

УДК57. 082. 25

**І.Л. Гармашева**

Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України,  
вул. академіка Заболотного, 154, Київ-143, Україна, 03143,  
тел.: +38 (044) 526 23 29, e-mail: inna.garmasheva@gmail.com

## **РОЗПОВСЮДЖЕННЯ ГЕНІВ ЕНТЕРОЦИНІВ СЕРЕД ШТАМІВ ЕНТЕРОКОКІВ, ІЗОЛЬОВАНИХ З ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ ЛЮДИНИ**

**Мета.** Визначити наявність генів найбільш розповсюджених ентероцинів *A*, *B* і *P* та порівняти спектри антагоністичної активності та наявності генів ентероцинів у штамів ентерококів, ізольованих з шлунково-кишкового тракту людей похилого віку. **Методи.** Полімеразна ланцюгова реакція з праймерами, специфічними до генів ентероцинів *A*, *B* і *P*, та статистична обробка даних з використанням кластерного аналізу. **Результати.** Гени ентероцинів *A*, *B* і *P* виявлено у 21 з 58 (64%) штамів ентерококів, причому у 13 штамів виявлено по два різних гени ентероцинів, а у трьох штамів – гени ентероцинів *A*, *B* і *P*. Штами з вузьким спектром антагоністичної дії містили комбінації генів *A/B/P*, *A/B*, або один з генів ентероцинів. Штами з широким спектром активності також містили від 1 до 3 генів ентероцинів. Не виявлено залежності спектру антагоністичної активності від видової належності штамів ентерококів. Наявність гену ентероцину *A*, комбінації генів *A/B* та *A/B/P* були виявлені виключно у штамів виду *Enterococcus faecium*. **Висновки.** Найпоширенішими серед досліджених штамів ентерококів є ген ентероцину *P* та комбінація генів *A/P*. Спектр антагоністичної активності досліджених штамів не залежить від видової належності та наявності генів ентероцинів *A*, *B* і *P*.

*Ключові слова:* ентерококи, антагоністична активність, гени ентероцинів.

Антагоністичні властивості молочнокислих бактерій щодо збудників захворювань людини і тварин добре відомі і в першу чергу вони зумовлені продукцією біологічно активних метаболітів, зокрема молочної кислоти. Антагоністична активність ентерококів здавна привертає увагу науковців з точки зору пошуку чинників антибактеріальної дії щодо умовно-патогенних та патогенних бактерій. Було показано, що ентерококи продукують бактеріоцини – так звані ентероцини, більшість з яких, згідно класифікації бактеріоцинів молочнокислих бактерій, відносяться до класу II [11]. Пізніше авторами була запропонована окрема схема класифікації ентероцинів [9], детальний огляд якої та характеристик найбільш розповсюджених ентероцинів наведені в роботі [3].

Пошук бактеріоциногенних штамів з використанням традиційних мікробіологічних методів може бути малоефективним, оскільки бактеріоцини мають

© І.Л. Гармашева, 2016



різні спектри антимікробної дії та їх продукція залежить від умов культивування [7, 8]. В останні роки поряд з мікробіологічними методами дослідження бактеріоциногенної активності вивчається наявність структурних генів ентероцинів з використанням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Було показано, що гени ентероцинів, зокрема ентероцинів А, В, Р, L50А та L50В, дуже поширені серед штамів різного походження [8,13].

На сьогоднішній день у літературі накопичені дані щодо розповсюдження генів ентероцинів, однак серед вивчених штамів переважають ті, що були ізольовані з ферментованих продуктів харчування та оточуючого середовища [8, 10, 12]. Дані щодо розповсюдження генів ентероцинів серед штамів кишкового походження, особливо ізольованих від людей похилого віку, практично відсутні. В попередній роботі нами було показано, що штами ентерококів, які були ізольовані з шлунково-кишкового тракту (ШКТ) людей довгожителів, проявляють антагоністичну активність щодо умовно патогенних мікроорганізмів. Крім того, антагоністична активність більшості штамів ентерококів залежала від складу живильного середовища [1], що дало змогу припустити про наявність бактеріоциногенних штамів. Метою роботи було визначення наявності генів найбільш розповсюджених ентероцинів А, В і Р з використанням методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та порівняння даних щодо спектру антагоністичної активності та розповсюдження генів ентероцинів у штамів ентерококів, ізольованих з шлунково-кишкового тракту людей похилого віку.

### Матеріали і методи

Об'єктом досліджень були 58 штамів ентерококів видів *Enterococcus faecium* (26 штамів), *E. durans* (18 штамів), *E. hirae* (9 штамів), *E. faecalis* (2 штами) та *Enterococcus* sp. (3 штами) [2]. Бактерії вирощували на середовищі MRS (Man, Rogosa, Sharp medium) при температурі 37 °С.

Спектри антагоністичної активності ентерококів щодо референс-штамів умовно-патогенних мікроорганізмів *Pseudomonas aeruginosa* УКМ В-900 (ATCC 9027), *Proteus vulgaris* УКМ В-905 (ATCC 6896), *Escherichia coli* УКМ В-906 (ATCC 25922 (F-50)), *Bacillus cereus* УКМ В-908 (ATCC 11778), *Staphylococcus aureus* УКМ В-904 (ATCC 25923(F-49)), *S. epidermidis* УКМ В-919 (ATCC 12228), *Klebsiella pneumoniae* УКМ В-920 (ATCC 10031), *Salmonella enterica* УКМ В-921 (NCTC 6017) були вивчені в нашій попередній роботі методом відстроченого антагонізму [1]

Бактеріальну ДНК виділяли з добової культури за описаною методикою [15]. Наявність структурних генів ентероцинів визначали методом ПЛР з використанням пар праймерів:

- для гену ентероцину А entA1 (5'-GGTACCACTCATAGTGGAAA-3') та entA2 (5'-CCCTGGAATTGCTCCACCTAA-3') [4];
- для гену ентероцину В—entB1 (5'-AAAATGTAAAAGAATTAAGATCG-3') та entB2 (5'-AGAGTATACATTTGCTAACCC-3') [5];
- для гену ентероцину Р – entP1(5'-GCTACGCGTTCATATGGTAAT-3') та entP2 (5'-TCCTGCAATATCTCTTTAGC-3') [6].



ПЛР проводили з використанням набору реагентів «АмпліСенс® PCR» (Росія). Ампліфікацію проводили у 25 мкл реакційної суміші, що містила 10 мкл ПЛР-суміші (ПЛР-буфер, 2,2 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,1 ОД/мкл Діа Так-полімераза), 1 мкл (0,2 мМ) суміші дезоксинуклеозидтрифосфатів, по 0,3 мкл кожного з праймерів, 5 мкл зразка ДНК. ПЛР проводили за таких умов: початкова денатурація при 94 °С – 5 хв, 30 циклів денатурації при 94 °С – 30 с, відпалу при 56 °С (58 °С для entA1 та entA2) – 30 с, елонгації при 72 °С – 30 с, останній цикл при 72 °С – 5 хв. Продукти ампліфікації розділяли у 1,5% агарозному гелі, забарвленому розчином бромистого етидію й візуалізували в ультрафіолетовому світлі.

Визначення нуклеотидної послідовності трьох продуктів ампліфікації, отриманих з кожною парою праймерів, проводили на генетичному аналізаторі ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems, США), з використанням набору BigDye®Terminator v3.1, відповідно інструкції виробника. Отримані в результаті секвенування послідовності ДНК порівнювали з послідовностями ДНК бази даних GenBank, використовуючи програму BLAST 2.2.17 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

Для порівняння спектрів антагоністичної активності та наявності генів ентероцинів у досліджуваних штамів ентерококів було застосовано кластерний аналіз методом незваженого парного середнього з використанням комп'ютерної програми «Statistika 7.0» (Stat Soft, Inc. США).

### Результати досліджень та їх обговорення

В результаті проведення ПЛР-аналізу у 21 з 58 (64%) досліджених нами штамів ентерококів було отримано позитивний результат хоча б з однією парою праймерів, специфічних до генів ентероцинів *entA*, *entB* чи *entP* (табл. 1). В результаті ПЛР з праймерами EntA1 і EntA2 з ДНК 16 штамів було отримано амплікони розміром 113 п.н., з праймерами EntB1 і EntB2 – амплікони розміром 173 п.н. отримано з ДНК 12 штамів, з праймерами EntP1 і EntP2 – амплікони розміром 132 п.н. отримано з ДНК 28 штамів. Отже, 22 (38%) штами ентерококів містили тільки один з трьох досліджуваних генів ентероцинів, а саме з ДНК 15 штамів був отриманий продукт ампліфікації тільки з праймером до ентероцину Р, з ДНК трьох штамів – тільки з праймером до ентероцину А, з ДНК чотирьох штамів тільки з праймером до ентероцину В. У всіх інших штамів ентерококів отримані продукти ампліфікації з декількома праймерами: у 7 штамів з праймерами до ентероцинів А і Р, у 3 штамів – з праймерами до ентероцинів А і В, у 3 штамів – з праймерами до ентероцинів В і Р, у трьох штамів – з трьома використаними праймерами до ентероцинів А, В і Р (табл. 1).

Нуклеотидні послідовності ампліконів, отриманими з ДНК штаму *E. faecium* 140Д, виявили гомологію з відповідними послідовностями генів ентероцинів А, В і Р, депонованими в базі даних GenBank. Послідовність амплікону, отриманого з праймерами EntA1 і EntA2, специфічними до гену ентероцину А (AGAAGAGGAATTATTGCACTAAAATAAATGTACGGTTCG

ATTGGGCCAAGGCAACTACTTGTATTGCAGGCAATGTCTATAGG TGGTTTTTTAGGTGGAGCAATCCAGGGACC) є на 98% гомологічною



Таблиця 1  
Table 1

## Наявність генів ентероцинів А, В і Р у штамів ентерококів за результатами ПЛР-аналізу

## Presence of enterocin genes A, B and P in enterococci strains according to PCR analysis results

Вид, штамп	Ген ентероцину	Вид, штамп	Ген ентероцину
<i>E. faecium</i> 77Д	entA	<i>E. durans</i> 52Д	entP
83Д	entA	67Д	entP
84Д	-	88Д	-
87Д	-	90Д	-
103Д	-	98Д	entP
104Д	entP	97Д	-
113Д	entP	112Д	-
114Д	-	127Д	entP
118Д	entA	138Д	entP
119Д	entA, entP	142Д	entA, entP
120Д	entA, entP	146Д	entB, entP
126Д	entP	152Д	entA, entP
130Д	entB	167Д	entA, entP
131Д	entB	219Д	entP
135Д	entA, entB	285Д	-

Продовження таблиці 1

Вид, штамп	Ген ентероцину	Вид, штамп	Ген ентероцину
139Д	entA, entB, entP	292Д	entP
140Д	entA, entB, entP	301Д	-
141Д	entA, entB, entP	328Д	entP
148Д	entA, entB	<i>E. hirae</i> 21Д	-
161Д	-	45Д	-
214Д	entP	92Д	-
264Д	-	101Д	-
268Д	entA, entP	109Д	-
309Д	entA, entB	110Д	-
319Д	-	121Д	-
321Д	entB, entP	166Д	entB
<i>Enterococcus</i> sp.122Д	-	307Д	entP
192Д	entA, entP	<i>E. faecalis</i> 272Д	entB, entP
216Д	entP	276Д	entP

Примітка: «-» – гени досліджуваних ентероцинів А, В, Р відсутні (ПЦР-результат негативний)  
 Note: “-” – no genes of enterococin genes A, B, and P studied (negative PCR- result)

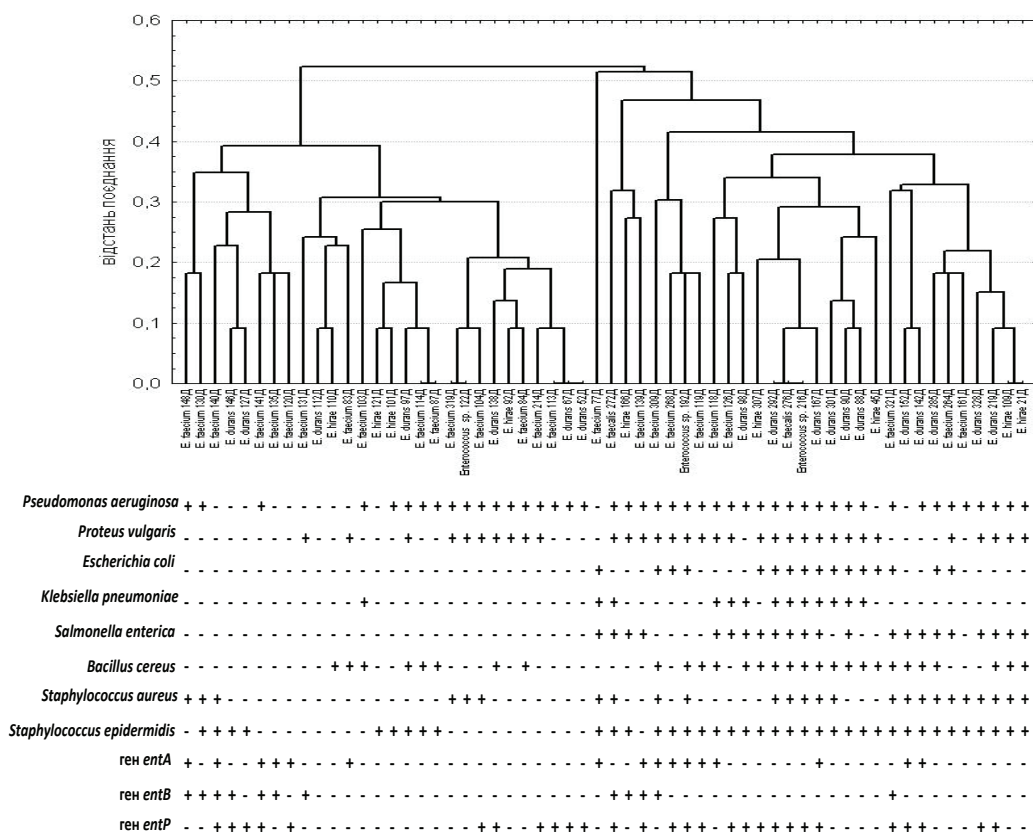


з послідовностями гену ентероцину А штаму *E. faecium* CWBI\_B1430 (FJ161954.1). В результаті сиквенування амплікону, отриманого з праймерами, специфічними до гену ентероцину В, було отримано послідовність AAATTAACAATAATTCGGTGGAGAAATGATCACAGAATGCCTAATGAGTTAAATAGACCTAACAACCTTATCTAAAGGTGGAGCAAAATGTGGTGTGCAATTGCTGGGGGATTATTTGGAATCCCAAAAGGACCACTAGCATGGGCTGCTGGGTAGCAAATGTATACTCAT, яка є на 99% гомологічною з послідовностями гену ентероцину В штаму *E. faecium* CWBI\_B1430 (код в GenBank FJ161955.1). В результаті сиквенування амплікону, отриманого з праймерами, специфічними до гену ентероцину Р, було отримано послідовність GCTACGCGTTCATATGGTAATGGTGTATTGTAATAATAGTAAATGCTGGTTAACTGGGGAGGAGCTAAAGAGAATATTGCAGGAATTGTTATTAGTGGCTGGGCTTCTGGTTTGGCAGGTATGGGACAT, яка є на 100% гомологічною з послідовністю гену ентероцину Р штаму *E. faecium* LHICA 40-4 (код в GenBank FJ416487.1).

З метою порівняння спектрів антагоністичної активності досліджуваних штамів щодо умовно-патогенних тест-культур та наявності генів ентероцинів було використано кластерний аналіз, отримана дендрограма подібності наведена на рис. 1.

Двадцять дев'ять штамів (50%) мали вузький спектр активності (кластеру А), пригнічували ріст від однієї до чотирьох тест-культур УПМ, за виключенням трьох штамів ентерококів (*E. faecium* 120Д, 135Д, *E. durans* 112Д), що не виявляли антагоністичної активності. Три штами не виявляли антагоністичної активності. Слід зазначити, що штами до кластеру А, не виявляли активності щодо *E. coli*, *S. enterica* і *K. pneumoniae* (за винятком штаму *E. faecium* 103Д, який пригнічував ріст *K. pneumoniae*). Інші двадцять дев'ять досліджених штамів ентерококів виявляли більш широкий спектр дії від чотирьох до восьми тест-культур УПМ (з 8 використаних) і були об'єднані у кластер В. Як видно з наведеної дендрограми, спектр антагоністичної активності штамів ентерококів щодо УПМ не залежав від наявності генів ентероцинів А, В і Р. Штами з вузьким спектром дії (кластер А) містили комбінації генів А/В/Р (*E. faecium* 140Д, 141Д), А/В (*E. faecium* 135Д, 148Д), чи один з генів ентероцинів. Штами *E. faecium* 135Д і 112Д, які не виявляли антагоністичної дії до жодної з використаних тест-культур, містили гени ентероцинів А/В і А, відповідно. Штами з широким спектром активності (кластер Б) також містили від 1 до 3 генів ентероцинів. Слід зазначити, що комбінація генів А/Р частіше виявлялася у штамів ентерококів, віднесених до кластеру Б. Також не виявлено залежності спектру антагоністичної активності від видової належності штамів ентерококів, штами різних видів виявляли однаковий спектр активності. В той самий час, як зазначено вище, наявність гену ентероцину А, комбінації генів А/В та А/В/Р була виявлена виключно у штамів виду *E. faecium*.

Отже, в результаті проведеного дослідження виявлено структурні гени ентероцинів А, В і Р у 64% штамів ентерококів. Найпоширенішим серед до-



**Рис. 1. Дендрограма подібності штамів ентерококів за спектром антагоністичної активності щодо тест-штамів умовно патогенних мікроорганізмів та наявності генів ентероцинів:**

«+» – пригнічує ріст тест-культури/виявлено ген ентероцину; «-» – не пригнічує ріст тест-культури/не виявлено ген ентероцину;

**Fig. 1. Dendrogram of similarity among enterococci strains according to the range of antagonistic activity against test strains of opportunistic microorganisms and presence of enterocin genes.**

“+” – growth inhibition/gene presence; “-” – no growth inhibition/no gene presence;

сліджених штамів є ген ентероцину P, він виявлений у 44% штамів, переважно у виду *E. durans* та комбінація генів A/P. Не виявлено залежності між спектром антагоністичної активності щодо тест-культур УПМ і наявності структурних генів ентероцинів А, В і Р. Штами, у яких не було отримано продуктів ампліфікації з праймерами, специфічними до ентероцинів А, В чи Р, виявляли як широкий, так і вузький спектри антагоністичної активності, що може свідчити про продукцію якихось інших бактеріоцинів, чи біологічно-активних сполук з антимікробною дією. З іншого боку, відсутність антагоністичної активності у штамів, які містять структурні гени бактеріоцинів, чи різний спектр активності



у штамів, що містять ті ж самі гени, може бути зумовлено відсутністю експресії даних генів в умовах експерименту. Отримані нами дані збігаються з даними літератури стосовно розповсюдження структурних генів ентероцинів. Энтероцини А, В і Р є досить поширеними серед ентерококів різного походження [14]. Було відмічено відсутність кореляції між наявністю генів відомих ентероцинів і спектром антагоністичної активності [10, 12, 13]. Показано, що штам *E. faecium* RZS C5, виділений з сиру, містить гени ентероцинів А, В і Р але пригнічує ріст виключно *Listeria monocytogenes* [12]. В той же час, у штаму *E. faecium* GM1, що пригнічував ріст *E. coli*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, в результаті ПЛР аналізу виявлено тільки ген ентероцину Р [10].

Таким чином, антагоністична дія досліджених у роботі штамів ентерококів може бути зумовлена продукцією біологічно активних метаболітів, а саме бактеріоцинів чи їх комплексами. Аналіз даних літератури та отримані результати, а саме відсутність зв'язку між наявністю генів ентероцинів А, В і Р та спектром дії, дає підстави припустити, що антагоністична дія може бути зумовлена ентероцинами, наявність генів яких не вивчалася у роботі, чи іншими бактеріоциноподібними речовинами. Штами даної колекції є перспективними для подальшого дослідження з метою виділення і вивчення нових біологічно активних речовин з антимікробною дією.

*Автор висловлює подяку старшому науковому співробітнику відділу фізіології промислових мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, к.б.н. Зелений Л.Б. за участь у проведенні молекулярно-генетичних досліджень.*

UDK57. 082. 25

**I.L. Garmasheva**

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine  
Zabolotny str, 154, Kyiv-143, Ukraine 03143,  
tel.: +38 (044) 526 23 29, e-mail: inna.garmasheva@gmail.com

## OCCURRENCE OF ENTEROCIN GENES AMONG ENTEROCOCCI STRAINS ISOLATED FROM HUMAN GASTROINTESTINAL TRACT

### Summary

**Aim.** To investigate the presence of genes of the most common enterocins A, B and P and to compare antagonistic activity spectra and presence of enterocin genes among enterococci strains, isolated from gastrointestinal tract of elderly people. **Methods.** Polymerase chain reaction with primers specific to genes of enterocin A, B and P and statistical data processing using cluster analysis. **Results.** Genes of enterocin A, B and P were found in 21 from 58 (64%) enterococci strains, and in 13 strains were found two enterocin genes, and in 3 strains – genes of enterocin A, B and P. The strains with narrow antagonistic spectrum harbored gene combinations A/B/P, A/B, or one of the enterocin genes. The strains with wide antagonistic spectrum also harbored from 1





to 3 enterocin genes. No relation of antagonistic spectra from *Enterococcus* species was found. The presence of gene enterocin A, gene combinations A/B and A/B/P was found only in *E. faecium* strains. **Conclusions.** Gene of enterocin P and gene combination A/P were the most frequent among enterococci strains used. The spectrum of antagonistic activity does not depend on *Enterococcus* species and presence of enterocin genes A, B and P.

*Key words:* enterococci, antagonistic activity, enterocin genes.

УДК 57. 082. 25

**І.Л. Гармашева**

Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины, ул. академика Заболотного, 154, Киев-143, Украина 03143,  
тел.: +38 (044) 526 23 29, e-mail: inna.garmasheva@gmail.com

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ ГЕНОВ ЭНТЕРОЦИНОВ СРЕДИ ШТАММОВ ЭНТЕРОКОККОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЧЕЛОВЕКА

### Реферат

**Цель.** Определить наличие генов наиболее распространенных энтероцинов A, B и P и сравнить спектры антагонистической активности и наличия генов энтероцинов у штаммов энтерококков, выделенных из желудочно-кишечного тракта людей пожилого возраста. **Методы.** Полимеразная цепная реакция с праймерами, специфическими к генам энтероцинов A, B и P, и статистическая обработка данных с использованием кластерного анализа. **Результаты.** Гены энтероцинов A, B и P обнаружены у 21 из 58 (64%) штаммов энтерококков, причем у 13 штаммов обнаружено по два разных гена, а у трех штаммов – гены энтероцинов A, B и P. Штаммы с узким спектром антагонистического действия содержали комбинации генов A/B/P, A/B, или один из генов энтероцинов. Штаммы с широким спектром активности также содержали от 1 до 3 генов энтероцинов. Не выявлено зависимости спектра антагонистической активности от видовой принадлежности штаммов энтерококков. Наличие гена энтероцина A, комбинация генов A/B и A/B/P была обнаружена исключительно у штаммов вида *E. faecium*. **Выводы.** Наиболее распространенным среди изученных штаммов является ген энтероцина P и комбинация генов A/P. Спектр антагонистической активности изученных штаммов не зависит от видовой принадлежности и наличия генов энтероцинов A, B и P.

*Ключевые слова:* энтерококки, антагонистическая активность, гены энтероцинов.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гармашева І.Л., Коваленко Н.К. Антагоністичні властивості ентерококів, виділених із шлунково-кишкового тракту довгожителів // Мікробіол. журн. – 2008. – Т. 70, № 4. – С. 31–39.



2. Гармашева І.Л., Коваленко Н.К., Зелена Л.Б. Ідентифікація ентерококів // Мікробіол. журн. – 2009. – т. 71, № 2. – С. 3–12.
3. Гармашева І.Л., Коваленко Н.К. Энтероцины – разнообразие, свойства и практическое применение // Мікробіол. журн. – 2011. – т. 73, № 5. – С. 69–76.
4. Aumerich T., Holo H., Havarstein L.S., Hugas M., Garriga M., Nes I.F. Biochemical and genetic characterization of enterocin A from *E. faecium*, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins // Appl. Environ. Microbiol. – 1996. – V. 62, № 5. – P. 1676–1682.
5. Casaus P., Nilsen T., Cintas L.M., Nes I.F., Hernández P.E., Holo H. Enterocin B, a new bacteriocin from *Enterococcus faecium* T136 which can act synergistically with enterocin A // Microbiology. – 1997. – V. 143, № 7. – P. 2287–2294.
6. Cintas L.M., Casaus P., Havarstein L.S., Hernández P.E., Nes I.F. Biochemical and genetic characterization of enterocin P, a novel *sec*-depend bacteriocin from *Enterococcus faecium* P13 with a broad antimicrobial spectrum // Appl. Environ. Microbiol. – 1997. – V. 63, № 11. – P. 4321–4330.
7. Cintas L.M., Casaus M.P., Herranz C., Nes I.F., Hernández P.E. Review: Bacteriocins of lactic acid bacteria // Food Sci. Tech. Int. – 2001. – V. 7, № 4. – P. 281–305.
8. Coccolin L., Foschino R., Comi G., Fortina M.G. Description of the bacteriocins produced by two strains of *Enterococcus faecium* isolated from Italian goat milk // Food Microbiol. – 2007. – V. 24, № 7–8. – P. 752–758.
9. Franz C. M. A. P., van Belkum M. J., Holzapfel W. H., Abriouel H. and Gálvez A. Diversity of enterococcal bacteriocins and their grouping in a new classification scheme // FEMS Microbiol. Rev. – 2007. – V. 31, № 3. – P. 293–310.
10. Kang J.H., Lee M.S. Characterization of a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* GM-1 isolated from an infant // J. Appl. Microbiol. – 2005. – V. 98, № 5 – P. 1169–1176.
11. Klaenhammer T.R. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria // FEMS Microbiol. Rev. – 1993. – V. 12. № 1-3. – P. 39–86.
12. Moreno M.R.F., Callewaert R., Devreese B., Van Beeumen J. and De Vuyst L. Isolation and biochemical characterisation of enterocins produced by enterococci from different sources // J. Appl. Microbiol. – 2003. – V. 94, № 2. – P. 214–229.
13. Ogaki M.B., Rocha K.R., Terra M.R., Furlaneto M.C., Maia L.F. Screening of the enterocin-encoding genes and antimicrobial activity in *Enterococcus* species // J. Microbiol. Biotechnol. – 2016. – doi: 10.4014/jmb.1509.09020.
14. Ozdemir G.B., Oryaşin E., Biyik H.H., Ozteber M., Bozdoğan B. Phenotypic and genotypic characterization of bacteriocins in enterococcal isolates of different sources // Indian J Microbiol. – 2011. – V. 51, № 2. – P. 182–187.
15. Yost C.K., Nattress F.M. The use of multiplex PCR reactions to characterize populations of lactic acid bacteria associated with meat spoilage // Lett. Appl. Microbiol. – 2000. – V. 31, № 5. – P. 129–133.

## REFERENCES

1. Harmasheva IL, Kovalenko NK. Antagonistic properties of enterococci isolated from gastrointestinal tract of long-livers. *Microbiol Z.* 2008;70(4):31-39.
2. Harmasheva IL, Kovalenko NK, Zelena LB. Identification of enterococcus strains. *Microbiol Z.* 2009;71(2):3-12.
3. Garmasheva IL, Kovalenko NK. Enterocins – diversity, properties and practical use. *Microbiol Z.* 2011;73(5):69-76.
4. Aymerich T, Holo H, Havarstein LS, Hugas M, Garriga M, Nes IF. Biochemical and genetic characterization of enterocin A from *E. faecium*, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins. *Appl Environ Microbiol.* 1996;62(5):1676-1682.
5. Casaus P, Nilsen T, Cintas LM, Nes IF, Hernández PE, Holo H. Enterocin B, a new bacteriocin from *Enterococcus faecium* T136 which can act synergistically with enterocin A. *Microbiology.* 1997;143(7):2287-2294.
6. Cintas LM, Casaus P, Håvarstein LS, Hernández PE, Nes IF. Biochemical and genetic characterization of enterocin P, a novel sec-depend bacteriocin from *Enterococcus faecium* P13 with a broad antimicrobial spectrum. *Appl Environ Microbiol.* 1997;63(11):4321-4330.
7. Cintas LM, Casaus MP, Herranz C, Nes IF, Hernández PE. Review: Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Food Sci. Tech. Int.* 2000;7(4): 281-305.
8. Cocolin L, Foschino R, Comi G, Fortina MG. Description of the bacteriocins produced by two strains of *Enterococcus faecium* isolated from Italian goat milk. *Food Microbiol.* 2007;24(7-8):752-758.
9. Franz CMAP, van Belkum M J, Holzappel WH, Abriouel H and Gálvez A. Diversity of enterococcal bacteriocins and their grouping in a new classification scheme. *FEMS Microbiol Rev.* 2007;31(3):293-310.
10. Kang JH, Lee MS. Characterization of a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* GM-1 isolated from an infant. *J Appl Microbiol.* 2005;98(5):1169-1176.
11. Klaenhammer TR. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev.* 1993;12(1-3):39-86.
12. Moreno MRF, Callewaert R, Devreese B, Van Beeumen J and De Vuyst L. Isolation and biochemical characterisation of enterocins produced by enterococci from different sources. *J Appl Microbiol.* 2003;94(2):214-229.
13. Ogaki MB, Rocha KR, Terra MR, Furlaneto MC, Maia LF. Screening of the enterocin-encoding genes and antimicrobial activity in *Enterococcus* species. *J Microbiol Biotechnol.* 2016;doi: 10.4014/jmb.1509.09020.
14. Ozdemir GB, Oryaşın E, Biyik HH, Ozteber M, Bozdoğan B. Phenotypic and genotypic characterization of bacteriocins in enterococcal isolates of different sources. *Indian J Microbiol.* 2011;51(2):182-187.
15. Yost CK, Nattress F.M. The use of multiplex PCR reactions to characterize populations of lactic acid bacteria associated with meat spoilage. *Lett Appl Microbiol.* 2000;31(5):129-133.

Стаття надійшла до редакції 12.05.2016 р.

