گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره هفدهم شماره ۶۰ مهر و آبان سال ۱۳۸۶ (۱۱۵-۱۱۲)

بررسی اثر باکتری تولید کنندهٔ باکتریوسین روی لیستریا منوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس

محبوبه میرحسینی(M.Sc.) *+ **ایرج نحوی** (Ph.D.) **

روحاکسری کرمانشاهی(M.D.) ** **منوچهر توسلی** (M.D.) ***

چکیده

سابقه و هدف : محصولات لبنی اغلب با مشکلاتی مثل دورهٔ نگهداری کوتاه در قفسه‌ها و فقر بهداشتی همراه هستند. از دستاوردهای جدید، استفاده از باکتریوسین‌ها یا سویه‌های تولید کنندهٔ باکتریوسین (Bacteriocin) برای کنترل فلور میکروبی غیر مطلوب مثل لیستریا منوسایتوژنز (Listeria monocytogenes) و باسیلوس سرئوس (Bacillus cereus) در غذاها می‌باشد. در این رابطه اثر مهاری باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس (Loctococcus Lactis) تولیدکننده مواد شبه نیزین (nisin) که جداسازی و شناسایی شده بود، بر لیستریا منوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس بررسی شد تا سویه جداسازی شده با سویه های جداسازی شده در کشورهای دیگر مقایسه شود.

مواد و روش‌ها : در این تحقیق به روش کشت نقطه‌ای و با استفاده از مایع رویی حاصل از کشت ۲۴ ساعته باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس اثر مهاری این باکتری بررسی شد و در نهایت اثر باکتریوسین تولید شده بر روی منحنی رشد لیستریا منوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس ارزیابی شد.

یافته‌ها : نتایج نشان داد که باکتریوسین تولید شده توسط باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس در محیط مایع بر روی لیستریامنوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس اثر مهاری بیش‌تری دارد.

استنتاج : توجه به اثر مهاری مشاهده شده، استفاده از باکتریوسین این باکتری به صورت مستقیم در مواد غذایی یا کشت آغازگر درمحیط مایع برای محافظت از موادغذایی توصیه می‌شود تا مسمومیت ناشی ازفعالیت باکتری‌های نامطلوب در مواد غذایی کاهش یابد.

واژه های کلیدی : لاکتوکوکوس لاکتیس، باسیلوس سرئوس و لیستریا منوسایتوژنز

مقدمه

محصولات لبنی و شیر اغلب با مشکلاتی مثل دورهٔ نگهداری کوتاه در قفسه ها و فقر بهداشتی همراه هستند. استفاده از کشت‌های آغاز کننده که قادر به تولید باکتریوسین هستند، یک مسالهٔ عمومی نیست و یک

* دانشجوی دکترا میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان + ✉ **مولف مسئول :** اصفهان- دروازه شیراز، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم

** استاد گروه زیست شناسی، بخش میکروبیولوژی دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

*** استادیار گروه زیست شناسی، بخش میکروبیولوژی دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

تاریخ دریافت : ۸۵/۶/۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۵/۸/۶ تاریخ تصویب: ۸۶/۴/۱۲

www.SID.ir

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-02-06]

طرح در حال بررسی است. باکتریوسین می‌تواند ابزاری برای بهبود امنیت و کیفیت غذاهای تخمیر شده باشد. باکتریوسین به صورت یک ماده افزودنی در غذاها می‌تواند از رشد باکتری‌های بیماری‌زا و اسپورهای آن‌ها جلوگیری کند. این استراتژی در مقایسه با کاربرد باکتریوسین‌ها یا مواد محافظ دیگر در کشورهای صنعتی، کم‌تر استفاده شده است و ممکن است به عنوان ابزار انعطاف پذیری برای بهبود محافظت از غذاها در محیط به‌کارگرفته شود و منجر به کاهش مسمومیت‌های غذایی مربوط به غذاهای تخمیر شده شود(۱تا۴). در این رابطه اثر لاکتوکوکوس لاکتیس تولید کننده مواد شبه نیزین که در مراحل قبل جدا شده است(۵) بر روی لیستریا منوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس بررسی شد تا معلوم شود اثر مهاری سویه جدا شده تا چه حد است و باکتری جدا شده از محیط با سویه‌های جدا شده در جاهای دیگر مقایسه شود.

مواد و روش ها

بررسی اثر مهاری باکتری تولید کنندهٔ مواد باکتریوسین مانند روی لیستریا و باسیلوس

۱) روش نقطه ای:

ابتدا باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس در MRS برات کشت داده شد و ۲ میکرولیتر از آن بر روی محیط TSAYE قرار داده شد بعد از رشد آن در شرایط بی هوازی، یک لایه رویی از محیط برین هرت اینفیوژن که با 10^6 cfu/ml از لیستریا منوسایتوژنز PTCC1164 یا باسیلوس سرئوس PTCC1015 تلقیح شده بود، بر روی آن اضافه شد. بعد از ۲۴ ساعت، تشکیل هاله عدم رشد بررسی شد(۶).

۲) با استفاده از مایع رویی از کشت ۲٤ ساعته از لاکتوکوکوس

باکتری لاکتوکوکوس درمحیط MRS برات کشت داده شد. بعد به وسیله سانتریفوژ مایع رویی آن جدا شد. سپس طبق منابع معتبر، مایع رویی خنثی شد و سری رقت از آن تهیه شد. پس ۱۰ میکرولیتر از این مایع رویی روی پلیت حاوی ۸ میلی لیتر از محیط TSAYE با ۰/۶ درصد آگار که با10^6 cfu/ml از باکتری لیستریا یا باسیلوس تلقیح شده بود، قرار گرفت.بعد ایجاد هاله عدم رشد بعد از ۲۴ ساعت بررسی شد. با این روش فعالیت باکتریوسین تولید شده در مقابل این باکتری ها تعیین شد(۳تا۵). همین کار در مقابل 10^4 cfu/ml از باکتری لیستریا یا باسیلوس با شرایط قبلی انجام شد.

۳) بررسی اثر مهاری باکتریوسین تولید شده توسط لاکتو کوکوس لاکتیس بر روی منحنی رشد لیستریا و باسیلوس

۲۰ میلی لیتر از مایع رویی تهیه شده به روش قبلی به ۱۰۰ میلی لیتر از محیط برین هرت ایفیوژن برات که با 10^6 cfu/ml از باکتری لیستریا یا باسیوس تلقیح شده بود، اضافه شد و طی ۲۴ ساعت رشد این دو باکتری در ۶۰۰ نانومتر کنترل شد(۵).

بحث

۱- نتایج بررسی اثرباکتری لاکتوکوکوس لاکتیس به صورت نقطه‌ای نشان داد که باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس در برابر 10^6cfu/ml از دو باکتری لیستریا منوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس، اثر مهاری ندارد که این نتایج با نتایج به دست‌آمده توسط مارتینیز وهمکاران (۲۰۰۱) برای لیستریا منوسایتوژنز و لویس (Lewis) و همکاران (۱۹۹۱) برای باسیلوس سرئوس متفاوت است(۶) که شاید به این علت باشد که میزان تولید باکتریوسین در باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس جدا شده در مطالعه ماکم بود و میزان تولید باکتریوسین در سویه مورد استفاده توسط این محققان بیشتر بود. تولید

Archive of SID

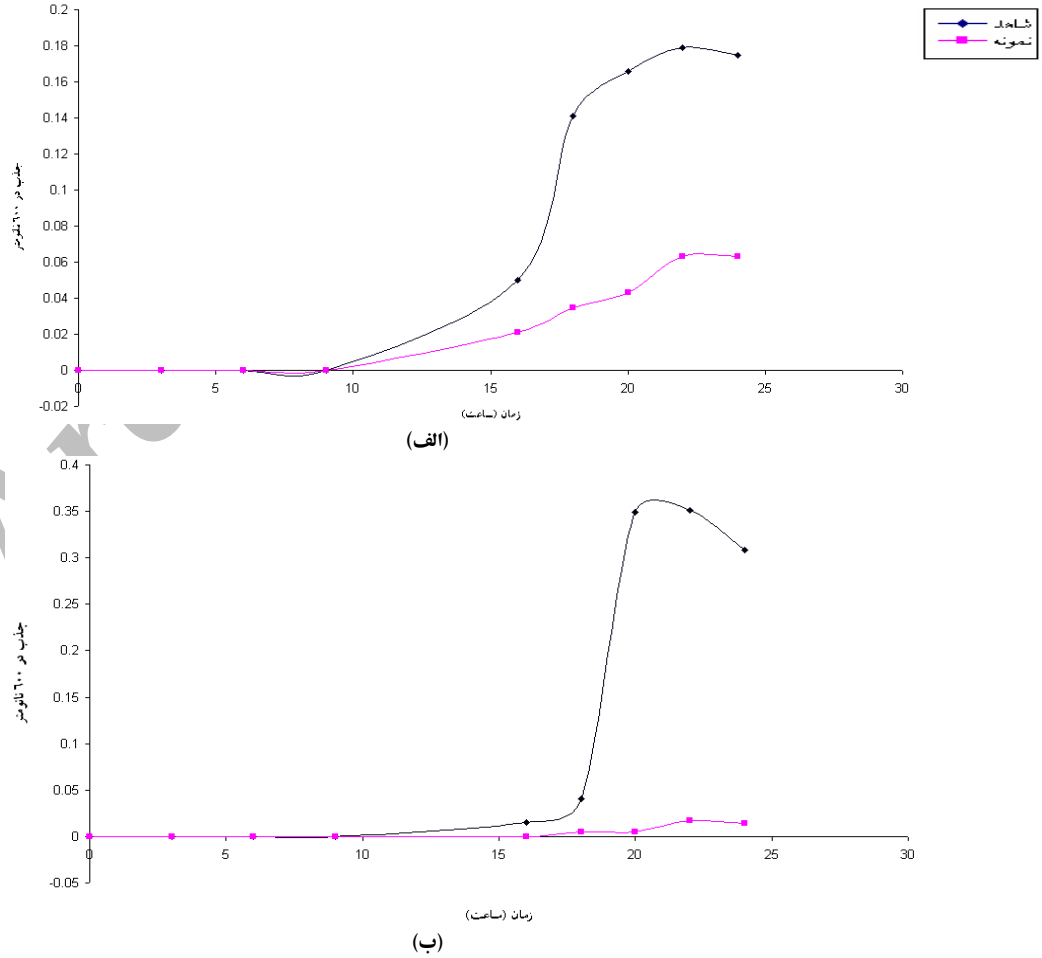
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-02-06]

www.SID.ir

باکتریوسین در این سویه‌ها AU/ml ۱۲۸۰۰ ولی تولید باکتریوسین در سویه جدا شده در مطالعه حاضر ما AU/ml ۱۶۰۰ بود. بنابراین تفاوت در سویه‌های به کار رفته ممکن است باعث ایجاد نتایج متفاوت شده باشد. در نتیجه این باکتری، وقتی تعداد باسیلوس و لیستریاها $۱۰^{۶}$cfu/ml است، اثر مهاری بر رویشان ندارد(۵).

۲- نتایج بررسی اثر باکتریوسین تولید شده توسط روش استفاده از مایع رویی حاصل از باکتری لاکتوکوکوس بر روی باسیلوس ولیستریا نشان داد که باکتریوسین تولید شده توسط لاکتوکوکوس بر روی باسیلوس ولیستریا وقتی تعداد آنها $۱۰^{۶}$cfu/ml است، اثر مهاری نداشت که این شاید به علت میزان تولید کم باکتریوسین توسط باکتری جداسازی شده یا مقاومت بیشتر باسیلوس و لیستریا در محیط جامد باشد. ولی وقتی تعداد باسیلوس و لیستریا به $۱۰^{۴}$ cfu/ml کاهش یافت، نتایج نشان داد که هر دو باکتری در این روش به باکتریوسین تولید شده توسط لاکتوکوکوس حساس بودند و فعالیت باکتریوسین تولید شده در مقابل این ۲ باکتری AU/ml ۱۶۰۰ بود. این نتایج نشان می‌دهد که میزان تلقیح اولیه باکتری بر روی اثر مهاری باکتریوسین تولید شده، موثر بوده است.

۳- درنهایت رشد $۱۰^{۶}$cfu/ml از باسیلوس و لیستریا در محیط مایع در حضور باکتریوسین تولید شده بررسی شد (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱: بررسی اثر باکتریوسین تولید شده توسط لاکتوکوکوس لاکتیس روی لیستریا منوسایتوژنز(الف)و باسیلوس سرئوس(ب)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-02-06]

www.SID.ir

نتایج نشان داد که باکتریوسین تولید شده طی ۲۴ ساعت تقریبا به طور کامل اثر مهاری روی رشد لیستریا دارد و اثر بازدارندگی آن روی رشد باسیلوس خیلی زیاد است. این نتایج، کمی با نتایج به دست آمده توسط اولاساپو (olasapo) و همکاران (۱۹۹۹) برای باسیلوس سرئوس و ایوانووا (Ivanova) و همکاران (۲۰۰۰) برای لیستریا اینوکوآ متفاوت است که شاید به علت تفاوت در نوع سویه‌های به کار رفته باشد. به علت وجود اثر مهاری باکتریوسین تولید شده توسط لاکتوکوکوس در مقابل 10^4 cfu/ml باسیلوس و لیستریا در محیط جامد و همچنین اثر مهاری آن در مقابل 10^6 cfu/ml باسیلوس و لیستریا در محیط مایع و با توجه به این موضوع که لاکتوکوکوس در کلاس باکتری‌های امن برای انسان قرار دارد(۲،۱) شاید بتوان نتیجه گرفت که این باکتری و باکتریوسین تولید شده توسط آن در محیط مایع و تا حدودی محیط جامد وقتی تعداد باکتری‌ها کم باشد به عنوان مادهٔ محافظ قابل استفاده می‌باشد.

همچنین می‌توان از این باکتری به عنوان کشت آغازگر در تخمیر استفاده کرد تا از رشد باکتری‌های غیر مطلوب مثل باسیلوس سرئوس و لیستریامنوسایتوژنز در غذاهای تخمیر شده جلوگیری شود و باعث کاهش آلودگی و مسمومیت غذایی ناشی از باسیلوس سرئوس و لیستریا منوسایتوژنز شود(۴،۳).

فهرست منابع

1. Chen H. Bacteriocins and their food applications. ***CRFSFS***; 2003; 82-100.
2. Guinane CM. Microbial solutions to microbial problems;lactococcal bacteriocins for the control of undesirable biota in food. ***J Appl Microbiol*** 2005; 1316-1325.
3. Nandakumar R. Quantification of nisin in flow-injection immunoassay system. ***Biosens Bioelec*** 1999; 241-247.
4. Olasapo NA. Occurrence of nisin z production in *Lactococcus lactis BFE 1500* isolated from wara, a traditional Nigerian cheese product. ***Int J Food Microbiol*** 1999; 141-152.
5. Mirhossaini M, Nahvi I. Isolation of bacteriocin producing *Lactococcus lactis strain,* from dairy products. ***Int J Dairy Sci*** 2006; 51-56.
6. Lewis CB, Montville T J. Detection of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. ***J Microbiol Methods*** 1991; 145-150.
7. Ivanova I. Detection, purification and partial characterization of a novel bacteriocin substance from Boza-Bulgarian Cereal beverage. Biocata- 2000. ***Fundam Appl*** 2000; 47-53.

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-02-06]

www.SID.ir