دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و ششم، شماره ۳، صفحه ۱۸۸-۱۷۸ (مرداد و شهریور ۱۴۰۲)

Iran South Med J 2023; 26(3): 178-188

اثر مهاری پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* روی رشد و تهاجم *لیستریا مونوسیتوژنز* در مواجه با سلول Caco-2

آیدا لطفی (MSc)[۱*]، جواد حامدی (PhD)[۲]، مجید طاعتی مقدم (PhD)[۳]،
فرامرز مسجدیان جزی (PhD)[۴**]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲] گروه بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده زیست شناسی و مرکز عالی فیلوژنی موجودات زنده، دانشکده علوم، دانشگاه تهران، ایران
[۳] گروه میکروب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
[۴] گروه میکروب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۱/۲۷- پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۹/۱۸)

چکیده

زمینه: *لیستریا مونوسیتوژنز* از طریق غذاهای آماده منجر به لیستریوز در انسان می‌شود. افراد مسن، بیماران دچار نقص ایمنی، زنان باردار و نوزادان در معرض بالاترین خطر ابتلا به این عفونت هستند. برای شناسایی باکتری‌های پروبیوتیک دارای فعالیت بازدارندگی در برابر *لیستریا مونوسیتوژنز*، ما به بررسی اثر مهاری *لاکتوکوکوس لاکتیس* در برابر رشد و تهاجم *لیستریا مونوسیتوژنز* پرداختیم.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، از سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* **ATCC7644** و سویه پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* **PTCC1336** استفاده شد. بررسی اثرات مهاری *لاکتوکوکوس لاکتیس* بر رشد پاتوژن *لیستریا مونوسیتوژنز* از روش ایجاد چاهک در آگار و برای بررسی اثر مهاری روی تهاجم این باکتری از کشت همزمان آن با سلول‌های انتروسیت انسانی **Caco-2** استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد *لاکتوکوکوس لاکتیس* در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، و ۱ دارای خاصیت ضد میکروبی در برابر *لیستریا مونوسیتوژنز* بوده و با افزایش غلظت، اثر بازدارندگی بر این پاتوژن افزایش یافت. علاوه بر این، *لاکتوکوکوس لاکتیس* اثر مهاری روی تهاجم *لیستریا مونوسیتوژنز* به سلول‌های **Caco-2** نشان داد. به طوری‌که در غلظت ۱ از *لاکتوباسیلوس لاکتیس* کاهش تعداد باکتری با کاهش تهاجم لیستریا به سلول‌ها، از لگاریتم 10^8 به لگاریتم 10^2، در غلظت ۰/۵ از لگاریتم 10^8 به لگاریتم 10^3، و در غلظت ۰/۲۵ باکتری از لگاریتم 10^8 به لگاریتم 10^5 تأیید شد.

نتیجه‌گیری: *لاکتوکوکوس لاکتیس* دارای خاصیت ضدمیکروبی و مهاری در برابر تهاجم *لیستریا مونوسیتوژنز* بود و می‌تواند به عنوان گزینه‌ای برای مهار تهاجم و عفونت‌های گوارشی این باکتری در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: *لیستریا مونوسیتوژنز*، *لاکتوکوکوس لاکتیس*، پروبیوتیک، خاصیت ضد میکروبی

**تهران، گروه میکروب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

Email: masjedian.f@iums.ac.ir
*ORCID: 0009-0007-4069-8959
**ORCID: 0000-0002-0242-6000

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-05-18]

[DOI: 10.61186/ismj.26.3.178]

مقدمه

لیستریا مونوسیتوژنز باکتری میله‌ای گرم مثبت بدون اسپور و پاتوژن منتقله از غذا (Food borne) است که به دلیل حضور همه جایی آن در طبیعت و توانایی رشد در شرایط فیزیکی متنوع از جمله دمای یخچال تا دماهای بالا (منفی ۱/۵ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد)، pH وسیع (۴ تا ۹/۶) در صنایع غذایی نگرانی خاص محسوب می‌شود (۱). ابتلای به عفونت این باکتری در افراد سالم ممکن است منجر به گاستروانتریت خود محدود شونده شود و در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی همچون زنان باردار سبب بیماری لیستریوز گردد (۲ و ۳). میزان شیوع این بیماری از ۹۶ میلیون نفر در سال ۲۰۰۰، به ۱۸۱ میلیون نفر در سال ۲۰۰۶ در ایالات متحده افزایش یافته است. استفاده از شیر غیر پاستوریزه برای تولید پنیر یکی از عوامل اصلی انتقال آلودگی لیستریا است. نشان داده شده است که کارخانه‌های فرآوری تولید پنیر تازه، می‌توانند یکی از محیط‌های مهم آلودگی با *لیستریا مونوسیتوژنز* باشند که سطوح مختلف که در تماس با غذا هستند، تشکیل بیوفیلم این باکتری را تسهیل کنند (۴).در یک مطالعه در ایران مشخص شد که شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* با منشاء انسانی با میانگین ۱۰ درصد و با رنج شیوع ۰ تا ۲۸ درصد متغیر بود. شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* در حیوانات در ایران ۷ درصد با رنج شیوع ۱ تا ۱۸ درصد برآورد شد. همچنین، شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* در نمونه‌های غذایی ایرانی ۴ درصد و بین ۰ تا ۵۰ درصد برآورد شد (۵).

لیستریا مونوسیتوژنز استراتژی‌های بقای مختلفی را در محیط‌های چالش برانگیز دستگاه گوارش به کار می‌گیرد. از طریق سطوح مخاطی دستگاه گوارش وارد بدن می‌شود و باعث ایجاد عفونت می‌شود. در طول پیشرفت بیماری، *لیستریا مونوسیتوژنز* از پروتئین چسبندگی لیستریا (LAP) برای کمک به چسبندگی و انتقال از طریق سد اپیتلیال در روده استفاده می‌کند. همچنین پروتئین‌های سطحی اینترنالین (InlA) A و اینترنالین B (InlB) را برای اتصال و ورود به سلول‌های میزبان و گسترش سیستمیک به کار می‌برد. مشخص شده است که تهاجم *لیستریا مونوسیتوژنز* هم در داخل بدن موش و هم در سلول در شرایط آزمایشگاهی اتفاق می‌افتد (۸-۶). اگرچه که سویه‌های ضعیف شده پاتوژن‌های غذایی مانند *لیستریا مونوسیتوژنز* به‌عنوان واکسن برای کنترل آن‌ها استفاده شده است اما چنین سویه‌هایی دو خطر مهم را به همراه دارند. در مرحله اول، سویه ضعیف شده پتانسیل بازگشت به فنوتیپ خطرناک خود را پس از تجویز دارند و ثانیاً، آن‌ها می‌توانند در افراد با سیستم ایمنی ضعیف (شیرخواران جوان، سالمندان) یا افراد دارای نقص ایمنی، مهاجم ظاهر شوند. این خطرات علاقه به جستجوی استراتژی‌های جایگزین برای کنترل پاتوژن‌های غذایی را در محققین مختلف افزایش داده است (۹ و ۱۰).

پروبیوتیک‌ها کاندیدای مناسبی برای مقابله با این بیماری هستند زیرا برای سلامتی میزبان مناسب و به‌طور رقابتی، عفونت پاتوژن‌های ناشی از غذا را مهار می‌کنند. مزایای آن‌ها شامل تحمل اسید و نمک‌های صفراوی است که امکان بقا، انتقال از طریق دستگاه گوارش و کلونیزاسیون سطح مخاطی را فراهم می‌کنند (۱۱ و ۱۲). با این حال، گاهی اوقات پروبیوتیک‌ها اثرات مطلوبی را ایجاد نمی‌کنند و سویه‌های پروبیوتیک نوع وحشی در جلوگیری از اتصال *لیستریا مونوسیتوژنز* به لایه‌های اپیتلیال روده در شرایط آزمایشگاهی ناکارامد بوده‌اند (۱۲ و ۱۳). با این حال، تولید مواد بازدارنده توسط پروبیوتیک‌ها مانند اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، CO_2، دی استیل یا پپتیدهای ضدمیکروبی، به عنوان مثال، باکتریوسین‌ها اثبات

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-05-18]
[DOI: 10.61186/ismj.26.3.178]

شده است و یک توانایی کاملاً شناخته شده در باکتری‌های اسید لاکتیک است و این ویژگی‌ها وابسته به نوع سویه پروبیوتیک‌ها متفاوت هستند (۱). بنابراین، مطالعات جهت غربالگری باکتری‌های اسید لاکتیک با منشاء مختلف، با هدف کشف سویه‌های جدید پروبیوتیک، روز به روز در حال افزایش است (۱۴ و ۱۵). در میان باکتری‌های اسید لاکتیک، گونه‌های لاکتوپلانتی باسیلوس پلانتاریوم که قبلاً لاکتوباسیلوس پلانتاریوم نامیده می‌شد و *لاکتوکوکوس لاکتیس* به‌طور طبیعی در انواع محصولات غذایی تخمیر شده وجود دارند، و این محصولات می‌توانند به طور ایمن برای مدت طولانی استفاده شوند. سویه‌های *لاکتوکوکوس لاکتیس* اجزای اصلی باکتری‌های اسید لاکتیک در کشت‌های استارتر هستند که برای تولید بسیاری از محصولات لبنی تخمیر شده استفاده می‌شوند (۱۶ و ۱۷). علاوه بر این، وجود لاکتوکوکوس در پنیرها با افزایش ایمنی میکروبی و توسعه خواص حسی بالاتر (یعنی طعم، خوشبویی و بافت) مرتبط است و همچنین پایداری محصولات در طول ذخیره‌سازی، مربوط به تولید موادی (مانند اسیدهای آلی، باکتریوسین‌ها، متابولیت‌های چربی و اسید آمینه) است که قادر به مهار فساد و میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا هستند (۱۸ و ۱۹). از اینرو با توجه به خواص جالب توجه *لاکتوکوکوس لاکتیس* هدف از این مطالعه بررسی اثر مهاری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس لاکتیس روی رشد و تهاجم *لیستریا مونوسیتوژنز*در مواجه با سلول Caco-2 می‌باشد.

مواد و روش‌ها

کشت و سویه‌های باکتریایی

در این مطالعه از سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* ATCC 7644 موجود در بانک میکروبی گروه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران و سویه پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* PTCC 1336 تهیه شده از مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی استفاده گردید. سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* بر روی محیط کشت برین هارت اینفیوژن براث و سپس برین هارت اینفیوژن آگار (مرک، آلمان) کشت داد شد و ویال‌های حاوی باکتری پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* لیوفلیزه در محیط براث MRS (de Man [دی من]، Rogosa [روگوزا]، و Sharpe [شارپ]، مرک آلمان) کشت داده شد.

تعیین اثر ضد میکروبی و مهار کنندگی پروبیوتیک

به منظور تعیین اثر مهار کنندگی یا تعیین حساسیت *لیستریا مونوسیتوژنز* نسبت به پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* از روش چاهک در آگار استفاده گردید. ابتدا، چاهک‌هایی با ظرفیت معادل ۱۰۰ میکرولیتر در پلیت ۶ تا ۸ سانتی مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) توسط پیپت پاستور ایجاد گردید. سپس غلظت نیم مک فارلند از *لیستریا مونوسیتوژنز* تهیه و یک سواپ از آن در سطح پلیت کشت داده شد و غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، و ۱ از سوپرناتانت حاصل از رشد ۲۴ ساعته باکتری *لاکتوکوکوس لاکتیس* به چاهک‌ها مربوطه تلقیح گردید. در نهایت میانگین قطر هاله عدم رشد بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد اندازگیری گردید. همچنین از محیط کشت MRS و فسفات بافر سالین (PBS) به عنوان کنترل منفی استفاده (۲۰) و این تست به صورت سه تکرار برای *لیستریا مونوسیتوژنز* انجام گردید.

بررسی اثر مهاری بر تهاجم پاتوژن در سلول‌های Caco-2

بررسی اثر مهاری پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* بر تهاجم *لیستریا مونوسیتوژنز*، آزمایش کشت همزمان و

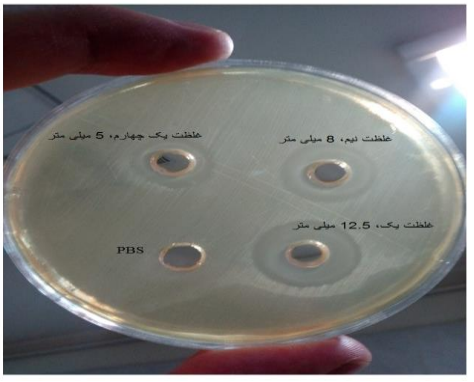
[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-05-18]

[DOI: 10.61186/ismj.26.3.178]

مواجه سلول باکتری با سلول‌های Caco-2 مطابق مطالعه گذشته انجام گردید (۲۱). ابتدا رده سلولی Caco-2 از مؤسسه پاستور خریداری و در فلاسک حاوی محیط نگهدارنده‌ی MEM (Minimum Essential Medium) پاساژ داده شد و ۲۴ ساعت در ۵ درصد CO2 در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردید، و پس از مونولایر شدن و بعد از شستشو با PBS با MOI=۱۰۰ به پلیت‌های ۹۶ خانه اضافه شد. به ازای هر چاهک مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت 10^8 باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* (که با مقایسه با استاندارد نیم مک فارلند تهیه شده بود) تلقیح و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، و ۱ از سوپرناتانت کشت ۴۸ ساعته باکتری *لاکتوکوکوس لاکتیس* به آن افزوده شد. پس از ۱ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، در این مرحله محتویات محیط کشت با PBS شستشو داده شد و سپس به چاهک‌های استریل منتقل شده و محیط EMEM (Eagle Minimum Essential Medium) حاوی ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر جنتامایسین به آن اضافه شد تا باکتری‌های خارج سلولی کشته شدند. چاهک‌های حاوی سلول به وسیلهٔ PBS سه بار شستشو داده شدند و سلول‌ها به وسیلهٔ محلول تریتون ایکس ۱۰۰ لیز گردیدند. سپس میزان ۱۰ میکرولیتر از محلول حاوی سلول و باکتری بصورت سریالی در محیط کشت برین هارت اینفیوژن آگار (BHI) رقیق گردید (تا از غلظت مواد مغذی محیط کشت کاسته نشود) و بر روی محیط کشت برین هارت اینفیوژن آگار تلقیح و پس از ۲۴ ساعت شمارش کلنی باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* انجام گردید، تمام آزمایش‌ها بصورت ۳ بار تکرار با حضور کنترل (بدون تیمار) انجام و میانگین تعداد باکتری رشد یافته محاسبه گردیدند.

یافته‌ها

متوسط نتایج تست تعیین حساسیت پس از سه تکرار نشان داد که پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* دارای خاصیت بیوکنترلی برای مهار رشد یا خاصیت ضدمیکروبی علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* در هر سه غلظت مطالعه شده بود. همچنین مشخص گردید که میانگین قطر هاله عدم رشد *لیستریا مونوسیتوژنز* در مجاورت این پروبیوتیک برای غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، و ۱ به‌ترتیب برابر با ۵، ۸، و ۱۲/۵ میلی‌متر بود (شکل ۱).



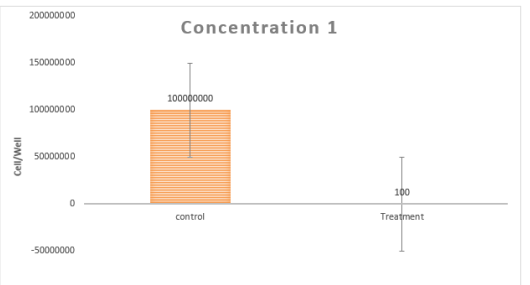
شکل ۱) تعیین حساسیت *لیستریا مونوسیتوژنز* نسبت به پروبیوتیک لاکتوکوکوس لاکتیس

Fig 1) Determining the sensitivity of *Listeria monocytogenes* to the probiotic Lactococcus lactis

نتایج اثر مهاری پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* بر تهاجم باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در MOI=۱۰۰ نشان داد که با افزایش غلظت این پروبیوتیک، تعداد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در کشت سلولی کاهش و در نتیجه از تهاجم باکتری به سلول‌ها کاسته می‌شود. نتایج کشت سلولی مشخص نمود که پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* در غلظت ۱ سبب کاهش تهاجم

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-05-18]
[DOI: 10.61186/ismj.26.3.178]

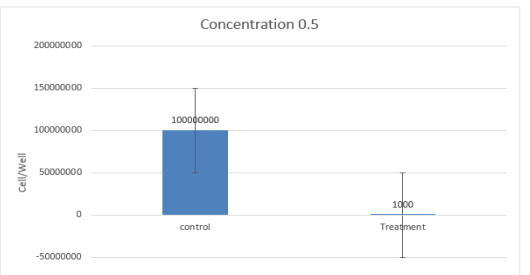
باکتری لیستریا با کاهش تعداد باکتری از لگاریتم 10^8 به لگاریتم 10^2 شد (شکل ۲).



شکل ۲) نتایج کشت سلولی پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* در غلظت ۱ سوپرناتانت کشت

Fig 2) The results of cell culture of probiotic *L. lactis* at 1 concentration of culture supernatant

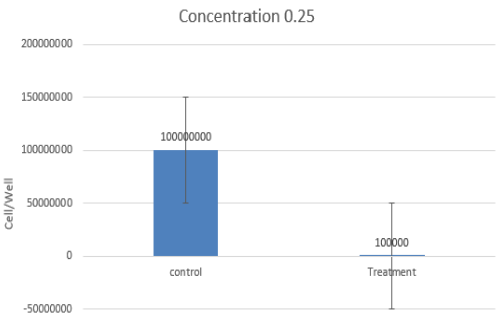
نتایج کشت سلولی در غلظت ۰/۵ از سوپرناتانت کشت پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* در MOI=۱۰۰ نشان داد که این پروبیوتیک در غلظت ۰/۵ سبب کاهش تهاجم باکتری لیستریا با کاهش تعداد باکتری از لگاریتم 10^8 به لگاریتم 10^3 شد (شکل ۳).



شکل ۳) نتایج کشت سلولی پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* در غلظت ۰/۵ سوپرناتانت کشت

Fig 3) The results of cell culture of probiotic *L. lactis* at 0.5 concentration of culture supernatant

در نهایت بررسی اثر مهاری بر تهاجم باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* توسط پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* در غلظت ۰/۲۵ از سوپرناتانت کشت و در MOI=۱۰۰ مشخص شد که این پروبیوتیک در غلظت ۰/۲۵ مسبب کاهش تهاجم باکتری لیستریا با کاهش تعداد باکتری از لگاریتم 10^8 به لگاریتم 10^5 شد (شکل ۴).



شکل ۴: نتایج کشت سلولی پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* در غلظت ۰/۲۵سوپرناتانت کشت

Fig 4) The results of cell culture of probiotic *L. lactis* at 0.25 concentration of culture supernatant

بحث

به دلیل اثرات کم استفاده از واکسن‌های غیرفعال یا خطرات استفاده از واکسن‌های زنده ضعیف شده و رشد روزافزون مقاومت میکروبی به آنتی‌بیوتیک‌ها در پاتوژن‌های منتقله از مواد غذایی، نیاز مبرمی به روش‌های جایگزین ایمن برای پیشگیری یا درمان این بیماری‌های منتقله از غذا وجود دارد. گزارش شده است که پروبیوتیک‌ها به عنوان مواد نگهدارنده و یا افزودنی‌های مفید به غذا (Safe addetive or preservative agent) می‌توانند اثرات مفیدی برای ارتقای سلامت میزبان داشته باشند این ویژگی‌ها آن‌ها را به عنوان یک جایگزین مناسب به جای استفاده از مواد نگهدارنده شیمیایی در غذا معرفی می‌کند (۲۲). در این مطالعه نتایج آزمایش

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-05-18]
[DOI: 10.61186/ismj.26.3.178]

تعیین حساسیت نشان داد که پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* خاصیت مهار رشد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* را در هر سه غلظت مطالعه شده داشت. مطالعات زیادی در مناطق مختلف دنیا گزارش نموده‌اند که پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* دارای خاصیت بیوکنترلی و ضدمیکروبی علیه طیف مختلفی از میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. در این راستا، در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۹ مشخص شد که پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* دارای خاصیت ضد میکروبی بود و توانایی مهار رشد استافیلوکوکوس ائوروس به عنوان یک پاتوژن مهم غذایی را دارد (۲۳). شجاعی و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* علیه قارچ‌های آلوده کننده پنیر سفید ایرانی پرداختند. این محققین متوجه شدند که عصاره پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و ضدقارچی بسیار قوی بود (۲۴). در مطالعه‌ای مشابه با نتایج به‌دست آمده از مطالعه ما، بنکروم (Benkerroum) و همکاران، به بررسی کاربرد کنترلی پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* علیه باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* پرداختند. نتایج این محققین نشان داد که میزان فراوانی این پاتوژن پس از ۳ ساعت از تلقیح اولیه پروبیوتیک (10^7 واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر) کاهش یافت و استفاده از این پروبیوتیک به عنوان استارتر، عمر مفید پنیر را تا ۵ روز افزایش داد (۲۵). مطالعه‌ای دیگر در زمینه خاصیت مهاری پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* علیه پاتوژن *لیستریا مونوسیتوژنز* در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. نتایج این مطالعه با نتایج بدست آمده از مطالعه ما دارای مطابقت بود زیرا پنج سویه پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* به طور قابل‌توجهی تعداد پاتوژن *لیستریا مونوسیتوژنز* را کاهش دادند. همچنین نتایج نشان داد که این پروبیوتیک‌ها می‌توانند کاندیدای مناسبی برای استفاده به‌عنوان کشت‌های محافظت شده در تولید پنیر تازه در نظر گرفته شوند، و همه سویه‌های آزمایش شده قادر به کاهش تعداد این پاتوژن مواد غذایی بودند (۱). چندین مطالعه آزمایشگاهی نشان داده‌اند که فعالیت آنتاگونیستی پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* در برابر پاتوژن‌ها، از جمله *لیستریا مونوسیتوژنز* با تولید باکتریوسین‌ها مرتبط بوده است (۲۶ و ۲۷). در مطالعاتی دیگر هنگامی باکتری‌های اسید لاکتیک که در برابر *لیستریا مونوسیتوژنز* با روش انتشار چاهک آزمایش شدند، هیچ فعالیت ضدباکتریایی برای سویه‌های لاکتوپلانتی باسیلوس پلانتاریوم مشاهده نشد در حالی که چهار سویه از *لاکتوکوکوس لاکتیس* فعالیت بازدارندگی از خود نشان دادند، که توانایی آن‌ها در تولید ترکیبات ضدمیکروبی تأیید گردید (۲۸ و ۲۹). از اینرو، درجه معینی از تنوع فعالیت ضدمیکروبی را نه تنها بین گونه‌های مختلف، بلکه بین سویه‌های متعلق به یک گونه می‌توان مشاهده کرد و فعالیت ضد میکروبی عمدتاً مرتبط با نوع سویه‌ها هستند (۱).

در مطالعه ما مشخص شد که پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* اثر مهاری بر تهاجم باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* داشت که با افزایش غلظت این پروبیوتیک، تعداد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در کشت سلولی کاهش و در نتیجه از تهاجم باکتری به سلول‌ها کاسته شد. مطالعات در زمینه بررسی تأثیر پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* بر تهاجم پاتوژن *لیستریا مونوسیتوژنز* محدود می‌باشد. در یک مطالعه، متوجه شدند که پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* نه تنها پتانسیل بهبودی در مقابل عفونت ناشی از پاتوژن *لیستریا مونوسیتوژنز* در موش را دارا بود، بلکه زمینه‌ساز اثرات ایمونولوژیک متفاوتی در حیوان آزمایشگاهی شد که در حذف *لیستریا مونوسیتوژنز* مؤثر بود (۳۰). مطابق با

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-05-18]

[DOI: 10.61186/ismj.26.3.178]

نتایج بدست آمده از مطالعه ما، پویمنیدیو (Poimenidou) و همکاران، به بررسی مهار رشد، چسبندگی و تهاجم *لیستریا مونوسیتوژنز* به سلول‌های Caco-2 توسط باکتری‌های پروبیوتیک اسید لاکتیک پرداختند. نتایج نشان داد لاکتوباسیلوس‌ها قادر به چسبیدن به سلول‌های Caco-2 در سطوح قابل توجهی بالاتر از سویه کنترل بودند و چسبندگی و تهاجم *لیستریا مونوسیتوژنز* به سلول‌های Caco-2 به میزان زیادی در طول رقابت باکتری‌های پروبیوتیک اسید لاکتیک کاهش یافت (۳۱). *لیستریا مونوسیتوژنز* یک پاتوژن مهاجم است و پس از چسبیدن به سطح سلول یوکاریوتی، به داخل سلول‌های میزبان نفوذ می‌کند و چرخه حیات درون سلولی خود را آغاز می‌کند. پروبیوتیک‌هایی که قادر به جلوگیری از این ورود و تهاجم این باکتری به سلول‌ها شوند، برای یک اثر محافظتی برای سلامت انسان امیدوار کننده خواهند بود (۳۱). علاوه بر این نشان داده شده است که پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند در کاهش تهاجم پاتوژن‌های باکتریایی به سلول‌های اپیتلیال روده مؤثر باشد (۳۲).

همانند نتایج بدست آمده از مطالعه ما، مطالعه‌ی دیگر نیز انجام شد که به بررسی پتانسیل پروبیوتیک‌های حاصل از کشت‌های لبنیات تجاری در برابر عفونت *لیستریا مونوسیتوژنز* در شرایط in vitro و in vivo پرداخت. محققین در این مطالعه متوجه شدند که پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* یکی از پروبیوتیک‌هایی بود که منجر به کاهش تهاجم و چسبندگی پاتوژن *لیستریا مونوسیتوژنز* در سلول‌های اپیتلیال انسانی Caco-2 شد (۳۳). از طرفی بر عکس نتایج ما مطالعاتی نیز وجود دارند که نشان داده‌اند افزودن برخی از پروبیوتیک‌ها به سلول‌های Caco-2 قبل از آلوده شدن با *لیستریا مونوسیتوژنز* و برخی از پاتوژن‌های دیگر، تهاجم و چسبندگی پاتوژن‌ها را در سلول‌های اپیتلیال افزایش می‌دهد (۳۶-۳۴). این نتایج نشان می‌دهد که تأثیر پروبیوتیک‌ها بر اساس نوع پروبیوتیک در تهاجم پاتوژن‌ها می‌تواند متفاوت باشد و مطالعات بیشتری در مورد تعامل پروبیوتیک‌های بالقوه با باکتری‌های بیماری‌زا باید انجام شود.

نتیجه‌گیری

یافته‌های ما نشان داد که پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* خاصیت ضدمیکروبی و ضد تهاجمی علیه لیستریا مونوسیتوژنز به عنوان پاتوژن منتقله از غذا را داشت. بنابراین، هنگامی که این پروبیوتیک‌ها با اثرات ضدمیکروبی و ضدتهاجمی خود در برابر پاتوژن‌ها غذایی موجود به غذاها اضافه شوند، می‌توانند ایمنی غذا را در برابر رشد میکروبی افزایش دهند. همچنین این یافته‌ها پتانسیل تولید تجاری را برای اعمال اثرات پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* برای محافظت در برابر عفونت *لیستریا مونوسیتوژنز* را نشان می‌دهد و در آینده نیاز به مطالعات بیشتری در زمینه استفاده از این پروبیوتیک برای کنترل پاتوژن‌های مختلف وجود دارد. همچنین پیشنهاد می‌شود تا از پروبیوتیک *لاکتوکوکوس لاکتیس* برای غلبه بر عفونت *لیستریا مونوسیتوژنز* در مواد غذایی استفاده شود.

سپاس و قدردانی

نویسندگان این مقاله کمال تشکر و قدرانی را از دانشگاه علوم پزشکی ایران به دلیل حمایت جهت انجام تکنیک‌های آزمایشگاهی این تحقیق دارند.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-05-18]

[DOI: 10.61186/ismj.26.3.178]

References:

1.Pisano MB, Fadda ME, Viale S, et al. Inhibitory effect of Lactiplantibacillusplantarum and Lactococcus lactis autochtonous strains against Listeria monocytogenes in a laboratory cheese model. Foods 2022; 11(5): 715.
doi: 10.3390/foods11050715.

2.Valenti M, Ranganathan N, Moore LS, et al. Listeria monocytogenes infections: presentation, diagnosis and treatment. Br J Hosp Med (Lond) 2021; 82(10): 1-6.
doi: 10.12968/hmed.2021.0107.

3.Yousefian F, Genera F, Soeizi M, et al. Listeria monocytogenes Infection in a 69-year-old Diabetic. J Clin Med Img Case Rep 2022; 2(5): 1253.
https://jcmimagescasereports.org/article/JCM-V2-1254.pdf.

4.García-Almendárez BE, Cann IK, Martin SE, et al. Effect of Lactococcus lactis UQ2 and its bacteriocin on Listeria monocytogenes biofilms. Food Control 2008; 19(7): 670-80.
https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.07.015.

5.Ranjbar R, Halaji M. Epidemiology of Listeria monocytogenes prevalence in foods, animals and human origin from Iran: a systematic review and meta-analysis. BMC Public Health 2018; 18(1): 1057.
doi: 10.1186/s12889-018-5966-8.

6.Davis ML, Ricke SC, Donaldson JR. Establishment of Listeria monocytogenes in the gastrointestinal tract. Microorganisms 2019; 7(3): 75.
doi: 10.3390/microorganisms7030075.

7.Akritidou T, Akkermans S, Gaspari S, et al. Effect of gastric pH and bile acids on the survival of Listeria monocytogenes and Salmonella Typhimurium during simulated gastrointestinal digestion. Innov Food Sci Emerg Technol 2022; 82: 103161.
doi: 10.1016/j.ifset.2022.103161.

8.Ireton K, Mortuza R, Gyanwali GC, et al. Role of internalin proteins in the pathogenesis of Listeria monocytogenes. Mol Microbiol 2021; 116(6): 1407-19.
doi: 10.1111/mmi.14836.

9.Mercenier A, Müller-Alouf H, Grangette C. Lactic acid bacteria as live vaccines. Curr Issues Mol Biol 2000; 2(1): 17-25.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11464916/.

10.Marelli B, Perez AR, Banchio C, et al. Oral immunization with live Lactococcus lactis expressing rotavirus VP8 subunit induces specific immune response in mice. J Virol Methods 2011; 175(1): 28-37.
doi: 10.1016/j.jviromet.2011.04.011.

11.Hossain MdI, Mizan MdFR, Ashrafudoulla Md, et al. Inhibitory effects of probiotic potential lactic acid bacteria isolated from kimchi against Listeria monocytogenes biofilm on lettuce, stainless-steel surfaces, and MBEC™ biofilm device. LWT 2020; 118: 108864.
https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108864.

12.Ewida RM, Hasan WS, Elfaruk MS, et al. Occurrence of Listeria spp. in soft cheese and ice cream: effect of probiotic Bifidobacterium spp. on survival of Listeria monocytogenes in soft cheese. Foods 2022; 11(21): 3443.
doi: 10.3390/foods11213443.

13.Koo OK, Amalaradjou MA, Bhunia AK. Recombinant probiotic expressing Listeria adhesion protein attenuates Listeria monocytogenes virulence in vitro. PLoS One 2012; 7(1): e29277.
doi: 10.1371/journal.pone.0029277.

14.Rzepkowska A, Zielińska D, Ołdak A, et al. Organic whey as a source of Lactobacillus strains with selected technological and antimicrobial properties. Int J Food Sci Technol 2017; 52(9): 1983-94.
https://doi.org/10.1111/ijfs.13471.

15.Prabhurajeshwar C, Chandrakanth K. Evaluation of antimicrobial properties and their substances against pathogenic bacteria in-vitro by probiotic Lactobacilli strains isolated from commercial yoghurt. Clin Nutr Exp 2019; 23: 97-115.
https://doi.org/10.1016/j.yclnex.2018.10.001.

16.Ferrer Valenzuela J, Pinuer LA, Garcia Cancino A, et al. Metabolic fluxes in Lactic acid bacteria—A review. Food Biotechnol 2015; 29(2): 185-217.
https://doi.org/10.1080/08905436.2015.1027913

17.Lo R, Bansal N, Turner MS. Characterisation of Lactococcus lactis isolates from herbs, fruits and vegetables for use as biopreservatives

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-05-18]

[DOI: 10.61186/ismj.26.3.178]

against Listeria monocytogenes in cheese. Food Control 2018; 85: 472-83.
https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.09.036.
18.Lopez-Dıaz TM, Alonso C, Roman C, et al. Lactic acid bacteria isolated from a hand-made blue cheese. Food Microbiol 2000; 17(1): 23-32.
https://doi.org/10.1006/fmic.1999.0289.
19.Dal Bello B, Cocolin L, Zeppa G, et al. Technological characterization of bacteriocin producing Lactococcus lactis strains employed to control Listeria monocytogenes in Cottage cheese. Int J Food Microbiol 2012; 153(1-2): 58-65.
doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.016.
20.Karimi S, Rashidian E, Birjandi M, et al. Antagonistic effect of isolated probiotic bacteria from natural sources against intestinal Escherichia coli pathotypes. Electron Physician 2018; 10(3): 6534-6539.
doi: 10.19082/6534.
21.Nakamura S, Kuda T, An C, et al. Inhibitory effects of Leuconostoc mesenteroides 1RM3 isolated from narezushi, a fermented fish with rice, on Listeria monocytogenes infection to Caco-2 cells and A/J mice. Anaerobe 2012; 18(1): 19-24.
doi: 10.1016/j.anaerobe.2011.11.006.
22.Mathipa MG, Bhunia AK, Thantsha MS. Internalin AB-expressing recombinant Lactobacillus casei protects Caco-2 cells from Listeria monocytogenes-induced damages under simulated intestinal conditions. PLoS One 2019; 14(7): e0220321.
doi: 10.1371/journal.pone.0220321.
23.Ma D, Jiang Y, Ahmed S, et al. Physical and antimicrobial properties of edible films containing Lactococcus lactis. Int J Biol Macromol 2019; 141: 378-86.
doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.09.006.
24.Shojaee A, Anvar SAA, Hamedi H, et al. Antifungal and antioxidant activity of two essential oils and Lactococcus lactis subsp. lactis extract on selected Iranian white cheese-contaminating fungi. Int J Dairy Technol 2022; 75(2): 372-9.
https://doi.org/10.1111/1471-0307.12842.
25.Benkerroum N, Oubel H, Zahar M, et al. Isolation of a bacteriocin-producing Lactococcus lactis subsp. lactis and application to control Listeria monocytogenes in Moroccan jben. J Appl Microbiol 2000; 89(6): 960-8.
doi: 10.1046/j.1365-2672.2000.01199.x.
26.Nero LA, Mattos MR, Beloti V, et al. Autochthonous microbiota of raw milk with antagonistic activity against Listeria monocytogenes and salmonella enteritidis. J Food Saf 2009; 29(2): 261-70.
https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2009.00155.x.
27.Kondrotiene K, Kasnauskyte N, Serniene L, et al. Characterization and application of newly isolated nisin producing Lactococcus lactis strains for control of Listeria monocytogenes growth in fresh cheese. LWT 2018; 87: 507-14.
https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.021.
28.Schillinger U, Lücke FK. Antibacterial activity of Lactobacillus sake isolated from meat. Appl Environ Microbiol 1989; 55(8): 1901-6.
doi: 10.1128/aem.55.8.1901-1906.1989.
29.Pisano MB, Fadda ME, Melis R, et al. Molecular identification of bacteriocins produced by Lactococcus lactis dairy strains and their technological and genotypic characterization. Food Control 2015; 51: 1-8.
https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.005.
30.Lukic J, Jancic I, Mirkovic N, et al. Lactococcus lactis and Lactobacillus salivarius differently modulate early immunological response of Wistar rats co-administered with Listeria monocytogenes. Benef Microbes 2017; 8(5): 809-22.
https://doi.org/10.3920/BM2017.0007.
31.Poimenidou SV, Skarveli A, Saxami G, et al. Inhibition of Listeria monocytogenes Growth, Adherence and Invasion in Caco-2 Cells by Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolated from Fecal Samples of Healthy Neonates. Microorganisms 2023; 11(2): 363.
https://doi.org/10.3390/microorganisms11020363.
32.Zhang JS, Corredig M, Morales-Rayas R, et al. Downregulation of Salmonella virulence gene expression during invasion of epithelial cells treated with Lactococcus lactis subsp. cremoris JFR1 requires OppA. Probiotics & Antimicro Prot 2020; 12: 577-88.
https://doi.org/10.1007/s12602-019-09574-1.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-05-18]

[DOI: 10.61186/ismj.26.3.178]

33.Aljasir SF, D'Amico DJ. Probiotic potential of commercial dairy-associated protective cultures: In vitro and in vivo protection against Listeria monocytogenes infection. Food Res Int 2021; 149: 110699.
https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110699.
34.Gueimonde M, Jalonen L, He F, et al. Adhesion and competitive inhibition and displacement of human enteropathogens by selected lactobacilli. Food Res Int 2006; 39(4): 467-71.
https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.10.003.
35.Collado MC, Meriluoto J, Salminen S. Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. Lett Appl Microbiol 2007; 45(4): 454-60.
https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02212.x.
36.Abasi S, Keshtmand Z. The effect of probiotic bifidobacterium lactis and Lactobacillus casei on sperm maturation in streptozotocin-diabetic rats. Iran South Med J 2020; 22(6): 392-401. (Persian)
doi: 10.29252/ismj.22.6.392.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-05-18]

[DOI: 10.61186/ismj.26.3.178]

Iran South Med J 2023; 26(3): 178-188

Original Article

The inhibitory effect of probiotic *Lactococcus lactis* on the growth and invasion of *Listeria monocytogenes* in Caco-2 cell line

A. Lotfi (MSc)[1*], J. Hamedi (PhD)[2], M. Taati Moghadam (PhD)[3], F. Masjidian Jezi (PhD)[4**]

[1] Department of Microbiology, School of Modern Sciences and Technologies, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Department of Microbial Biotechnology, School of Biology and Center of Excellence in Phylogeny of Living Organisms, School of Science, University of Tehran, Iran
[3] Assistant Professor of Medical Microbiology, Department of Medical Microbiology, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
[4] Associate Professor of Medical Microbiology, Department of Medical Microbiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received 16 Apr, 2023 Accepted 9 Dec, 2023)

Abstract

Background: *Listeria monocytogenes* leads to listeriosis in humans through the consumption of ready-to-eat foods. Older adults, immunocompromised patients, pregnant women, and newborns are at the highest risk for this infection. To detect probiotic bacteria with an inhibitory activity against *L. monocytogenes*, we evaluated the inhibitory effect of *Lactococcus lactis* on the growth and invasion of *L. monocytogenes.*

Materials and Methods: In this study, we used the *L. monocytogenes* ATCC 7644 strain and the *L. lactis* PTCC 1336 probiotic strain. To investigate the inhibitory effects of *L. lactis* on the growth of pathogenic *L. monocytogenes*, we employed the well diffusion agar method, and to investigate its inhibitory effect on invasion by this bacterium, we conducted a co-culture with Caco-2 human enterocyte cells.

Results: The results showed that *L. lactis* in concentrations of 0.25, 0.5, and 1 had antimicrobial properties against *L. monocytogenes*. With increasing concentration, the inhibitory effect on this pathogen increased. In addition, *L. lactis* showed an inhibitory effect on the *L. monocytogenes* invasion of Caco-2 cells. Therefore, in the concentration of 1, *L. lactis* decreased the number of bacteria by reducing the invasion of the cells by *Listeria* from log 10^8 to log 10^2; in the concentration of 0.5, from log 10^8 to log 10^3; and in the concentration of 0.25, from log 10^8 to log 10^5.

Conclusion: *L. lactis* has antimicrobial and inhibitory properties against the invasion of *L. monocytogenes* and can be considered an option to inhibit invasion and gastrointestinal infections caused by this bacterium.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, *Lactococcus lactis*, probiotic, antimicrobial properties

©Iran South Med J. All rights reserved

Cite this article as: Lotfi A, Hamedi J, Taati Moghadam M, Masjidian Jezi F. The inhibitory effect of probiotic Lactococcus lactis on the growth and invasion of Listeria monocytogenes in Caco-2 cell line. Iran South Med J 2023; 26(3): 178-188

***Address for correspondence:** Department of Medical Microbiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Email: masjedian.f@iums.ac.ir
*ORCID: 0009-0007-4069-8959
**ORCID: 0000-0002-0242-6000

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-05-18]

[DOI: 10.61186/ismj.26.3.178]