مقاله پژوهشی

کنترل زیستی لیستریا مونوسیتوژنز توسط لاکتوباسیلوس روتری به همراه عصاره آبی سیر در محیط آزمایشگاهی

سرور خلیلی صدقیانی[1]*، حسین تاجیک[2]، جواد علی‌اکبر لو[3]، شادیه محمدی[4]، علی کاظم نیا[5]

تاریخ دریافت ۱۳۹۵/۰۲/۲۶ تاریخ پذیرش ۱۳۹۵/۰۵/۲۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: طبیعت منحصربه‌فرد لیستریا مونوسیتوژنز و توانایی رشد در درجه حرارت‌های یخچالی، لیستریا مونوسیتوژنز را به یک تهدید جدی برای ایمنی محصولات گوشتی آماده مصرف تبدیل کرده است. مشخص‌شده است که باکتری‌های اسیدلاکتیک در مهار لیستریا مونوسیتوژنز در فراورده‌های گوشتی ازجمله گوشت تازه و پخته مؤثر می‌باشند. پری‌بیوتیک‌ها در بسیاری از مواد غذایی ازجمله سیر وجود دارند که رشد لاکتوباسیلوس‌ها را تحریک می‌کنند. هدف این مطالعه استفاده از لاکتوباسیلوس روتری همراه با عصاره آبی سیر در کنترل رشد لیستریا مونوسیتوژنز می‌باشد.

مواد و روش کار: ابتدا اثر تحریکی عصاره آبی سیر بر رشد لاکتوباسیلوس روتری در سه غلظت مختلف (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بررسی شد. سپس اثر مهاری لاکتوباسیلوس روتری همراه با عصاره آبی سیر علیه لیستریا مونوسیتوژنز در مدت‌زمان صفر، ۴، ۸ و ۲۴ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که دو غلظت (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره آبی سیر بیشترین اثر تحریکی را بر روی رشد لاکتوباسیلوس روتری داشت. همچنین لاکتوباسیلوس روتری همراه با عصاره آبی سیر به‌طور مؤثر رشد پاتوژن لیستریا مونوسیتوژنز را مهار نمود.

بحث و نتیجه‌گیری: استفاده از عصاره آبی سیر همراه با لاکتوباسیلوس روتری اثر مهاری لاکتوباسیلوس علیه لیستریا مونوسیتوژنز را افزایش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: لیستریا مونوسیتوژنز، لاکتوباسیلوس روتری، کنترل زیستی، عصاره آبی سیر

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هفتم، شماره هفتم، ص ۵۶۹-۵۶۲، مهر ۱۳۹۵

آدرس مکاتبه: ارومیه، کیلومتر ۱۱ جاده سـرو، پردیس نازلو، دانشـکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، تلفن: ۰۹۱۴۳۴۹۱۹۱۱صندوق پستی: ۵۷۱۵۳۱۱۷۷،

Email: sururkhalili@yahoo.com

مقدمه

باکتری گرم مثبت *لیستریا مونوسیتوژنز* می‌تواند در خاک به‌خوبی سیتوزول سلول‌های پستانداران زندگی کند. درنتیجه به‌عنوان یک پاتوژن محیطی، خطر جدی برای ایمنی مواد غذایی مطرح می‌باشد. این ساپروفیت یک پاتوژن داخل سلولی اختیاری است که توانایی ایجاد بیماری‌های تهاجمی شدید در جمعیت‌های انسانی حساس را دارد. عفونت‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* اغلب در ارتباط با شیوع‌های با منشأ غذایی شامل پنیرهای نرم، گوشت و فراورده‌های آن می‌باشد، اما موارد انفرادی این بیماری هم اتفاق می‌افتد. اولین مورد لیستریوز انسانی در سال ۱۹۲۹ در دانمارک توسط Nyfeldt گزارش شد و در سال ۱۹۳۵، Burn نشان داد که *لیستریا مونوسیتوژنز* منجر به عفونت‌های نوزادان تازه متولدشده می‌شود. اولین شیوع لیستریوز انسانی به‌طور مستقیم در ارتباط با آلودگی مواد غذایی با لیستریا بود که توسط Schlech و همکارانش در سال ۱۹۸۳، در اثر استفاده از کلم‌های آلوده در تهیه سالاد کلم گزارش شد. ازآنجایی‌که موارد زیادی از شیوع‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* در ارتباط با اقلام غذایی گوناگون بوده، درنتیجه در غذاهای گران‌قیمت و گسترده و حتی در سلامتی مسافران مدنظر

[1] دانش‌آموخته دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول).

[2] استاد بهداشت مواد غذایی ،دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[3] دانشیار بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[4] دانش آموخته دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[5] کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

می‌باشد. شیوع مرگبار اواخر نیمه دوم ۲۰۱۱، مربوط به طالبی‌های آلوده بود که منجر به بیش از ۳۰ مورد مرگ‌ومیر از ۱۴۷ مورد گزارش‌شده از کشورهای مختلف بود. تقریباً ۶۵درصد از موارد لیستریوز که از مواد غذایی نامطلوب شناسایی‌شده‌اند و با کشت دادن از غذاهای یخچالی که در اختیار بیماران بود تائید شدند. تعداد موارد سالانه از بیماری به علت نظارت گسترده به‌طورکلی کم شده است و سطح نسبتاً بالایی از مقاومت نسبت به عفونت در افراد با ضعف سیستم ایمنی دیده می‌شود. باوجوداین، *لیستریا مونوسیتوژنز* یکی از عوامل بیماری‌زا با منشأ غذایی می‌باشد که میزان بالایی از مرگ‌ومیر را به خود اختصاص می‌دهد. هرچند که عفونت‌های کلینیکی لیستریا نادر می‌باشد ولی شرایط وخیمی را ایجاد می‌کند (۱). این باکتری توانایی خوبی برای کلونیزه شدن و آلوده کردن جفت زنان باردار را دارد و منجر به آلودگی‌های جنینی و یا سقط می‌شود. علاوه بر این *لیستریا مونوسیتوژنز* توانایی ایجاد بیماری‌های تهاجمی در افراد با ضعف سیستم ایمنی ازجمله افراد مسن و افراد با ضعف سیستم ایمنی مثل افرادی که تحت شیمی‌درمانی هستند و یا افرادی که به مدت طولانی از داروهای کورتیکواستروئیدها استفاده می‌کنند را دارد. درحالی‌که تلاش برای درمان عموماً در ارتباط با پاسخ به پیشرفت بیماری می‌باشد، میزان مرگ‌ومیر لیستریوز تقریباً ۵۰-۲۵ درصد بوده و ۵۰-۳۰ درصد از بیمارانی که درمان شده‌اند احتمالاً در آینده عوارضی را درنتیجه ابتلا به این بیماری نشان می‌دهند (۲).

کنترل زیستی عبارت است از بهره‌گیری از فعالیت ضدمیکروبی برخی از میکروارگانیسم‌ها به‌منظور مهار رشد میکروب‌های بیماری‌زا و عامل فساد در غذا. این راهکار زیستی به دنبال به حداقل رساندن افزودنی‌های شیمیایی به غذا ازجمله نیتریت، سدیم کلرید و اسیدهای آلی می‌باشد. به‌دلیل مطلوب بودن روش‌های نگهداری طبیعی تحقیق در زمینه نگهداری زیستی برای فراورده‌های گوشتی فعال باقی‌مانده است. بیشتر تحقیقات درزمینه کنترل زیستی بر روی فعالیت‌های آنتاگونیستی باکتری‌های اسیدلاکتیک علیه باکتری‌های عامل فساد و بیماری‌زا متمرکز است. فعالیت‌های آنتاگونیستی باکتری‌های اسیدلاکتیک علیه سایر باکتری‌ها در غذاها را به مکانیسم‌های متعددی نسبت داده‌اند که شامل: تولید اسیدهای آلی مثل اسیدلاکتیک و اسید استیک و کاهش pH گوشت، تولید H_2O_2، تجزیه مواد غذایی موردنیاز از طریق رقابت با ارگانیسم‌های دیگر، تولید باکتریوسین‌های ضد باکتریایی، تولید متابولیت‌ها با فعالیت ضد باکتریایی مثل دی استیل و روترین می‌باشد. فعالیت‌های ضدمیکروبی متنوع در میزان مختلف توسط گونه‌ها و سویه‌های مختلف باکتری‌های اسیدلاکتیک بیان می‌شود. علاوه بر این فعالیت‌های آنتاگونیستی می‌تواند از حالت باکتریواستاتیکی (مهار رشد) تا باکتریوسیدی (کشتن) متفاوت باشد و ممکن است محدوده گسترده‌ای از باکتری‌ها و یا تنها برخی از گروه‌های میکروارگانیسم‌ها را تحت تأثیر قرار دهد. از اثرات اسیدی کردن باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌منظور نگهداری فراورده‌های تخمیری گوشت استفاده می‌شود. در حال حاضر گونه‌های انتخاب‌شده‌ای از باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌عنوان کشت‌های استارتر معمولاً استفاده می‌شوند. تولید باکتریوسین توسط گونه‌های استارتر به‌دلیل استفاده گسترده این ارگانیسم‌ها و فراورده‌های آن‌ها به‌عنوان کنترل زیستی گوشت توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۳).

بیشتر گونه‌های گیاهی (میوه‌ها و سبزی‌ها) به‌طور طبیعی اسیدهای آلی ازجمله استیک، سیتریک، سوکسینیک، مالیک، تارتاریک، بنزوئیک و آسکوربیک سنتز می‌کنند. علاوه بر این میکروارگانیسم‌هایی از قبیل باکتری‌های اسیدلاکتیک و بیفیدوباکتریوم نیز در اثر تخمیر اسید تولید می‌کنند. اسیدهای آلی رشد سلول‌های باکتری‌ها و قارچ‌ها را مهار می‌کنند. به‌عنوان‌مثال استیک اسید با کاهش pH داخل سلولی از طریق رها کردن پروتون‌ها از مولکول‌های تجزیه نشده به داخل سیتوپلاسم عمل می‌کند؛ و یا لاکتیک اسید سطح نفوذپذیری غشای خارجی سلول‌های باکتری‌ها را تغییر می‌دهد. در معرض قرارگیری با چنین اسیدهایی نفوذپذیری غشای خارجی باکتری‌های گرم مثبت را افزایش می‌دهد (۴). Bajipai و همکاران گزارش کردند که فعالیت ضدمیکروبی فنل‌ها به علت توانایی تغییر نفوذپذیری سلول‌های میکروبی به علت از دست دادن ماکرو مولکول‌ها، تداخل در عملکرد غشا سلول و درنتیجه تغییر ساختاری و عملکردی غشا می‌باشد. فعالیت ضد میکروبی ایزوتیوسیانات‌های مشتق شده از پیاز و سیر مسئول غیرفعال کردن آنزیم‌های خارج سلولی از طریق شکست اکسیداتیو باندهای دی سولفیدی است. همچنین تشکیل رادیکال‌های فعال تیوسیانات اثر ضد میکروبی ایجاد می‌کنند (۵).

گونه‌های گیاهی دارای ترکیبات عملکردی متعدد به‌عنوان فاکتورهای تحریک‌کننده رشد برای پروبیوتیک‌ها هستند. ترکیبات عملکردی ازجمله ترکیبات فنلی، آنتی‌اکسیدان‌ها و عناصر کمیاب نه‌تنها رشد این باکتری‌ها را فعال می‌کند بلکه جمعیت این باکتری‌ها را نیز افزایش می‌دهند. برخی از گونه‌های پروبیوتیک‌ها قادر به متابولیزه کردن ترکیبات فنلی هستند و این ترکیبات نیز به‌عنوان جاروب‌کننده اکسیژن عمل می‌کنند که می‌توانند رشد باکتری‌های پروبیوتیک را افزایش دهند (۶). زمانی که این ترکیبات عملکردی مشتق از گیاهان وارد غذای انسان می‌شوند منجر به تغییرات فیزیولوژیک مفید در میکروفلور لوله گوارشی انسان می‌شوند. پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های مفید در لوله گوارشی انسان

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

هستند که تحت تأثیر این ترکیبات عملکردی طبیعی با منشأ گیاهی قرار می‌گیرند. نشان داده‌شده است که ترکیبات فنلی موجود در توت رشد لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتری‌ها را افزایش می‌دهند (۷). ترکیبات فنلی مثل گالیک اسید و کاتچین به‌طور طبیعی در انگور وجود دارند که رشد *لاکتوباسیلوس هلیگاردی* را افزایش می‌دهد. این تحریکات رشد را می‌توان به توانایی گونه‌های لاکتوباسیلوس در متابولیزه کردن این ترکیبات فنلی نسبت داد که این ترکیبات حاصل از متابولیزه می‌توانند به‌عنوان اثر تحریکی بر روی رشد پروبیوتیک‌ها عمل کنند (۶). گزارش‌شده است که بعد از نوشیدن قهوه یک افزایش قابل‌توجهی در جمعیت بیفیدوباکتری‌های روده افراد سالم ایجاد می‌شود که این عمدتاً به علت حضور ترکیبات فنلی (کلراژنیک اسید) و فیبرهای محلول موجود در قهوه می‌باشد (۸). در مطالعه دیگر گزارش‌شده است که مصرف محصولات انار غنی از تانن توسط انسان جمعیت باکتری‌های روده‌ای که تحت شرایط استرس قرارگرفته بودند را تعدیل نموده است (۹). همچنین گزارش‌شده است که عصاره‌های آبی سیر و فلفل سیاه به‌طور قابل‌توجهی رشد باکتری *لاکتوباسیلوس روتری* را افزایش می‌دهد. همچنین عصاره‌های آبی موز، سیب و پرتقال نیز رشد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس روتری*، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* را افزایش دادند (۱۰). سیر یکی از گیاهان درمانی باستانی می‌باشد که منشأ آن به مناطق مرکزی آسیا بیش از ۶۰۰۰ سال برمی‌گردد. درمان بر پایه سیر از ۵۰۰۰ سال پیش در هند و از ۳۰۰۰ سال پیش از چین شروع‌شده است. اثرات فیزیولوژیک سیر اساساً به علت حضور ترکیبات گوگردی فرار مثل تیوسولفات می‌باشد که بوی تند و طعم خاصی هم به سیر می‌دهد. به علت اثرات مفید سیر امروزه توصیه می‌شود به‌عنوان مکمل غذایی استفاده شود. تحقیقات علمی و آزمایش‌های کلینیکی متعددی در طول چند دهه اخیر به‌منظور تعیین اثرات مفید سیر انجام‌شده است. مطالعات متعددی فعالیت عملکردی سیر شامل جاروب کردن رادیکال‌های آزاد، تحریک سیستم ایمنی، پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی، خاصیت ضد سرطانی، ضدعفونی‌کنندگی و هزاران خاصیت مفید دیگر را گزارش کرده‌اند (۱۱). علاوه بر این سیر به‌عنوان یک ماده غذایی پری‌بیوتیک حاوی فروکتان می‌باشد. بیفیدوباکتری‌ها و برخی از باکتری‌های اسیدلاکتیک رشدشان در حضور فروکتان‌ها در کلون تحریک می‌شود و درنتیجه منجر به تغییرات قابل‌توجهی در ترکیب میکروب‌های لوله گوارشی با افزایش بالقوه تعداد باکتری‌های تحریک‌کننده سلامتی و کاهش تعداد گونه‌های بیماری‌زا برای انسان می‌شود (۱۲). مطالعات زیادی در مورد اثر تحریکی عصاره برخی از گیاهان بر روی باکتری‌های اسیدلاکتیک ازجمله *لاکتوباسیلوس روتری* انجام‌شده است که می‌توان به مطالعه ساترلند و همکارانش در ۲۰۰۹ اشاره نمود که اثرات عصاره‌های غذایی بر روی پروپیوتیک‌های انتخاب‌شده و باکتری‌های پاتوژن را در محیط آزمایشگاهی بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره‌های آبی سیر و فلفل سیاه رشد گونه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس روتری* را به‌طور چشمگیری افزایش داد درحالی‌که رشد گونه‌های ایکلای در رقت ۱: ۵۰ مهار کرد (۱۰). هدف این مطالعه ارزیابی اثر تحریکی عصاره آبی سیر بر روی رشد *لاکتوباسیلوس روتری* و اثر مهاری *لاکتوباسیلوس روتری* همراه با عصاره آبی سیر علیه پاتوژن *لیستریا مونوسیتوژنز* می‌باشد.

مواد و روش کار

تهیه عصاره آبی سیر

سیر از بازار ارومیه خریداری شد و پس از خشک‌کردن توسط آسیاب برقی خرد گردید. ۱۰۰ گرم از پودر حاصل با یک لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت یک ساعت رفلاکس شد. عصاره حاصل در چندین مرحله صاف گردید. بدین‌صورت که ابتدا عصاره‌ها از تامپون عبور داده شدند تا ذرات درشت‌تر گرفته شوند، سپس عصاره‌ها با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴۲ و پمپ خلأ، ۲ بار فیلتر گردید. عصاره صاف‌شده در دستگاه روتاری تغلیظ و در ظروف پیرکس درب‌دار ریخته و لیوفیلیزه گردید. نمونه‌های حاصل به‌صورت پودری درآمده و تا زمان آزمایش‌ها در دمای یخچال و در تاریکی نگهداری شد. به نمونه‌های حاصل از این مرحله عصاره آبی گفته می‌شود (۱۳).

بررسی اثر تحریکی عصاره آبی سیر بر لاکتوباسیلوس روتری

در لوله‌آزمایش حاوی ۴/۸ سی‌سی MRS براث، به‌علاوه ۱۰۰ میکرو لیتر از باکتری *لاکتوباسیلوس روتری* (10^7cfu/ml) همراه با ۱۰۰ میکرو لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره آبی سیر (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه و به مدت ۲۴ ساعت در جار استریل حاوی گازپک نوع C (شرایط میکروآئروفیل) انکوبه شد. سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از هر تیمار بر روی محیط کشت MRS آگار در سه تکرار کشت و در جار حاوی گاز پک نوع C به مدت ۴۸-۲۴ ساعت انکوبه گردید. سپس کلنی‌ها شمارش و اثر تحریکی عصاره آبی سیر بر روی *لاکتوباسیلوس روتری* ارزیابی گردید (۱۴).

بررسی اثر مهاری ترکیب عصاره آبی سیر و *لاکتوباسیلوس روتری* بر روی رشد *لیستریا مونوسیتوژنز*

به‌منظور ارزیابی اثر مهاری ترکیب عصاره آبی سیر و *لاکتوباسیلوس روتری*، دو غلظت (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) از سیر انتخاب و همراه با *لاکتوباسیلوس روتری* مورد ارزیابی قرار گرفتند. تیمارها عبارت بودند از:

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

تیمار ۱: ۱۰۰ میکرو لیتر از باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* (10^5cfu/ml) و ۴/۹ سی‌سی محیط کشت BHI براث.

تیمار ۲: ۱۰۰ میکرو لیتر از باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* به همراه ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره آبی سیر با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۴/۸ سی‌سی BHI براث.

تیمار ۳: ۱۰۰ میکرو لیتر از باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* به همراه ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره آبی سیر با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۴/۸ سی‌سی BHI براث.

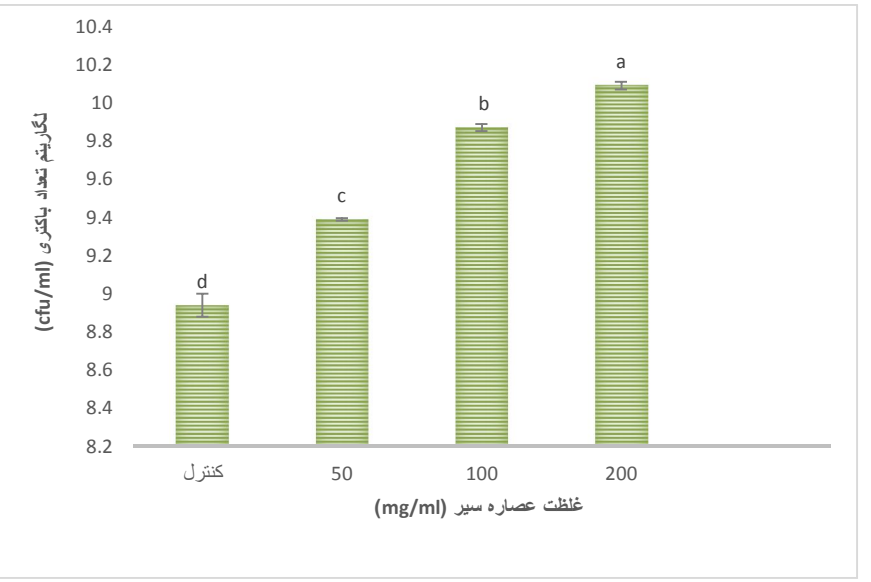
تیمار ۴: ۱۰۰ میکرو لیتر از باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* به همراه ۱۰۰ میکرو لیتر از باکتری *لاکتوباسیلوس روتری* همراه با ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره آبی سیر با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۴/۷ سی‌سی BHI براث.

تیمار ۵: ۱۰۰ میکرو لیتر از باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* به همراه ۱۰۰ میکرو لیتر از باکتری *لاکتوباسیلوس روتری* همراه با ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره آبی سیر با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۴/۷ سی‌سی BHI براث.

سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از رقت‌های تهیه‌شده از هر تیمار بر روی محیط کشت لیستریا کروم آگار به روش کشت سطحی در زمان‌های صفر، چهار، هشت و بیست‌وچهار ساعت کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، کلنی‌ها شمارش شدند (۱۵).

یافته‌ها

برخی از مواد غذایی دارای ترکیبات پری‌بیوتیکی هستند و رشد گونه‌های پروبیوتیک را افزایش می‌دهند. درعین‌حال رشد پاتوژن‌های با منشأ غذایی را کاهش یا متوقف می‌کنند. در این مطالعه از عصاره آبی سیر به‌عنوان عامل پری‌بیوتیک در تحریک رشد باکتری پروبیوتیک استفاده شد. نمودار شماره ۱ اثر تحریکی عصاره آبی سیر را در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان می‌دهد. مطابق این نمودار بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری *لاکتوباسیلوس روتری* با غلظت اولیه 10^7cfu/ml (۷ لگاریتم) در گروه کنترل که فقط حاوی *لاکتوباسیلوس روتری* بود به ۸/۹۴ لگاریتم، در گروه *لاکتوباسیلوس روتری* به همراه غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی سیر به ۹/۳۹ لگاریتم، در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی سیر به ۹/۸۷ لگاریتم و در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی سیر به ۱۰/۰۹ لگاریتم رسید که نشان‌دهنده اثر تحریکی عصاره آبی سیر بر رشد *لاکتوباسیلوس روتری* است. لازم به ذکر است این اثر تحریکی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی سیر چشمگیرتر بود، لذا این دو غلظت برای ادامه کار انتخاب شدند. به‌منظور مطالعه بیشتر، در ادامه کار در شرایط آزمایشگاهی اثر مهاری ترکیب *لاکتوباسیلوس روتری* همراه با عصاره آبی سیر علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* در زمان‌های صفر، ۴، ۸ و ۲۴ ساعت بررسی شد (جدول شماره ۱). نتایج نشان داد که *لاکتوباسیلوس روتری* به‌تنهایی ۰/۵۸ لگاریتم تعداد پاتوژن *لیستریا مونوسیتوژنز* را نسبت به گروه کنترل کاهش داد. این در حالی است که با اضافه شدن عصاره آبی سیر با غلظت (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به‌ترتیب ۱/۹۸ و ۲/۱۳ لگاریتم تعداد *لیستریا مونوسیتوژنز* را نسبت به گروه کنترل کاهش داد.



نمودار (۱): ارزیابی اثر تحریکی عصاره آبی سیر بر رشد لاکتوباسیلوس روتری

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

جدول (۱): اثر مهاری ترکیب عصاره آبی سیر، لاکتوباسیلوس روتری بر روی رشد لیستریامونوسیتوژنز

تیمار	زمان گرمخانه گذاری (ساعت)			
	صفر	۴	۸	۲۴
LM	۵/۰۳±۰/۰۱^{a}	۵/۸۸ ±۰/۰۳ ^{a}	۶/۴۷ ±۰/۰۹ ^{a}	۹/۳۵ ±۰/۰۴ ^{a}
LM + G100	۵/۰۰±۰/۰۱^{a}	۵/۷۶±۰/۰۳^{a}	۵/۸۳±۰/۰۴^{c}	۸/۳۵±۰/۰۸^{c}
LM+ G200	۵/۰۰±۰/۰۱^{a}	۵/۴۴±۰/۰۶ ^{b}	۵/۷۰±۰/۰۲^{c}	۸/۱۶±۰/۰۸^{d}
LM+LR	۵/۰۳±۰/۰۱^{a}	۵/۷۹±۰/۰۲^{a}	۶/۰۶±۰/۰۲^{b}	۸/۷۷±۰/۰۳^{b}
LM+LR+ G100	۵/۰۲±۰/۰۲^{a}	۵/۴۲±۰/۰۴^{b}	۵/۷۱±۰/۰۴^{c}	۷/۳۷±۰/۰۲^{e}
LM+LR+ G200	۵/۰۳±۰/۰۱^{a}	۵/۲۵±۰/۰۳^{c}	۵/۴۹±۰/۰۵^{d}	۷/۲۲±۰/۰۴^{f}

حروف کوچک انگلیسی مختلف در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار ($p <$ ۰/۰۵) می‌باشد.

لیستریا مونوسیتوژنز= LM لاکتوباسیلوس روتری= LR سیر با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر= G100 سیر با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر= G200

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه مطالعات زیادی در زمینه کنترل زیستی عوامل بیماری‌زا صورت گرفته است که از بین میکروارگانیسم‌هایی که در زمینه کنترل زیستی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند می‌توان به باکتری‌های لاکتیک اسید اشاره نمود. در این مطالعه از عصاره آبی سیر به‌عنوان عامل پری‌بیوتیک در تحریک رشد گونه‌های پروبیوتیکی استفاده شد. نمودار شماره ۱ اثر تحریکی عصاره آبی سیر را در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان می‌دهد. مطابق این نمودار دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر تحریکی چشمگیری در رشد *لاکتوباسیلوس روتری* نشان دادند و برای مرحله دوم کار انتخاب شدند. سپس اثر مهاری ترکیب *لاکتوباسیلوس روتری* و عصاره آبی سیر علیه پاتوژن *لیستریا مونوسیتوژنز* بررسی شد. نتایج حاصل نشان داد که ترکیب *لاکتوباسیلوس روتری* و عصاره آبی سیر نسبت به حالت تکی *لاکتوباسیلوس روتری* و عصاره سیر در کنترل رشد *لیستریا مونوسیتوژنز* در محیط آزمایشگاهی مؤثرتر بود. مطالعات زیادی در این زمینه انجام‌شده است ازجمله می‌توان به موارد ذیل اشاره نمود. مطالعه اثرات پری‌بیوتیکی فروکتان سیر در آزمایشگاه در سال ۲۰۱۳ توسط Zhang و همکاران موردبررسی قرار گرفت نتایج آن‌ها مشخص نمود که سیر رشد باکتری‌های باکتریوئیدس و بیفیدوباکتر روده را افزایش داد (۱۶). در سال ۲۰۰۹ ساترلند و همکارانش اثرات ۱۴۸ عصاره گیاهی را بر روی پروبیوتیک‌های انتخاب‌شده و باکتری‌های پاتوژن را در محیط آزمایشگاهی بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره آبی سیر و فلفل سیاه رشد گونه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس روتری* را به‌طور چشمگیری افزایش داد، درحالی‌که رشد گونه‌های ایکلای را مهار کرد (۱۰). Lacombe و همکارانش در سال ۲۰۱۲ خصوصیات ضد میکروبی بلوبری را علیه پاتوژن‌های غذایی (*لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تایفی موریوم* و *اشرشیا کلی*) و حفاظت پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* را بررسی کردند نتایج آن‌ها مشخص کرد که *لیستریا مونوسیتوژنز* از بین باکتری‌های مطالعه شده بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره بلوبری نشان داد و باکتری پروبیوتیک تحت تأثیر قرار نگرفت (۱۷). راتنا و همکارانش در سال ۲۰۱۲ اثر ضدمیکروبی عصاره پلی فنلی گل اقاقیا را بر روی برخی از باکتری‌های پاتوژن و اثر تحریکی رشد بر روی پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ارزیابی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره پلی فنلی اقاقیا اثر مهاری علیه پاتوژن‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا فلکسنری*، *سالمونلا تایفی موریوم*، *اشرشیا کلی* و *ویبریوکلرا* نشان داد درعین‌حال رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را تحریک نمود (۱۴). آرنواد و همکارانش در سال ۲۰۰۷ خصوصیات باکتری‌های اسیدلاکتیک مولد باکتریوسین را با استفاده از یک محیط طراحی‌شده به‌منظور تحریک مهار *لیستریا مونوسیتوژنز* توسط *لاکتوباسیلوس ساکائی* ۲۵۱۲ بر روی گوشت مطالعه کردند نتایج آن‌ها نشان داد که دو گونه *لوکونوستوک سودومزنتریدوس* ۲۷۳۳ و *لاکتوباسیلوس کورواتوس* ۲۷۱۱ از بین ۲۰۱ باکتری اسیدلاکتیک انتخاب‌شده، تولید باکتریوسینی می‌کنند که علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* فعالیت مهاری دارد (۱۸). آنا و همکارانش در

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

سال ۲۰۱۲ فعالیت ضد باکتریایی باکتری‌های اسیدلاکتیک جداشده از پنیر گولگا را علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* بررسی کردند که از بین ۸۰۰ گونه باکتری اسیدلاکتیک جداسازی شده تقریباً یک‌سوم از گونه‌ها فعالیت آنتاگونیستی علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* نشان دادند (۱۹). کاستلانو و همکارانش در سال ۲۰۰۸ از باکتریوسین‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌عنوان کشت حفاظتی در محصولات گوشت تازه استفاده کردند نتایج آن‌ها نشان داد که باکتریوسین‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک نقش مهمی در کنترل میکروارگانیسم‌های عامل فساد و پاتوژن‌هایی مثل *لیستریا اینوکوا* و *بروکوتریکس ترموسفاکتا* دارند (۲۰). در سال ۲۰۰۶ Teixeira و همکاران مهار باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* توسط باکتری اسیدلاکتیک جداسازی شده از گوشت خوک و گوشت گاو را نشان دادند (۲۱). مطالعات دیگری نیز در مورد مهار سایر پاتوژن‌ها توسط لاکتوباسیل‌ها انجام‌شده است ازجمله می‌توان به مطالعات ذیل اشاره نمود. در سال ۲۰۱۴ Cálix-Lara و همکاران نیز مهار *اشرشیا کلی* O157: H7 در اسفناج توسط مواد ضد باکتریایی تولیدشده توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک بررسی کردند، آن‌ها برگ‌های اسفناجی که پاتوژن‌های مذکور و باکتری‌های اسیدلاکتیک را به آن‌ها تلقیح کرده بودند را به مدت ۱۲ روز در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که مواد ضد میکروبی تولیدی توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک به میزان چشمگیری رشد *اشرشیا کلی* O157: H7 و *سالمونلا انتریکا* را مهار می‌کنند (۲۲). Miyazaki و همکاران در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۰ انجام دادند، نشان دادند که *لاکتوباسیلوس کازئی* اثر مهاری معنی‌داری بر *اشرشیاکلی* O157: H7 دارند، اما اثر مهاری هنگامی‌که pH به محدوده خنثی می‌رسد کاهش می‌یابد بنابراین می‌توان نتیجه گرفت خاصیت ضد باکتریایی لاکتوباسیل‌ها تا حد زیادی مربوط به اسیدلاکتیک تولیدشده آن‌هاست (۲۳). با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که باکتری‌های اسیدلاکتیک ازجمله *لاکتوباسیلوس روتری* و عصاره آبی سیر به‌عنوان کنترل زیستی در کنترل رشد عوامل بیماری‌زا با منشأ غذایی ازجمله *لیستریا مونوسیتوژنز* مؤثر می‌باشند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله لازم می‌دانند تا از جناب آقای از دکتر خاصه خان، دکتر مهدی برهانی، مهندس آرمن بدلی، مهندس رضا حدادی سلماسی و مهندس سهیلا دیبا به خاطر زحماتشان در انجام مراحل مختلف این تحقیق تشکر و قدردانی نمایند.

References:

1. Le DT, Dubenksy TW, Brockstedt DG. Clinical development of Listeria monocytogenes-based immunotherapies. Semin Oncol 2012;39(3):311–22.
2. Hohmann E. Portnoy, Infections caused by Listeria monocytogenes. Kasper DL, Fauci AS ,Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, 2008: 895-7.
3. Yost CK., Biopreservation, in Encyclopedia of Meat Sciences. 2nd ed. Oxford: Academic Press; 2014. P. 76-82.
4. Derrickson-Tharrington E, Kendall PA, Sofos JN. Inactivation of Escherichia coli O157: H7 during storage or drying of apple slices pretreated with acidic solutions. Int J food Microbiol 2005;99(1):79–89.
5. Bajpai VK, Rahman A, Dung NT, Huh MK, Kang SC. In vitro inhibition of food spoilage and foodborne pathogenic bacteria by essential oil and leaf extracts of Magnolia liliflora Desr. J Food Sci 2008;73(6):M314-320.
6. Alberto MR, Farías ME, Manca De Nadra MC. Effect of gallic acid and catechin on Lactobacillus hilgardii 5w growth and metabolism of organic compounds. J Agric Food Chem 2001;49(9):4359–63.
7. Tabasco R, Sánchez-Patán F, Monagas M, Bartolomé B, Victoria Moreno-Arribas M, Peláez C, et al. Effect of grape polyphenols on lactic acid bacteria and bifidobacteria growth: resistance and metabolism. Food Microbiol 2011;28(7):1345–52.
8. Jaquet M, Rochat I, Moulin J, Cavin C, Bibiloni R. Impact of coffee consumption on the gut microbiota: a human volunteer study. Int J Food Microbiol 2009;130(2):117–21.
9. Bialonska D, Kasimsetty SG, Schrader KK, Ferreira D. The effect of pomegranate (Punica

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

granatum L.) byproducts and ellagitannins on the growth of human gut bacteria. J Agric Food Chem 2009;57(18):8344–9.

10. Sutherland J, Miles M, Hedderley D, Li J, Devoy S, Sutton K, et al. In vitro effects of food extracts on selected probiotic and pathogenic bacteria. Int J Food Sci Nutr 2009;60(8):717–27.
11. Raman P, Dewitt DL, Nair MG. Lipid peroxidation and cyclooxygenase enzyme inhibitory activities of acidic aqueous extracts of some dietary supplements. Phytother Res 2008;22(2):204–12.
12. Qiang X, YongLie C, QianBing W. Health benefit application of functional oligosaccharides. Carbohydrate Polymers 2009;77(3):435–41.
13. Aliakbarlu J, Tajik H. Antioxidant and antibacterial activities of various extracts of Borago officinalis flowers. J Food Processing Preservation 2012;36(6):539–44.
14. China R, Mukherjee S, Sen S, Bose S, Datta S, Koley H, et al. Antimicrobial activity of Sesbania grandiflora flower polyphenol extracts on some pathogenic bacteria and growth stimulatory effect on the probiotic organism Lactobacillus acidophilus. Microbiol Res 2012;167(8):500–6.
15. Belfiore C, Castellano P, Vignolo G. Reduction of Escherichia coli population following treatment with bacteriocins from lactic acid bacteria and chelators. Food Microbiol 2007;24(3):223–9.
16. Zhang N, Huang X, Zeng Y, Wu X, Peng X. Study on prebiotic effectiveness of neutral garlic fructan in vitro. Food Sci Hum Wellness 2013;2(3):119–123.
17. Lacombe A, Wu VCH, White J, Tadepalli S, Andre EE. The antimicrobial properties of the lowbush blueberry (Vaccinium angustifolium) fractional components against foodborne pathogens and the conservation of probiotic Lactobacillus rhamnosus. Food Microbiol 2012;30(1):124–31.
18. Héquet A, Laffitte V, Simon L, De Sousa-Caetano D, Thomas C, Fremaux C, et al. Characterization of new bacteriocinogenic lactic acid bacteria isolated using a medium designed to simulate inhibition of Listeria by Lactobacillus sakei 2512 on meat. Int J Food Microbiol 2007;113(1):67–74.
19. Ghrairi T, Manai M, Berjeaud JM, Frere J. Antilisterial activity of lactic acid bacteria isolated from rigouta, a traditional Tunisian cheese. J Appl Microbiol 2004;97(3):621–8.
20. Castellano P, Belfiore C, Fadda S, Vignolo G. A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. Meat Sci 2008;79(3):483–99.
21. de Carvalho AAT, de Paula RA, Mantovani HC, de Moraes CA. Inhibition of Listeria monocytogenes by a lactic acid bacterium isolated from Italian salami. Food Microbiol 2006;23(3):213–9.
22. Cálix-Lara TF, Rajendran M, Talcott ST, Smith SB, Miller RK, Castillo A, et al. Inhibition of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica on spinach and identification of antimicrobial substances produced by a commercial Lactic Acid Bacteria food safety intervention. Food Microbiol 2014;38:192–200.
23. Miyazaki Y, Kamiya S, Hanawa T, Fukuda M, Kawakami H, Takahashi H, et al. Effect of probiotic bacterial strains of Lactobacillus, Bifidobacterium, and Enterococcus on enteroaggregative Escherichia coli. J Infect Chemother 2010;16(1):10–8.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

Original Article

BIOCONTROL OF LISTERIA MONOCYTOGENES BY LACTOBACILLUS REUTERI ALONG WITH AQUEOUS EXTRACT OF GARLIC IN VITRO

Surur Khalili Sadaghiani[1], Hossein Tajik[2], Javad Aliakbarlu[3], Shadiehe Mohammadi [4], Ali Kazemnia[5]*

Received: 16 May, 2016; Accepted: 11 Aug, 2016

Abstract

Background & Aims: The ubiquitous nature of *Listeria monocytogenes* and its ability to grow at refrigerated temperature makes *L. monocytogenes* a serious threat to the safety of ready-to-eat (RTE) meat products. Lactic acid bacteria (LAB) have been found to be effective in inhibiting *L. monocytogenes* in food products such as fresh and cooked meats. Prebiotics exist in many foodstuffs such as garlic which stimulates the growth of lactobacilli. The aim of this study was to use Lactobacillus *reuteri* together with aqueous extract of garlic for controlling the growth of *Listeria monocytogenes*.

Materials & Methods: First stimulatory effect of water extract of garlic in different concentrations (50, 100 and 200 mg/ml) on the growth of *L. reuteri* was evaluated. Then, inhibitory effect of *L. reuteri* along with aqueous extract of garlic against *Listeria monocytogenes* was investigated for 0, 4, 8 and 24 h.

Results: The results of this study showed that two concentration (100 and 200 mg/ml) of aqueous extracts of garlic had highest stimulatory effect on Lactobacillus reuteri growth. Also *L. ruteri* along with garlic extract significantly inhibited the growth of *listeria monocytogenes*.

***Conclusion*:** The application of garlic extract along with lactobacillus ruteri may increase the inhibitory effect of lactobacillus against listeria monocytogenes.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus reuteri*, BioControl, Aqueous extract of garlic

Address: Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
Tel: +984412972620
Email: sururkhalili@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2016: 27(7): 569 ISSN: 1027-3727

[1] *PhD of Food Hygiene and Quality Control, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author)*
[2]. *Professor of Food Hygiene and Quality Control, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*
[3] *Associate Professor of Food Hygiene and Quality Control, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*
[4] *PhD of Food Hygiene and Quality Control, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*
[5] *Master in Bacteriology, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]