مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۱، شماره ۴، زمستان ۹۰، صفحات ۲۸۱ تا ۲۸۶

Original Article

بررسی نقش باکتری *انتروکوک* در درمان بیماری های عفونی حاصل از *استافیلوکوکوس ارئوس*

مهسا یگانه[۱]، آنیتا خنافری[۲]، محمدرضا فلاحیان[۳]، انوشه شریفان[۴]

[۱] کارشناس ارشد صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
[۲] دانشیار، گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
[۳] مربی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
[۴] استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

چکیده

سابقه و هدف: *هدف از انجام این تحقیق، بررسی نقش انتروکوک در درمان عفونت‌های استافیلوکوکی، از طریق تولید آنتی‌بیوتیک تیروتریسین است.*

روش بررسی: *پس از کشت انتروکک فکالیس (PTCC1394) در محیط کشت BHI agar، سانتریفوژ و جداسازی توده میکروبی، ماده ضدمیکروبی آن توسط روش دیالیز خالص سازی شد و به وسیله الکتروفورز SDS - PAGE، وزن مولکولی آن تخمین زده شد. تاثیر ضد میکروبی و کمترین غلظت باکتریواستاتیکی آنتی بیوتیک ارزیابی شد.*

یافته‌ها: *وزن مولکولی ترکیب ضدمیکروبی ۶۶ کیلودالتون بود که از نظر وزن مولکولی مشابه تیروتریسین به عنوان یک ترکیب بارز ضدمیکروبی انتروکک بود. پس از دیالیز، واحد فعالیت، فعالیت اختصاصی و ضریب تخلیص این ترکیب افزایش یافت و فعالیت کل و میزان پروتئین کل کاهش یافت. بیشترین تاثیر ضد میکروبی و کمترین غلظت باکتریواستاتیکی ایجاد شده توسط آنتی‌بیوتیک بر روی باکتری استافیلوکوکوس ارئوس بود.*

نتیجه‌گیری: *انتروکوکوس فکالیس (PTCC 1394) می‌تواند ترکیب ضد میکروبی با طیف وسیع تولید نماید و با تولید این آنتی‌بیوتیک نقش گسترده‌ای در درمان آنژین‌های چرکی و التهابات موکوس معده ایفا نماید.*

واژگان کلیدی: *اثر ضدمیکروبی، انتروکک فکالیس، تیروتریسین، آنژین چرکی، التهابات موکوس معده.*

مقدمه

باکتری *انتروکوک* که یکی از بحث برانگیزترین باکتری‌ها از گروه باکتری‌های اسیدلاکتیک است، نقش به سزایی در سلامتی انسان ایفا می‌نماید (۱). آنتی‌بیوتیک تیروتریسین، ترکیبی با فرمول شیمیایی C65H85N11O13 و جرم مولی ۱۲۲۸/۴۴ mol/g، یک ترکیب پلی‌پپتید حلقوی و مرکب از دو ترکیب پلی‌پپتیدی به نام‌های تیروسیدین و گراماسیدین می‌باشد (۲).

تیروتریسین از لحاظ داروشناسی، رابطه نزدیکی با ترکیباتی نظیر باسیتراسین و پلی‌میکسین و کلیستین دارد. تیروتریسین، از بیوسنتز پروتئین‌های ارگانیسم های گرم مثبت پیشگیری می‌کند. متداول‌ترین کاربرد این آنتی‌بیوتیک، بهبود التهابات موکوس معده‌ای و آنژین چرکی می‌باشد (۳،۲). با توجه به شیوع مقاومت به متی‌سیلین در میان سوش‌های *استافیلوکوک ارئوس*، استفاده از آنتی‌بیوتیک تیروتریسین به صورت موضعی، می‌تواند موجب کاهش عوارض جانبی حاصل

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، مهسا یگانه
(**email**: mahsayeganeh19@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۸۹/۱۰/۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۰/۴/۳۱

از مصرف این ترکیب و نابودی سوش‌های *استافیلوکوک ارئوس* مقاوم شود. بنابراین، *انتروکوکوس فکالیس* با تولید این ترکیب ضد میکروبی، کاربرد ویژه‌ای در علم پزشکی ایفا می‌نماید و می‌تواند به عنوان یک باکتری مفید مورد بحث قرار گیرد. لذا، هدف از انجام تحقیق حاضر، بررسی توان تولید آنتی‌بیوتیک تیروتریسین توسط سوش *انتروکوکوس فکالیس* بود (۳،۲).

مواد و روشها

باکتری *انتروکوکوس فکالیس* (*Enterococcus faecalis*) (PTCC ۱۳۹۴) از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه شد و کشت آغازگر تهیه شد (۴).

به منظور تایید باکتری *انتروکوکوس*، از آزمون‌های بیوشیمیایی کاتالاز و اکسیداز و توانایی استفاده از قندهای لاکتوز و ساکارز و آرابینوز و سوربیتول و مانیتول و هیدرولیز اسید آمینه آرژنین استفاده شد (۶-۴).

به منظور ارزیابی نمودار رشد باکتری جدا شده از کشت‌های ۲۴ ساعته، پس از رسیدن میزان جذب نور(OD) سوسپانسیون باکتری توسط طیف نورسنج در طول موج ۶۰۰ نانومتر، در محدوده ۱-۰/۸، سوسپانسیون حاصله به عنوان کشت تلقیح استفاده شد و به نسبت ۵ درصد به محیط کشت BHI broth و حاوی ۱ درصد سوکسینات آمونیوم افزوده شد. نمونه‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و اتمسفر ۵ درصد CO2 گرمخانه‌گذاری شدند. میزان جذب نور (OD) نمونه‌ها توسط طیف نورسنج در طول موج ۶۰۰ نانومتر، هر ۲ ساعت یک بار تعیین و نمودار رشد باکتری ها رسم شدند (۸،۷،۵).

برای استخراج ترکیب ضد میکروبی از باکتری انتروکوکوس، کشت تلقیح مطابق با رسیدن میزان جذب نور (OD) نمونه در محدوده ۱-۰/۸ تهیه شد و به نسبت ۵ درصد به محیط کشت BHI broth و حاوی ۱ درصد سوکسینات آمونیوم انتقال داده شد. سویه مورد نظر تا زمان ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس، pH محیط کشت توسط دستگاه pH سنج و با افزودن محلول ۱ مولار NaoH، در محدوده ۷ تا ۷/۵ تنظیم شد. پس از خنثی‌سازی، سوسپانسیون میکروبی محیط کشت در شرایط استریل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۵۰ دقیقه در ۱۶۰۰۰rpm سانتریفوژ شد و توده سلولی تولید شده جداسازی شد. جهت استخراج ترکیب ضدمیکروبی موجود در محیط کشت، فاز مایع حاصله از نمونه‌های سانتریفوژ شده ۲۴ ساعته (مطابق با منحنی رشد در فاز لگاریتمی رشد قرار داشتند) به آرامی به ارلن استریل انتقال داده شد. ارلن به ظروف حاوی یخ بر روی همزن مغناطیسی انتقال داده شد و به نسبت ۵۰ درصد حجم موجود در ارلن، سولفات آمونیوم افزوده شد. نمونه‌ها به مدت یک شب در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا سولفات آمونیوم به خوبی حل شود. محتویات ارلن شامل رسوبات حاصله و محلول حاوی رسوب به لوله‌های استریل منتقل شدند و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ دقیقه در ۱۶۰۰۰×rpm سانتریفوژ گردیدند. مایع رویی جدا شد و رسوب حاصله در یک میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار و دارای pH=۷ حل گردید. بخش‌های حاصله برای انجام دیالیز کنار گذاشته شدند (۹، ۱۰) .

به منظور خالص‌سازی ترکیبات ضدمیکروبی استخراج شده به روش دیالیز، از کیسه دیالیز، با سایز ۱۲۰۰۰ KDa استفاده گردید. رسوبات پروتئینی رسوب داده شده با سولفات آمونیوم، در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار و pH=۷ حل شدند. محتویات فوق به درون کیسه دیالیز انتقال داده شدند. سپس در یک ارلن ۲۰۰ میلی‌لیتری، به میزان ۱۰۰ میلی لیتراز بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار ریخته و ارلن مذکور در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. نمونه درون کیسه در این بافر قرار داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در آن شناور گردید. پس از ۲۴ ساعت، بافر تعویض و مجدداً کیسه در بافر تازه، غوطه‌ور شد. پس از سه بار تعویض بافر و استفاده از معرف نسلر به منظور خروج سولفات آمونیوم، محتویات کیسه به لوله‌های استریل منتقل گردیدند (۹، ۱۰).

برای تعیین حداقل غلظت باکتریواستاتیکی و حداقل غلظت باکتریوسایدی ترکیب ضدمیکروبی، روش رقیق‌سازی در محیط مایع و سنجش کدورت به کار برده شد. مقدار MIC، به عنوان حداقل غلظتی از رسوبات پروتئینی که مانع از رشد می‌شود، یعنی هیچ کدورتی در لوله مذبور دیده نشود، تعریف و بیان شد. هم‌چنین، میزان MBC به صورت حداقل غلظتی از رسوبات پروتئینی که باکتری‌ها را می‌کشد، بیان شد (۶).

در هر مرحله، برای هر بخش، این موارد محاسبه شدند: حجم نهایی (total volum)، واحد فعالیت (activity unit)، فعالیت کل (total activity)، فعالیت اختصاصی (specific activity)، غلظت پروتئین (protein concentration)، پروتئین کل (total protein)، درصد بازیافت (recovery٪)، ضریب تخلیص (purification factor) و راندمان (yeild). تیتر بخش‌های فوق به عنوان معکوس بیشترین رقتی که قادر به مهار قطعی

سویه‌های پاتوژن بود، بر حسب واحد فعالیت / میلی لیتر (activity unit /mL) بیان شد (۹).

برای ارزیابی و سنجش پروتئین استخراج شده توسط تست لوری، غلظت‌های ۰، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵ و ۴ گرم در لیتر از پروتئین سرم آلبومین گاوی در آب مقطر، پس از افزودن محلول کوماسی برلیانت بلو، منحنی استاندارد در طول موج ۶۰۰ نانومتر رسم شد. میزان پروتئین موجود در نمونه پس از خواندن OD در طول موج ۶۰۰ نانومتر و مقایسه با منحنی استاندارد بر حسب گرم در لیتر تعیین شد (۱۲،۱۱).

برای تعیین میزان تولید ترکیب ضد میکروبی بر حسب U/mL، واحد فعالیت این ترکیب (U/mL) در زمان‌های متفاوت، محاسبه شد و منحنی میزان تولید رسم گشت.

به منظور تعیین وزن مولکولی پروتئین‌های حاصل در این تحقیق، از تکنیک الکتروفورز SDS - PAGE با تکنیک رنگ آمیزی کماسی بلو، استفاده گردید.

یافته‌ها

به منظور تایید باکتری *انتروکوکوس فکالیس* (PTCC ۱۳۹۴)، آزمون‌های بیوشیمیایی بر روی سوش مورد نظر انجام شدند. با توجه به نتایج به دست آمده، باکتری قادر به مصرف قندهای مانیتول و سوربیتول و لاکتوز و دارای آنزیم تجزیه کننده آرژنین بود و بدین ترتیب می‌توانست از این اسید آمینه به عنوان منبع ازت استفاده نماید. این باکتری، قادر به مصرف دو قند ساکارز و آرابینوز نبود.

نتایج حاصل از منحنی رشد باکتری، نشان داد که باکتری تحت شرایط کار در این پژوهش (۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت، گرماگذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و اتمسفر ۵ درصد CO2)، در حدود ساعت ۱۶ به حداکثر میزان رشد خود (فاز لگاریتمی رشد) رسید. میزان کدورت پس از یک تاخیر کوتاه (Lag phase) در حدود چهار ساعت پس از تلقیح اولیه به تدریج افزایش یافت و مقارن با آن، pH نیز با همان میزان تاخیر، کاهش یافت (نمودار ۱ و ۲).

به دلیل حذف سایر ترکیبات ضد میکروبی موجود در محیط کشت، به ویژه سولفات آمونیوم در اثر فرایند دیالیز، میزان تاثیر ضد میکروبی رسوبات پروتئینی بعد از دیالیز، کاهش یافت و در برخی از موارد، ثابت باقی ماند. بیشترین تاثیر ضد میکروبی رسوب پروتئین باکتری ۱۳۹۴، پس از دیالیز، بر روی باکتری *استافیلوکوکوس* بود (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج رسوب پروتئین ها در زمان ۲۴ ساعت در قبل و بعد از دیالیز

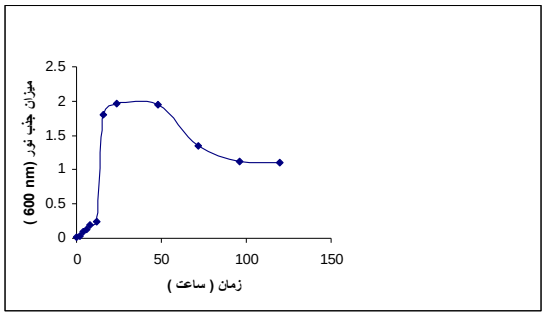
	قبل از دیالیز	پس از دیالیز
استافیلوکوکوس ارئوس	۱۹	۱۹
لیستریا مونوسیتوژنز	۱۰	۸
باسیلوس سرئوس	۱۶	-
کلبسیلا پنومونیه	-	-

حداقل غلظت باکتریواستاتیکی و باکتریوسایدی تیروتریسین مورد نیاز برای باکتری‌های گرم مثبت کمتر از باکتری‌های گرم منفی بود (جدول ۲).

جدول ۲- حداقل غلظت باکتریواستاتیکی و باکتریوسایدی تیروتریسین بر میکروب‌های مختلف (گرم در لیتر)

استافیلوکوکوس ارئوس	۰/۰۵
لیستریامونوسیتوژنز	۰/۴
باسیلوس سرئوس	-
کلبسیلا پنومونیه	-

میزان پروتئین موجود در نمونه دیالیز شده پس از خواندن OD در طول موج ۶۰۰ نانومتر و مقایسه با منحنی استاندارد بر حسب گرم در لیتر تعیین شد (نمودار ۳).



نمودار ۱- منحنی رشد باکتری انتروکوکوس فکالیس (۱۳۹۴) برحسب OD

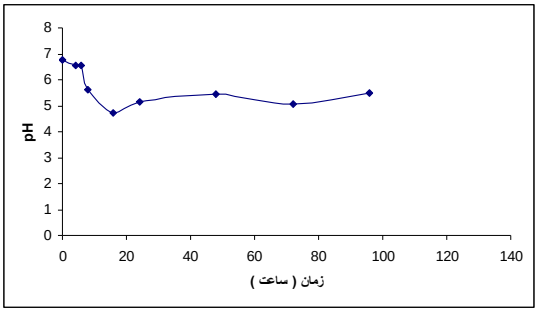
حجم نمونه (mL)، واحد فعالیت (U/mL)، فعالیت کل (Unit)، غلظت پروتئین (mg/mL)، میزان پروتئین کل (mg)، فعالیت اختصاصی (U/ mg)، راندمان (٪)، درصد بازیافت (٪) و ضریب تخلیص تیروتریسین درمایع تخمیر و قبل و بعد از دیالیر تعیین شد (جدول ۳).

از طریق تعیین واحد فعالیت تیروتریسین بر حسب (U/mL) در زمان‌های متفاوت، میزان تولید تیروتریسین بر حسب

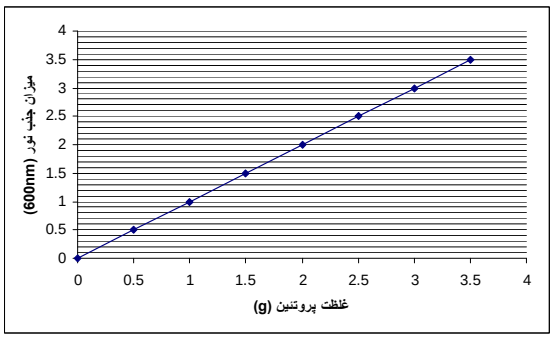
(U/mL) به دست آمد و میزان تولید در ساعت‌های ۸ تا ۲۴ (در طول فاز لگاریتمی و در ابتدای فاز رکود) افزایش یافت و در ساعت ۴۸ (در اواسط فاز رکود) کاهش یافت (نمودار ۴).

جدول ۳- میزان و فعالیت تیروتریسین، در مایع تخمیر و قبل و بعد از دیالیز

	انتروکوک فکالیس(۱۳۹۴)		
	مایع تخمیر	قبل از دیالیز	پس از دیالیز
حجم نمونه (mL)	۱۰۰	۳۵	۲۵
واحدفعالیت (Unit/mL)	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰
فعالیت کل (Unit)	۱۰۰۰۰	۵۲۵۰	۵۰۰۰
غلظت پروتئین(mg/mL)	۲/۶	۱/۹	۱/۸
پروتئین کل (mg)	۲۶۰	۶۶/۵	۲۰
فعالیت اختصاصی(U/mg)	۳۸/۴۶	۷۸/۹۵	۲۵۰
راندمان (٪)	-	۵۲/۵	۵۰
درصد بازیافت(٪)	-	۲۵/۵۸	۷/۶۹
ضریب تخلیص	-	۲/۰۵	۶/۵۰

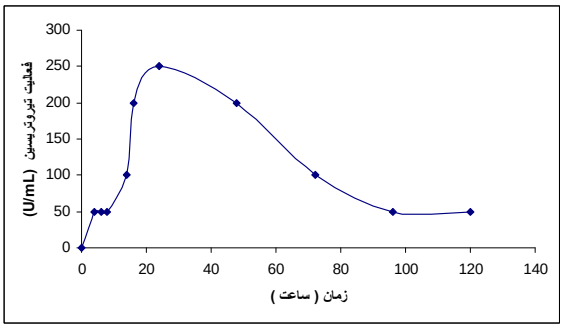


نمودار ۲- روند تغییرات pH باکتری انتروکوک ۱۳۹۴ با گذشت زمان



نمودار ۳- منحنی استاندارد تست لوری

پس از انجام روش الکتروفورز SDS-PAGE و مقایسه نمونه با تیروتریسین به عنوان مارکر و تعیین وزن مولکولی تیروتریسین استخراج شده در محدوده ۶۶ کیلو دالتون، تولید این ماده توسط سوش مورد نظر و خلوص ماده پروتئینی تولید شده توسط باکتری تایید شد.



نمودار ۴- منحنی میزان تولید تیروتریسین بر حسب U/mL

بحث

ایجاد تک باند برروی ژل الکتروفورز، نشان دهنده خلوص ماده پروتئینی بود. در ساعت ۱۶، افزایش شدیدی در میزان تولید تیروتریسین بر اساس U/ mL روی می‌دهد. این زمان، دقیقاً مقارن با افزایش تعداد باکتری و به عبارتی، هم‌زمان با فاز لگاریتمی رشد است. این امر، نشان دهنده تولید این ترکیب در فاز لگاریتمی رشد است. بنابراین، می‌توان گفت که تولید تیروتریسین از شمای تولید یک متابولیت اولیه پیروی می‌کند. با ورود باکتری به فاز رکود، میزان تیروتریسین تولید شده، تقریباً ثابت ماند و سپس به تدریج کاهش یافت (۱۳، ۱۴). فرایند دیالیز از طریق خالص نمودن آنتی‌بیوتیک و حذف سایر ترکیبات ضدمیکروبی موجب افزایش واحد فعالیت و فعالیت اختصاصی آنتی بیوتیک شد. حذف ترکیبات پروتئینی موجود در محیط کشت، موجب کاهش غلظت پروتئین و میزان پروتئین کل نیز شد. دلیل کم شدن راندمان و درصد بازیافت تیروتریسین، پس از دیالیز، از دست رفتن تیروتریسین طی فرایند خالص سازی می‌باشد. به علت خالص شدن تیروتریسین در طی فرایند دیالیز، ضریب تخلیص این ماده پس از دیالیز بیشتر شد. به علت کاهش حجم نمونه پس از دیالیز نیز میزان فعالیت کل آنتی‌بیوتیک کاهش یافت.

با مقایسه نتایج به دست آمده با نتایج تحقیق Aly Savadogo و همکاران در سال ۲۰۰۴ بر روی فعالیت ضد میکروبی باکتریوسین‌های حاصل از باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از شیرهای تخمیری Burkina Faso، مشاهده شد که قطر هاله عدم رشد حاصل از تاثیر ضد میکروبی باکتریوسین باکتری‌های اسید لاکتیک S3، S5، S6، S8 بر روی باکتری

Staphylococcus aureus ATCC 25293، به ترتیب ۹، ۱۰، ۹ و ۱۰ میلی‌متر بود. هم چنین قطر هاله عدم رشد حاصل از تاثیر ضد میکروبی باکتریوسین باکتری اسید لاکتیک S2 بر روی *Bacillus cereus* 13569 LMG، ۱۰ میلی‌متر بود. تیروترسین استخراج شده در این تحقیق، دارای تاثیر ضد میکروبی قوی‌تری بر ضد باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* (۱۹ میلی‌متر) و *باسیلوس سرئوس* (۱۶ میلی‌متر) بود (۱۵).

Ogunbanwo و همکاران در سال ۲۰۰۳، تاثیر ضد میکروبی باکتریوسین‌های تولید شده از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس برویس* را بر روی باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* مورد ارزیابی قرار دادند و قطر هاله عدم رشد حاصل از تاثیر ضد میکروبی باکتریوسین باکتری *لاکتوباسیلوس پلان‌تاروم* و *لاکتوباسیلوس برویس* بر روی *Staphylococcus aureus* ATCC 14458 به ترتیب ۸ و ۵ میلی‌متر بود. همچنین قطر هاله عدم رشد حاصل از تاثیر ضد میکروبی باکتریوسین باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس برویس* بر روی *Staphylococcus aureus* NCTC6571 ۸ و ۶ میلی‌متر بود. آنتی‌بیوتیک تیروتریسین موجود در این تحقیق، تاثیر ضد میکروبی بیشتری (۱۹ میلی‌متر) بر ضد باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* داشت (۱۶).

با مقایسه نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج حاصل از تحقیق Jianhua Xie و همکاران در سال ۲۰۰۹، بر روی فعالیت ضد میکروبی باکتریوسین‌های حاصل از باکتری‌های *Bacillus subtilis* CGMCC1.354، E.Coli IVDC C83901، *Bacillus subtilis* CGMCC1.769، *Staphylococcus aureus* IVDC 6538 مشاهده شد که واحد فعالیت باکتریوسین حاصل از باکتری‌های فوق به ترتیب ۱۵۳/۹U، ۰U، ۰U، ۴۲۲/۷U بود. از این رو، باکتریوسین‌های حاصل از انتروکوک فکالیس و انتروکوک هایرائی، دارای فعالیت بیشتری (3750U) نسبت به کلیه باکتریوسین‌های فوق بوده است. دلیل این اختلاف به علت قوی‌تر بودن تاثیر ضد میکروبی باکتریوسین-های *انتروکوک فکالیس* و *انتروکوک هایرائی* و مناسب بودن ماده شیمیایی سولفات آمونیوم برای استخراج این باکتریوسین‌ها بود (۱۷).

Sharma و همکاران در سال ۲۰۱۰، با بررسی بهینه‌سازی شرایط تخمیر برای تولید باکتریوسین حاصل از باکتری *Lactococcus lactis* CCSULAC1 بر روی محیط کشت MRS اصلاح شده دریافتند که واحد فعالیت و فعالیت اختصاصی باکتریوسین حاصل از *Lactococcus lactis* CCSULAC1 ، به ترتیب، ۱۲۰۰ AU/ml و ۲۲۲/۲۲ AU است. واحد فعالیت به دست آمده از تیروتریسین، ۲۰۰ U/ml و فعالیت اختصاصی حاصل از این آنتی‌بیوتیک، ۲۵۰U بود. از این رو، تیروتریسین دارای واحد فعالیت کمتر و فعالیت اختصاصی بیشتری نسبت به باکتریوسین حاصل از *Lactococcus lactis* CCSULAC1 بود (۱۸).

با بررسی حداقل غلظت باکتریواستاتیکی و باکتریوسایدی تیروتریسین برای سوش‌های بیماری‌زا مشاهده شد که به دلیل حساس بودن باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* به تیروتریسین، حداقل غلظت مورد نیاز این آنتی‌بیوتیک، برای جلوگیری از رشد و از بین بردن این سویه کمتر از سویه مقاوم (کلبسیلا پنومونیه) است. با مقایسه نتایج به دست آمده با نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت باکتریواستاتیکی فنی‌توئین بر روی باکتری‌های بیماری‌زا توسط دکتر متواضع در سال ۱۳۷۹، مشاهده شد که حداقل غلظت باکتریواستاتیکی فنی‌توئین بر روی *استافیلوکوکوس ارئوس* و *کلبسیلا پنومونیه*، ۰/۰۲۵ گرم در لیتر بود. دلیل کمتر بودن قابل ملاحظه حداقل غلظت باکتریواستاتیکی فنی‌توئین نسبت به تیروتریسین، قوی‌تر بودن تاثیر ضد میکروبی فنی توئین برای مهار باکتری‌های فوق می‌باشد (۱۹) .

با توجه به شیوع مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و تعداد رو به افزایش سویه‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* مقاوم به متی‌سیلین و مهار رشد باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* توسط رقت اندکی از آنتی بیوتیک تیروتریسین، این آنتی بیوتیک می‌تواند نقش به سزایی در از بین بردن *استافیلوکوکوس ارئوس* ایفا نماید و از این رو در درمان گلودردهای استافیلوکوکی و سایر بیماری‌های عفونی حاصل از این باکتری مورد استفاده قرار گیرد. از این رو باکتری انتروکوک با تولید این آنتی بیوتیک وسیع الطیف، نقش موثری در درمان بیماری‌های عفونی حاصل از *استافیلوکوکوس ارئوس* ایفا می‌نماید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله، کمال قدردانی خود را از مسئولین محترم سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران ابراز می‌نماییم.

REFERENCES

1. Foulquié Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, Vuyst LD. The role and application of *enterococci* in food and health. Int J Food Microbiol 2006; 106: 1-24.

2. Kretschmar M, Witte W, Hof H. Bactericidal activity of tyrothricin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to mupirocin. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996; 15: 261-63.

3. Stokes JL, Woodward CR. Formation of tyrothricin in submerged cultures of *Bacillus Brevis*. J Bacteriol 1943; 46: 83–88.

4. Kandler O, Nobert W, editors. Bergeys mannual of systematic. 8th ed. New York: Springer; 1989.

5. Baron Ellen JO, Finegold Sydney M, editors. Diagnostic microbiology. 8th ed. USA: Bailey and Scott; 1990.

6. Khanafari A, Hosseini F, editors. Practical microbiology and biochemical principles of reactions. 2nd ed. Tehran: Poorcina; 2006. p.25-55. [in Persian]

7. Fallahian M, editor. Principles of microbiology. 1st ed. Tehran: Hayyan; 2010. [in Persian]

8. Fallahian M. Isolation and characterization of Enterococcus strains from clinical samples and food stuff and evaluation of antibiotic resistance [Dissertation]. Tehran: Islamic Azad University, Science Res Campus; 2005. [In Persian]

9. Dobus RJ, Hotchkiss RD. Isolation of tyrothricin from *bacillusbrevis* cultures. J Exp Med 1941; 629.

10. Klaenhammer TR. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. J FEMS Microbiol Rev 1993; 12: 39-86.

11. Aroutcheva Alla A, Simoes Jose A. Sebastian Faro Antimicrobial protein produced by vaginal *Lactobacillus acidophilus* that inhibits *Gardnerellavaginalis* . Infect Dis Obstet Gynecol. Journal of Microbiology 2001; 9 :33–39

12. Bruno MEC, Momntville TJ. Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria. J Appl Microbiol 1993; 59: 3003-10.

13. Charlotta E. Inhibition of *Enterobacteria* and *Listeria* growth by Latic acid and formic acid. J Appl Bacteriol 1993; 75: 18-24.

14. Sahl HG, Bradis H. Efflux of low-Mr substances from the cytoplasm of sensitive cells caused by the staphylococcin like agent Pep5. J FEMS Microbiol Lett 1983; 16: 75-79.

15. Savadogo A, Quattara ATC, Bassole HNI, Traore SA. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria strains isolated from Burkina Faso Fermented Milk. Pak J Nutr 2004; 3: 174-79.

16. Ogunbanwo ST, Sanni AI, Onilude AA. Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. J Biotechnol 2003; 2: 219-27.

17. Jianhua X, Rijun Z, Changjiang Sh, Yaoqi G. Isolation and characterization of a bacteriocin produced by an isolated *Bacillus subtilis* LFB112 that exhibits antimicrobial activity against domestic animal pathogens. Biotechnology 2009; 8: 5611-19.

18. Sharma S, Garg AP, Singh G. Optimization of fermentation conditions for bacteriocin production by *Lactococcus lactis* CCSULAC1 on modified MRS medium. J Dairy Sci 2010; 5: 1-9.

19. Motavaze K. Evaluation of minimum inhibitory concentration of fennytoin on pathogenic bacteria [Dissertation]. Tehran: Islamic Azad University, Tehran North Branch; 2000. [In Persian]