بررسی فراوانی ژن‌های کمپلکس *NHE* در باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* جدا شده از شیر در شهر تبریز در بهار سال ۱۳۹۷

طاهر رسول‌پور[۱]، سامان مهدوی[۲*]

۱. گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۲. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران.
[*]نویسنده مسئول: *S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۰۱ تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۰۱۱/۰۱

چکیده

باسیلوس سرئوس باکتری گرم مثبت و اسپورزایی است که به طور وسیعی در طبیعت انتشار دارد. بسیاری از سویه‌های این باکتری باعث مسمومیت غذایی با علایم اسهال و استفراغ می‌شوند. بیماری‌های نوع اسهالی توسط انتروتوکسین‌های همولیزین HBL، غیرهمولیتیک NHE و سیتوتوکسین K ایجاد می‌شود. شیر یکی از محصولات غذایی است که ممکن است از طریق دام‌های مبتلا به ورم پستان ناشی از *باسیلوس سرئوس* آلوده شود. هدف از انجام این تحقیق بررسی فراوانی ژن‌های کمپلکس NHE در باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* جدا شده از شیر در شهر تبریز در بهار سال ۱۳۹۷ بود. تعداد ۴۲ نمونه *باسیلوس سرئوس* جدا شده از شیر گاوان پس از تایید مولکولی، جهت مطالعه فراوانی ژن‌های کمپلکس NHE با آغازگرهای اختصاصی به روش PCR بررسی شدند. از ۴۲ نمونه مورد آزمایش، ۴۱ مورد با آزمایش PCR، *باسیلوس سرئوس* تشخیص داده شد. از ۴۱ نمونه *باسیلوس سرئوس* مورد آزمایش، ۳۷ نمونه (۹۰/۲ درصد) دارای ژن *nheA*، ۳۵ نمونه (۸۵/۳ درصد) حاوی ژن *nheB* و ۳۱ نمونه (۷۵/۶ درصد) حاوی ژن *nheC* بودند. ۳۰ نمونه (۷۳/۱ درصد) به طور همزمان حاوی هر سه ژن مورد مطالعه بودند. در سه نمونه (۷/۳ درصد) از باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* مورد مطالعه، ژن‌های کمپلکس NHE مشاهده نشد. حضور همزمان ژن‌های کمپلکس NHE در بیشتر جدایه‌های *باسیلوس سرئوس* مورد مطالعه، نشان دهنده حدت بالای جدایه‌های مورد آزمایش و پتانسیل بیماریزایی بالای آنها می‌باشد.

کلید واژه ها: *باسیلوس سرئوس*، ژن‌های کمپلکس NHE، شیر.

مقدمه

مسمومیت غذایی یکی از مهمترین مشکلات در جوامع و کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه است (Mahdavi et al. 2018). *باسیلوس سرئوس* یکی از مهمترین بیماریزاهای مواد غذایی مختلف همچون لبنیات، مواد گوشتی، غلات و از جمله برنج است. این باکتری دو نوع مختلف مسمومیت غذایی یعنی نوع اسهالی و تهوع را در انسان ایجاد می‌کند. اسپورهای این باکتری حتی پس از پختن در غذا باقی می‌مانند و در صورتی که مواد غذایی در شرایط گرم و مرطوب نگهداری شود، اسپور جوانه زده و نوعی سم روده‌ای (انتروتوکسین) تولید می‌کنند که منجر به مسمومیت غذایی می‌شود (Vilas-Boas et al., 2007, Ngamwongsatit et al. 2008, Das et al. 2009). یکی از توکسین‌هایی که منجر به بروز این بیماری‌ها می‌شود انتروتوکسین غیرهمولیتیکی (Non-Hemolytic Enterotoxin: NHE) می‌باشد. پروتئین‌های سیتوتوکسین K (Cytotoxin K: Cyt K) و کمپلکس NHE به عنوان اولین فاکتور حدت در *باسیلوس سرئوس* اسهالی است. NHE کمپلکس سه جزیی بوده و شامل دو جزء لیتیکی A، B و پروتئین C با عملکرد ناشناخته است که بترتیب با ژن‌های *nheA*، *nheB* و *nheC* کد می‌شوند. هر سه پروتئین ترکیبی یعنی A، B و C برای حداکثر فعالیت NHE مورد نیاز است (Chang et al. 2003, Zhou et al. 2008). در مطالعه‌ای Das و همکاران (۲۰۰۹) در کشور هند رابطه بین تولید

www.SID.ir

Archive of SID

انتروتوکسین اسهالی و حضور ژن‌های بیماریزای متفاوت در *باسیلوس سرئوس*‌های جدا شده از غذاهای دریایی را بررسی کردند ونشان دادند که همه جدایه‌های تولید کننده انتروتوکسین اسهالی حاوی ژن‌های کمپلکس NHE بودند، درحالیکه جدایه‌های غیرانتروتوکسیک فاقد این ژن‌ها بودند (دیلمی خیابانی، ۱۳۹۰). زمانی که برنج در آب، شیر، تخم مرغ یا سایر ترکیبات آب‌دار پخته می شود یک محیط مناسب برای جوانه‌زنی اسپور، رشد ارگانیسم و تولید توکسین ایجاد می‌شود. گرم کردن مجدد برنج، تعداد باکتری‌های رویشی را کاهش می‌دهد، اما توکسین مقاوم به حرارت مولد استفراغ و اسهال را غیرفعال نمی‌کند (Finlay et al. 2002, Haque and Russell, 2005). این باکتری در مدفوع افراد سالم به میزان ۱۵-۱۴ درصد حضور دارد و غالبا از محصولات لبنی از جمله شیر و پنیر جدا می‌شود (Callegan et al. 1999). دوز موثر برای مسمومیت غذایی *باسیلوس سرئوس*، بیش از 10^5 سلول یا اسپور در هر گرم از غذا می‌باشد ولی بلع زیاد *باسیلوس سرئوس* همیشه تولید بیماری نمی‌کند (رضویلر، ۱۳۸۳). در سال‌های اخیر افزایش نگران‌کننده‌ای از عفونت‌های روده‌ای مربوط به این باکتری در افراد دیده شده است. اغلب این عفونت‌ها در بیماران با نقص سیستم ایمنی وجود دارند. عفونت‌های خارج روده‌ای این باکتری شامل اندوفتالمیت، باکتریمی، سپتیسمی، اندوکاردیت، پنومونی، مننژیت، گاستریت و عفونت‌های پوستی می‌باشند (Floriștean et al. 2007, Kumar et al. 2010). هدف از انجام این تحقیق، بررسی فراوانی ژن‌های کمپلکس NHE در باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* جدا شده از شیر در شهر تبریز در بهار سال ۱۳۹۷ بود.

روش کار

نمونه‌ها

در این مطالعه توصیفی، تعداد ۴۲ جدایه باکتری *باسیلوس سرئوس* جدا شده از شیر خام گاوهای مبتلا به ورم پستان در شهر تبریز که قبلاً با آزمایشات بیوشیمیایی و تست-های تفریقی تعیین هویت شده بودند به عنوان نمونه مورد استناد در این مطالعه استفاده شد.

استخراج DNA

استخراج DNA نمونه‌های مورد آزمایش، با استفاده از کیت استخراج DNA (شرکت پاک‌ژن یاخته، شماره کاتالوگ ۳۰۵۳۵) انجام شد. پس از استخراج DNA، با استفاده از دستگاه Nano Drop کیفیت DNA استخراج شده مورد ارزیابی قرار گرفت و نمونه‌های با کیفیت مناسب جهت مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

آزمایش PCR برای تایید تشخیص مولکولی *باسیلوس سرئوس*

پرایمرهای استفاده شده برای گروه *باسیلوس سرئوس* اختصاصی بوده از شرکت نانو زیست فناوران تهیه گردید (جدول ۱).

آزمایش PCR برای تشخیص ژن‌های کمپلکس NHE

این واکنش در حجم ۲۰ میکرولیتر با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن‌های *nheA*، *nheB* و *nheC* که مشخصات آن‌ها در جدول (۱) آورده شده است، انجام شد. کیت مستر PCR ۱۳/۶ میکرولیتر، آغازگرهای اختصاصی ۰/۲ پیکومولار و DNA استخراج شده شامل ۶/۴ میکرولیتر (۱۰ نانوگرم) مخلوط واکنش را تشکیل دادند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با چرخه‌های واسرشته‌سازی اولیه در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳ دقیقه، ۳۵ چرخه با مرحله واسرشته‌سازی در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال آغازگر در دمای ۵۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، بسط در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه و نهایتاً یک چرخه بسط نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام شد. محصولات حاصله در آگارز ۱/۵ درصد در ولتاژ ثابت ۸۰ ولت درحضور مارکر ۵۰ و ۱۰۰ جفت بازی DNA (فرمنتاز، آلمان) الکتروفورز شد و با استفاده از دستگاه ژل داکیومنت مورد عکس‌برداری قرار گرفتند(Mahdavi et al. 2018).

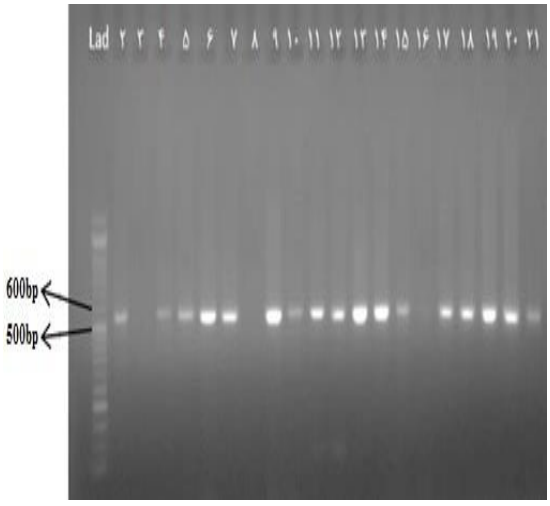
www.SID.ir

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR جهت تشخیص *باسیلوس سرئوس* و ژن‌های کمپلکس NHE.

ژن	توالی آغازگر (´۳ →´۵)	اندازه محصول (bp)	منبع
Bal	F- TGCAACTGTATTAGCACAAGCT R- TACCACGAAGTTTGTTCACTACT	۵۳۳	Chang, Shangkuan et al. (2003)
nheA	F-TACGCTAAGGAGGGGCA R--GTTTTTATTGCTTCATCGGCT	۴۹۹	Granum, O'sullivan et al. 1999
nheB	F-CTATCAGCACTTATGGCAG R-ACTCCTAGCGGTGTTCC	۷۶۹	Granum, O'sullivan et al. 1999
nheC	F-CGGTAGTGATTGCTGGG RCAGCATTCGTACTTGCCAA	۵۸۱	Granum, O'sullivan et al. 1999

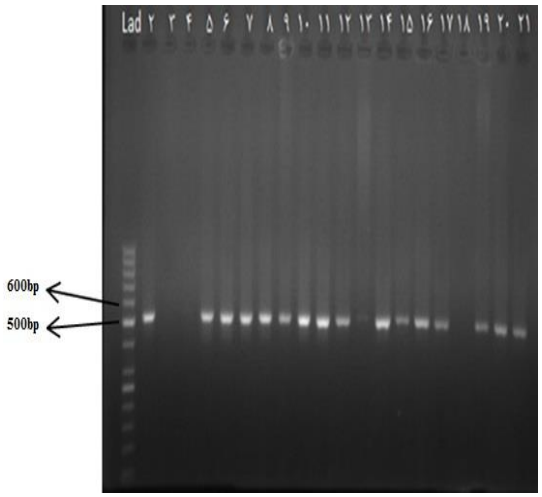
نتایج

از ۴۲ نمونه مورد آزمایش که قبلا از نظر فنوتیپی، *باسیلوس سرئوس* تشخیص داده شده بودند، ۴۱ مورد از لحاظ مولکولی به عنوان *باسیلوس سرئوس* تایید شدند (شکل ۱).



شکل ۱- الکتروفورز محصول PCR ژن *Bal* نمونه‌های مورد آزمایش در آگارز ۲ درصد. Lad: مارکر ۵۰bp و ۱۰۰bp، شماره ۲: کنترل مثبت (*باسیلوس سرئوس* ATCC ۱۱۷۷۸) ،شماره۳: کنترل منفی (آب دوبار تقطیر غیریونیزه) ، شماره‌های ۷-۴ و ۲۱-۹: نمونه‌های مثبت *باسیلوس سرئوس* با باند ۵۳۳bp، شماره ۸: نمونه منفی.

از میان ۴۱ مورد باکتری *باسیلوس سرئوس*، ۳۷ نمونه (۹۰/۲ درصد) دارای ژن *nheA* بودند (شکل ۲).

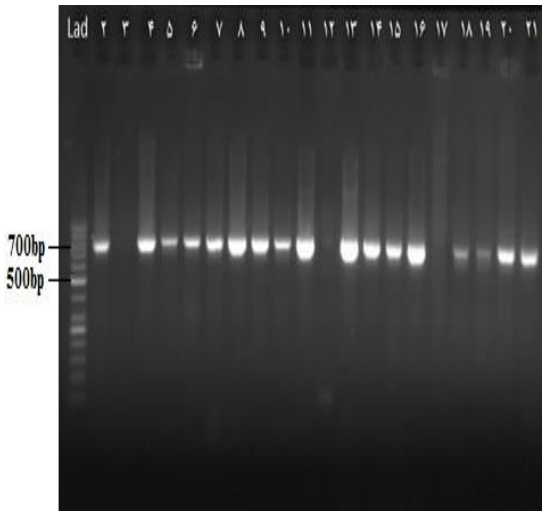


شکل ۲- الکتروفورز محصول PCR ژن *nheA* نمونه‌های مورد آزمایش در آگارز ۲درصد. Lad: مارکر ۵۰bp و ۱۰۰bp، شماره۲: کنترل مثبت (*باسیلوس سرئوس* ATCC ۱۱۷۷۸) ، شماره۳: کنترل منفی (آب دوبار تقطیر غیریونیزه) ، شماره‌های ۱۷-۵ و ۲۱-۱۹: نمونه‌های مثبت با باند ۴۹۹bp، شماره‌های ۴ و ۱۸: نمونه‌های منفی.

در بین ۴۱ جدایه *باسیلوس سرئوس* مورد مطالعه در این تحقیق، ۳۵ نمونه (۸۵/۳ درصد) حاوی ژن *nheB* بودند (شکل ۳).

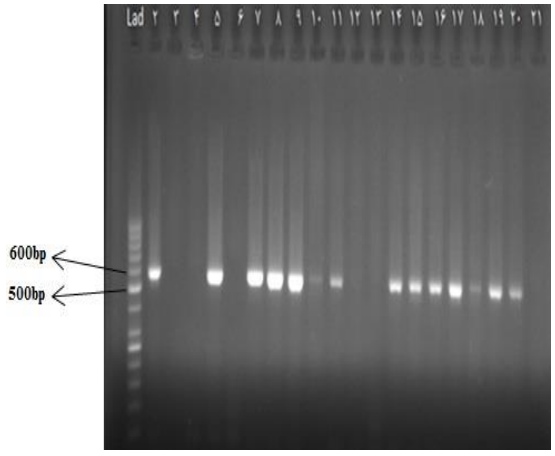
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- الکتروفورز محصول PCR ژن *nheB* نمونه‌های مورد آزمایش در آگارز ۲ درصد. Lad: مارکر ۵۰bp و ۱۰۰bp، شماره ۲: کنترل مثبت (*باسیلوس سرئوس* ATCC ۱۱۷۷۸) ، شماره ۳: کنترل منفی (آب دوبار تقطیر غیریونیزه) ، شماره‌های ۱۱-۴ و ۱۳-۱۶ و ۱۸-۲۱: نمونه‌های مثبت با باند ۷۶۹bp، شماره‌های ۱۲ و ۱۷: نمونه-های منفی.

فراوانی ژن *nheC* در بین ۴۱ جدایه *باسیلوس سرئوس* در تحقیق اخیر، ۳۱ نمونه (۷۵/۶ درصد) گزارش شد (شکل ۴).



شکل ۴- الکتروفورز محصول PCR ژن *nheC* نمونه‌های مورد آزمایش در آگارز ۲ درصد. Lad: مارکر ۵۰bp و ۱۰۰bp، شماره ۲: کنترل مثبت (*باسیلوس سرئوس* ATCC ۱۱۷۷۸) ، شماره ۳: کنترل منفی (آب دوبار تقطیر غیریونیزه) ، شماره‌های ۵ و ۱۱-۷ و ۲۰-۱۴: نمونه‌های مثبت با باند ۵۸۱bp، شماره‌های ۴ و ۶ و ۱۲ و۱۳ و ۲۱: نمونه‌های منفی.

۳۰ نمونه (۷۳/۱ درصد) به طور همزمان حاوی هر سه ژن مورد مطالعه بودند. در سه نمونه (۷/۳ درصد) از باکتری-های *باسیلوس سرئوس* مورد مطالعه، ژن‌های کمپلکس NHE مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲- فراوانی ژن‌های کمپلکس NHE به تفکیک و با هم بودن این ژن‌ها در جدایه‌های مورد آزمایش.

ژن	تعداد سویه‌ها	ترکیب ژن‌ها	تعداد سویه‌ها
nheA	۳۷	*nheA + nheB*	۳۴
nheA	۳۵	*nheA + nheC*	۳۱
nheC	۳۱	*nheB + nheC*	۳۰
		nheA + nheB + nheC	۳۰
جمع	۴۱		

بحث

در این تحقیق از ۴۱ نمونه *باسیلوس سرئوس* مورد آزمایش، ۳۷ نمونه (۹۰/۲ درصد) دارای ژن *nheA*، ۳۵ نمونه (۸۵/۳ درصد) حاوی ژن *nheB* و ۳۱ نمونه (۷۵/۶ درصد) حاوی ژن *nheC* بودند. ۳۰ نمونه (۷۳/۱ درصد) به طور همزمان حاوی هر سه ژن مورد مطالعه بودند. در سه نمونه (۷/۳ درصد) از باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* مورد مطالعه، ژن‌های کمپلکس *NHE* مشاهده نشد. *Zhou* و همکاران (۲۰۰۸) در طی مطالعه‌ای که در کشور چین بر روی باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* جدا شده از شیرهای پاستوریزه انجام دادند، گزارش کردند که فراوانی ژن‌های *nheA*، *nheB* و *nheC* به ترتیب ۷۱/۱ درصد،۶۲ درصد و ۷۱/۷ درصد بود (Zhou et al. 2008) که نشان دهنده میزان فراوانی کمتر ژن‌های مذکور نسبت به تحقیق حاضر دارد. دیلمی خیابانی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند که ۸۰ درصد از باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* جدا شده از نمونه‌های برنج پخته شده در شهر زنجان، حاوی ژن‌های *nheA*، *nheB* و *nheC* بودند و ۲۰ درصد از نمونه‌ها فاقد ژن‌های مذکور بودند (دیلمی و همکاران، ۱۳۹۰) که با نتایج تحقیق اخیر همخوانی دارد. در مطالعه‌ای Gitahi و همکاران (۲۰۰۹) در کشور کنیا

www.SID.ir

گزارش کردند که ۳۳/۳ درصد از نمونه‌های *باسیلوس سرئوس* جدا شده از شیر، ۲۲/۲ درصد نمونه‌های جدا شده از پنیر و ۶۰/۷ درصد نمونه‌های جدا شده از برنج، حاوی ژن‌های کمپلکس NHE بودند (Gitahi et al. 2009) که نشان‌دهنده فراوانی بسیار کمتر ژن‌های کمپلکس NHE نسبت به مطالعه حاضر است. در مطالعه دیگری Ankolekar و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که ۸۹/۱ درصد از باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* جدا شده از برنج در کشور ایالات متحده دارای ژن‌های *nheA* و *nheB* بودند (Ankolekar et al. 2009) که با نتایج تحقیق اخیر تا حد زیادی مطابقت دارد. Owusu-Kwarteng و همکاران (۲۰۱۷) در کشور غنا گزارش کردند که ۴/۱ درصد از باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* جدا شده از شیر خام گاو، به تفکیک دارای ژن *nheA* و *nheB* بودند و در هیچ یک از نمونه‌های مورد آزمایش، ژن *nheC* مشاهده نشد (Owusu-Kwarteng et al. 2017). نتایج به دست آمده در این تحقیق در مقایسه با سایر مطالعات، نشان دهنده اختلاف در پراکندگی ژن‌های موثر در تولید انواع انتروتوکسین در بین سویه‌های مختلف *باسیلوس سرئوس* می‌باشد که این امر احتمالا از تفاوت-های جغرافیایی و نیز اختلاف در منشاء اکولوژیکی سویه-های جدا شده (شیر، برنج، غذاهای گوشتی، انواع سالاد و ...) ناشی می‌شود. در این تحقیق، از ۴۲ جدایه *باسیلوس سرئوس* که قبلا با روش‌های کشت و آزمایشات بیوشیمیایی از لحاظ فنوتیپی تعیین هویت شده بودند، پس از انجام آزمایش PCR با استفاده از آغازگر اختصاصی گونه، ۴۱ جدایه از نظر ژنوتیپی، *باسیلوس سرئوس* تشخیص داده شد که نشان دهنده دقت بالاتر روش PCR نسبت به روش کشت می‌باشد. روش سریع برای تشخیص حضور باسیلوس سرئوس انتروتوکسیژنیک در غذا از اهمیت زیادی برخوردار است تا از سلامتی غذای مصرفی اطمینان حاصل شود.

بطور کلی روش کشت و آزمایشات بیوشیمیایی از دقت کمتری برخوردار بوده و از طرفی زمان‌بر و طولانی هستند. استفاده از آزمایش PCR علاوه بر سریعتر بودن، دارای دقت و اطمینان بیشتری است. لذا برای تشخیص سریعتر و دقیقتر باکتری *باسیلوس سرئوس*، آزمایش PCR پیشنهاد می‌شود. در این تحقیق، با توجه به اینکه اکثر جدایه‌های *باسیلوس سرئوس* مورد آزمایش، دارای هر سه ژن کمپلکس NHE هستند، انتروتوکسین غیرهمولیتیکی NHE دارای حداکثر فعالیت خود خواهد بود و این جدایه‌ها به طور بالقوه دارای حدت بالایی خواهند بود

منابع

۱. رضویلر، ودود. (۱۳۸۳). میکروب‌های بیماری‌زا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت‌های غذایی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دوم.

۲. دیلمی خیابانی، زهرا.، نوری، عنایت.، رهنما، مهدی.، شاپوری، رضا.، بیگدلو، یداله.، قمری، دنا.، آصفی، حوا. (۱۳۹۰). شناسایی ژن‌های کمپلکس NHE در *باسیلوس سرئوس*‌های جدا شده از برنج در استان زنجان با روش PCR چندگانه. مجله آسیب‌شناسی زیستی. دوره ۱۴، شماره ۴، صفحه ۹۷-۹۰.

3. Ankolekar, C., T. Rahmati and R. G. Labbé (2009). "Detection of toxigenic Bacillus cereus and Bacillus thuringiensis spores in US rice." Int J Food Microbiol 128(3): 460-466.
4. Callegan, M. C., M. C. Booth, B. D. Jett and M. S. Gilmore (1999). "Pathogenesis of gram-positive bacterial endophthalmitis." Infect Immun 67(7): 3348-3356.
5. Chang, Y.-H., Y.-H. Shangkuan, H.-C. Lin and H.-W. Liu (2003). "PCR assay of the groEL gene for detection and differentiation of Bacillus cereus group cells." Appl Environ Microbiol 69(8): 4502-4510.
6. Das, S., P. Surendran and N. Thampuran (2009). "PCR-based detection of

www.SID.ir

Archive of SID

enterotoxigenic isolates of Bacillus cereus from tropical seafood." Indian J Med Res 129(3): 316-320.

7. Finlay, W., N. Logan and A. Sutherland (2002). "Bacillus cereus emetic toxin production in cooked rice." Food Microbiol 19(5): 431-439.
8. Floriștean, V., C. Crețu and M. Carp-Cărare (2007). "Bacteriological characteristics of Bacillus cereus isolates from poultry." Bulletin USAMVCN 64(1/2): 425-430.
9. Gitahi, N., J. N. Ombui, D. W. Nduati and M. M. Gicheru. 2009. Genetic characterisation of food borne enterotoxigenic Bacillus cereus strains from milk, cheese and rice by multiplex PCR assay. Int J Integr Biol. 5(2): 82-86.
10. Granum, P. E., K. O'sullivan and T. Lund. 1999. The sequence of the non-haemolytic enterotoxin operon from Bacillus cereus. FEMS Microbiol Lett. 177(2): 225-229.
11. Haque, A. and N. J. Russell. 2005. Phenotypic and genotypic characterisation of Bacillus cereus isolates from Bangladeshi rice. Int J Food Microbiol. 98(1): 23-34.
12. Kumar, T. K., H. Murali and H. Batra 2010. Multiplex PCR assay for the detection of enterotoxic Bacillus cereus group strains and its application in food matrices. Indian J Microbiol. 50(2): 165-171.
13. Mahdavi, S., M. Azizi Dehbokri and A. Isazadeh. 2018. Contamination of Chicken Meat With Salmonella spp Distributed in Mahabad City, Iran. Int J Enteric Pathog. 6(3): 65-68.
14. Mahdavi, S., M. S. Zali, S. Farajnia, Y. Mehmannavaz and A. Isazadeh. 2018. The Comparison of Bovine Fecal and Buffy Coat Samples for Diagnosis of Johne's Disease Based on PCR. Gene Cell Tissue. 5(2): e79745.
15. Ngamwongsatit, P., W. Buasri, P. Pianariyanon, C. Pulsrikarn, M. Ohba, A. Assavanig and W. Panbangred. 2008. Broad distribution of enterotoxin genes (hblCDA, nheABC, cytK, and entFM) among Bacillus thuringiensis and Bacillus cereus as shown by novel primers. Int J Food Microbiol. 121(3): 352-356.
16. Owusu-Kwarteng, J., A. Wuni, F. Akabanda, K. Tano-Debrah and L. Jespersen. 2017. Prevalence, virulence factor genes and antibiotic resistance of Bacillus cereus sensu lato isolated from dairy farms and traditional dairy products. BMC Microbiol. 17(1): 65.
17. Vilas-Boas, G., A. Peruca and O. Arantes. 2007. Biology and taxonomy of Bacillus cereus, Bacillus anthracis, and Bacillus thuringiensis. Can J Microbiol. 53(6): 673-687.
18. Zhou, G., H. Liu, J. He, Y. Yuan and Z. Yuan. 2008. The occurrence of Bacillus cereus, B. thuringiensis and B. mycoides in Chinese pasteurized full fat milk. Int J Food Microbiol. 121(2): 195-200.

www.SID.ir

Study of frequency of NHE complex genes in *Bacillus cereus* isolated from milk in Tabriz city in spring, 2017

Rasoulpour T[1], Mahdavi S[2]*
1. Department of Genetics, Faculty of Basic Science, Tabriz Branch, Islamic Azad Univercity, Tabriz, Iran.
2. Department of Microbiology, Faculty of Basic Science, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran.
***Corresponding author:** *S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir*

Received: 23 October 2018 Accepted: 21 January 2019

Abstract

Bacillus cereus (*B. cereus*) is a gram positive and spore producing bacterium that is widely spread in nature. Many of this bacterium strains cause food poisoning with signs of diarrhea and vomiting. Diarrhea-type diseases cause by hemolytic enterotoxins HBL, non-hemolytic NHE and cytotoxin K. Milk is one of the food products that may be contaminated by livestock with mastitis caused by *B. cereus*. The aim of this research was the study of frequency of NHE complex genes in *B. cereus* isolated from milk in Tabriz city in spring, 2017. 42 samples of *B. cereus* isolated from cow milk after molecular confirmation were investigated for studying of frequency of NHE complex genes by use of specific primers by PCR method. Of 42 tested samples, 41 positive cases were detected. Of 41 *B. cereus* tested, 37 cases (90.2%), 35 cases (85.3%) and 31 cases (75.6%) harbored *nheA*, *nheB* and *nheC* genes, respectively. 30 *B. cereus* isolates (73.1%) contained all three desired genes simultaneously. In 3 *B. cereus* isolates (7.3%), no NHE complex genes were observed. The simultaneous presence of NHE complex genes in most of tested *B. cereus* isolates indicates the high virulence of tested bacteria and their high pathogenic potential.

Keywords: *Bacillus cereus*, NHE complex genes, Milk.

www.SID.ir