



پایان نامه‌ی دکترای عمومی دامپزشکی

عنوان:

مطالعه‌ی تأثیر ضد میکروبی اسانس روغنی گیاه زیره‌ی سبز بر باکتری لیستریا مونوستیوژنز در پنیر سفید ایرانی

نگارش:

پگاه رستمی سلیمانی

راهنمای اول

دکتر علی فضل آرا

(دانشیار دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران)

راهنمای دوم

دکتر احسان صادقی

(استادیار دانشکده‌ی بهداشت دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه)

داور

دکتر سیاوش مکتبی

(استادیار دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران)

داور

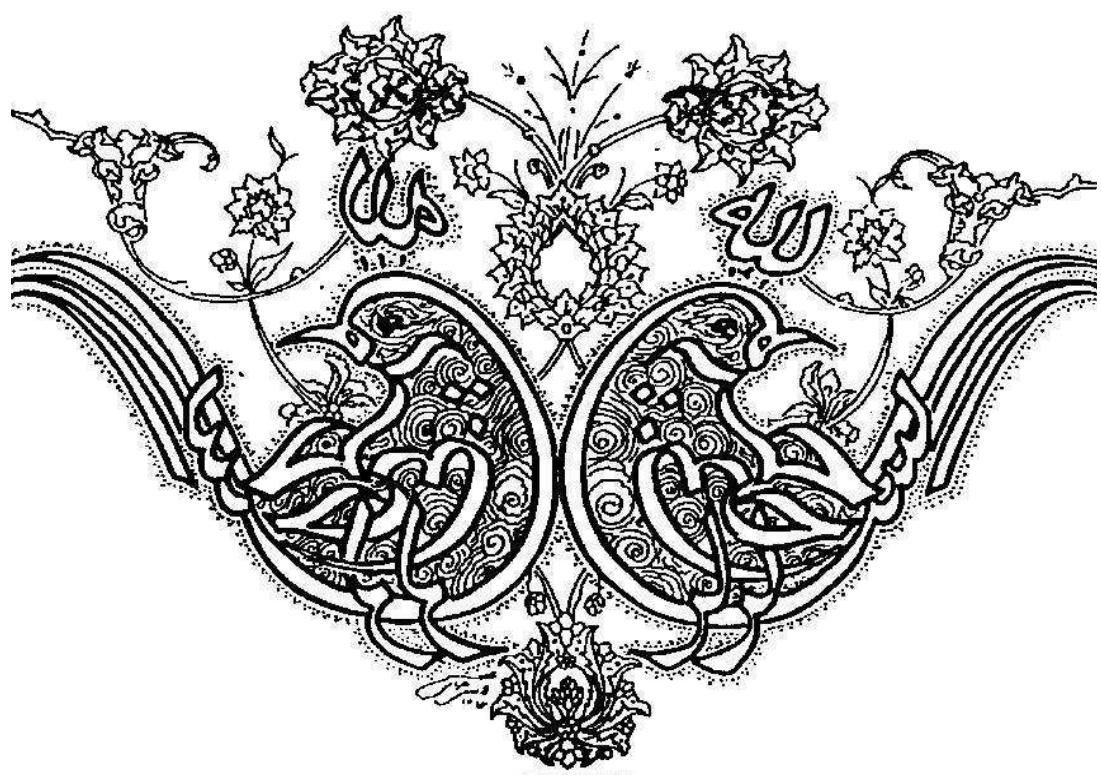
دکتر مهدی زارعی

(استادیار دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران)

دکتر حسین نجف زاده

ناظر تحصیلات تکمیلی

(دانشیار دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز)



تَعْدِيمُهُ بِخُدَائِي كَهْ دَاشْتَنْ اوْ جَسْرَانْ هَمَى نَمَاثْتَهَمَى مَنْ اَسْتَ
مَى سَايِشْ چُونْ لَايِقْ سَايِشْ اَسْتَ

اَهَى تَكِيهَ بِرَلَفْ تُوكَرَدَم
بِرَجَزْ لَفَتْ زَارَمْ تَكِيهَ كَاهَى
كَرْ قَمْ دَامَنْ بَخَشَدَهَ اَهَى رَا
كَهْ بَخَشَدَهَ اَزْ كَرَمْ كَوَهِي بَهْ كَاهَى

تعدادم به پدرم:

به پاس قلب بزرگش که فریادرس است و سرکردانی و ترس درنا هش به شجاعت می کراید.
کوه استقامت، اسوه‌ی صبر و ایثار، دیایی کذشت و مهربانی،
همان که راستی قامت من از شگفتگی قامت اوست و هرچه دارم از نعمت وجود او است
پدر عزیزم با تمام وجود دوست دارم و برخاک پات بوسه می زنم.

تعدیم به مادرم:

بپاس عاطفه‌ی سرشار و کرمای امید نخش وجودش که درین سردترین روزگاران بترین پشتیان است.

آسمان بیکران عشق، بلندای پاکی و منظر خلوص و صفا،

همان که دلماں پر مرش پناه حستکی هادستان نواز سگرش القایم دهنده‌ی تمام زخمایم است.

مادرم برایم عاشقانه و سنت دارم و خاک پات را بوسه می‌زنم.

وٽدیم به خواهر عزیزم سارا:

برپاس تعبیر عظیم و انسانی اش از کلمه‌ی ایثار و از خود گذشتگی

یاور همیشگی و شریک تمام بخطات سخت زندگی ام

او که صبورانه دکنارم ماند و برای به او ج رسیدن من بال پروازم شد.

خواهربی همتایم دوستت دارم و از خداوند برای تو بسین هارا خواستارم.

با مشکر از تمام استاید که اتفاق رم در دانشگاهی دامنپر شکلی شهید حمران اهواز

به پاس علمی که به من بخشیدند و شمعی که در تاریخی جهالت من روشن نمودند.

با مشکر بیکران از جناب آقای دکتر علی فضل آرا

به حاطر تمام صبوری ها، همراهی ها و مساعدت هایشان در به مر نشتن این اثر.

و مشکر فراوان از جناب آقای دکترا حسان صادقی

به حاطر لطف بی در نیشان در مدایت ای جناب.

بهین بر خود لازم می دانم از استاد محترم:

جناب آقای دکتر سیاوش مکتبی

و

جناب آقای دکتر محمدی زارعی

به خاطر قول زحمت داوری این پیمان نامه تقدیر و مشکر به عل آورم.

فرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل اول / مقدمه و هدف

۲ مقدمه و هدف

فصل دوم / مروری بر منابع موجود

۵	الف- باکتری لیستریا
۵	الف-۱- تاریخچه
۶	الف-۲- تعریف
۸	الف-۳- گونه‌های لیستریا
۱۱	الف-۴- لیستریا مونوسیتوژنر
۱۱	الف-۴-۱- تعریف
۱۲	الف-۴-۲- پراکندگی باکتری در طبیعت
۱۳	الف-۴-۳- انتشار در مواد غذایی
۱۵	الف-۴-۴- سروتیپها
۱۸	الف-۴-۵- تأثیر عوامل مختلف محیطی بر لیستریا مونوسیتوژنر
۱۸	الف-۴-۱-۵- دما
۱۹	الف-۴-۲-۵- pH
۲۰	الف-۴-۳-۵- نمک
۲۱	الف-۴-۴-۵- رطوبت
۲۱	الف-۴-۴-۵-۵- مواد ضد عفونی کننده
۲۱	الف-۴-۶- لیستریوزیس در انسان
۲۲	الف-۴-۶-۱- افراد در معرض خطر
۲۳	الف-۴-۶-۲- طریقه‌ی انتقال بیماری
۲۴	الف-۴-۶-۳- علائم بیماری
۲۵	الف-۴-۶-۴-۱- التهاب گوارشی و سپتی سمی
۲۵	الف-۴-۶-۴-۲- لیستریوزیس در دوران بارداری
۲۶	الف-۴-۶-۴-۳- لیستریوزیس در نوزادان

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
الف-۴-۳-۶-۴- لیستریوزیس سیستم عصبی.....	۲۶
الف-۴-۶-۳-۵- لیستریوزیس موضعی	۲۷
الف-۴-۶-۴- شیوع لیستریوزیس در انسان	۲۷
ب- زیره‌ی سبز	۳۱
ب-۱- طبقه‌بندی علمی	۳۱
ب-۱-۱- تعریف	۳۱
ب-۱-۲- تاریخچه	۳۲
ب-۱-۳- اندام دارویی	۳۲
ب-۱-۴- مکانیسم اثر ضد باکتریایی	۳۳
ب-۱-۵- موارد مصرف	۳۳
ب-۱-۶- مصارف پزشکی	۳۴
ب-۱-۷- مواد متشکله	۳۵
ب-۱-۸- اسانس زیره	۳۵
ب-۲- روش عصاره‌گیری	۳۶
ب-۲-۱- استخراج با آب	۳۷
ب-۲-۲- تقطیر با آب و بخار	۳۷
ب-۲-۳- تقطیر با بخار مستقیم	۳۷
ب-۲-۴- روش فشردن در حرارت معمولی	۳۷
ب-۲-۵- استخراج به کمک حلال	۳۸
ب-۲-۶- استخراج به کمک گازها	۳۸
ج- پنیر	۴۰
ج-۱- تعریف	۴۰
ج-۲- تاریخچه‌ی تهیه‌ی پنیر	۴۰
ج-۳- تولید و مصرف پنیر در جهان	۴۱
ج-۴- تولید و مصرف پنیر در ایران	۴۱
ج-۵- ارزش تغذیه‌ای پنیر	۴۱
ج-۶- مراحل تولید پنیر	۴۲
ج-۶-۱- صاف کردن شیر	۴۲

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
-------	------

ج-۶-۲- پاستوریزاسیون یا سالم سازی	۴۲
ج-۶-۳- استاندارد کردن شیر	۴۳
ج-۶-۴- اضافه کردن مایه‌ی لاكتیک	۴۳
ج-۶-۵- مواد افروندنی مورد استفاده در پنیر	۴۴
ج-۶-۶- تولید لخته	۴۴
ج-۶-۶-۱- افزودن رنت	۴۵
ج-۶-۶-۲- بریدن لخته	۴۵
ج-۶-۶-۳- به هم زدن اویله	۴۵
ج-۶-۶-۴- خارج کردن سرم یا آب پنیر	۴۵
ج-۶-۶-۵- حرارت دادن لخته	۴۶
ج-۶-۶-۶- به هم زدن نهایی	۴۶
ج-۶-۶-۷- پروراندن لخته	۴۶
ج-۶-۷- نمک زدن	۴۶
ج-۶-۸- نگهداری پنیر	۴۷
ج-۶-۹- بسته‌بندی پنیر	۴۷

فصل سوم / مواد و روش کار

الف- وسایل لازم	۴۹
ب- روش کار.....	۵۳
ب-۱- تهیه‌ی میزان تلقیح باکتریایی	۵۳
ب-۲- تهیه‌ی پنیر	۵۴
ب-۳- انجام کشت در زمان‌های تهیه شده	۵۶
ب-۴- روش شمارش میکروبی	۵۷

فصل چهارم / نتایج

نتایج	۰۹
-------------	----

فصل پنجم / بحث و نتیجه گیری

۶۶ بحث و نتیجه گیری

پیشنهادات

۷۷ پیشنهادات

منابع

۷۹ منابع

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۲-۱: تشخیص تفریقی لیستریا از جنس‌های مشابه	۷
جدول ۲-۲: مقایسه خصوصیات بیوشیمیایی گونه‌های مختلف لیستریا	۱۰
جدول ۲-۳: درصد سروتیپ‌های جدا شده از منابع مختلف لیستریا مونوستیوژن	۱۷
جدول ۲-۴: موارد مشکوک و تأیید شده‌ی بیماری لیستریوز	۲۹
جدول ۲-۵: نتایج تجزیه و تحلیل اسانس زیره‌ی سبز با استفاده از GC/MS	۳۵
جدول ۲-۶: ارزش غذایی دانه‌ی زیره در هر صد گرم	۳۸
جدول ۴-۱: شمارش لیستریا مونوستیوژن در زمان‌های مختلف تحت تأثیر غلظت‌های متفاوت عصاره‌ی	
زیره‌ی سبز در پنیر سفید ایرانی (cfu/g)	۶۱
جدول ۴-۲: میانگین لگاریتم لیستریا مونوستیوژن در زمان‌های مختلف تحت تأثیر غلظت‌های متفاوت	
عصاره‌ی زیره‌ی سبز در پنیر سفید ایرانی ($\log \text{cfu/g}$)	۶۲

فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
-------	------

نمودار ۴-۱: مقایسه‌ی اثر سه گروه شاهد فاقد عصاره و حاوی عصاره با غلظت‌های ۰٪ و ۰.۰۲٪ و ۰.۰۴٪ زیره‌ی سبز بر روی تراکم باکتری لیستریا مونوسيتیزنز در نمونه‌ی پنیر سفید ایرانی ۶۴

چکیده‌ی پایان‌نامه

نام خانوادگی دانشجو: رستمی سلیمانی عنوان پایان‌نامه: مطالعه‌ی تأثیر ضد میکروبی اسانس گیاه زیره‌ی سبز بر باکتری لیستریا مونوسیتوژن در پنیر سفید ایرانی	نام: پگاه
استاد راهنمای: دکتر علی فضل آرا، دکتر احسان صادقی	درجه تحصیلی: دکترای عمومی گرایش: دامپزشکی
محل تحصیل (دانشگاه): شهید چمران اهواز	رشته: دامپزشکی
دانشکده: دامپزشکی	تاریخ فارغ‌التحصیلی:
کلید واژه‌ها: لیستریا مونوسیتوژن، زیره‌ی سبز، پنیر	
<p>لیستریوزیس، یک بیماری عفونی شدید است که در اثر خوردن مواد غذایی آلوده شده به وسیله‌ی باکتری لیستریا مونوسیتوژن ایجاد می‌گردد و اخیراً به عنوان یک معضل در سلامت عمومی تشخیص داده شده است. این بیماری بدؤاً زنان حامله، نوزادان و افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف را درگیر می‌کند. در این بررسی با هدف استفاده از مواد گیاهی به عنوان یک آنتی‌بیوتیک طبیعی، اثر عصاره‌ی زیره‌ی سبز (کومینوم سیمینوم) در غلظت‌های 0.002% و 0.004% بر روی باکتری لیستریا مونوسیتوژن با میزان تلقیح 10^3 باکتری در هر سی سی شیر مصرفی جهت تهیه پنیر در یک مدل غذایی (پنیر سفید ایرانی) مورد مطالعه قرار گرفت. غلظت باکتری در پنیر حاوی غلظت 0.002% عصاره‌ی زیره‌ی سبز پس از ۳۰ روز \log_{10} کاهش یافت و از این روز به بعد باکتری جدا نشد و همچنین در پنیر حاوی غلظت 0.004% عصاره پس از ۱۵ روز باکتری \log_{10} کاهش یافت و از این روز به بعد از این نمونه باکتری جدا نشد. در حالی که پنیر فاقد عصاره در تمام طول دوره حاوی باکتری بود. آنالیز آماری به وسیله‌ی نرم افزار $SPSS$ و آزمون Repeated Measures Define One-way ANOVA نشان داد که میزان باکتری (لیستریا داد ($p < 0.05$). همچنین آزمون $ANOVA$ نشان داد که میزان باکتری مونوسیتوژن) از روز هفت نگهداری با سایر روزها اختلاف معنی‌داری پیدا کرد ($p < 0.05$). نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که عصاره‌ی زیره‌ی سبز دارای خواص ضد لیستریایی می‌باشد.</p>	

فصل اول

مقدمہ و معرفت



مقدمه و هدف:

لیستریا مونوستیتوژن^۱ نوعی باکتری است که در سه دهه‌ی اخیر انتقال آن به وسیله غذا کاملاً اثبات شده است. این باکتری عامل بیماریزای خطرناکی^۲ می‌باشد. با توجه به مرگ و میر ناشی از آن به خصوص در بین نوزادان و افراد مسن و ضایعاتی که بر جا می‌گذارد به عنوان یک خطر جدی تلقی می‌شود.

مواد غذایی از راه‌های گوناگون در معرض این آلدگی قرار می‌گیرند. آلدگی غذایی مانند شیر، پنیر، بستنی، سبزیجاتی چون کلم، گوشت‌های قرمز، ماکیان، ماهی‌ها و فرآورده‌های مختلف‌شان توسط محققین و آزمایشات بسیاری از کشورهای مختلف گزارش شده است، که در این میان شیر خام و فرآورده‌های دیگر لبنی به خصوص پنیر نقش اساسی در شیوع این آلدگی دارد.

به هر حال پس از چندین همه‌گیری ناشی از غذا به وسیله این پاتوژن در ایالات متحده و دیگر کشورها، بسیاری بر این باورند که لیستریا مونوستیتوژن حقيقةً یک میکروارگانیسم موذی است.

پنیر آلدده به این باکتری عامل اصلی چندین همه‌گیری در ایالات متحده و کشورهای اروپایی از جمله سوئیس، کانادا و آلمان شناخته شده که اکثر این پنیرها از نوع نرم یا نیمه نرم بوده است. از طرفی بی شک نخستین راه مورد استفاده بشر جهت درمان بیماری‌ها و جلو گیری از فساد مواد غذایی، بهره گیری از طبیعت و گیاهان موجود در هر منطقه بوده است. با پیشرفت جوامع بشری و تجربه اندازی تدریجی انسان، استفاده از گیاهان شکل تازه‌تری به خود گرفت و در قالب علم در

¹. *Listeria*

². Emerging Foodborne Pathogen



آمد. دانشمندان بزرگی نظیر بقراط در راه معالجه‌ی بیماران خود از گیاهان بهره گرفتند و مطالعات گسترده‌ای را در این زمینه به انجام رسانیدند. در ایران نیز دانشمندان برجسته‌ای نظیر ابن سینا و رازی به کارگیری گیاهان و فرآورده‌های آنها را در انجام امور پزشکی مورد توجه قرار دادند که نتایج تحقیقات در این زمینه در کتاب‌هایی همچون قانون ابوعلی سینا موجود می‌باشد.

امروزه با توجه به عوارض جانبی داروهای شیمیایی، پزشکان و محققان علم داروسازی توجه خاصی به استفاده از گیاهان دارویی و تحقیق در این زمینه از خود نشان داده‌اند و هر روزه اطلاعات جدید و نتایج سودمندی را در این زمینه به جامعه بشری عرضه می‌دارند.

در حال حاضر استفاده از عصاره‌های گیاهی جهت حفظ مواد غذایی در برابر فساد توسط عوامل بیماری‌زا نیز مورد توجه قرار گرفته است که در این میان خاصیت طعم دهنده‌گی برخی از این عصاره‌ها باعث مورد توجه قرار گرفتن از سوی مصرف کنندگان شده است.

هدف از این طرح بررسی عصاره‌ی گیاه زیره‌ی سبز به عنوان یک طعم دهنده و اثرات ضد لیستریایی آن در پنیرهای سفید ایرانی بوده است تا مشخص شود که آیا می‌توان از این عصاره به عنوان یک آنتی بیوتیک طبیعی و بدون عوارض شیمیایی بهره جست یا خیر.

فصل دوم

مروزی بر منابع موجود