

بررسی فراوانی ژن های کمپلکس *NHE* در باکتری های *باسیلوس سرئوس* جدا شده از شیر در شهر تبریز در بهار سال ۱۳۹۷

طاهر رسول پور^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 پذیرش: ۱۳۹۷/۰۱/۰۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۰۱

چکیده

باسیلوس سرئوس باکتری گرم مثبت و اسپورزایی است که به طور وسیعی در طبیعت انتشار دارد. بسیاری از سویه های این باکتری باعث مسمومیت غذایی با علائم اسهال و استفراغ می شوند. بیماری های نوع اسهالی توسط انتروتوکسین های همولیزین HBL، غیرهمولیتیک NHE و سیتوتوکسین K ایجاد می شود. شیر یکی از محصولات غذایی است که ممکن است از طریق دام های مبتلا به ورم پستان ناشی از *باسیلوس سرئوس* آلوده شود. هدف از انجام این تحقیق بررسی فراوانی ژن های کمپلکس *NHE* در باکتری های *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 ژن های 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 باکتری های *باسیلوس سرئوس* مورد مطالعه، ژن های کمپلکس *NHE* مشاهده نشد. حضور همزمان ژن های کمپلکس *NHE* در بیشتر جدایه های *باسیلوس سرئوس* مورد مطالعه، نشان دهنده حدت بالای جدایه های مورد آزمایش و پتانسیل بیماریزایی بالای آنها می باشد.

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

مقدمه

بیماری ها می شود انتروتوکسین غیرهمولیتیک (Non-Hemolytic Enterotoxin: NHE) می باشد. پروتئین-های 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 ژن های *nheA*، *nheB* و *nheC* کد می شوند. 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 مطالعه ای Das و همکاران (۲۰۰۹) در کشور هند رابطه بین تولید

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 می کند. اسپورهای این باکتری حتی پس از پختن در غذا باقی می ماند و در صورتی که مواد غذایی در شرایط گرم و مرطوب نگهداری شود، اسپور جوانه زده و نوعی سم روده ای (انتروتوکسین) تولید می کنند که منجر به مسمومیت غذایی می شود (Vilas-Boas et al. 2007, Ngamwongsatit et al. 2008, Das et al. 2009). یکی از توکسین هایی که منجر به بروز این

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 فناوریان 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 پلیمرز 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 در حضور مارکر ۵۰ و ۱۰۰ جفت بازی DNA (فرمنتاز، آلمان) الکتروفورز شد و با استفاده از دستگاه ژل داکيومنت مورد عکس‌برداری قرار گرفتند (Mahdavi et al. 2018).

انترتوکسین اسهالی و حضور ژن‌های بیماری‌زای متفاوت در باسیلوس سرئوس‌های جدا شده از غذاهای دریایی را بررسی کردند و نشان دادند که همه جدایه‌های تولید کننده انترتوکسین اسهالی حاوی ژن‌های کمپلکس NHE بودند، درحالی‌که جدایه‌های غیرانترتوکسیک فاقد این ژن‌ها بودند (دیلمی خیابانی، ۱۳۹۰). زمانی که برنج در آب، شیر، تخم مرغ یا سایر ترکیبات آبدار پخته می‌شود یک محیط مناسب برای جوانه‌زنی اسپور، رشد ارگانسیم 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 ۱۴-۱۵ درصد حضور دارد و غالباً 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 (رضویپر، 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، باکتری، سپتیسیمی، 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

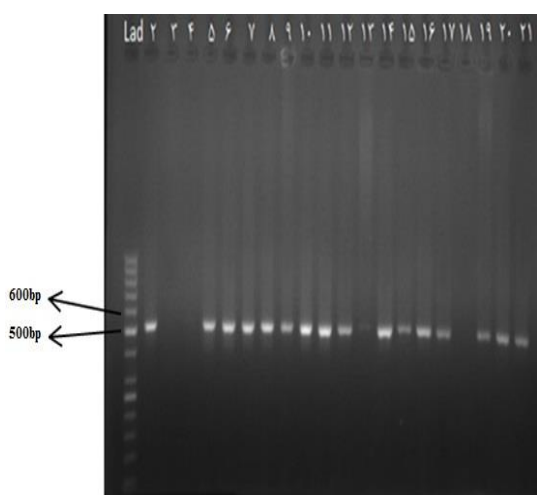
در این مطالعه توصیفی، تعداد ۴۲ جدایه باکتری باسیلوس سرئوس جدا شده از شیر خام گاوهای مبتلا به ورم پستان

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

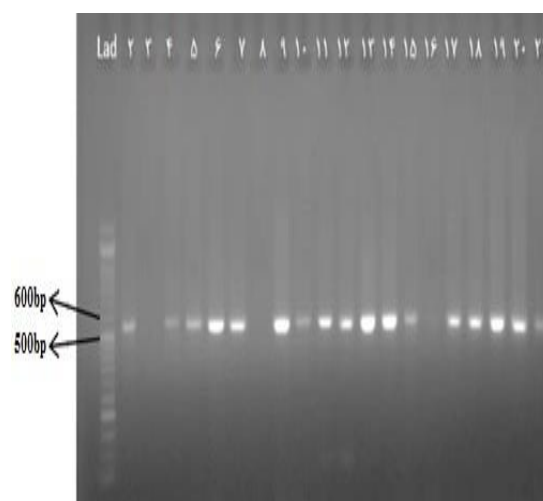
ژن	توالی آغازگر (۵'→۳')	اندازه محصول (bp)	منبع
<i>Bal</i>	F- TGCAACTGTATTAGCACAAAGCT R- TACCACGAAGTTTGTCTCACTACT	۵۳۳	Chang, Shangkuan et al.) (2003
<i>nheA</i>	F-TACGCTAAGGAGGGGCA R--GTTTTTATTGCTTCATCGGCT	۴۹۹	Granum, O'sullivan et) (al. 1999
<i>nheB</i>	F-CTATCAGCACTTATGGCAG R-ACTCCTAGCGGTGTTC	۷۶۹	Granum, O'sullivan et) (al. 1999
<i>nheC</i>	F-CGGTAGTGATTGCTGGG RCAGCATTCGTA CTGGCAA	۵۸۱	Granum, O'sullivan et) (al. 1999

نتایج

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



شکل ۲- الکتروفورز محصول PCR ژن *nheA* 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 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).



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)، شماره ۳: 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).

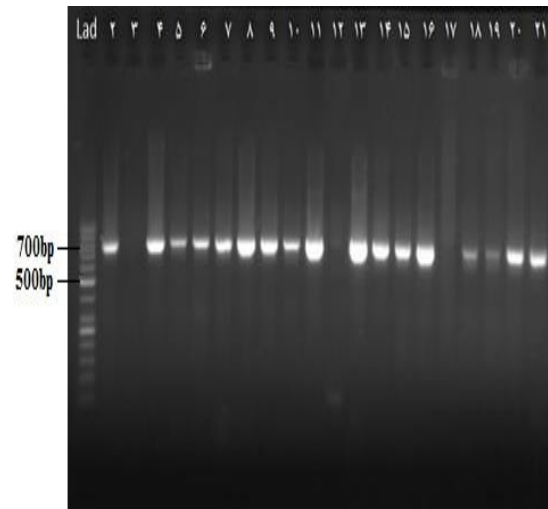
۳۰ نمونه (۷۳/۱ درصد) به طور همزمان حاوی هر سه ژن مورد مطالعه بودند. در سه نمونه (۷/۳ درصد) از باکتری‌های باسیلوس سرئوس مورد مطالعه، ژن‌های کمپلکس NHE مشاهده نشد (جدول ۲).

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
<i>nheA</i>	۳۷	<i>nheA + nheB</i>	۳۴
<i>nheA</i>	۳۵	<i>nheA + nheC</i>	۳۱
<i>nheC</i>	۳۱	<i>nheB + nheC</i>	۳۰
		<i>nheA + nheB + nheC</i>	۳۰
جمع	۴۱		

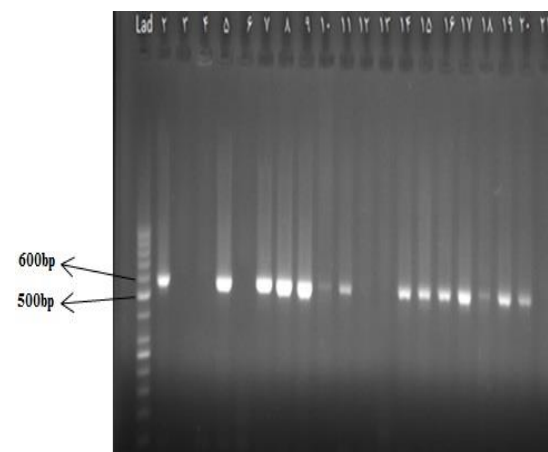
بحث

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



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 ۴-۱۱ و ۱۳-۱۶ و ۱۸-۲۱: نمونه‌های مثبت با باند ۷۶۹bp، شماره‌های ۱۲ و ۱۷: نمونه‌های 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 ۷-۱۱ و ۱۴-۲۰: نمونه‌های مثبت با باند ۵۸۱bp، شماره‌های ۴ و ۶ و ۱۲ و ۱۳ و ۲۱: نمونه‌های منفی.

بطور کلی روش کشت و آزمایشات بیوشیمیایی از دقت کمتری برخوردار بوده و از طرفی زمان بر 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، انترتوکسین غیرهمولیتیکی NHE دارای حداکثر فعالیت خود خواهد بود و این جدایه‌ها به طور بالقوه دارای حدت بالایی خواهند بود

منابع

۱. رضوی، و.د. (۱۳۸۳). میکروبی‌های بیماری‌زا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت‌های غذایی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دوم.
۲. دیلمی خیابانی، زهرا، نوری، عنایت، رهنما، مهدی، شاپوری، رضا، بیگلرلو، 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

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 انترتوکسین در بین سویه‌های مختلف *باسیلوس سرئوس* می‌باشد که این امر احتمالاً از تفاوت‌های جغرافیایی و نیز اختلاف در منشاء اکولوژیکی سویه‌های جدا شده (شیر، برنج، غذاهای گوشتی، انواع سالاد و ...) ناشی می‌شود. در این تحقیق، از ۴۲ جدایه *باسیلوس سرئوس* که قبلاً 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* انترتوکسیژنیک در غذا از اهمیت زیادی برخوردار است تا از سلامتی غذای مصرفی اطمینان حاصل شود.

- 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. Mehmannaavaz 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.
 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

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

Rasoulpour T¹, Mahdavi S^{2*}

1. Department of Genetics, Faculty of Basic Science, Tabriz Branch, Islamic Azad University, 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.