

تعیین غلظت موثر ضدباکتریایی سیستم لاکتوپراکسیداز بر اشریشیاکلی در شیر UHT

دکتر گیتی کریم^۱ دکتر لادن منصوری نژاد^۲

Assessment of effective concentration of lacto peroxidase system on *E. coli* in UHT milk

Karim, G.,¹ Mansourinajand, L.²

¹Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran. ²Graduated from The Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.

Objective: To assess the effect of natural concentrations of LPS in cow's milk on *E. coli* O₁₁₁:B₄ in UHT milk.

Design: Experimental study.

Procedure: Different concentrations of *E. coli* (10¹-10³-10⁷ cfu/ml) were inoculated into the UHT milk which contained active LPS to study the effect of the system on the microorganism. Two concentrations of LP (10 and 30 ppm) which are the naturally accrued of this enzyme in raw milk were prepared and added to the UHT milk together with each of the microorganism concentrations mentioned above with 0.25 mM of thiocyanate and 0.25 mM of hydrogen peroxide, control was prepared using UHT milk with 10⁸ cfu/ml of microorganism. All the samples and control were stored at 4°C and 25°C and tested at 0, 1, 2, 7 and 14 days intervals. For each sample and control two repetition were considered.

Statistical analysis: Two ways analysis of variance.

Results: The microorganism in the samples showed the same growth trends as in the controls. The data obtained in this study, shows that the LPS has no considerable antibacterial effect on *E. coli* O₁₁₁:B₄. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran*, 57, 2: 77-81, 2002.

Key words: Lactoperoxidase system, *E. coli*, UHT milk.

هدف: تعیین تأثیر مقادیر طبیعی سیستم لاکتوپراکسیداز از شیر بر اشریشیاکلی (*E. coli*) در شیر UHT.

طرح: مطالعه تجربی.

روش: غلظتهای مختلف باکتریایی اشریشیاکلی (10¹-10³-10⁵-10⁷ cfu/ml) تهیه و به شیر UHT که قبلاً سیستم لاکتوپراکسیداز در آن فعال شده بود تلقیح گردید. برای فعال کردن سیستم LP در شیر استریلیزه از دو غلظت مختلف آنزیم لاکتوپراکسیداز یعنی ۱۰ و ۳۰ ppm که مقادیر طبیعی این آنزیم در شیر گاو است استفاده شد و آنزیم به همراه ۰/۲۵ میلی مول تیوسیانات و ۰/۲۵ میلی مول آب اکسیژنه برای هر یک از غلظتهای باکتریایی فوق الذکر به شیر اضافه گردید. شیرهای تلقیح شده در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و در زمانهای صفر، روز اول، روز دوم، روز هفتم و چهاردهم شمارش باکتری انجام گرفت. به همراه هر یک از آزمونها یک نمونه شاهد (تلقیح شده با میکروارگانیزم و بدون افزودن LPS) در نظر گرفته شد. برای هر آزمون (نمونه و شاهد) دو تکرار انجام گردید. نتیجه گیری: در پایان باتوجه به مشاهدات و اطلاعات به دست آمده مشخص گردید که به طور کلی سیستم لاکتوپراکسیداز فعال شده در شیر اثر قابل توجهی بر سویه O₁₁₁:B₄ ندارد و این سویه از میکروارگانیزم در مقابل LPS مقاوم است.

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۱)، دوره ۵۷، شماره ۲، ۸۱-۷۷.

واژه های کلیدی: سیستم لاکتوپراکسیداز، اشریشیاکلی، شیر UHT.

در بسیاری از کشورهای در حال توسعه و از جمله کشور ما به دلایل اقتصادی و کمبود انرژی، نبود تجهیزات کافی و... مشکلات زیادی در زمینه سرد کردن و نگهداری شیر خام پس از دوشیدن و در زمان حمل آن از دامداریهای کوچک به مراکز تولید و کارخانجات لبنیات سازی وجود دارد. بدین ترتیب کیفیت بهداشتی مقادیر قابل ملاحظه ای از شیرهای خام قبل از رسیدن به کارخانه کاهش یافته و حتی گاهی فاسد و غیر قابل مصرف می گردد (۱). امروزه با توجه به توصیه استفاده از سیستم LP در شیر خام توسط فدراسیون بین المللی شیر (IDF) در بسیاری از کشورهای جهان از جمله کنیا و هندوستان از این سیستم به منظور نگهداری بیشتر شیر به طور وسیع استفاده می شود (۲، ۱۴، ۲۲).

سیستم لاکتوپراکسیداز یک سیستم ضد میکروبی طبیعی در شیر است که طول مدت نگهداری شیر خام و فرآورده های آن را افزایش می دهد (۲۶). علاوه بر شیر در پنیر (۲۵، ۸، ۶) و مواد غذایی دیگر مانند ماهی سالمون دودی کاربرد فراوان دارد. این سیستم را در شیر اصطلاحاً استریلیزاسیون سرد می نامند (۶، ۱۳). آنزیم لاکتوپراکسیداز اکسیداسیون تیوسیانات توسط هیدروژن پراکسید را کاتالیز می کند و ترکیبات اکسیدکننده حد واسط با طول عمر کوتاه مانند OSCN و اکسی اسید تیوسیانات تولید می شود که اثرات ضد میکروبی دارند (۱، ۵، ۹، ۱۶، ۲۱). محصول اصلی اکسید کننده هیپوتیوسیانات است که در pH طبیعی شیر پایدار بوده و فعالیت آنزیمهای مختلف را مهار می کند (۵، ۱۷).

اکسیداسیون گروه تیول در آنزیمها و سایر پروتئینها عامل اصلی در

نقش ضد میکروبی سیستم لاکتوپراکسیداز است و موجب اختلال در ساختمان غشای سلولی میکروارگانیزم شده و بافت نشت یون پتاسیم، اسیدهای آمینه و پلی پتیدها به خارج سلول گردیده، همچنین جذب گلوکز، پورین ها، پیریمیدین ها و اسیدهای آمینه را مختل و ساخت پروتئینها، DNA و RNA را متوقف می کند (۲۳، ۲۰).

در این مطالعه باتوجه به اثر ضد میکروبی سیستم LP، باکتری اشریشیاکلی سویه O₁₁₁:B₄ به عنوان میکروارگانیزم مورد مطالعه در نظر گرفته شد تا تاثیر غلظت مناسب سیستم بر آن تعیین شود. سویه O₁₁₁ در رده باکتریهای بیماریزای روده ای قرار داشته و در موارد متعدد از شیر و فرآورده های آن جدا شده است (۲۴). در سال ۱۹۹۰ در یوگسلاوی میزان ۳۴/۳ درصد از سویه های بیماریزای روده ای جدا شده از پنیرهای خامه ای سویه O₁₁₁ بوده است (۱۸). در مصر نیز سویه های متعدد بیماریزای روده ای اشریشیاکلی از شیر جدا شده است (۳، ۱۹). در فرانسه یک مورد شیوع مسمومیت غذایی با سویه O₁₁₁ گزارش گردیده است (۷). علاوه بر آن این میکروارگانیزم عامل ایجاد بادکردگی در پنیرهای بسته بندی شده نیز می باشد (۱۶). باتوجه به این که میکروارگانیزم انتخاب شده هم دارای ویژگی بیماریزایی و هم عامل فساد در پنیر می باشد لذا تأثیر سیستم LP بر روی آن مورد مطالعه قرار داده شد.

(۱) گروه آموزشی بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۲) دانش آموز خسته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.



مواد و روش کار

در این مطالعه از شیر استریلیزه UHT به عنوان محیط کشت طبیعی و عاری از میکروبهای رقیب استفاده شده است. با این فرضیه که سیستم LP می تواند اثر کشندگی و مهارکنندگی روی میکروارگانیسم مورد مطالعه داشته باشد. در شیر استریلیزه سیستم لاکتوپراکسیداز غیرفعال است زیرا آنزیم در دمای فرآیند شیر (۱۵۰-۱۳۰ درجه سانتیگراد) به مدت چند ثانیه از بین می رود پس جهت فعال کردن سیستم باید اجزاء سیستم را به آن اضافه می کردیم.

مواد مورد استفاده: میکروب لیوفیلیزه *E. coli* O₁₁₁:B₄ که از مؤسسه تحقیقاتی رازی تهیه گردید (RITCC 1176). آنزیم لاکتوپراکسیداز *Horse Radish Lactoperoxidase* (EC 1.11.1.17) Sigma. تیوسیانات پتاسیم (Merck شماره ۵۱۲۴)، هیدروژن پراکسید ۳۰ درصد (Merck شماره ۸۲۲۸۷)، محیط کشت Violet Red Bile Dextrose Agar (Merck) (VRBA)، محیط کشت (BHI) Brain Heart Infusion Broth (Merck).

وسایل مورد نیاز: اسپکتروفتومتر، پی پتوراتوماتیک، سمپلرهای اپندورف (Ependorf Samplers)، فیلترهای میلی پور ۰/۴۵ میکرون، سایر وسایل متعارف آزمایشگاه میکروب شناسی.

روش کار: آنزیم لاکتوپراکسیداز در دو رقت (۱۰ ppm) و (۳۰ ppm) تهیه گردید. مقدار ۱/۲۱ گرم از تیوسیانات پتاسیم را به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسانیده و ۰/۱ میلی لیتر از آن را به ۱۰ میلی لیتر شیر اضافه نمودیم تا غلظت ۰/۲۵ میلی مول به دست آید. ۱/۴۱ میلی لیتر از آب اکسیژنه را به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسانیده و ۰/۱ میلی لیتر از آن را به ۱۰ میلی لیتر شیر اضافه نمودیم تا غلظت ۰/۲۵ میلی مول آب اکسیژنه به دست آید. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان جذب نور توسط مقدار معین میکروب در محیط مایع و شفاف BHI مشخص گردید. همزمان با اندازه گیری جذب نور پس از تهیه رفتهای متوالی شمارش میکروبی نیز انجام شد. برای مثال زمانی که میزان جذب نور ۱/۹ بوده است تعداد میکروب بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در ۳۵ درجه سانتیگراد برابر $10^9 \times 1/2$ بود.

این آزمایش حداقل ۱۰ بار تکرار شد تا میزان جذب نور و برابری آن با تعداد میکروارگانیسم معین به دست آمد و مشخص شد که اگر مقدار یک میلی لیتر از کشت میکروبی ۱۸ ساعته را به محیط BHI منتقل کرده و در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد برای مدت ۱۸ ساعت نگهداریم در صورتی که پس از این زمان میزان جذب نور ۱/۹ باشد تعداد میکروارگانیسم موجود 10^9 CFU/ml خواهد بود. از محیط کشت مایع BHI حاوی 10^9 CFU/ml، مقدار یک میلی لیتر را به لوله در پیچدار حاوی ۹ میلی لیتر محلول رقیق کننده آب پیتونه نمکدار منتقل کردیم به این ترتیب تعداد 10^8 میکروارگانیسم به دست آمد. سپس یک میلی لیتر از این رقت را به ۹ میلی لیتر شیر حاوی سیستم لاکتوپراکسیداز فعال شده اضافه نمودیم و رقت 10^7 به دست آمد و به همین ترتیب رفتهای بعدی تهیه گردید.

به لوله در پیچدار حاوی ۱۰ میلی لیتر شیر مقدار یک میلی لیتر آنزیم لاکتوپراکسیداز را با رقت معین اضافه نمودیم سپس ۰/۱ میلی لیتر از تیوسیانات رقیق شده (۰/۲۵ میلی مول) را اضافه کردیم (تیوسیانات و آنزیم لاکتوپراکسیداز قبل از مصرف توسط فیلترهای میلی پور ۰/۴۵ میکرون استریل می شدند). ۰/۱ میلی لیتر از آب اکسیژنه رقیق شده به محلول فوق اضافه شد (آب اکسیژنه بایستی تازه تهیه شود) که غلظت آن هم ۰/۲۵ میلی مول در ۱۰ CC شیر بود. قبل از تلقیح میکروب ۹ میلی لیتر از این

محلول را به لوله در پیچدار خالی و استریل منتقل کرده سپس به سرعت یک میلی لیتر از غلظت 10^8 CFU/ml میکروارگانیسم را به ۹ میلی لیتر شیر اضافه کردیم تا غلظت 10^7 CFU/ml به دست آید و به همین ترتیب غلظتهای بعدی تعیین گردید.

در زمان صفر پس از تهیه رفتهای متوالی تا ۸ لوله از نمونه بالا شمارش میکروبی انجام گردید. برای مقایسه عمل سیستم لاکتوپراکسیداز با شاهد لازم بود که شاهد هم تهیه شود. شاهد شامل ۹ میلی لیتر شیر و یک میلی لیتر از رقت 10^8 میکروارگانیسم بود. از شاهد نیز در زمان صفر پس از تهیه رقت کشت دادیم. از هر لوله رقت در دو پلیت به روش Double plate کشت داده شد. روش کشت، سطحی و محیط کشت VRBA بود. دمای نگهداری پلیت ها در گرمخانه ۳۵ درجه سانتیگراد و شمارش در زمانهای صفر، روز اول، روز دوم، روز هفتم و روز چهاردهم انجام گردید. در کل چهار گروه آزمون مورد آزمایش قرار گرفت که هر کدام دارای یک شاهد و یک تکرار بودند.

نتایج

در تصویر ۱ دو گروه یک و دو نشان داده شده است. گروه یک در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و گروه دو در دمای ۴ درجه سانتیگراد با مقدار ۱۰ ppm آنزیم می باشد. در تلقیح 10^7 CFU/ml میکروارگانیسم به نمونه (10⁷FU/ml+PS) و شاهد حاوی 10^9 CFU/ml هر دو هم زمان و تماماً افزایش میکروارگانیسم مشاهده گردید. و این نشان می دهد که سیستم LP هیچ گونه اثری روی *E. coli* نداشته است. در دمای ۴ درجه سانتیگراد نیز نمونه و شاهد با اختلاف کمی افزایش میکروارگانیسم را نشان می دهند که نشان دهنده عدم تأثیر LPS بر این میکروب در این دما نیز می باشد.

تصویر ۲ گروه یک و دو را نشان می دهد، در تلقیح 10^5 CFU/ml و مقدار ۱۰ ppm آنزیم، که در این آزمون نیز میکروارگانیسم در دمای ۴ درجه سانتیگراد و ۲۵ درجه سانتیگراد در نمونه و شاهد همراه با یکدیگر افزایش یافته و در نتیجه بی تأثیر بودن سیستم LP را روی *E. coli* نشان می دهد. تصاویر ۳ و ۴ گروه یک و دو را در تلقیح 10^3 CFU/ml و 10^1 نشان می دهد که منحنی شاهد و نمونه به طور همزمان افزایش داشته اند.

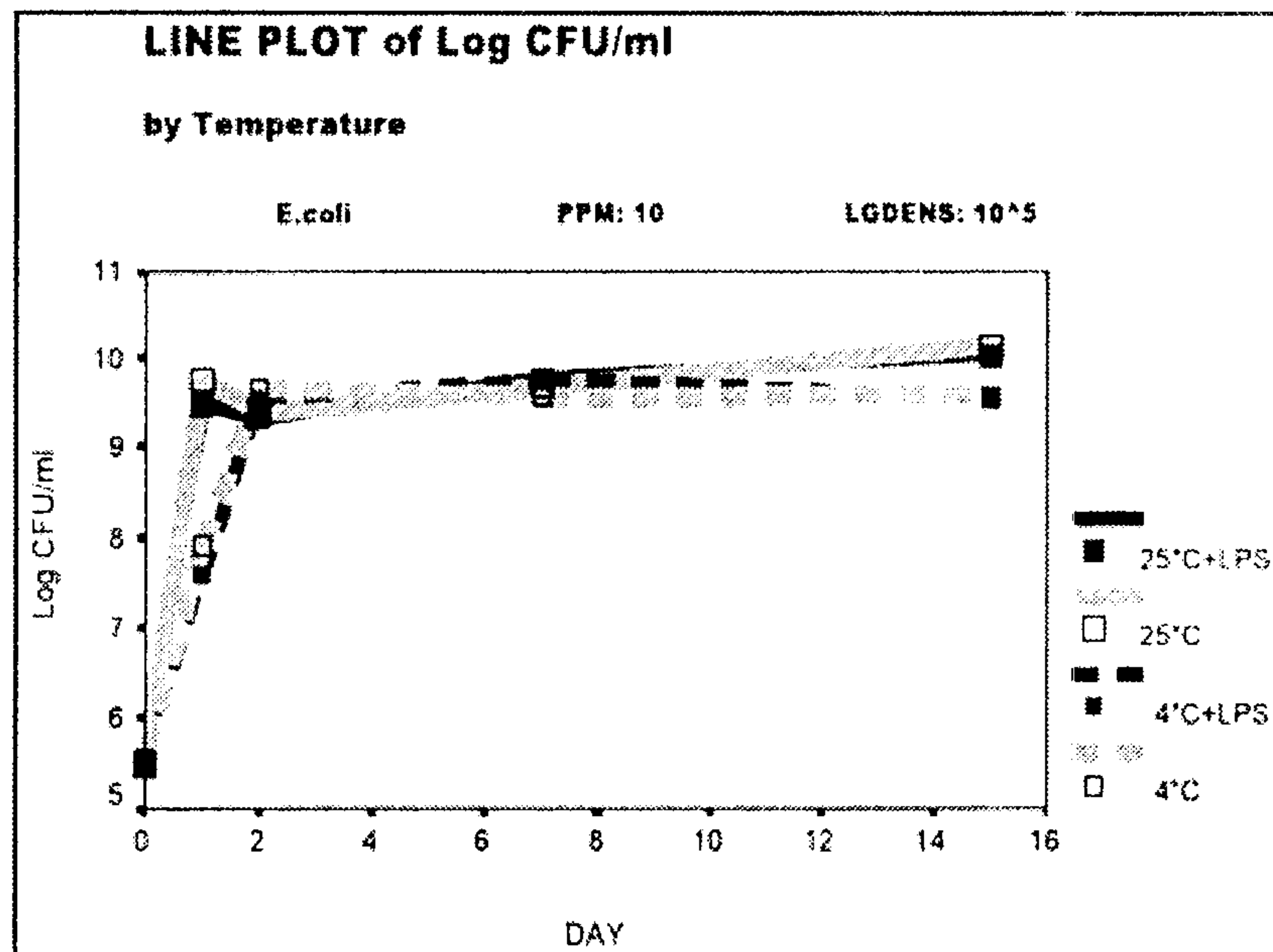
در هر دو دمای مورد مطالعه سیستم لاکتوپراکسیداز (LPS) بر روی *E. coli* بی تأثیر بوده است. تصاویر ۵ و ۶ گروه ۳ و ۴ را نشان می دهد در تلقیح 10^5 و 10^7 نتایج مشابه فوق بوده است و تصاویر ۷ و ۸ که گروه ۳ و ۴ را در تلقیح 10^2 و 10^1 نشان می دهد نیز بی تأثیر بودن سیستم لاکتوپراکسیداز روی میکروارگانیسم مشاهده می شود. پس به طور کلی نتیجه می گیریم که این سیستم بر روی میکروب بی تأثیر می باشد.

بحث

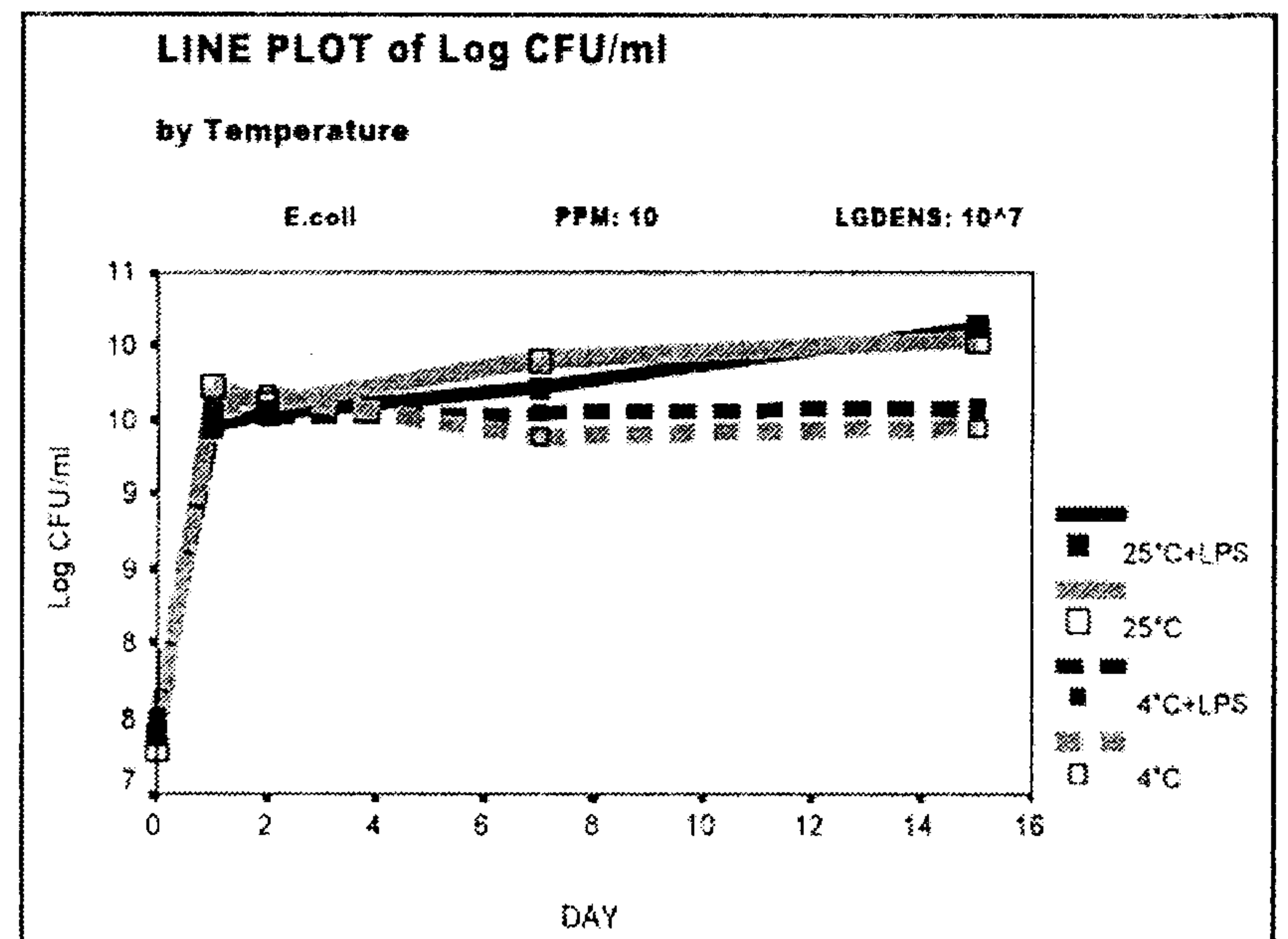
مطالعات اخیر نشان داده است که شیر و فرآورده های آن به دفعات باعث انتقال بیماریزایی مانند اشریشیاکلی بیماریزای روده ای و سایر پاتوژنهای روده ای به انسان شده اند (۲). نتایج متغیر و متفاوتی در ارتباط با اثر سیستم لاکتوپراکسیداز روی *E. coli* گزارش شده است.

در یک مطالعه مشاهده گردید که *E. coli* در حضور آنیون هیپوتیوسیانات از بین می رود (سویه مورد آزمایش *E. coli* NCTC 9703) بوده است (۱۷). در تحقیقی دیگر افزودن اجزای سیستم لاکتوپراکسیداز و فعال کردن آن در شیر استریلیزه موجب کاهش تعداد *E. coli* 0175: H7 شده است

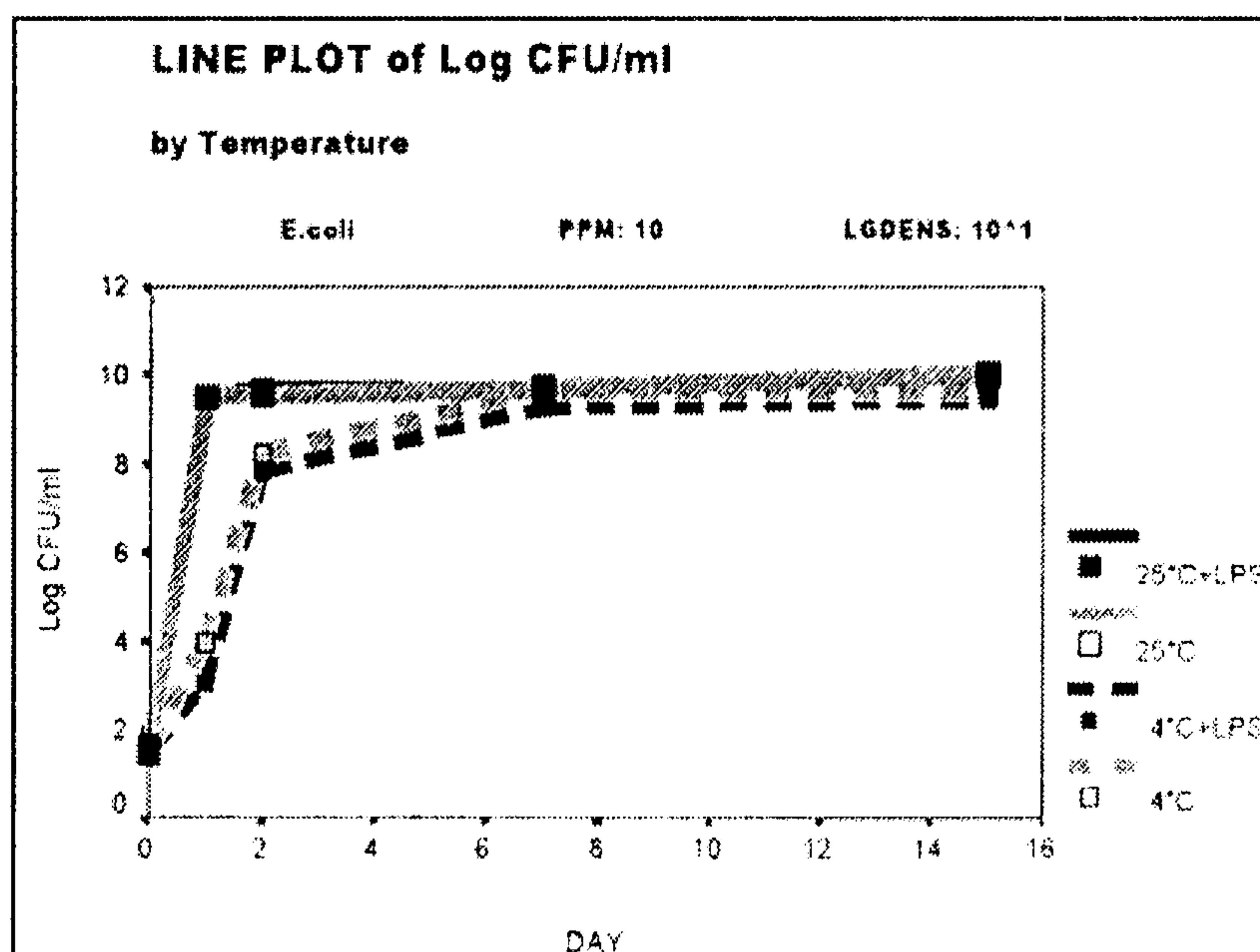




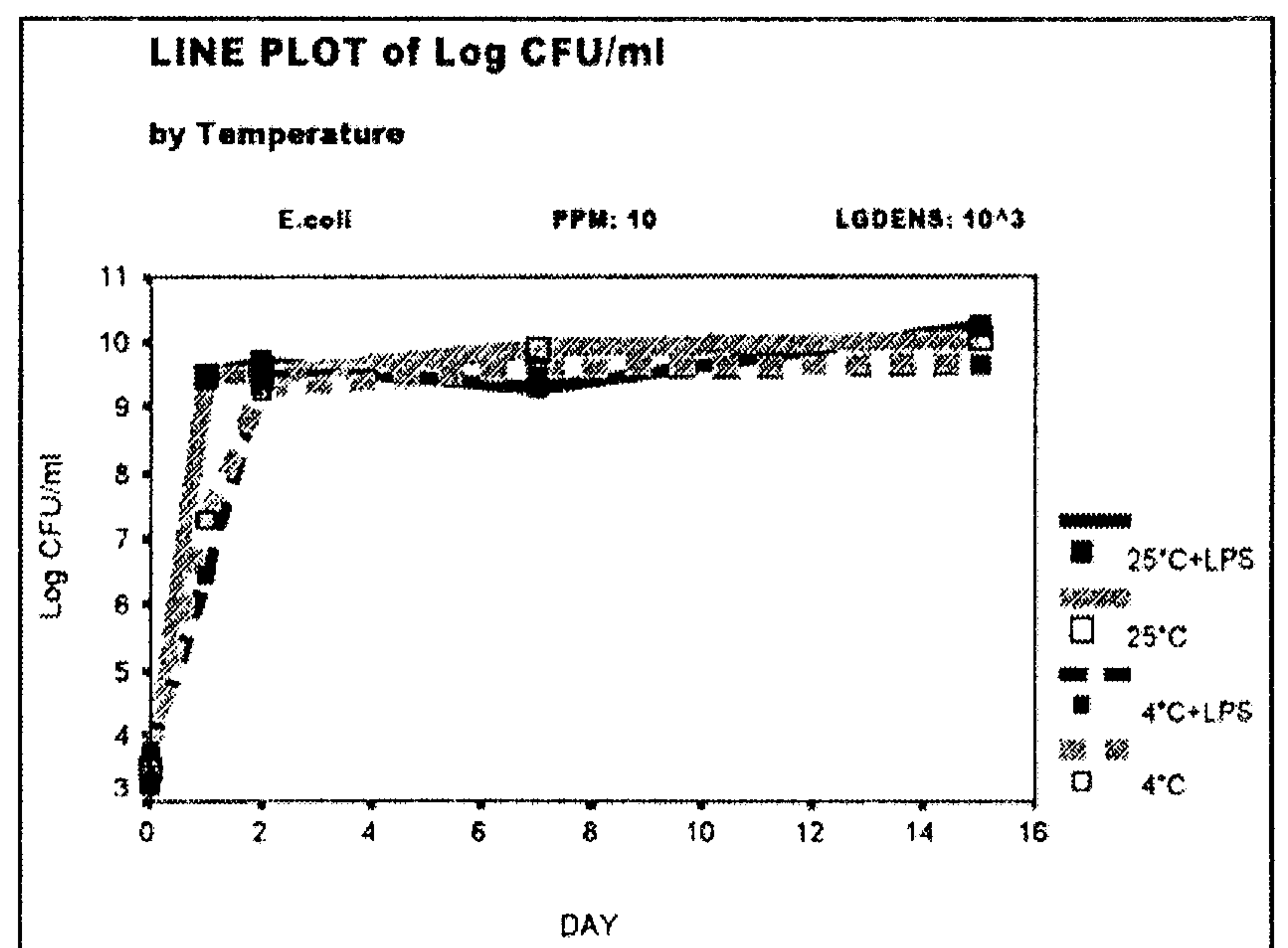
تصویر ۲ - تأثیر سیستم LPS (غلظت آنزیم ۱۰ ppm) بر میکروارگانیسم (10^5 cfu/ml) در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد در نمونه و شاهد.



تصویر ۱ - تأثیر سیستم LPS (غلظت آنزیم ۱۰ ppm) بر میکروارگانیسم (10^7 cfu/ml) در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد در نمونه و شاهد.



تصویر ۴ - تأثیر سیستم LPS (غلظت آنزیم ۱۰ ppm) بر میکروارگانیسم (10^1 cfu/ml) در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد در نمونه و شاهد.



تصویر ۳ - تأثیر سیستم LPS (غلظت آنزیم ۱۰ ppm) بر میکروارگانیسم (10^2 cfu/ml) در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد در نمونه و شاهد.

زمانی که pH کم می شود اثر کشندگی سیستم لاکتوپراکسیداز افزایش می یابد و این امر مشخص می کند که چرا اثر سیستم لاکتوپراکسیداز در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد سریعتر است (۱۱). اثر باکتری کشی سیستم لاکتوپراکسیداز بر علیه سویه های مختلف *E. coli* قبلاً نیز گزارش شده است (۴، ۱۱). سیستم لاکتوپراکسیداز در همه موارد اثر کشندگی بر روی اشریشیاکلی *E. coli* سویه CRA646 و سالمونلاتیفی موریوم (*S. typhimurim*) داشته است (۹).

در مطالعه دیگری دیده شده که سیستم لاکتوپراکسیداز شروع مرحله رشد لگاریتمی *E. coli* را در شیر خشک اطفال به تأخیر می اندازد (۱۰). در یک بررسی *E. coli* در شیر خام و در دمای ۴ درجه سانتیگراد رشد نکرد و اثر سیستم لاکتوپراکسیداز فعال شده در این دما روی شمارش *E. coli* بسیار ناچیز و جزئی بوده است (۲۷). در حالی که در دمای ۸ درجه سانتیگراد شاهد دارای رشد میکروبی ولی بدون یک فاز لگاریتمی مشخص بود ولی در همین دما با سیستم فعال شده LP بعد از دو روز رشد میکروارگانیسم مشاهده گردید که نشان دهنده بی اثر بودن سیستم بر میکروارگانیسم می باشد (۲۷).

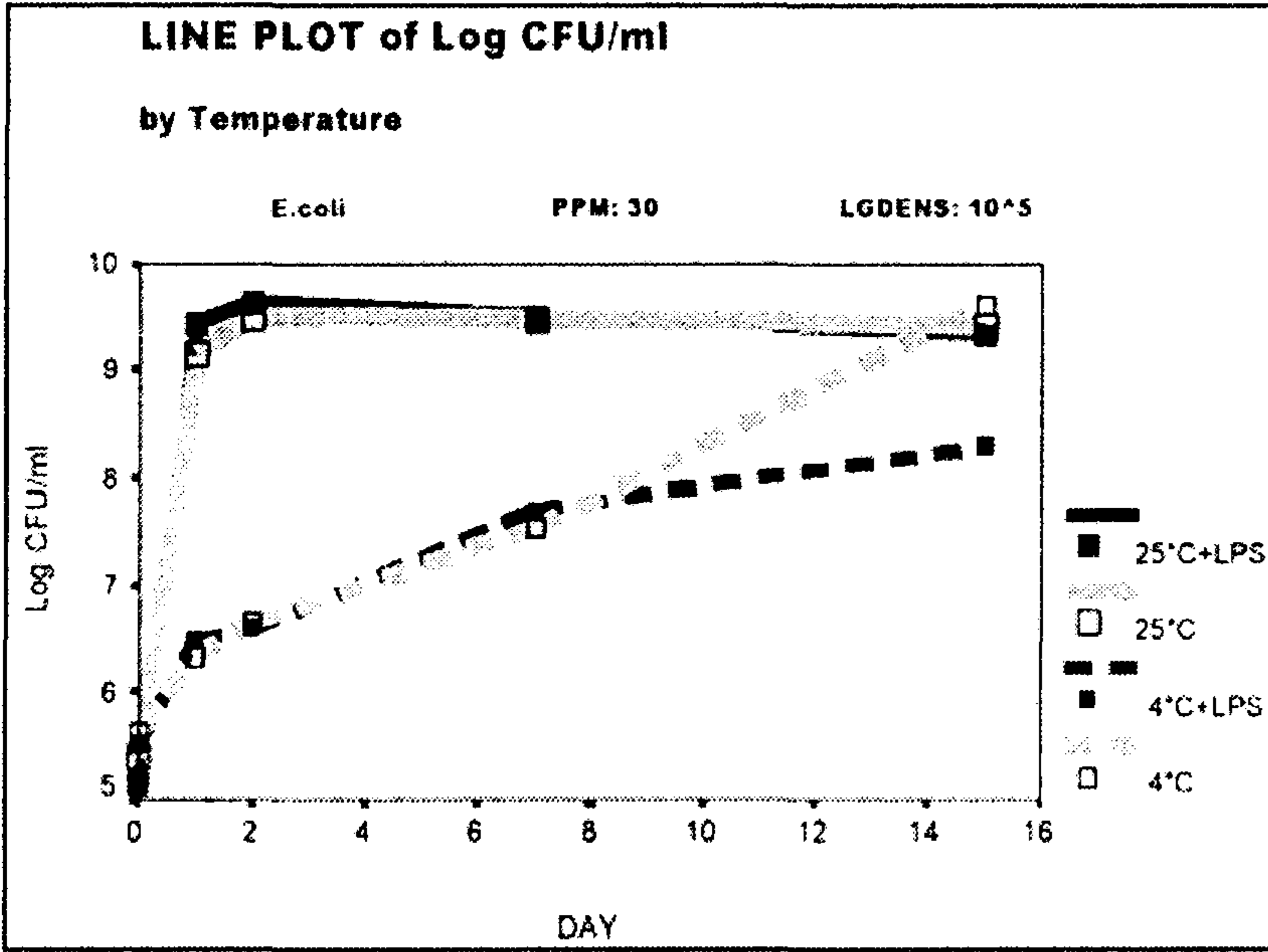
Denis و همکاران در سال ۱۹۹۷ در یک بررسی اثر سیستم لاکتوپراکسیداز بر روی چندین میکروارگانیسم مختلف را مطالعه نموده و به این نتیجه رسیدند که سیستم لاکتوپراکسیداز هیچ اثری روی *E. coli* ندارد (۸). این

به طوری که در دمای ۱۵ و ۱۷ درجه سانتیگراد (دمای نگهداری) تعداد میکروارگانیسم به اندازه ۲ واحد لگاریتم کاهش یافته است در حالی که در همین مطالعه بدون فعال کردن سیستم در شیر خام که به طور طبیعی سیستم لاکتوپراکسیداز در آن وجود دارد میکروارگانیسم به خوبی رشد نشان داده است (۵).

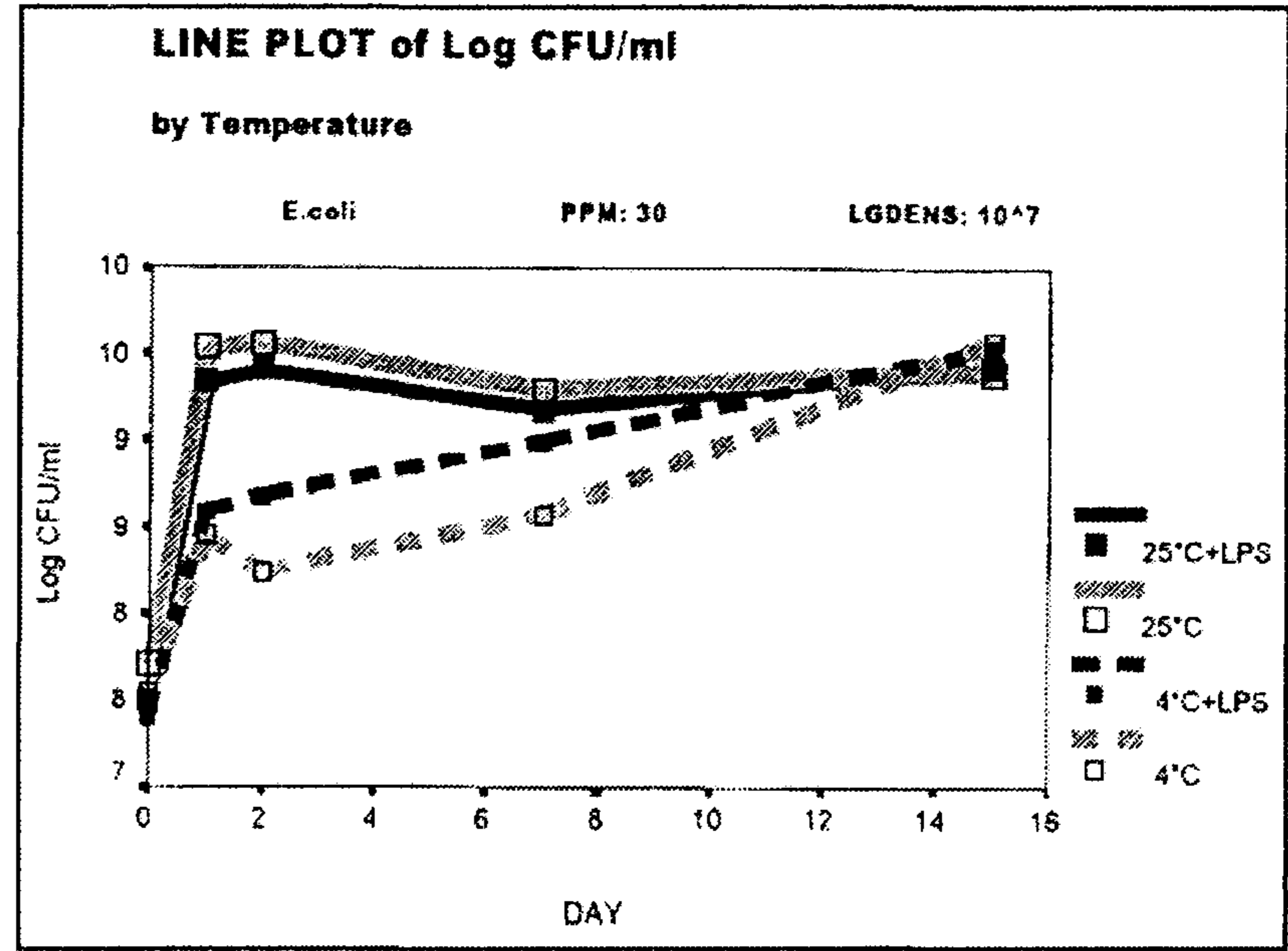
Bjorck و همکاران در سال ۱۹۸۰ مشاهده نمودند که سیستم لاکتوپراکسیداز باعث مهار قابل برگشت بر روی بسیاری از باکتریهای گرم مثبت و مهار غیرقابل برگشت یا اثر باکتری کشی روی باکتریهای گرم منفی مثل اشریشیاکلی می شود (۴). در بررسی دیگری فعال کردن سیستم لاکتوپراکسیداز باعث مهار رشد استافیلوکوک و اشریشیاکلی گردید و کاهش به اندازه ۲ واحد لگاریتم روی *E. coli* مشاهده شد (۱۵). در مطالعه ای که توسط Farrag و همکاران در سال ۱۹۹۲ انجام شد دیده شد که سیستم لاکتوپراکسیداز روی *E. coli* 0175: H7 هم اثر کشنده باکتری و هم توقف رشد دارد. زمانی که تعداد میکروارگانیسم 10^4 CFU/ml بود، باکتری کاملاً غیرفعال شده و زمانی که تعداد 10^8 CFU/ml بود توقف رشد باکتری ایجاد شده است (۱۱).

سیستم لاکتوپراکسیداز در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد (دمای محیط) که شرایط مطلوب تکثیر و تزیاد سلولها می باشد خیلی فعالتر از زمانی است که سلولها در حالت استراحت (دمای ۴ درجه سانتیگراد) می باشند (۱۱).

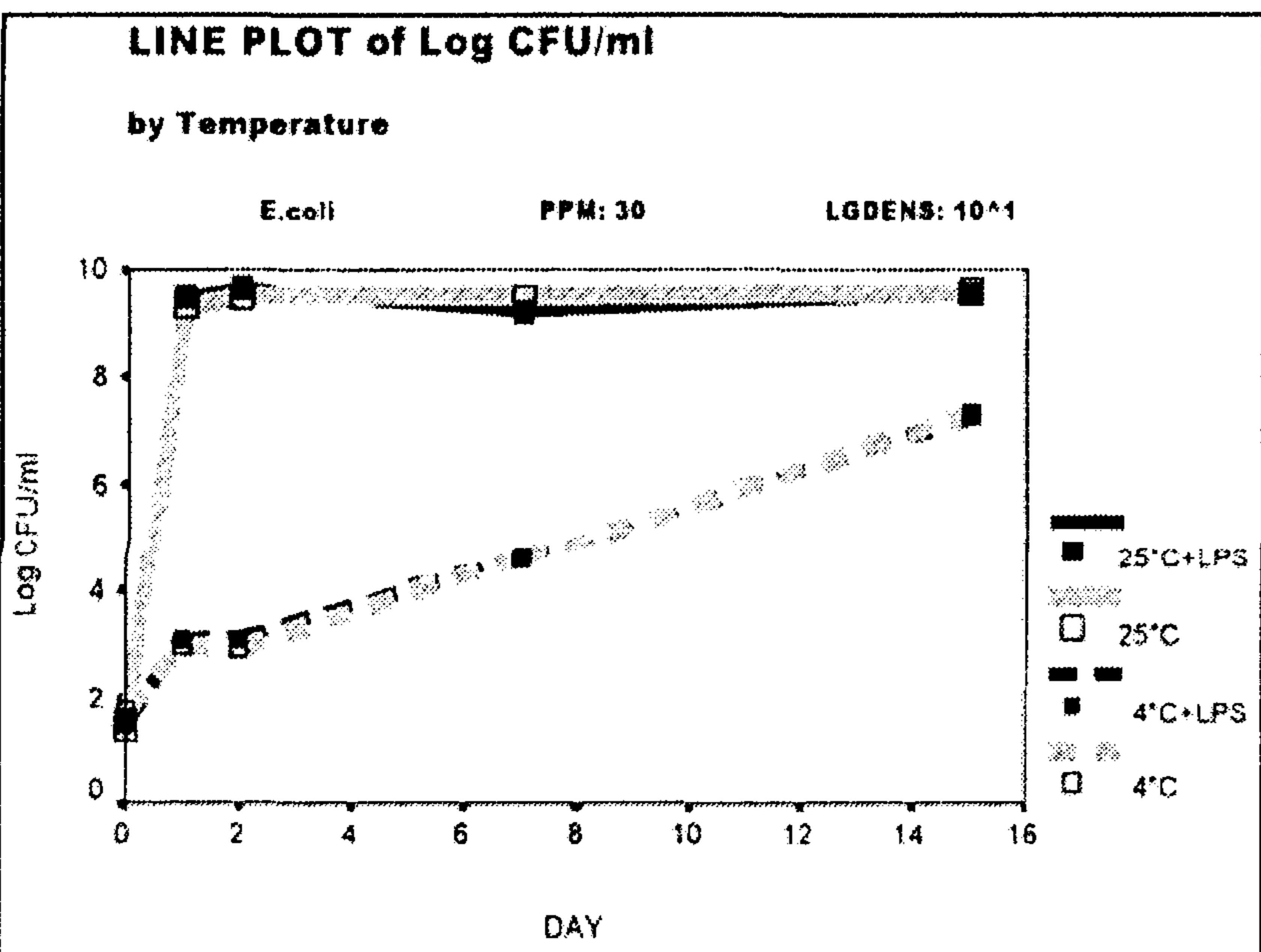




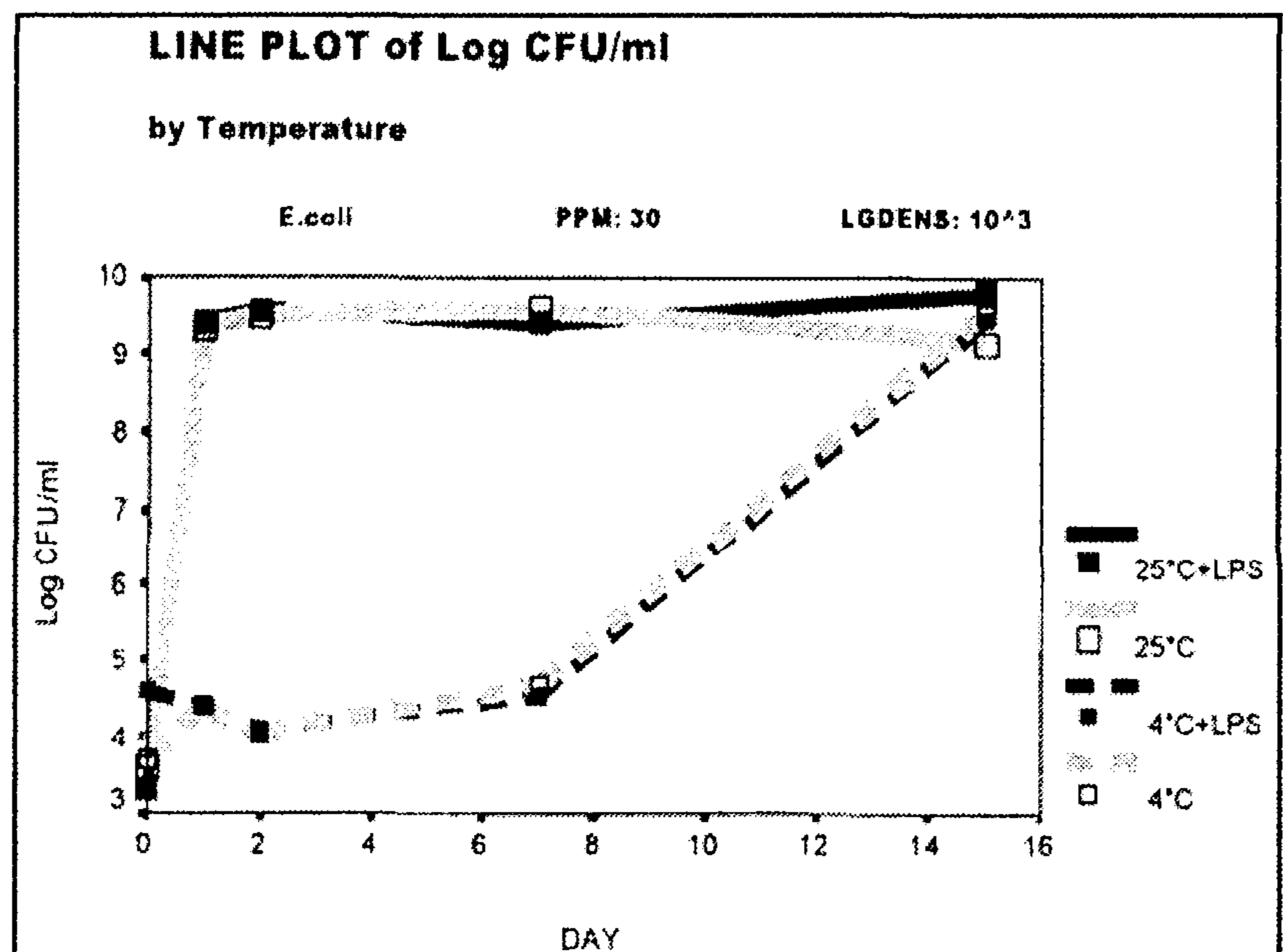
تصویر ۶ - تأثیر سیستم LPS (غلظت آنزیم ۳۰ ppm) بر میکروارگانیسم (10^5 cfu/ml) در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد در نمونه و شاهد.



تصویر ۵ - تأثیر سیستم LPS (غلظت آنزیم ۳۰ ppm) بر میکروارگانیسم (10^7 cfu/ml) در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد در نمونه و شاهد.



تصویر ۸ - تأثیر سیستم LPS (غلظت آنزیم ۱۰ ppm) بر میکروارگانیسم (10^{11} cfu/ml) در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد در نمونه و شاهد.



تصویر ۷ - تأثیر سیستم LPS (غلظت آنزیم ۳۰ ppm) بر میکروارگانیسم (10^{13} cfu/ml) در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد در نمونه و شاهد.

References

۱. نیکوپور، ه، اعتمادی، ف. و پیشوایزدی، م. (۱۳۷۴): نگهداری شیر خام با روش فعال کردن سیستم لاکتوپراکسیداز. مجله پژوهش و سازندگی، صفحه: ۱۳۸-۱۳۹.
۲. Abbar, F. M. (1988): Incidence of fecal coliform and serovars of enteropathogenic Escherichia coli in naturally contaminated cheese. Journal of Food Protection. 51, 5: 384-385.
۳. Ahmed, A. H., Ahmed and Moustafa, K. (1987): Occurrence of fecal coliforms and enteropathogenic Escherichia coli (EEC) in Egyptian soft cheese. Journal of Food Protection 51, 6: 442-444.
۴. Bjorck, L. and Claesson, O. (1980): Correlation between concentration of hypothyronate and antibacterial effect of the lactoperoxidase system against Escherichia coli. Journal of Dairy Science. 63: 919-922.
۵. Bleumink, B., Rijkeli, B., Meikete, G. and Enne de, B. (1997): The effect of the lactoperoxidase system on E. coli 0157: H7 in raw milk. Proceeding, world congress on food hygiene, the Hague, the Netherlands.

سه مطالعه اخیر با نتیجه ای که در این بررسی گرفته شده همخوانی دارد. اثر ضد میکروبی سیستم LP بر علیه فلور طبیعی و مخلوط شیر و بویژه باکتریهای گرم مثبت به صورت توقف رشد است. اثر این سیستم با مطالعات انجام شده بر روی باکتریهای گرم منفی مثل پseudomonas (Pesudomonas) و اشیریشیاکلی یک اثر باکتری کشی می باشد (۱۲). با توجه به این که گزارشی از اثر سیستم LP بر $E. coli O_{111}:B_4$ در دست نیست در این پژوهش مشاهده گردید که سیستم LP هیچ گونه اثر قابل توجهی روی سویه مورد مطالعه ندارد و مطالعه حاضر با سه پژوهش فوق الذکر همخوانی دارد لذا تصور می رود که اثرات ضد میکروبی سیستم LP وابسته به گونه و سویه میکروارگانیسم است.

تشکر و قدردانی

این طرح با پشتیبانی مالی حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه تهران انجام گرفته است. مجری طرح وظیفه خود می داند که از کمکهای حوزه محترم معاونت پژوهشی دانشگاه و دانشکده دامپزشکی سپاسگزاری نماید. از راهنماییهای علمی آقای دکتر ودود رضوی در این مطالعه بهره زیاد بردیم که بدین وسیله تشکر و قدردانی می گردد. همچنین از همکاری صمیمانه آقای نوروزی کارشناس گروه بهداشت مواد غذایی متشکریم.



6. Boussouel, N., A. F., Bastein, A. M., Revol Junelles, J. P., Ramet, I. B. Milliere (1997): Antibacterial activity of the lactoperoxidase system (LPS) with different halogens. Proceeding, world congress on food hygiene, the Hague, the Netherlands.
7. Campos, LC., Whittam, TS., Gomes, TAT., Aadrade, TRC. and Trabulsi, IR.(1994): Escherichia coli serogroup O: 111 includes several clones of diarrheagenic strains with different virulence properties. Infection and Immunity. 62, 8: 3282-3288.
8. Denis, F. and Paul, R. (1989): Antibacterial activity of the lactoperoxidase system on listeria monocytogenes in tryptic soy broth, UHT milk and French soft cheese. Journal of Food Protection 57, 10: 706-711.
9. Earnshaw, R. G., Banks, J. G., Dominique, D. and Francotte, C. (1989): The preservation of cottage cheese by an activated lactoperoxidase system. Food Microbiology. 6: 285-288.
10. Earnshaw, R., Banks, G., Francotte, C. and Dominique, D. (1990): Inhibition of *Salmonella typhimurium* and Escherichia coli in infant milk formula by an activated lactoperoxidase system. Journal of Food Protection. 53, 2: 170-172.
11. Farrag, S. A., Gazzar, F.E.E. I. and Marth, F. H. (1992): Use of the lactoperoxidase system to inactivate E.coli 0157: H7 in a semi – synthetic medium and in raw milk, Milchwissenschaft 47, 1: 15-17.
12. International Dairy Federation (1988): Code of practice for the preservation of raw milk by use of the lactoperoxidase system. Bulletin of the International Dairy Federation 234: 15p.
13. Jay James, M. (1991): Modern Food Microbiology. 4th ed. Chapman and Hall London, UK.
14. Kishore, K., Bancarjee, P., Marimuthu, P. B. and Malay, C. (1997): Effect of thiocyanate ingestion through milk on thyroid hormone homeostasis in women. British Journal of Nutrition. 78: 676-681.
15. Kangumba, J.G.K., Vewnter, E.H. and Coetzer, J.A.W. (1997): The effect of activation of the lactoperoxidase and souring on certain potential human pathogens in cow's milk. Journal of the South Africa Veterinary Association 68, 4: 130-136.
16. Lara, R. A., Mendoza, I., Lacruz, D. and Garcia, H. S. (1987): Effect of the lactoperoxidase system on yield and characteristics of fresh-type cheese. Milchwissenschaft 42, 12: 773-775.
17. Marshall, B. R. (1980): Comparison of the antibacterial activity of the hypothyocyanate anion towards Streptococcus lactis and Escherichia coli. Journal of General Microbiology 120: 513-516.
18. Otenhajmer, I., Mijacevic, C. and Asanin, R. (1989): Incidence of pathogenic E.coli strains in milk and milk products. Acta Veterinaria (Beograd) 39, 2-3: 127-135.
19. Padhye Nisha, V. and Michael P, D. (1992): Escherichia coli 0157: H7: Epidemiology, Pathogenesis and Methods for detection in foods. Journal of Food Protection, 55, 7: 555-565.
20. Reiter, B. (1978): Review of the progress of dairy science antimicrobial system in milk. Journal Dairy Res. 45: 131-147.
21. Reiter, B. and Goran, H. (1984): Lactoperoxidase antibacterial system (natural occurrence, biological functions and practical applications) Journal of Food Protection, 47, 9: 724-732.
22. Ridley, S.C. and Peter, L. S. (1990): Farm application of lactoperoxidase treatment and evaporative cooling for the intermediate preservation of unprocessed milk in Kenya. Journal of Food Protection, 53, 7: 592-597.
23. Sears, Cynthia. and James, B.K. (1996): Enteric bacterial toxins; mechanism of action and linkage to intestinal secretion. Microbiological Reviews: 167-215.
24. Singh, R. S., Batish, V.K., Chander, H. and Tanganathan, B. (1985): Reactivation of heat injured Escherichia coli cells in milk. Milchwissenschaft 40, 7: 398-401.
25. Tolle, V.A., Otten, I. and Suhren, J. (1981): Zur dynamik der produktspezifischen kamflora und von coliformen keimen / E.coli wahrend des herstellungsprozesses von camembert kase. Milchwissenschaft 36, 1: 5-9.
26. Wolfson, L. M. and Susan, S.S. (1993): Antibacterial activity of the lactoperoxidase system, A review. Journal of Food Protection, 56, 10: 887-892.
27. Zapico, P., Pilor, G., Manuel, N. and Margarita, M., (1995): Activity of goat's milk lactoperoxidase system on Pseudomonas fluorescens and Escherichia coli at refrigeration temperatures. Journal of Food Protection, 58, 10: 1136-1138.

