

Screening for and isolation and purification of novel bacteriocins from dairy lactic acid bacteria isolated from fermented foods with a potential to inhibit pathogenic bacteria – 2001-2006 - program de cooperare bilaterală România – Flandra – finanțat de MECT, respectiv de Ministerul Comunitatii Flamande din Belgia – 93.137 EURO (coordonator din partea română Dr. Medana Zamfir); participanți: Institutul de Biologie București, Vrije Universiteit Brussels, University of Ghent.

Efectul conservant al unor bacterii lactice datorat unor produși metabolici sintetizați în mod natural de acestea, a fost observat cu mult timp în urmă și ar putea constitui o alternativă la conservanții chimici, mult mai avantajoasă și mai sănătoasă. Efectul de conservare se datorează în primul rând condițiilor acide create în produsele alimentare în cursul fermentațiilor, ca urmare a acumulării de acizi organici. Mai recent însă, s-a observat că bacteriile lactice mai produc și alte substanțe inhibitoare. Dintre acestea, bacteriocinele sunt substanțe de natură proteică cu acțiune bactericidă față de alte tulpini, în general înrudite, aparținând aceleiași specii. În cazul bacteriilor lactice, spectrul de acțiune poate fi mult mai vast, în anumite situații bacteriocinele fiind active față de bacterii care contaminatează produsele alimentare sau bacterii patogene, cum ar fi: *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* etc.

Scopul acestui proiect de cercetare a fost de a selecta noi tulpini de bacterii lactice producătoare de bacteriocine cu un spectru de acțiune cât mai larg și mai diversificat. Au fost testate din punct de vedere al producerii de bacteriocine tulpini din colecția proprie, precum și tulpini izolate din produse lactate fermentate obținute din diferite zone ale țării noastre. Ca tulpini indicator au fost folosite atât bacterii lactice înrudite, cât și bacterii Gram negative (*Salmonella*, *Helicobacter pylori*).

Tulpinile nou izolate au fost identificate folosind tehnici clasice, morfologice, fenotipice, dar și metode biochimice și moleculare moderne (analiza spectrului proteic total prin SDS-PAGE, rep-PCR, secvențializarea ARNr 16S, hibridizare ADN-ADN), care au permis identificarea la nivel de specie. Rezultatele au permis o estimare a biodiversității bacteriilor lactice în produsele lactate fermentate tradițional în România, dar și identificarea unei specii noi, denumită *Enterococcus saccharominimus* și demonstrarea sinonimiei speciilor *Leuconostoc lactis* și *Leuconostoc argentinum*.

Spectrul de inhibiție al tulpinilor testate a fost destul de limitat, la alte bacterii lactice sau alte bacterii Gram-pozitive. Au fost selectate și tulpini cu activitate inhibitoare față de bacterii Gram-negative, dar în acest caz activitatea s-a dovedit a fi datorată unor acizi organici (lactic, fenilactic, hidroxi-fenilactic etc.) și nu unor bacteriocine. Bacteriocinele izolate au fost caracterizate fizico-chimic și biochimic (natura proteică, efectul unor factori fizici -temperatură,

pH, timp de păstrare, radiații UV- și chimici -compoziția mediului, detergenți- asupra activității antimicrobiene). Au fost testate diferite metode de concentrare și purificare a bacteriocinelor. În fine, un alt obiectiv al cercetărilor a fost stabilirea cineticii de producere a bacteriocinelor *in vitro*, în scopul obținerii de date necesare înțelegerii modului de producere a lor *in vivo*. Au fost stabilite condițiile optime de creștere și producere a bacteriocinelor selectate.

Diseminare rezultate :

1. M. Vancanneyt, M. Zamfir, L. A. Devriese, K. Lefebvre, K. Engelbeen, K. Vandemeulebroecke, M. Amar, L. De Vuyst, F. Haesebrouck, J. Swings, **2004**, *Enterococcus saccharominimus* sp. nov., from dairy products, **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** (IF 2,456), 54, 2175-2179.
2. M. Vancanneyt, M. Zamfir, M. De Wachter, I. Cleenwerck, B. Hoste, F. Rossi, F. Dellaglio, L. De Vuyst, J. Swings, **2006**, Reclassification of *Leuconostoc argentinum* as a later synonym of *Leuconostoc lactis*, **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, (IF 2,662), 56, 213-216.
3. M. Zamfir, M. Vancanneyt, L. Makras, F. Vaningelgem, K. Lefebvre, B. Pot, J. Swings, L. De Vuyst, **2006**, Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products, **Systematic and Applied Microbiology**, (IF 2,037), 29, 487-495.
4. Vancanneyt M., Zamfir M., Pot B., De Vuyst L., Swings J. Biodiversity of lactic acid bacteria isolated from Romanian fermented foods, Flemish-Romanian Workshop on Lactic acid bacteria: Biodiversity and functional properties, 23 noiembrie, Bruxelles, Belgia
5. De Vuyst L., Smarandache D., Dițu L.M., Makras E., Vaningelgem F., Foulquie Moreno M.R., Zamfir M. Bacteriocins produced by lactic acid bacteria, Flemish-Romanian Workshop on Lactic acid bacteria: Biodiversity and functional properties, 23 noiembrie, Bruxelles, Belgia
6. Zamfir M., Vancanneyt M., Makras L., Vaningelgem F., Lefebvre K., Pot B., Swings J., De Vuyst L. Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products, 8th Symposium on Lactic acid bacteria: Genetics, Metabolism and Applications, Egmond aan Zee, The Netherlands, August 28 - September 1.
7. M. Zamfir, S-S. Grosu-Tudor, 2006, Impactul condițiilor de stres asupra creșterii unor bacterii lactice și producerii de bacteriocine, Sesiunea anuală de comunicări științifice a Institutului de Biologie, decembrie 2006.

Aparatură achiziționată în cadrul proiectului :

- freezer -80°C