✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۴۰، ۴۱، ۴۲ بهار ۱۳۷۸

اثر ضد لیستریایی تعدادی از باکتریهای لاکتیک

● **جلیل وندیوسفی**، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقاتی رازی ● **آزیتا اهورائی**، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شمال تهران ● **صدیقه مهرابیان**، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شمال تهران

تاریخ دریافت: مهر ماه ۱۳۷۷

چکیده

اثر ضد میکروبی ۸ باکتری لاکتیک بر روی *Listeria monocytogenes* در طی ۷ آزمایش مختلف بررسی شد. این روشها عبارت بودند از تأثیر مستقیم باکتریهای لاکتیک، تأثیر سوپرناتنت باکتریهای لاکتیک، کشت نقطه‌ای باکتریهای لاکتیک، روش دیسک کاغذی آغشته به باکتریهای لاکتیک، جداسازی مواد باکتریوسین مانند با استفاده از اتانل ۹۵٪، روش استفاده از محیط کشت نیمه جامد و تهیه نمودار مهار شده و pH، به جز روش آخر، در سایر روشها باکتریهای لاکتیک در محیط کشت آغشته به 10^3cfu *Listeria monocytogenes* بررسی شدند. هر ۶ باکتری لاکتیک اثر ضد لیستریایی نشان دادند. ۳ تای آنها *Lactobacillus lactis* و *Lactobacillus fermantum* و *Lactobacillus delbruckii* با مقادیر کمتر (۲۰ میکرولیتر) نیز اثر ضد باکتریایی نشان دادند و برای مطالعه خاصیت ضد لیستریایی این ۳ باکتری، نمودار مهار رشد و pH تهیه شد. این ۳ باکتری در دمای ۱ ± ۲۸ درجه سانتیگراد اثر بازدارندگی سریعتری از خود نشان دادند تا در دمای ۴ درجه سانتیگراد (عموماً ظرف ۲۴ ساعت مجاورت). به طوری که فعالیت *Lactobacillus lactis* در دمای ۴ درجه سانتیگراد بسیار کند بود. همچنین خصوصیت ضد لیستریایی این باکتریها در ماده زمینه (ماتریکس) مواد غذایی (میگو) مورد آزمایش قرار گرفت. در میگوی آغشته به *Lactobacillus fermantum* و *Lactobacillus delbruckii* جمعیت باکتریهای *Listeria monocytogenes* پس از ۲۰ ساعت در ۴ درجه سانتیگراد به $\frac{1}{2}$ و $\frac{1}{3}$ به ترتیب کاهش یافت.

✓ **Pajouhesh & Sazandegi, No 40, 41, 42 PP: 134-136**

The anti listerial effect of some lactic acid bacteria

By: Vand Yousefi J., Razi Institute, Mehrabian S., Ahouraie A., Azad Islamic University, North Branch of Tehran

The antimicrobial effect of eight lactic acid bacteria was detected on *Listeria monocytogenes* during seven assays. These assays include: The direct exposure to lactic acid bacteria, the exposure to the supernatnant of lactic acid bacteria: Spot culture of lactic acid bacteria; Usage of paper discs contaminated with lactic acid bacteria isolation of bacteriocin like substances by ethanol %95; the usage of soft BHIA; and the preparation of an inhibition curve and pH. Except the last method, in all other tests the lactic acid bacteria were examined in the media contaminated with 10^3 CFU *Listeria monocytogenes*. The eight bacteria all showed antilisteria effects. Three of them (*Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus delbrueckii*) with less amounts (20 microne) had antibacterial effect too, and an inhibition curve and pH was made to determine their anti listerial activity. In 28 + 1 °c a more rapid inhibition activity was observed for these three bacteria than in 4 °c. In addition, the anti listerial activity of these bacteria was tested on a food matrix (shrimp). In the contaminated shrimp with *L. fermentum*, and *L. delbrueckii* the population of *Listeria monocytogenes* decreased to 1/3 and 1/2 the initial number after 20 hours.

مقدمه

Listeria monocytogenes عامل لیستریوزیس در انسان و بسیاری از حیوانات، یک باکتری گرم مثبت، بدون هاگ، کوتاه و سرمادوست است. عموماً افراد دارای ضعف در سیستم ایمنی، زنان باردار و جنین‌هایشان و نوزادان تازه متولد شده به این بیماری (لیستریوزیس) مبتلا می‌شوند (۹ و ۵). این بیماری باعث سپتی سمی، مننژیت، بروز بیماری شبیه آنفلوآنزا در دوران بارداری، سقط جنین در زنان باردار، آنسفالیت در کودکان و افراد مستعد و همچنین ورم پستان سپتی سمی و مننگوآنسفالیت و سقط جنین در حیوانات می‌شود (۲ و ۳). افزایش شیوع لیستریوزیس از طریق مواد غذایی در کشورهای مختلف در سالهای اخیر، اهمیت مبارزه با این باکتری را به عنوان پاتوژن مواد غذایی نشان می‌دهد (۲، ۱۱، ۱۰، ۶ و ۵).

L. monocytogenes را از منابعی مانند آبهای سطحی، گیاهان، مدفوع انسان‌های سالم، محصولات غذایی مانند شیر، پنیر، گوشت و فرآورده‌های آن، سبزیجات، ماهی و میگو می‌توان جدا کرد (۸، ۱۲، ۱۱، ۶ و ۵). این باکتری و دیگر گونه‌های لیستریا از سال ۱۹۸۷ مرتباً از غذاهای دریایی جدا شده‌اند (۶). تعدادی از غذاهای آماده مصرف دریایی مانند ماهی آزاد دودی و میگوی با آب نمک، به خوبی نگهداری نمی‌شوند؛ (روشهای معمول نگهداری عبارتند از: نمک سود کردن، اسیدیفیکاسیون، دود دادن سرد (Cold-smoking) و نگهداری در یخچال) معمولاً این مواد غذایی دریایی در آب نمک ۶٪ (یا کمتر)، pH معادل ۵ و دمای زیر ۵ درجه سانتیگراد نگهداری میشوند. به علت این شرایط ضعیف نگهداری، *L. monocytogenes* از این مواد غذایی، البته به تعداد کم، جدا شده است (۱۲ و ۱۱). براساس گزارشات در اروپا، آمریکا و ژاپن این باکتری از میگوی زنده، تازه و خام، یخ زده و پخته جدا شده است (۶). کنترل *L. monocytogenes* در این گونه مواد غذایی بسیار مشکل است، چون هیچیک از روشهای نگهداری فوق قادر به از بین بردن کامل این باکتری نمی‌باشند. این باکتری مقاوم به نمک، در pH کمتر از ۵ و دمای یخچال قادر به رشد و تکثیر است و دمای ۶ درجه سانتیگراد را به مدت کوتاه تحمل می‌کند. پس برای سلامت جامعه نه تنها ابتلای به لیستریوزیس از طریق مواد غذایی باید با استفاده از تکنولوژی موجود کاهش یابد، بلکه لازم است جلوگیری از رشد باکتری در محصولات که از مهمترین اهداف نگهداری مواد غذایی است در نظر گرفته شود (۱۲).

در سالهای اخیر، تحقیقات چندی بر روی اثر ضد لیستریایی برخی از باکتریهای لاکتیک صورت گرفته است و انتظار می‌رود که از این باکتریها بتوان به عنوان نگهدارنده طبیعی مواد غذایی استفاده کرد (۱۰، ۸ و ۷). برخی از باکتریهای لاکتیک باکتریوسین‌ها یا مواد باکتریوسین مانندی تولید می‌کنند که از رشد لیستریا و یا بعضی از باکتریهای گرم مثبت جلوگیری می‌کنند (۱۰ و ۴).

به طور کلی برای نگهداری مواد غذایی گوشتی می‌توان یا کشت سوش باکتری لاکتیک تولیدکننده باکتریوسین را اضافه کرد و یا باکتریوسین خالص را به محصول غذایی افزود.

هدف از این تحقیق بررسی تأثیر ۸ باکتری لاکتیک بر روی *L. monocytogenes* و همچنین استفاده از ۳ تای آنها به عنوان نگهدارنده در میگو می‌باشد. چون این باکتریها بیماریزا نبوده و در صنعت تولید فرآورده‌های لبنی کاربرد دارند (۲ و ۹) می‌توان از کشت باکتری زنده به میگو اضافه کرد، که در این صورت به عنوان منبع دائمی باکتریوسین یا مواد باکتریوسین مانند عمل می‌کنند (۱۲).

مواد و روشها

سوش باکتریها

الف: *L. monocytogenes*

تحقیقات بر روی کشت (RTCC 1290)

L. monocytogenes انجام گرفت که از مؤسسه رازی تهیه شد. این باکتری در محیط‌های
BHIA (Brain Heart Infusion Agar)
BHIB (Brain Heart Infusion Broth)
Listera Agar و PALCAM در یخچال ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد.

ب: Lactic Acid Bacteria

باکتریهای لاکتیک مورد استفاده در این تحقیقات در جدول شماره ۱ نشان داده شده‌اند.

باکتریهای شماره ۸، ۷ و ۱ از سازمان پژوهشهای ایران و باکتریهای شماره ۶، ۵، ۴ و ۲ از مؤسسه تحقیقات رازی تهیه شدند. برای نگهداری و کشت این باکتریها از محیطهای MRS broth، MRS agar، BHI broth و BHI agar استفاده شد و این باکتریها در یخچال ۴°c نگهداری شدند.

۱- تأثیر مستقیم باکتریهای لاکتیک بر *L. monocytogenes*

باکتریهای لاکتیک به طور جداگانه در ۵ سی‌سی محیط کشت MRS broth کشت و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط کم هوازی انکوبه شدند. سپس ۵ سی‌سی کشت همگن باکتریها (10^8cfu/ml) به پتری دیشهای استریل منتقل و با ۱۰ سی‌سی BHI agar مذاب مخلوط شد پس از جامد شدن محیط کشت پتری دیشها به هر یک 10^3cfu *L. monocytogenes* تلقیح شد.

کلیه کشتها به همراه کشت شاهد (فقط حاوی 10^3cfu *L. monocytogens* و بدون باکتریهای لاکتیک) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱ ± ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

تأثیر سوپر ناتنت باکتریهای لاکتیک بر *L. monocytogenes*

۵ سی‌سی از کشت ۲۴ ساعته باکتریهای لاکتیک در MRS broth به مدت ۲۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس مایع رویی هر لوله (سوپرناتنت) به پلیتهای استریل منتقل و با ۱۰ سی‌سی BHI agar مذاب مخلوط شد. پس از جامد شدن محیط کشت پلیتها، به هر یک 10^3cfu *L. monocytogenes* تلقیح شد. کلیه کشت‌ها به همراه کشت شاهد (فقط حاوی 10^3cfu *L. monocytogenes* و بدون باکتریها لاکتیک) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱ ± ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

۳- کشت نقطه‌ای باکتریهای لاکتیک و بررسی اثر بازدارندگی آنها بر *L. monocytogenes*

۰/۲ سی‌سی از رقت 10^4 *L. monocytogenes* ۲۴ ساعته به محیط کشت BHI agar تلقیح شد. سپس توسط یک میکروسمپلر ۲۰ میکرولیتر از کشت ۲۴ ساعته هر یک از باکتریهای لاکتیک در MRS borth به صورت نقطه روی کشت باکتری لیستریا قرار گرفت و همگی کشتها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۱ ± ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

۴- مهار رشد *L. monocytogenes* بوسیله دیسک کاغذی آغشته به باکتریهای لاکتیک

۰/۲ سی‌سی از رقت 10^4 *L. monocytogenes* ۲۴ ساعته به محیط کشت BHI agr تلقیح شد. دیسکهای کاغذی استریل در کشت ۲۴ ساعته باکتریهای لاکتیک غوطه‌ور شدند و سپس روی کشت لیستریا قرار گرفتند. کشتها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۱ ± ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

۵- جداسازی مواد باکتریوسین مانند با استفاده از اتانل ۹۵٪

۵ سی‌سی از کشت ۲۴ ساعته باکتریهای لاکتیک در محیط کشت MRS broth به مدت ۳۰ دقیقه با ۱۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس مایع رویی (سوپرناتنت) جدا و به لوله‌های استریل انتقال یافت و ۴ سی‌سی اتانول ۹۵٪ به هر لوله اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در یخچال ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت. الکل موجب رسوب ماده‌ای در ته لوله‌ها می‌شود. سپس مایع رویی دور ریخته شد. دیسکهای کاغذی استریل به رسوب باقیمانده در لوله‌ها آغشته شد. ۰/۱ سی‌سی از رقت 10^4 *L. monocytogenes* ۲۴ ساعته به محیط کشت BHI agar تلقیح شد و دیسک‌های آغشته روی کشت باکتری لیستریا قرار گرفت و پتری‌دیشها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۱ ± ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

۶- کشت نقطه‌ای باکتریهای لاکتیک و استفاده از محیط BHI نیمه جامد (نرم)

باکتریهای لاکتیک شماره ۱، ۲، ۴، ۶، ۷ و ۸ با فیلد و پلاتین به صورت نقطه‌ای به محیط کشت MRS agar تلقیح شدند و پتری دیش حاوی کشت این باکتریها به مدت ۲۴ ساعت در ۱ ± ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. سپس ۰/۱ سی‌سی از رقت 10^4 *L. monocytogenes* ۲۴ ساعته به محیط نیمه جامد (دارای ۰/۷٪ آگار) اضافه شد و مخلوط BHI نیمه جامد و لیستریا به سطح محیط کشت MRS agar حاوی باکتریهای لاکتیک افزوده و مجدداً پتری دیش به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱ ± ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شد.

۷- تهیه نمودار مهار رشد و pH

10^8cfu از کشت ۲۴ ساعته باکتریهای لاکتیک شماره ۳، ۴ و ۵ را به طور جداگانه در محیط حاوی مخلوط مساوی BHI broth و MRS (۴/۵ سی‌سی BHI broth و ۴/۵ سی‌سی MRS broth کشت داده و 10^8cfu *L. monocytogenes* به آن اضافه شد و مخلوط را در انکوباتور ۱ ± ۲۸ درجه سانتیگراد قرار دادیم در زمانهای ۲۲ ساعت و ۲۰، ۱۸/۵، ۵، ۴، ۲ و ۰ pH مخلوط اندازه‌گیری و ۰/۱ سی‌سی از آن نمونه‌برداری و به محیط کشت Listeria agar تلقیح شد. پتری دیش حاصل از هر مرحله نمونه‌برداری در دمای ۱ ± ۲۸ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد.

۸- بررسی میگو از نظر آلوده بودن به *L. monocytogenes*

میگوی مورد آزمایش به صورت تازه و یخزده از بازار تهیه و ۲۵ گرم از میگو در ۲۲۵ سی‌سی نرمال سالین (۹g/l NaCl و ۱ g/l peptone) نگهداری شد سپس با استفاده از Shaker مخلوط نسبتاً هموژنی تهیه شد. برای شمارش تعداد کل باکتریهای میگو رقت‌های مختلف تهیه و ۰/۱ سی‌سی از هر رقت به محیط کشت BHI agar تلقیح شد. پتری دیشهای تلقیح شده در دمای ۱ ± ۲۸ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. برای بررسی آلوده بودن میگو (تازه و یخزده، هر دو مورد آزمایش قرار گرفت) ۵ سی‌سی از مخلوط هموژن *L. monocytogenes* به پتری دیش استریل انتقال یافته و با ۱۰ سی‌سی Listeria agar مذاب مخلوط شد. پس از سفت شدن محیط کشت، پتری دیش به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور در دمای ۱ ± ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شد.

جدول شماره ۱- اسامی باکتریهای لاکتیک که اثر ضد لیستریایی آنها بررسی شد.

۱	*Lactobacillus bulgaricus* (PTCC 1332)
۲	*Lactobacillus casei* (RTCC 1268)
۳	*Lactobacillus delbruckii* (RTCC 1269)
۴	*Lactobacillus fermantum* (RTCC 1270)
۵	*Lactobacillus lactis* (RTCC 1278)
۶	*Lactobacillus plantarum* (RTCC 1273)
۷	*Lactobacillus plantarum* (PTCC 1058)
۸	*Lactococcous lactis* (PTCC 1403)

جدول شماره ۲- بررسی اثر مهاری باکتریهای لاکتیک، با روش کشت نقطه، دیسک کاغذی آغشته به باکتریهای لاکتیک و روش جداسازی مواد باکتریوسین مانند با الکل ۹۵٪ بر *L. monocytogenes*

باکتریهای لاکتیک	روش کشت نقطه‌ای	روش استفاده‌از دیسک آغشته‌به‌باکتریهای‌لاکتیک	روش جداسازی مواد باکتریوسین‌مانندباالکل۹۵٪
Lactobacillus bulgaricus	±	±	-
Lactobacillus casei	-	±	+
Lactobacillus delbruckii	+	+	+
Lactobacillus fermantum	+	+	+
Lactobacillus lactis	+	+	+
Lactobacillus plantarum (RTCC 1273)	±	-	-
Lactobacillus plantarum (PTCC 1058)	±	±	+
Lactobacillus lactis	-	-	-

x = قطر هاله عدم رشد - : صفر ± : رشد محدود + : ۱۳ mm ≤x≤ ۱۰ mm

۹- بررسی بقاء *L. monocytogenes* در برابر باکتریهای لاکتیک در ماده غذائی (میگو) در ۴ درجه سانتیگراد

یک گرم میگوی چرخ کرده به لوله‌های حاوی ۹ سی‌سی BHI broth اضافه و در اتوکلاو ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. سپس 10^8 cfu/ml از هر یک از باکتریهای لاکتیک شماره ۳، ۴ و ۵ به علاوه 10^4cfu *L. monocytogenes* به لوله‌ها اضافه شد و لوله‌ها در یخچال ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ ساعت نگهداری شدند. در زمانهای ۰، ۲، ۴، ۱۸ و ۲۰ ساعت، pH مخلوط اندازه‌گیری و ۰/۱ سی‌سی نمونه‌برداری و به محیط کشت Listeria agar تلقیح شد. پتری دیشهای حاصل از هر مرحله نمونه برداری در دمای ۱±۲۸ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند.

نتیجه

با تأثیر مستقیم حدوداً 5×10^8cfu کلیه باکتریهای لاکتیک مورد آزمایش و نیز سوپرناتانت این باکتریها بر 10^3cfu *L. monocytogenes*، رشد این باکتری کاملاً متوقف شد. در صورتی که پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در پتری دیش شاهد حدوداً 10^3 باکتری لیستریا رشد کرد. با توجه به اینکه در سوپرناتانت باکتریهای لاکتیک، لاشه باکتریها وجود نداشت، می‌توان نتیجه گرفت که باکتریهای لاکتیک موادی مانند اسید لاکتیک یا ترکیبات باکتریوسین مانند از خود ترشح می‌کنند که از رشد لیستریا در مواردی به طور کلی جلوگیری می‌کند.

جدول شماره ۲ اثر ۸ باکتری لاکتیک را بر رشد *L. monocytogenes* با روش کشت نقطه‌ای روش دیسک کاغذی آغشته به باکتریهای لاکتیک و روش استفاده از الکل ۹۵٪ نشان می‌دهد. تنها دور ۳ تای آنها (باکتریهای شماره ۳، ۴ و ۵) در هر ۳ روش هاله مهار رشد کاملاً مشخص تشکیل شد.

از بررسی جدول شماره ۲ می‌توان نتیجه گرفت که باکتریهای *Lactobacillus casei* *Lactobacillus lactis* و وقتی به صورت نقطه (۲۰ میکرولیتر) کشت می‌شوند و باکتریهای *L. plantar* *Lactobacillus* (RTCC 1273) *lactis* با روش دیسک آغشته هیچگونه اثر مهاری بر *L. monocytogenes* ندارند.

در روش جداسازی مواد باکتریوسین مانند، چون رسوب حاصل از تأثیر الکل ۹۵٪ بر سوپرناتانت باکتریهای *Lactobacillus casei*، *L. plantarum* (PTCC 1058)، *L. fermantum* و *L. delbruckii* بر رشد *L. monocytogenes* اثر بازدارندگی داشته و هاله مهار رشد تشکیل شد، می‌توان نتیجه گرفت که این رسوب حاوی مواد باکتریوسین مانند می‌باشد و به علت آنکه توسط الکل رسوب یافتند از جنس پروتئین می‌باشند. این مواد از رشد لیستریا و بعضی دیگر از باکتریها جلوگیری می‌کنند (۴ و ۱۰).

در روش استفاده از محیط BHI نیمه جامد (نرم) تنها به دور باکتری شماره ۴ هاله عدم رشد *L. monocytogenes* به قطر ۹-۸ میلی‌متر مشاهده شد.

با توجه به آزمایشات انجام شده باکتریهای شماره ۳، ۴ و ۵ اثر بازدارندگی بهتری نسبت به باکتریهای لاکتیک دیگر آزمایش شده بر *L. monocytogenes* دارند.

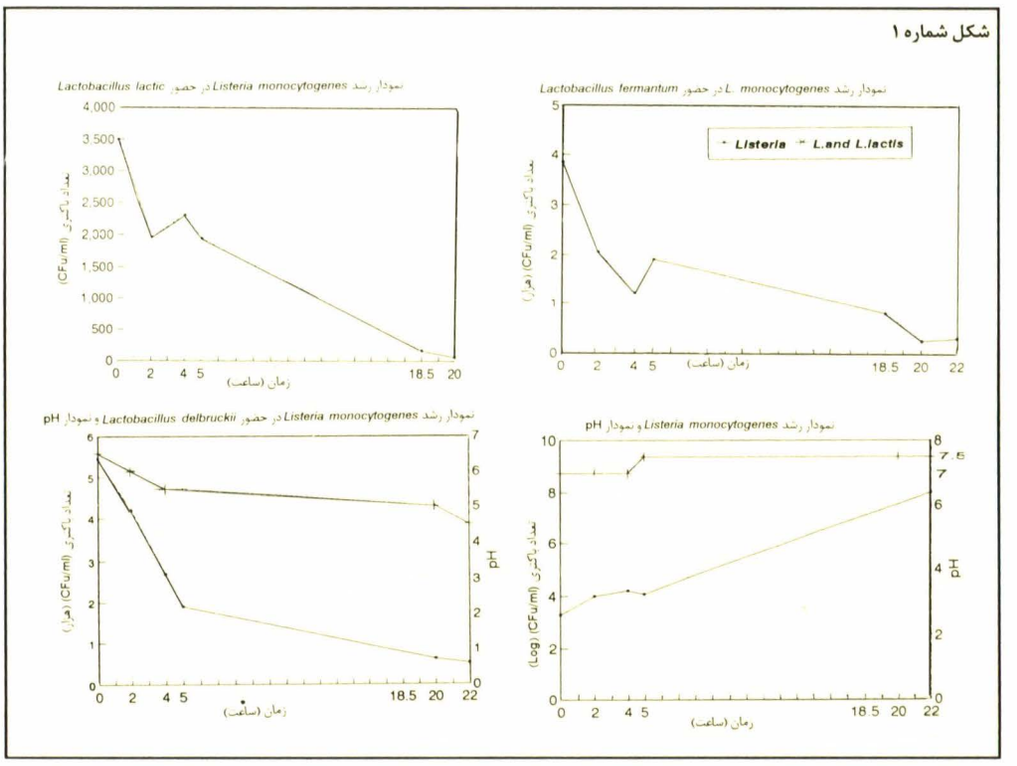
شکل ۱ نمودار رشد *L. monocytogenes* در حضور باکتریهای لاکتیک شماره ۳، ۴ و ۵ را نشان می‌دهد. تعداد لیستریا پس از ۲۲ ساعت مجاورت باکتریهای لاکتیک به طور قابل توجهی به میزان $\frac{1}{10}$، $\frac{1}{100}$ و $\frac{1}{1000}$ به ترتیب کاهش یافت. در حالی که تعداد لیستریا کشت شده بدون حضور باکتریهای لاکتیک (شاهد) بعد از ۲۲ ساعت افزایش یافت تا به حدود 10^8cfu/ml رسید. فعالیت ضد لیستریایی باکتریهای لاکتیک شماره ۳، ۴ و ۵ تقریباً مشابه بود و در ۵ ساعت اول، کاهش لیستریا شدیدتر مشاهده شد. بررسی pH محیط نشان داد که وقتی لیستریا در مجاورت *L. lactis* رشد کرد، pH در مدت ۲۲ ساعت کاهش یافته به طوریکه از حدود ۷ (خنثی) به حدود ۵ (اسیدی) رسید. در حالی که کشت لیستریا به تنهایی (شاهد) در مدت ۲۲ ساعت تغییرات pH محسوسی نشان نداد و pH حدود (خنثی) باقی ماند. کاهش pH کاهش در مورد اول به علت تولید اسید لاکتیک و سایر اسیدهای آلی توسط *L. lactis* می‌باشد (۹).

بررسی شمارش تعداد کل باکتریهای موجود در یک گرم نشان داد که در هر گرم میگو (یخزده و تازه) حدود 2×10^6 باکتری وجود دارد. لازم به ذکر است که تعداد کل باکتریهای مجاز در هر گرم میگو یخزده 10^7 - 10^6 می‌باشد (۱۳).

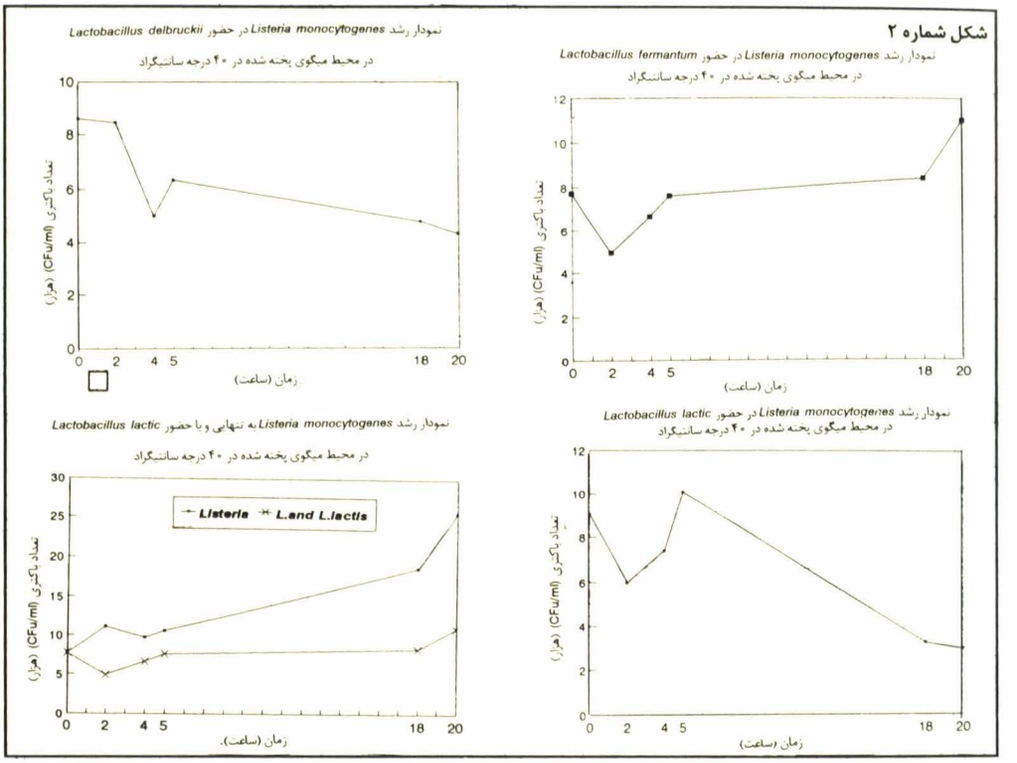
در بررسی آلوده بودن میگو به لیستریا، روی محیط‌های Listeria agar و PALCAM هیچ کلنی لیستریا مشاهده نشد. این تحقیق بر روی سه نمونه میگو (۲ نمونه یخزده درجه ۲ و یک نمونه تازه درجه ۱) انجام شد و در کلیه موارد با مشاهده نشدن کلنی لیستریا، نتیجه شد که میگو به لیستریا آلوده نبود. باکتریهای آلوده کننده میگو در این نمونه‌ها عبارت بودند از: ترادها، اکتینومیست‌ها، استافیلوکوک‌ها و کلی‌فرم‌های مدفوعی. عدم آلوده نبودن میگو خام به لیستریا ممکن است به علت رقابت فلور طبیعی میگو با لیستریا باشد.

شکل ۲ نشان می‌دهد که وقتی *L. monocytogenes* در ماده زمینه میگوی اتوکلاو شده در مجاورت باکتریهای لاکتیک شماره ۳ و ۴ در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت، پس از ۲۰ ساعت تعداد آن به میزان $\frac{1}{2}$ و $\frac{1}{3}$ به ترتیب کاهش یافت. در حالیکه تعداد لیستریا کشت شده بدون حضور باکتریهای لاکتیک (شاهد) در همین ماده زمینه پس از ۲۰ ساعت حدود ۳/۳ برابر افزایش یافت. تعداد *L. monocytogenes* در ماده زمینه میگوی اتوکلاو شده در مجاورت باکتری لاکتیک شماره ۵، *L. lactis* در ۴ درجه سانتیگراد در مدت ۲۰ ساعت ۱/۴ برابر افزایش یافت که این روند افزایش در

شکل شماره ۱



شکل شماره ۲



مقایسه با روند افزایش لیستریا هنگامی که به تنهایی کشت شود (شاهد) کمتر است.

بحث

براساس گزارشات محققین کارایی و اثر باکتریوسین به غلظت باکتریوسین و باکتریهای لاکتیک بستگی دارد (۱۰). طبق گزارشات، اگر چه میگوی خام آزمایش شده در هند نیز آلوده به لیستریا نبوده است، امکان آلودگی در مراحل آلوده‌سازی میگو برای مصرف وجود دارد. طبق همین گزارشات میگوی پخته نیز ممکن است به لیستریا آلوده شود (۶).

اثر ضد لیستریایی باکتریهای لاکتیک هنگامی که به ماده زمینه میگوی اتوکلاو شده انتقال یافتند (in vivo) در ۴ درجه سانتیگراد کمتر از و در ۱±۲۸ درجه سانتیگراد بود (۲). این مسأله می‌تواند به این علت باشد که تولید و فعالیت باکتریوسین‌ها به شدت تحت تأثیر محیط و ماده غذایی است. برای مثال باکتریوسین ممکن است به ذرات مواد غذایی بچسبد و غیر فعال شده و انتشار آن در ماده زمینه غذایی محدود شود (۱۰). فعالیت باکتریوسین در ماده غذایی با فعالیت آن در محیط کشت تفاوت دارد. ممکن است فعالیت باکتریوسین تحت تأثیر چربی ماده غذایی (مثلاً میگو) قرار گیرد. طبق گزارشات، افزودن نایسین به چربی سرشیر *Lactococous lactis* موجب کاهش فعالیت بیولوژیکی باکتریوسین علیه *L. monocytogenes* Scott A در سرشیر شد (۱۲). از طرف دیگر، اثر بازدارندگی چربیها و چربی‌های حیوانی و باکتریوسین‌ها را می‌توان با حرارت دادن قبل از مجاورت با باکتریوسین از بین برد یا کاهش داد (۸).

Hill و Parente (۱۹۹۲) گزارش کرده‌اند که مرگ *L. monocytogenes* در شیر در مجاورت Enterocin، باکتریوسین *Enterococcus faecium* در دماهای پایین‌تر کندتر است (۱۰).

تأثیر بکارگیری تعداد زیاد باکتریهای لاکتیک بر خواص ارگانولپتیکی ماده غذایی باید قبل از به کارگیری این باکتریها به عنوان نگهدارنده‌های مواد غذایی در نظر گرفته شود (۱۲). در این تحقیق هیچگونه بوی آزار دهنده‌ای از میگوی تلقیح شده با باکتریهای لاکتیک در دمای ۴ درجه سانتیگراد و پس از ۶ روز نگهداری استشمام نشد. طبق گزارشات، اثر ضد لیستریایی 10^6 cfu/g لاکتوباسیلهای تولید کننده باکتریوسین در بسته‌های واکیوم سوسیس در دمای ۴ درجه سانتیگراد زیاد نبود. در صورتیکه همین گزارشات حاکی است که مقادیر کمتر گونه‌های دیگر این باکتریها g/10^4 - 10^3 از رشد لیستریا در مواد غذایی جلوگیری کرد (۷).

امکان آلوده بودن مواد غذایی که قبل از مصرف پخته می‌شوند به لیستریا خیلی کم است و به همین علت ابتلای لیستریوزیس در اثر مصرف میگو خیلی نادر می‌باشد. ولی علاقه مصرف کنندگان به نگهداری مواد غذایی به مدت زیاد در منزل و استفاده از غذاهای یخ‌زده، و محصولات غذایی بدون نگهدارنده‌ها، امکان رشد *L. monocytogenes* در مواد غذایی را فراهم کرده و باید به تولید بهداشتی این محصولات غذایی برای آلوده نشدن به لیستریا توجه کرد (۱۱).

این تجربه به نقش نگهدارندگی باکتریهای اسید لاکتیک موجود در اغذیه تخمیری و امکان استفاده از این باکتریها به عنوان محافظ در برابر لیستریا را تأیید می‌کند.

منابع مورد استفاده

۱- غلامرضا جاهد خانیکی، ۱۳۷۴. انواع فساد در ماهی و میگو و روشهای تشخیص و کنترل آنها، مجله و پژوهش و سازندگی، شماره ۲۶، صفحه ۱۰۵-۱۰۰.

۲- مرتضی خمیری و جلیل‌وند یوسفی، ۱۳۷۴. بررسی ماندگاری *Listeria monocytogenes* در پنیر سفید ایرانی طی مراحل تولید و رسیدن، مجله پژوهش و سازندگی، ۱۳۷۴، شماره ۲۶، صفحه ۱۱۵-۱۱۰.

۳- عباس روح بخش، ۱۳۶۹. کنترل بهداشتی مواد خوراکی (نمونه‌برداری، آزمایش، تفسیر)، چاپ اول، انتشارات چهر.

4- Abee T., L. Krockel, C. Hill. Bactriocins, 1995. Modes of action and potentials in food poisoning. Int. J. Food Microbiol., 28, 168-185.

5- Aureli P., A. Costantini, and S. Zolea, 1992. Antimicrobial Activity of some plant of Listeria oils Against *L. monocytogenes*, J. Food port. 5, 224-348.

6- Ben Embarek, P.K. Presence, 1994. Detection and growth of *Listeria monocytogenes* in sea foods: a review. Int. J. Food Microbiol. 23, 14-34.

7- Buncic S., Sheryl M. Avery, Sandra M., Moorhead, 1997. Insufficient antilisterial capacity of low inoculum lactobacillus cultures on long-term stored meats at 4°c. Int. J. Food Microbiol. 34, 157-170.

8- Conventry, M.J., K. Murihead, M.W. Hickey, 1995. Partial characterisation of pediocin PO2 and comparison with niasin for biopreservation of meat products. Int. J. Food Microbiol. 26, 133-145.

9- Jay J.M., 1992. Modern Food Microbiology, Volume 2.

10- Stecchini M.L., V. Aquili, I. Sarais, 1995. Behavior of *Listeria monocytogenes* in Mozzarella cheese in presence of *L. lactis*. Int. J. Food Microbiol. 25, 301-310.

11- Uyttendaele, M.R., K.D. Neyts, R.M. Lips and J.M. Debever, 1997. Incidence of *Listeria monocytogenes* in poultry and poultry products obtains from Belgian and French abbatoires. Food Microbiol. 14, 339-345.

12- Wessels, S. and H. Huss, 1996. Suitability of *Lactococcus lactis* subsp. Lactis ATCC 1145 as a protective culture for lightly preserved fish products. Food microbiol. 13, 323-332.