارگانیسم‌ها یا توکسین‌های آن‌ها با مکانیسم‌های مختلف در ایجاد بیماری‌های منتقله از غذا نقش دارند. پژوهش‌های متعدد حاکی از آن است که گونه‌های تولیدکننده باکتریوسین‌ها شامل: لاکتوباسیلوس<sup>۱</sup>، لاکتوکوکوس<sup>۲</sup>، استرپتوکوکوس<sup>۳</sup> و انتروکوکوس می‌باشند (۹ و ۱۰). باکتریوسین‌ها؛ پپتیدهای کوچکی با فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت شامل: باکتری‌های عامل فساد یا باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشند و سریعاً به‌وسیله پروتئازها در دستگاه گوارش انسان تجزیه می‌شوند (۱۱ و ۱۲). باکتریوسین‌های جدا شده از باکتری‌های اسیدلاکتیک، به چهار گروه تقسیم می‌شوند و به تازگی گروهی از آن‌ها شناسایی شده و در گروه V قرار می‌گیرند. کلاس I باکتریوسین‌ها پپتیدهای مانع کننده کوچکی می‌باشند. کلاس II باکتریوسین‌ها شامل پروتئین‌های کوچک و مقاوم به حرارت می‌باشند و شامل کلاس IIa، کلاس IIb و کلاس IIc می‌باشند؛ کلاس III باکتریوسین‌ها شامل پروتئین‌های بزرگ می‌باشد که مقاوم به حرارت نمی‌باشند؛ کلاس IV باکتریوسین‌ها به‌عنوان باکتریوسین‌های پیچیده حاوی چربی یا کربوهیدرات می‌باشند. باکتریوسین تولید شده توسط انتروکوکوس‌ها را، انتروسین<sup>۴</sup> می‌نامند. انتروسین‌ها در کلاس I، کلاس IIa، کلاس IIc و کلاس III قرار داده می‌شوند (۴، ۱۳ و ۱۴). انتروسین‌ها عمدتاً توسط *انتروکوکوس فاسیوم*، *انتروکوکوس فکالیس* ترشح می‌شوند (۴ و ۱۵). انتروسین‌ها مانند بیشتر باکتریوسین‌ها غشاء سیتوپلاسمی را هدف اولیه قرار می‌دهند؛ آن‌ها در غشاء سیتوپلاسمی منفذ ایجاد کرده و باعث از بین رفتن آن می‌شوند (۴). مطالعات متعدد نشان می‌دهد انتروسین‌ها باعث کاهش باکتری‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش حیوانات می‌شوند (۴ و ۱۵). به دلیل فعالیت این ترکیبات علیه پاتوژن‌های منتقل‌شونده از طریق مواد غذایی و نیز تقاضای مصرف‌کنندگان برای حفاظت طبیعی بیشتر، باکتریوسین‌ها به‌عنوان نگهدارنده‌های زیستی در مواد غذایی پیشنهاد می‌شوند و استفاده از آن‌ها 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 ۱۸/۵ 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).

1. DNPTM (CinnaGen)

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

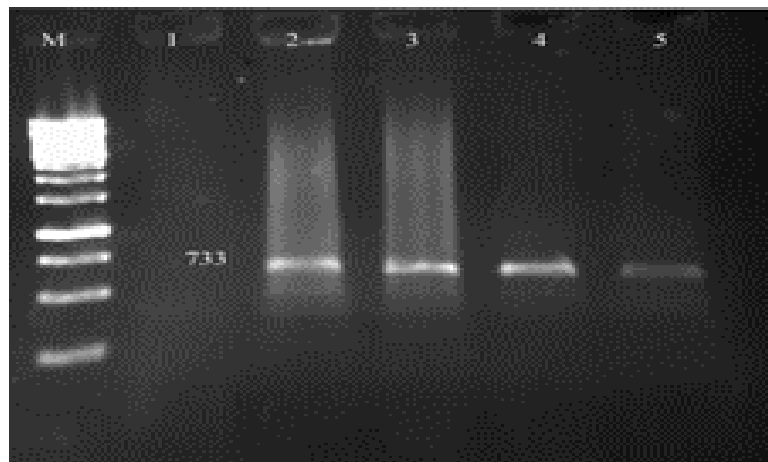
Genes	Oligonucleotide Sequence (5'-3')	Size (bp)	Annealing	References
<i>16srRNA</i>	TCAACCGGGGAGGGT	733	55	6
<i>Enterococcus</i>	ATTACTAGCGATTCCGG			
<i>E. faecium</i>	ACA ATAGAAGAATTATTATCTG CGG CTG CTT TTT TGA ATT CTT CT	214	55	6
<i>Enterocin L50A</i>	ATGGGAGCAATCGCAAAA TTAAATATGTTTTTAAATCCA	135	45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

## نتایج

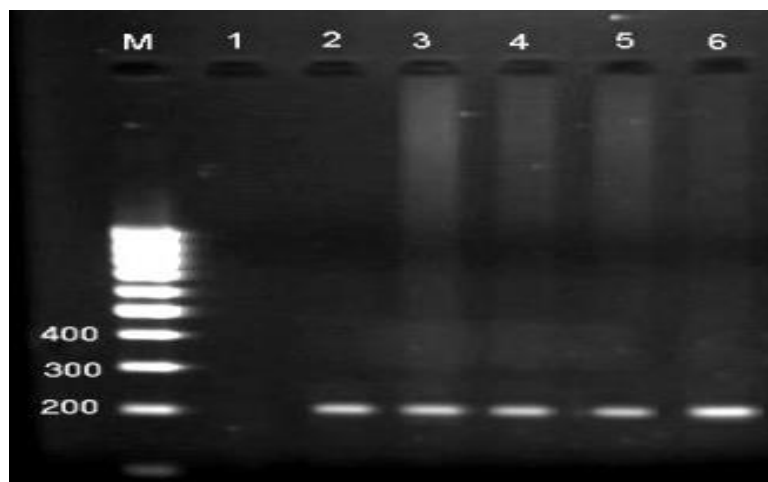
### ردیابی ژن *16srRNA* / انتروکوکوس

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



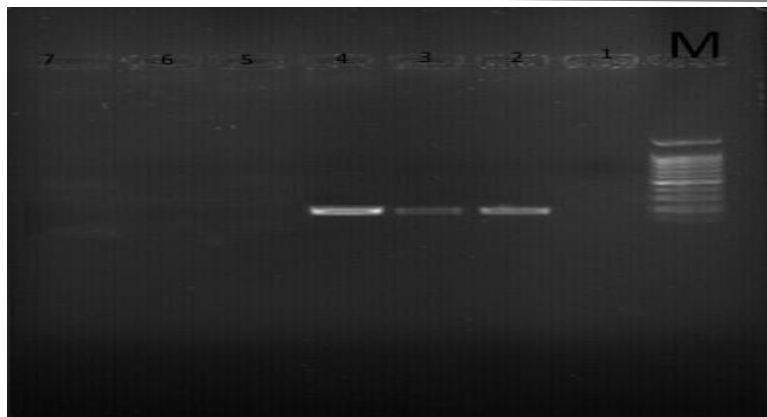
شکل ۱. الکتروفورز محصولات PCR ژن *16srRNA* انتروکوکوس. ستون M: مارکر ۱۰۰۰ جفت بازی فرمنتاز. ستون ۱: کنترل منفی، ستون‌های ۲-۵: باند ۷۳۳ جفت بازی مربوط به نمونه‌های مورد بررسی



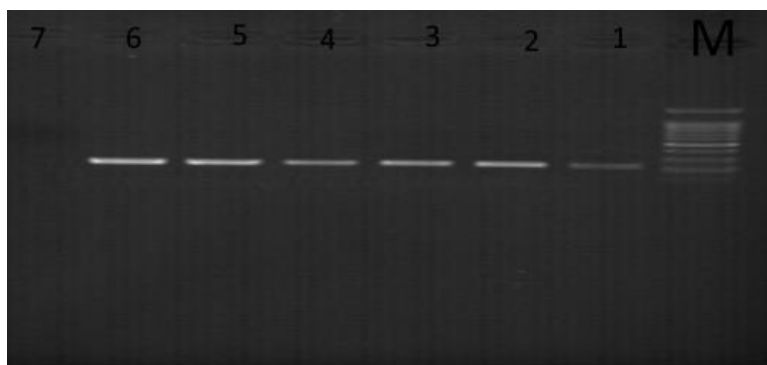
شکل ۲. الکتروفورز محصولات PCR جهت ردیابی گونه انتروکوکوس فاسیوم. ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمنتاز، ستون ۱: کنترل منفی، ستون‌های (۲-۶): نمونه مثبت مورد بررسی واجد باند ۲۱۴ جفت باز

### 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 آن ها 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، گروه بندی و شناسایی سویه های انتروکوک با استفاده از تست های بیوشیمیایی و فنوتیپیک، تنها برای سویه های مشخص که معمولا از نمونه های انسانی جدا می شوند انجام می شود؛ بنابراین ممکن است شناسایی دقیق سویه های 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 جنس های باکتریایی معمولا از واکنش PCR مرتبط با *16s rRNA* استفاده می شود. در این تحقیق نیز برای تایید جدایه های انتروکوکوس و *انتروکوکوس فکالیس* از تکنیک PCR استفاده شد، که صالحی و همکاران نیز از این تکنیک جهت تایید جدایه های خود استفاده کردند (۶). اوزدمیر و همکاران، فراوانی های ژن *انتروسین A, B, P* و *L50A/B* در ایزوله های 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 ژن های *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. *انتروسین های A* و *P* بیشترین ژن های ساختمانی یافت شده در بین سویه های انتروکوکوس بودند. ژن *انتروسین A* بیشتر در میان سویه های *انتروکوکوس فاسیوم* یافت شد. ولی ژن های *انتروسین L50B, B, 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 نمونه های حیوانی گزارش کردند (۶). تفاوت درصد حضور ژن های *انتروسین* در تحقیقات مختلف احتمالا به دلیل متفاوت بودن حیوانات و منابع مورد بررسی و نیز تفاوت اقلیم های جغرافیایی می باشد.

### نتیجه گیری کلی و پیشنهادها

تحقیقات بسیار محدودی در مورد فراوانی ژن های *انتروسین L50A* و *L50B* صورت گرفته است. تحقیق حاضر حاکی از شیوع نسبتاً زیاد این ژن ها در ایزوله های *انتروکوکوس فاسیوم* جدا شده از گوشت قرمز می باشد. با توجه به شیوع نسبتاً زیاد ژن های *انتروسین L50A* و *L50B* در ایزوله های *انتروکوکوس فاسیوم* جدا شده از گوشت قرمز تحقیقات بیشتر جهت بررسی خواص ضد میکروبی این ترکیبات ضروری به نظر می رسد.

### تقدیر و تشکر

از تمامی کسانی که در نگارش این مقاله یاری رسانده اند تشکر می نمایم.

### تعارض منافع

هیچ گونه 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, & Stropfiová 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]. Stropfiová 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”.





## Prevalence of enterocin genes in *Enterococcus faecium* strains isolated from red meat in Shahrekord, Iran

Parisa Behshood<sup>1</sup>, Elahe Tajbakhsh<sup>2\*</sup>, Fahimeh Nourbakhsh<sup>3</sup>

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](mailto: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.