بررسی مقاومت انتروکوکوس‌های جدا شده از پنیر سنتی کردی به آنتی بیوتیک‌های رایج درمانی، فعالیت همولیتیکی و ژلاتینازی آن‌ها

حسین زنگانه[۱]، سیدعلی مرتضوی[۲*]، فخری شهیدی[۲]، بهروز علیزاده بهبهانی[۳]، الناز میلانی[۴]، محمدرضا عدالتیان دوم[۵]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
٤- استادیار، گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد، ایران
۵- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰٤/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰٦/۱۰)

چکیده

ویژگی دوگانه انتروکوکوس‌ها از یک سو، آن‌ها را به باکتری‌های مناسبی جهت تهیه کشت‌های آغازگر در تولید فراورده‌های غذایی تبدیل کرده اما از سویی دیگر بروز ویژگی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و فاکتورهای بیماری‌زایی، باعث نگرانی در حوزه سلامت مصرف‌کننده شده است. در این پژوهش تجربی جهت بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، فعالیت همولیتیکی و ژلاتینازی ایزوله‌های انتروکوکوس‌های جدا شده از پنیر سنتی کردی از انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن) و روش‌های مبتنی بر کشت استفاده شد. نتایج حاصل از هاله بازدارندگی مربوط به ایزوله‌های انتروکوکوس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی نشان داد که جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین و آمپی‌سیلین حساس بوده و نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کانامایسین و استرپتومایسین مقاوم بودند. جدایه‌های مورد بررسی مقاومت بسیار کمی نسبت به تتراسایکلین و کلرامفنیکل از خود نشان دادند. هیچ یک از جدایه‌ها به تمامی آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش مقاومت نداشتند. نتایج حاصل از بررسی فعالیت همولیتیکی جدایه‌ها نشان داد که هیچ یک از باکتری‌های مورد آزمون قادر به تجزیه خون و در نتیجه ایجاد هاله شفاف در محیط حاوی خون گوسفند نبوده و تمامی آن‌ها گاما-همولیتیک و فاقد هر گونه فعالیت همولیتیکی بودند. نتایج حاصل از فعالیت ژلاتینازی سویه‌ها نشان داد که هیچ کدام از جدایه‌های مورد بررسی نتوانستند در محیط TSA حاوی ژلاتین، ایجاد هاله روشن نمایند.

کلید واژگان: انتروکوکوس، پنیر سنتی کردی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، فعالیت همولیتیکی، فعالیت ژلاتینازی.

*مسئول مکاتبات: morteza@um.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

۱- مقدمه

امروزه با پیشرفت علم بیوتکنولوژی در زمینه‌های گوناگون توجه پژوهشگران به استفاده از مواد ضدمیکروبی که به طور طبیعی توسط باکتری‌ها تولید می‌شوند در صنعت غذا متمرکز گردیده است. این بازدارنده‌های طبیعی می‌توانند جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی (دارای عوارض جانبی) شوند. در حال حاضر باکتری-های اسید لاکتیک به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی از اهمیت تجاری خاصی برخوردار هستند. باکتری‌های اسید لاکتیک می-توانند دامنه‌ی وسیعی از ترکیبات ضدمیکروبی شامل اسیدهای آلی، آمونیاک، آنزیم‌های لیزکننده، پراکسید هیدروژن، دی‌استیل، روترین و باکتریوسین‌ها را تولید کنند. ترکیبات ضدمیکروبی تولیدی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک می‌توانند باکتری‌های بیماری‌زا و عامل فساد مواد غذایی را تحت تاثیر قرار دهند[۱].

بیشترین فعالیت‌های زیان آور انتروکوکوس‌ها مربوط به ایجاد فساد در برخی مواد غذایی مانند گوشت بوده اما مهم‌تر از آن بیماری‌زایی توسط تعدادی از آن‌ها می‌باشد. انتروکوکوس‌ها در واقع میکروارگانیسم‌های فرصت طلبی هستند که می‌توانند عفونت‌هایی را در انسان ایجاد کنند. یکی از مواردی که متاسفانه در دو دهه اخیر بسیار شایع شده است، ایجاد عفونت‌های بیمارستانی در بیماران بستری شده به مدت طولانی می‌باشد که در حالت وخیم‌تر عوامل ایجاد کننده این گونه عفونت‌ها به آنتی بیوتیک‌های رایج نیز مقاومت نشان می‌دهند [۲].

به علت خواستگاه غذایی باکتریوسین‌های تولید شده توسط انتروکوک‌ها به همراه نقش آن‌ها در جلوگیری از رشد پاتوژن-های غذایی مانند لیستریا، امروزه پژوهش‌های گسترده‌ای برای به کارگیری انتروکوکوس‌ها به عنوان باکتری‌های محافظ یا استفاده از انتروسین خالص شده به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی انجام شده است [٤و ۳]. پژوهش‌های انجام گرفته روی مواد غذایی مختلف از جمله پنیرهای محلی نشان داده که تعدادی از انتروکوکوس‌های ایزوله شده می‌توانند انواع مختلفی از انتروسین‌ها را تولید نمایند [٦و ٥].

یکی از دلایل اصلی شیوع عفونت‌های ناشی از انتروکوکوس‌ها و نگرانی در مورد آن‌ها، مقاومت بعضی از سویه‌ها به تعداد زیادی از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. انتروکوکوس‌ها ممکن است به شکل ذاتی (ژن مقاومت روی کروموزوم آن‌ها قرار داشته باشد) و یا به شکل اکتسابی (پلاسمید حاوی ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک را دریافت کنند) نسبت به آنتی‌بیوتیک مقاوم باشند [۷و ۸].

فرانز و همکاران (۲۰۰۱)، به بررسی ٤٨ سویه *انتروکوکوس فاسیوم* و ٤٧ سویه *انتروکوکوس فکالیس* جدایه شده از فراورده‌های غذایی پرداختند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که هیچ یک از جدایه‌ها به تمامی آنتی بیوتیک‌ها مقاومت نداشتند[۹]. لوپز و همکاران (۲۰۰۹)، از میان ۲۲۹ نمونه ماده غذایی در ۹ نمونه ماده غذایی انتروکوکوس مقاوم به ونکومایسین جدا کردند. انتروکوکوس‌های مقاوم علاوه بر ونکومایسین به تعداد دیگری از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله آمپی‌سیلین، اریترومایسین، تری متوپرین، تتراسایکلین، کانامایسین، استرپتومایسین، سولفا متوکسازول، کلرامفنیکول و باسیتراسین مقاومت نشان دادند [۱۰].

به طور کلی هدف از این پژوهش، بررسی مقاومت انتروکوکوس‌های جدا شده از پنیر سنتی کردی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی و بررسی ویژگی‌های همولیتکی و ژلاتینازی آن‌ها بود.

۲- مواد و روش ها

این پژوهش آزمایشگاهی در فاصله زمانی اسفندماه ۱۳۹۱ تا شهریورماه ۱۳۹۳ در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی صنعتی، فناوری‌های نوین و بیولوژی سلولی و مولکولی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد انجام پذیرفت.

۲-۱- فعال‌سازی جدایه‌ها

برای فعال‌سازی انتروکوکوس‌های جدا شده از پنیر سنتی کردی (در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و ذخیره شده بودند) ابتدا ذخیره باکتریایی مورد نظر در زیر هود آزمایشگاهی (در فضایی استریل) قرار داده شد. توسط لوپ استریل، مقداری از مایع داخل میکروتیوب برداشته و در محیط کشت MRS[1] آگار به صورت خطی کشت داده شد. پلیت‌های مربوط به هر ایزوله به مدت ٢٤ تا ٤٨ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد

1. De Man, Rogosa and Sharpe,

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

گرمخانه‌گذاری شدند [۱۱]. در جدول ۱، اسامی سویه‌های انتروکوکوس جدا شده از پنیر سنتی کردی آورده شده است.

Table 1 Enterococcus strain isolated from traditional Kurdish cheese

NO	Genus	Species	Strain
1	*Enterococcus*	*faecium*	Aus0003
2	*Enterococcus*	*faecium*	Aus0004
3	*Enterococcus*	*faecium*	HN-N35
4	*Enterococcus*	*faecium*	IDCC2103
5	*Enterococcus*	*faecium*	IDCC2105
6	*Enterococcus*	*faecium*	CK1113
7	*Enterococcus*	*faecium*	NWL46
8	*Enterococcus*	*faecium*	NWL47
9	*Enterococcus*	*faecium*	HN-N28
10	*Enterococcus*	*hirae*	R
11	*Enterococcus*	*lactis*	SK10
12	*Enterococcus*	*lactis*	L
13	*Enterococcus*	*lactis*	CK1024
14	*Enterococcus*	*lactis*	CK1025
15	*Enterococcus*	*lactis*	CK1027

۲-۲- بررسی حساسیت جدایه‌ها نسبت به انواع آنتی بیوتیک

به منظور بررسی حساسیت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین، ونکومایسین، کانامایسین، کلرامفنیکل، تتراسیکلین، جنتامایسین، اریترومایسین، سیپروفلوکساسین و استرپتومایسین پس از تلقیح هر جدایه در محیط TSB [۲] (مرک، آلمان) تا رسیدن به کدورت مناسب (معادل ۰/۵ مک‌فارلند: ۱/۵ ×۱۰^۸ Colony Forming Unit/mL)، کشت‌های میکروبی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس از سوسپانسیون میکروبی به دست آمده در محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان)کشت سطحی داده شد و دیسک-های آنتی‌بیوتیک (Rosco، دانمارک) با رعایت فاصله مناسب (۲۵ میلی‌متر از یکدیگر و ۲۰ میلی‌متر از لبه پلیت) بر سطح محیط کشت قرار گرفت. پس از گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در مدت ۲٤ ساعت قطر هاله‌های شفاف (عدم رشد میکروبی) اطراف هر دیسک با خط‌کش اندازه‌گیری شد و با توجه به استاندارد CLSI [3] جدایه‌های حساس، نیمه حساس و مقاوم نسبت به هر آنتی‌بیوتیک مشخص گردید [۱۱]. مشخصات تمامی آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در جدول ۲، آورده شده است. جدول زیر آنتی بیوتیک‌های مورد آزمون را نشان می‌دهد.

Table 2 Common therapeutic antibiotics

NO	Antibiotic	Abbreviation
1	Ampicillin	AMP
2	Penicillin	P
3	Vancomycin	VA
4	Kanamycin	K
5	Chloramphenicol	C
6	Tetracycline	TE
7	Gentamycin	GEN
8	Erythromycin	E
9	Ciprofloxacin	CIP
10	Streptomycin	S

۲-۳- بررسی فعالیت همولیتیکی

جهت بررسی فعالیت همولیتیکی، از روی کشت خطی خالص هر جدایه بر محیط کشت TSA+ [4] ۵ درصد خون گوسفند (شرکت پویا آزما)، کشت انجام شد. جدایه‌هایی که اطراف آن‌ها هاله شفاف دیده شد، به عنوان جدایه‌های بتا-همولیتیک شناخته شدند [۱۲].

۲-٤- بررسی فعالیت ژلاتینازی

به منظور بررسی فعالیت ژلاتینازی، از روی کشت خطی خالص هر جدایه بر روی محیط کشت TSA+ 3% gelatin، کشت انجام داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد گرمخانه-گذاری شدند. جدایه‌هایی که اطراف پرگنه آن‌ها هاله روشن دیده شد، به عنوان ژلاتیناز مثبت شناخته شدند. از باکتری

2. Tryptic soy broth

3. Clinical and laboratory standard institute
4.Tryptic soy agar

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد [۱۲].

۳- نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی مقاومت جدایه‌های انتروکوکوس نسبت به ۱۰ نوع آنتی‌بیوتیک رایج درمانی در جدول ۳، آورده شده است. نتایج نشان داد که تمام جدایه‌ها نسبت به دو آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و ونکومایسین حساس هستند. سویه‌های *انتروکوکوس فاسیوم* بیشترین مقاومت را به ترتیب نسبت به کانامایسین و استرپتومایسین (۱۰۰٪) و پس از آن سیپروفلوکساسین (٦٧٪)، جنتامایسین (٤٧٪)، پنی‌سیلین (٤٠٪)، کلرامفنیکل (۱۳٪) و تتراسایکلین (۷٪) نشان دادند.

Table 3 Evaluation of resistance of isolates to ten types of antibiotics

Microorganism	AMP	P	VA	TE	C	K	GEN	E	CIP	S
E. faecium Aus0003	S	S	S	S	S	R	I	I	I	R
E. faecium Aus0004	S	S	S	S	S	R	S	I	R	R
E. faecium IDCC2103	S	R	S	I	I	R	R	I	R	R
E. faecium IDCC2105	S	S	S	S	S	R	I	S	R	R
E. faecium CK1113	S	S	S	I	R	R	S	I	R	R
E. faecium NWL 46	S	S	S	S	I	R	R	I	I	R
E. faecium NWL 47	S	R	S	S	I	R	S	I	R	R
E. faecium HN-N28	S	R	S	I	I	R	R	I	R	R
E. faecium HN-N35	S	R	S	S	S	R	R	I	R	R
E. hirae R	S	R	S	R	S	R	R	I	R	R
E. lactis SK10	S	S	S	I	I	R	I	S	S	R
E. lactis L	S	S	S	S	R	R	R	I	I	R
E. lactis CK1024	S	R	S	I	I	R	R	S	R	R
E. lactis CK1025	S	S	S	S	S	R	S	I	I	R
E. lactis CK1027	S	S	S	S	S	R	I	I	R	R

S: Susceptible R: Resistant I: Intermediate

نتایج حاصل از فعالیت همولیتیکی و ژلاتینازی سویه‌های انتروکوکوس جدا شده از پنیر سنتی کردی در جدول ٤، آورده شده است. نتایج حاصل از بررسی فعالیت همولیتیکی جدایه‌های انتروکوکوس نشان داد که هیچ یک از جدایه‌های مورد آزمون در این پژوهش قادر به تجزیه خون و در نتیجه ایجاد هاله شفاف در محیط حاوی خون گوسفند نبوده و تمامی آن‌ها گاما-همولیتیک بوده و فاقد هر گونه فعالیت همولیتیکی بودند. نتایج حاصل از فعالیت ژلاتینازی سویه‌ها نیز نشان داد که هیچ کدام از جدایه‌های مورد بررسی نتوانستند در محیط TSA حاوی ژلاتین، ایجاد هاله روشن کنند.

Table 4 Effect of hemolytic and gelatinase activity of Enterococcus isolates

Microorganism	Hemolytic Activity	Gelatinase Activity
E. faecium Aus0003	-	-
E. faecium Aus0004	-	-
E. faecium IDCC2103	-	-
E. faecium IDCC2105	-	-
E. faecium CK1113	-	-
E. faecium NWL 46	-	-
E. faecium NWL 47	-	-
E. faecium HN-N28	-	-
E. faecium HN-N35	-	-
E. hirae R	-	-
E. lactis SK10	-	-
E. lactis L	-	-
E. lactis CK1024	-	-
E. lactis CK1025	-	-
E. lactis CK1027	-	-

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

یکی از دغدغه‌های مهم در تولید فراورده‌های لبنی حضور میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در این نوع محصولات می‌باشد. لذا تأمین بهداشت فراورده‌های لبنی به ویژه فراورده‌هایی که از شیر خام تهیه می‌شوند برای سلامت جامعه ضروری به نظر می‌رسد. اگر چه یافتن شاخص‌های ایجاد بیماری و مقاومت به آنتی‌بیوتیک در انتروکوکوس‌های جدا شده از مواد غذایی، نشان دهنده‌ی پتانسیل بیماری‌زایی آن‌ها می‌باشد، اما تاکنون عفونت‌های ناشی از انتروکوکوس‌های غذایی گزارش نشده است [۱۳]. همان‌طور که در اکثر پژوهش‌ها سویه‌های جدا شده از مواد غذایی نسبت به آمپی‌سیلین حساس می باشند [۱۵و ۱۴] و تعداد سویه‌های مقاوم به ونکومایسین نیز بسیار ناچیز گزارش شده اند، در این پژوهش نیز جدایه‌های مورد بررسی نسبت به دو آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و ونکومایسین ۱۰۰٪ حساسیت داشتند. این ویژگی به این دلیل آن که آمپی‌سیلین و ونکومایسین یکی از بهترین و موثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان عفونت‌های انتروکوکی در انسان می‌باشند، نکته مثبتی به شمار می‌آید. البته حساسیت به ونکومایسین به واسطه عدم وجود ژن VanA و VanB (ژن‌های اکتسابی مقاومت به ونکومایسین) در جدایه‌ها بدیهی به نظر می‌رسد [۱۶].

مهم‌ترین منابع ایجاد سویه‌های انتروکوکوس مقاوم به آنتی-بیوتیک به دلیل مصرف نادرست آنتی‌بیوتیک‌ها، بیمارستان‌ها و مراکز درمانی می باشند، اما جداسازی سویه‌های مقاوم از افراد سالم، بدون داشتن هیچ گونه سابقه‌ی بیمارستانی و همچنین حیوانات اهلی این فرضیه را که تیمار حیوانات اهلی و شیرده با آنتی‌بیوتیک، می‌تواند قابلیت انتقال سویه‌های مقاوم را از طریق چرخه غذایی امکان پذیر سازد، قوت می‌بخشد [۱۷]. از طرفی سویه‌های مقاوم به یک یا تعداد کمی از آنتی‌بیوتیک‌ها، می‌توانند در ماتریکس غذایی، روده انسان و یا در افراد بیمار و محیط‌های بیمارستانی، مقاومت به چندین نوع آنتی‌بیوتیک دیگر را نیز کسب کنند [۱۸و ۱۹]. از آنجایی که انتقال ژن در انتروکوکوس‌ها به وفور مشاهده می‌شود، ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک نیز مانند ژن‌های مولد بیماری می‌توانند از طریق پلاسمیدها و ترانسپوزون-ها به سویه‌های دیگر و یا حتی به باکتری‌های بیماری‌زایی همانند *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* انتقال یابند. انتقال ژن مقاومت به تتراسایکلین به وفور در سویه‌های غذایی دیده می‌شود [۲۰]. بر اساس پژوهش‌های انجام شده احتمالا ورود این ژن به سلول شرایط را برای دریافت سایر ژن‌های مقاومت نیز فراهم می‌کند [۲۱]. لازم به ذکر است که تنها یک جدایه (*Enterococcus hirae* R) از جدایه‌های مورد بررسی در این پژوهش نسبت به تتراسایکلین مقاوم بود.

در این پژوهش سویه‌های جدایه شده از مراحل مختلف تولید پنیر سنتی کردی نسبت به چند نوع آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند، اما این سویه‌ها نسبت به مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های کلینیکی (آمپی‌سیلین) حساس بوده و مقاومت بسیار کمی نیز نسبت به تتراسایکلین و کلرامفنیکل از خود بروز دادند.

توبر و همکاران (۱۹۹۹)، گزارش کردند که انتروکوکوس‌های جدایه شده از پنیر دارای مقاومت بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و تتراسایکلین دارند. اکثر جدایه‌ها نسبت به اریترومایسین دارای مقاومت حدواسط (متوسطی) بودند [۲۱].

عدم وجود فعالیت همولیتیکی جدایه‌های مورد آزمون در این مطالعه با نتایج حاصل از بررسی گرید (۲۰۰۱)، مطابقت داشت. گرید (۲۰۰۱) گزارش کرد که هیچ یک از ٦٧ جدایه انتروکوکوس به دست آمده از نمونه‌های مدفوعی گرازهای وحشی دارای فعالیت همولیتیکی نبودند [۲۲]. سابیا (۲۰۰۸)، فعالیت همولیتیکی چندین سویه انتروکوکوس را که از منابع مختلف جداسازی شده بودند مورد بررسی قرار داد. نتایج این پژوهشگر نشان دادکه هفت سویه دارای فعالیت همولیتیکی بودند [۲۳]. نداشتن فعالیت ژلاتینازی در جدایه‌های مورد بررسی در این پژوهش با یافته‌های سیکریکانیس و همکاران (۲۰۱۲)، هم‌خوانی داشت [۲٤].

٤- نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمامی جدایه‌های انتروکوکوس مورد بررسی نسبت به دو آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و ونکومایسین ۱۰۰٪ حساسیت داشتند. نتایج حاصل از بررسی فعالیت همولیتیکی جدایه‌ها نشان داد که هیچ یک از باکتری‌های مورد آزمون قادر به تجزیه خون و در نتیجه ایجاد هاله شفاف در محیط حاوی خون گوسفند نبوده و تمامی آن‌ها گاما-همولیتیک و فاقد هر گونه فعالیت همولیتیکی بودند. نتایج حاصل از فعالیت

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

ژلاتینازی سویه‌ها نیز نشان داد که هیچ کدام از جدایه‌های مورد بررسی نتوانستند، ایجاد هاله روشن کنند. با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش می‌توان به بررسی وجود ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در سویه‌های انتروکوکوس موجود در پنیرسنتی کردی و همچنین امکان انتقال ژن‌ها و خواص بیماری-زایی از سویه‌های مشکوک به سویه‌های ایمن، به عنوان اهداف بعدی در این راستا اشاره نمود.

۵- تشکر و قدردانی

مقاله علمی-پژوهشی حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد مصوب در گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد با کد ۳/۲۶۹۷۵ می‌باشد. لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به جهت مساعدت‌های مالی در اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی کنند.

٦- منابع

[1] Giraffa, G. 2003. Functionality of enterococci in dairy products. Int J Food Microbiol. 88(2-3):215-22.

[2] Gelsomino, R., Vancanneyt, M., Cogan, T.M., Condon, S., Swings, J. 2001. Source of enterococci in a farmhouse raw-milk cheese. Appl Environ Microbiol. 68: 3560–3565.

[3] Sarantinopoulous, P., Kalantzopoulous, G., Tsakalidou, E. 2002. Effect of Enterococcus faecium in microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Greek feta cheese. Int J Food Microbiol. 76: 93–105.

[4] Garcı´a, M.C., Rodrı´guez, M.J., Bernardo, A., Tornadijo, M.E., Carballo, J. 2002. Study of enterococci and micrococci isolated throughout manufacture and ripening of San Sı´mon cheese. Food Microbiol. 19: 23–33.

[5] Barouei, J,, Karbassi. A., Ghoddusi, H.B., Mortazavi, A. 2008. Lactic microflora present in Lighvan ewe's milk cheese. Int J Food Prop. 11: 407-414.

[6] Rodriguez, E., Gonzalez, B., Gaya, P., Nun˜ez, M., Medina, M. 2000. Diversity of bacteriocins produced by lactic-acid bacteria. Int Dairy J. 10: 7–15.

[7] Landman, D., and Quale, J.M. 1997. Management of infections due to resistant enterococci: a review of therapeutic options. J Antimicrob Chemother. 40: 161–170.

[8] Leclercq, R. 1997. Enterococci acquire new kinds of resistance. Clin. Infect. Dis. 24 (suppl. 1).pp. 80– 84.

[9] Franz, C.M., Muscholl-Silberhorn, A.B., Yousif, N.M., Vancannet, M., Swings, J., Holzapfel, H.W. 2001. Incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococci isolated from food.Appl Environ Microbiol. 67: 4385– 4389.

[10] Lopes, M.F., Ribeiro, T., Martins, M.P., Tenreiro, R., Crespo, M.T. 2003. Gentamicin resistance in dairy and clinical enterococcal isolates and in reference strains. J Antimicrob Chemoter. 52: 214–219.

[11] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard, 9th ed. Wayne,Clinical and Laboratory Standards Institute. PP: 2-9.

[12] Eaton, T.J., and Gasson, M.J. 2001. Molecular screening of Enterococcus virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. App Environ Microbiol. 67: 1628–1635.

[13] Ogier, J.,and Pascale, S. Safety assessment of dairy microorganisms: The Enterococcus genus, Int J Food Microbiol2008;126 : 291–301.

[14] Pavia, M., Nobile, C.G.A., Salpietro, L., Angelillo, I.F. 2000.Vancomycin resistance and antibiotic susceptibility of enterococci in raw meat. J Food Prot. 63: 912– 915.

[15] Fines, M., Perichon, B., Reynolds, P., Sahm, D.F., Courvalin, P. 1999. VanE, a new type of acquired glycopeptide resistance in Enterococcus faecalis BM4405. Antimicrob Agents Chemother. 43: 2161–2174.

[16] Ridwan, B., Mascini, E., Reijden, N., Verhoef, J., Bonten, M. 2002. What action should be taken to prevent spread of vancomycin resistant enterococci in European hospitals. BMJ. 324: 666– 668.

[17] Lund, B., and Edlund, C. 2001. Probiotic Enterococcus faecium strain is a possible

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

recipient of the vanA gene cluster. Clin Infect Dis. 32: 1384–1385.

[18] Cocconcelli, P.S., Cattivelli, D., Gazzola, S. 2003. Gene transfer of vancomycin and tetracycline resistances among Enterococcus faecalis during cheese and sausage fermentations. Int J Food Microbiol. 88: 315–323.

[19] Peters, J., and Mac, K., Wichmann-Schauer, H., Klein, G., Ellerbroek, L. 2003. Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany. Int J Food Microbiol. 88: 311–314.

[20] Huys, G., D'Haene, K., Collard, J.M., Swings, J. 2004. Prevalence and molecular characterization of tetracycline resistance in Enterococcus isolates from food. App and Environ Microbiol. 70: 1555–1562.

Teuber, M., Meile, L., Schwarz, F. 1999. Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from food. Antonie Van Leeuwenhoek. 76: 115–137.

[22]Garde, S. 2001. PCR detection of the structural genes of nisin Z and lacticin 481 inLactococcus lactis subsp. lactisINIA 415, a strain isolated from raw milk Manchego cheese. J Biotech Let. 23(2): 85-89.

[23] Sabia, C. 2008. Detection of bacteriocin production and virulence traits in vancomycin□resistant enterococci of different sources. J App Microbiol. 104(4): 970-979.

[24] sikrikonis, G., Maniatis, A.N., Labrou, M., Ntokou, E., Michail, G., Daponte, A., Stathopoulos, C., Tsakris, A., Pournaras, S. 2012. Differences in biofilm formation and virulence factors between clinical and fecal enterococcal isolates of human and animal origin. Microb Pathog. 52:336–343.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

Evaluation of antibiotic resistance of Enterococcus isolates from Kurdish traditional cheese against common therapeutic antibiotics and their hemolytic and gelatinase activity

Zanganeh, H. [1], Mortazavi, S. A. [2*], Shahidi, F. [2], Alizadeh Behbahani, B. [3], Milani, E. [4], Edalatian Dovom, M. R. [5]

1. PhD Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
4. Assistant Professor, Food Quality and Safety Department, Food Science and Technology Research Institute, Mashhad branch, Mashhad, Iran
5. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(Received: 2019/07/18 Accepted:2019/09/01)

Dual properties of Enterococcus on the one hand, have made them suitable and accepted bacteria as starter cultures in the production of food products and probiotics, but on the other hand, because of antibiotic resistance properties and virulence factors, has resulted in concerns about the consumer's health. In this study, in order to evaluate the antibiotic resistance of enterococcal isolates, the disk diffusion method was used. Also, culture-based method was applied for hemolytic and gelatinase activities. The results of the inhibition zone of Enterococcus isolates against common clinical antibiotics revealed that the isolates were sensitive to Vancomycin and Ampicillin and are resistant to Kanamycin and Streptomycin. The isolates showed very little resistance to Tetracycline and Chloramphenicol and none of the isolates were resistant to all tested antibiotics. Results obtained from hemolytic activity of isolates showed that none of examined isolates were capable of blood hemolysis and consequently no clear zone of inhibition in medium containing sheep's blood. All of isolated were γ hemolytic and they have no hemolytic activity. Gelatinase activity results confirmed that none of the isolates are able to produce clear zone in tryptone soy agar containing gelatin.

Keywords: Enterococcus, Kurdish traditional cheese, Antibiotic resistance, Hemolytic activity, Gelatinase activity.

* Corresponding Author E-Mail Address: morteza@um.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]