مجله میکرب شناسی پزشکی ایران
سال ۴ شماره ۳، پاییز۱۳۸۹، صفحات ۷۰-۶۴

ارزیابی بقاء *لیستریا منوسیتوژنز* طی فرآیند تولید، رسیدن و نگهداری پنیر سفید پروبیوتیک‌دار ایرانی

رزاق محمودی[۱]، علی احسانی[۲]*

۱) گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز
۲) گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
نویسنده رابط: علی احسانی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
تلفن: ۰۴۴۱-۲۷۷۰۵۰۸ aehsani@urmia.ac.ir

تاریخ ارسال مقاله: ۸۹/۲/۱۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۹/۲۶

چکیده :

زمینه و اهداف: افزایش بیماری‌های غذازاد، همراه با مشکلات اجتماعی و اقتصادی حاصل از آن، سبب انجام تحقیقات گسترده برای تولید غذای سالم و توسعه عوامل ضدمیکربی جدید شد. کاربرد پروبیوتیک‌ها و باکتریوسین-ها، به‌عنوان افزودنی‌های بیولوژیک گسترده، حائز اهمیت می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی رفتار رشد *لیستریا منوسیتوژنز* و تعیین ماندگاری *لاکتوباسیلوس کازئی* در پنیر سفید پروبیوتیک ایرانی بود.

روش بررسی: رشد *لیستریا منوسیتوژنز* و ماندگاری باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* در مراحل مختلف تولید، رسیدن و نگهداری پنیر سفید ایرانی با استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی (PALCAM Listeria agar، MRS agar) ارزیابی شد.

یافته‌ها: تیمار پنیر دارای پروبیوتیک و فاقد آغازگر (استارتر) از بیشترین تاثیر بر رشد *لیستریا منوسیتوژنز* در مقایسه با سایر تیمارها برخوردار بود. میزان کاهش آن در این تیمار در انتهای دوره نگهداری ۲/۹۶ لگاریتم بیش از گروه کنترل بود. همچنین در تیمار پنیر شاهد در مقایسه با تیمار پنیر حاوی *لیستریا منوسیتوژنز* ماندگاری باکتری پروبیوتیک به‌میزان ۰/۳۵ لگاریتم بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: شمارش *لیستریا منوسیتوژنز* درطول دوره رسیدن پنیر سفید پروبیوتیک‌دار کاهش یافت، اما در پنیر سفید پروبیوتیک‌دار بقاء می‌یابد. شمارش باکتری پروبیوتیک در طول دوره رسیدن پنیر سفید تنزل یافت اما میزان آن در انتهای دوره رسیدن و نگهداری به‌کمتر از 10^6 cfu/g نرسید، که مطابق با میزان توصیه شده برای مواد غذایی عملگرا (Functional Foods) می‌باشد.

کلید واژه‌ها: پنیر سفید ایرانی، *لیستریا منوسیتوژنز*، پروبیوتیک، آغازگر، *لاکتوباسیلوس کازئی*

مقدمه:

لیستریا منوسیتوژنز یک باکتری بیماری‌زای غذازاد (Food born pathogen) است. مسمومیت‌های حاصل از آن بیشتر در اثر مصرف شیر و فرآورده‌های آن به‌ویژه پنیر اتفاق می‌افتد (۱). در ایالت متحده آمریکا بیش از ۲۵٪ مرگ و میر حاصل از بیماری‌های ناشی از غذا (Food born disease) را لیستریوز به‌خود اختصاص می‌دهد، که در این میان شیر و محصولات لبنی بسیار حائز اهمیت می‌باشند(۲). ویژگی‌هایی همچون پراکندگی گسترده در محیط، توانایی رشد در دامنه وسیعی از pH و شرایط یخچال و تحمل مقادیر زیاد نمک، این باکتری را به‌عنوان بیماری‌زای بسیار خطرناک در صنعت مواد غذایی مطرح نموده است. توجه به‌مضرات برخی نگاهدارنده‌های شیمیایی و عکس‌العمل منفی مصرف کنندگان به نگاهدارنده‌های شیمیایی، باعث افزایش تمایل به‌ترکیبات محافظت کننده طبیعی با منشا میکربی و گیاهی شده است(۱). در همین راستا، راهکارهای مختلفی جهت کنترل این بیماری‌زا در صنایع لبنی پیشنهاد شده است. در این میان کاربرد پروبیوتیک‌ها و باکتریوسین‌ها، به‌عنوان افزودنی‌های بیولوژیک به‌طور گسترده مورد مطالعه قرارگرفته‌است(۳). باکتری‌های لاکتیک و *بیفیدوباکترها* متداول‌ترین پروبیوتیک‌هایی هستند که در فرآورده‌های لبنی مورد استفاده قرار می‌گیرند. ویژگی‌هایی از قبیل مقاومت به‌شرایط اسیدی معده، فعالیت باکتریسیدی املاح صفراوی و نیز تولید اسید لاکتیک سبب بقا آنها در دستگاه گوارش می‌گردد. از جمله مزایای بالقوه غذاهای پروبیوتیک در سلامتی انسان می‌توان به‌مواردی همچون؛ بهبود تعادل میکروفلور دستگاه گوارش، ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌های بیماریزا، تقویت سیستم ایمنی، بر طرف کردن اختلالات گوارشی، بهبود سندرم روده تحریک پذیر، سم‌زدایی و محافظت در مقابل سموم اشاره نمود. فعالیت ضد میکربی باکتری‌های پروبیوتیک، سبب گسترش استفاده آنها در تولید محصولات غذایی عملگرا (Functional Foods) در جهت بهبود سلامتی مصرف کنندگان شده است(۴، ۵). باکتری‌های لاکتیک تولید کننده باکتریوسین بخشی از میکروفلور دستگاه گوارش هستند که در مقاومت میزبان نقش بسیار مهمی را ایفا می‌نمایند. این میکروارگانیسم‌ها از طریق رقابت در مکان‌های چسبندگی در دستگاه گوارش، رقابت در جذب مواد مغذی و نیز از طریق تولید ترکیبات ضد میکربی مانند باکتریوسین‌ها و اسیدهای چرب زنجیر کوتاه مانع از رشد و کلنیزاسیون ارگانیسم‌های پاتوژن در دستگاه گوارش می‌گردند(۶). باکتری‌های لاکتیک تولید کننده باکتریوسین (از جمله *لاکتوباسیلوس کازئی* و سایر گونه‌های *لاکتوباسیلوس‌ها*) و باکتریوسین‌ها می‌توانند به‌عنوان محافظت کننده‌های زیستی جهت مهار رشد *لیستریا منوسیتوژنز* در انواع مختلف مواد غذایی به‌ویژه فرآورده‌های لبنی تخمیری همچون پنیر و ماست استفاده شوند(۷، ۸). هدف از این مطالعه ارزیابی رفتار رشد *لیستریا منوسیتوژنز* و تعیین ماندگاری *لاکتوباسیلوس کازئی* در مراحل مختلف تولید، رسیدن و نگهداری پنیر سفید پروبیوتیک ایرانی بود.

مواد و روش کار:

آماده‌سازی ومحاسبه میزان تلقیح *لیستریا منوسیتوژنز*: *لیستریا منوسیتوژنز* ATCC 19118 از گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. برای محاسبه میزان باکتری لازم (10^3 CFU/ml) جهت تلقیح در شیر از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر و شمارش باکتریایی به‌کمک کشت سطحی استفاده شد(۹).

آماده‌سازی آغازگر (استارتر) پنیر و باکتری پروبیوتیک: آغازگر پنیر Chr. Hansen R 704 استفاده شد (آغازگر مزوفیل شامل *Lactococcus lactis sub sp. cremoris* و *Lactococcus lactis subsp. diacetilactis* از شرکت کریستین‌هانس دانمارک). *لاکتوباسیلوس کازئی* به‌عنوان پروبیوتیک از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهیه شد. محاسبه میزان باکتری پروبیوتیک لازم جهت تلقیح در شیر (CFU/ml 10^8 – 10^9) طبق روش استاندارد انجام گرفت (۷).

تولید پنیر سفید ایرانی: شیر تازه و کامل گاو (تهیه شده از دامداری صنعتی دانشگاه ارومیه) پاستوریزه شد. سپس دمای شیر را به ۳۵ درجه سانتی‌گراد رسانده و در هر یک از ظروف استریل مخصوص تهیه پنیر ۵ لیتر شیر ریخته شد. سپس *لیستریا منوسیتوژنز* با دوز مورد نظر (10^3cfu/ml) به‌نمونه‌های شیر تلقیح گردید. سپس، آغازگر به‌مقدار ۰/۵ درصد (حجمی/حجمی) و *لاکتوباسیلوس کازئی* به‌میزان 10^8 - 10^9 cfu/ml همزمان به‌نمونه‌های شیر اضافه شدند. پس از نیم ساعت ۰/۰۲ درصد (وزنی/ حجمی) کلرید کلسیم اضافه گردید. پس از آنکه pH شیر به ۵/۶ رسید، رنت میکربی (میتو، ژاپن) به‌مقدار ۰/۰۰۱ درصد (وزنی/ حجمی) پس از حل نمودن در آب مقطر استریل به‌شیر افزوده شد. به‌منظور کارآیی بهتر رنت میکربی (Meito, Sangyo., Japon)، دمای شیر در مدت زمان تشکیل لخته در حدود ۳۵ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. پس از یک ساعت، لخته تشکیل شده، برش داده شد و طبق دستورالعمل پنیر سفید ایرانی آبگیری شد. قطعات لخته آبگیری شده در آب نمک ۲۰ درصد (وزنی/حجمی) استریل به‌مدت ۸ ساعت قرار گرفت. بعد از آن، نمونه‌های پنیر ضمن انتقال به آب نمک ۸ درصد استریل، تا ۱۵ روز در دمای ۱۴-۱۲ درجه سانتی‌گراد و پس از طی دوره رسیدن اولیه جهت دوره رسیدن نهایی به‌مدت ۴۵ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

ارزیابی رفتار رشد *لیستریا منوسیتوژنز*: برای شمارش *لیستریا منوسیتوژنز* در طی مراحل مختلف تولید و رسیدن پنیر سفید (بلافاصله پس از تلقیح، در انتهای مرحله آبگیری و روزهای ۷، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و۶۰) از محیط آگار انتخابی لیستریا پالکام(PALCAM *Listeria* agar) به‌روش کشت سطحی و گرمخانه‌گذاری به‌مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد استفاده شد(۹).

ارزیابی ماندگاری باکتری پروبیوتیک: ارزیابی ماندگاری باکتری پروبیوتیک در طی مراحل مختلف تولید و رسیدن پنیر سفید (بلافاصله پس از تلقیح، در انتهای مرحله آبگیری و روزهای ۷، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و۶۰) طبق روش استاندارد انجام گرفت(۷).

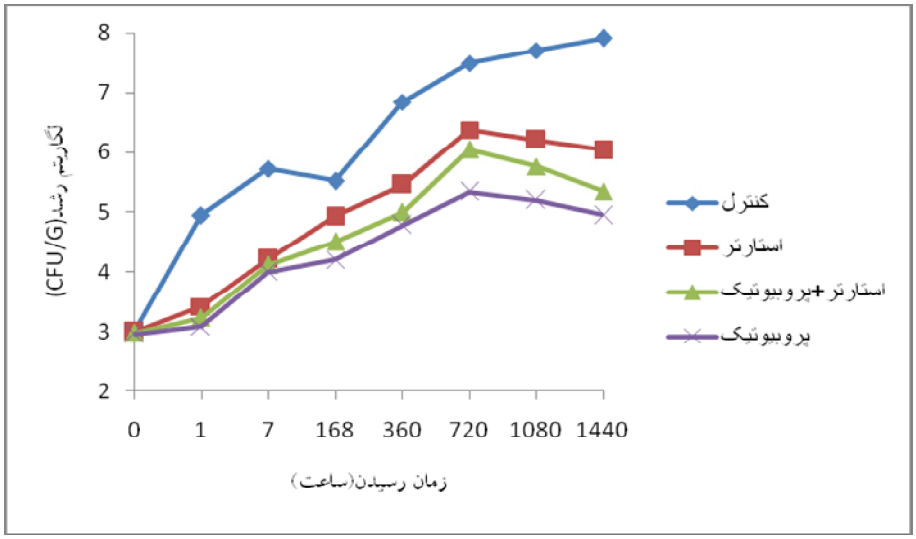
ارزیابی حسی: پنیر سفید تهیه شده (تیمار واجد پروبیوتیک و فاقد *لیستریا* و تیمار کنترل) به‌هفت قسمت (هر قسمت شامل ۵۰۰ گرم پنیر در ظروف سفید و تمیز) تقسیم شد. ارزیابی حسی به‌وسیله یک گروه هفت نفره که عمدتاً از کارکنان و اعضای گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه بودند، صورت پذیرفت. برای ارزیابی ویژگی‌های حسی ناشی از افزودن پروبیوتیک به‌پنیر سفید ایرانی از آزمایش پذیرش حسی استفاده شد(۱۰).

تحلیل آماری: کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام گردید. ارزیابی رفتار رشد *لیستریا منوسیتوژنز* و ماندگاری باکتری پروبیوتیک مورد مطالعه با آنالیز واریانس (ANOVA) و تفاوت در بررسی‌های ارگانولپتیک مورد نظر با آنالیز واریانس (ANOVA) و (Least Significant Difference Procedure) LSD صورت گرفت. تمام تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS۱۷ انجام شد. نتایج معنی‌دار در $p< ۰/۰۵$ مد نظر قرار گرفت.

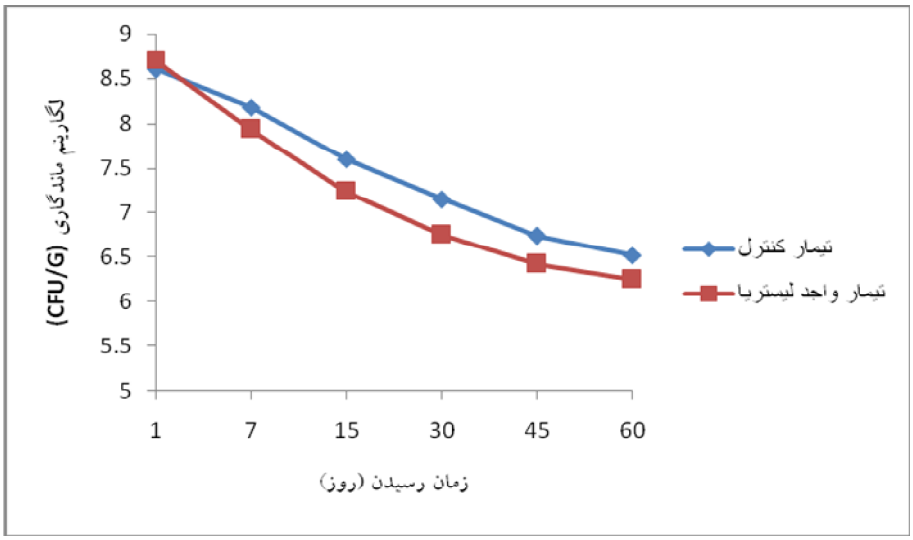
یافته‌ها:

شمارش *لیستریا منوسیتوژنز* در کلیه تیمارها طی دوره رسیدن پنیر در نمودار ۱ نشان داده شده است. بیشترین کاهش شمارش *لیستریا منوسیتوژنز*، در تیمار پنیر دارای پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و فاقد آغازگر در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد($p<۰/۰۵$). در تیمار مذکور در پایان دوره رسیدن پنیر سفید میزان کاهش *لیستریا منوسیتوژنز* در مقایسه با گروه کنترل log ۲/۹۶ در هر گرم پنیر بود. در تیمارهای دارای آغازگر و پروبیوتیک و پنیر دارای آغازگر میزان کاهش *لیستریا منوسیتوژنز* در مقایسه با تیمار کنترل به‌ترتیب log ۲/۵۸، log ۱/۸۸ در هر گرم پنیر بود.

ماندگاری باکتری پروبیوتیک در کلیه تیمارها در مراحل مختلف رسیدن پنیر سفید ایرانی ارزیابی شد (نمودار ۲). در تیمار پنیر کنترل در مقایسه با تیمار پنیر حاوی *لیستریا منوسیتوژنز* میزان شمارش باکتری پروبیوتیک زیادبر بود. در تمام موارد شمارش باکتری پروبیوتیک بیش از 10^6cfu/g پنیر بود($p<۰/۰۵$).



نمودار ۱- لگاریتم رشد *لیستریا منوسیتوژنز* طی دوره رسیدن پنیر سفید ایرانی در تیمارهای مختلف (تیمار کنترل: فاقد آغازگر (استارتر) و پروبیوتیک)



نمودار ۲- لگاریتم ماندگاری باکتری پروبیوتیک در دوره رسیدن پنیر سفید در تیمارهای مورد مطالعه (تیمار کنترل: دارای پروبیوتیک و فاقد لیستریا)

ارزیابی خصوصیات حسی تیمارهای مختلف پنیر سفید در جدول ۱ نشان داده شده‌است. بیشترین و کمترین قابلیت پذیرش حسی به‌ترتیب مربوط به‌پنیر سفید حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* دارای آغازگر و پنیر سفید فاقد آغازگر و پروبیوتیک بود.

جدول ۱- میانگین پذیرش حسی تیمارهای مختلف پنیر سفید
(A: دارای پروبیوتیک، B: دارای پروبیوتیک و آغازگر ، C: کنترل، بدون پروبیوتیک و واجد آغازگر)

تیمارها	میانگین پذیرش± انحراف استاندارد
A	۸.۱±۰.۰۰
B	۸.۶۴±۰.۱۴
C	۷.۵۴ ± ۰.۱۱

بحث:

لیستریا منوسیتوژنز در طی مراحل مختلف تولید و نگهداری محصولات لبنی از قبیل ماست و پنیر تولید شده با کشت‌های آغازگر به‌خوبی بقا می‌یابد(۱۱). در مطالعه دبویسر و همکاران (۲۰۰۱) ۱۰ مورد از ۶۴ مورد شیوع بیماری ناشی از مصرف فرآورده‌های لبنی در اثر لیستریوز بود، که ۳۲/۸ درصد این محصولات از شیر پاستوریزه تهیه شده بودند(۱۱). حضور این باکتری بیماریزا در فرآورده‌های لبنی تخمیری به‌دلیل سازگاری آن با شرایط محیط اسیدی، بسیار محتمل می‌باشد(۱۲). مطالعات انجام شده بر روی پنیرهای تولید شده از شیر آلوده به *لیستریا منوسیتوژنز* نشان داد که رفتار این باکتری (رشد، بقا و مهار) در پنیر اساسا به‌عواملی همچون طبیعت و فعالیت آغازگر، میزان کاهش pH و شرایط دما و رطوبت در طی مراحل مختلف تولید، نگهداری و رسیدن وابسته می‌باشد(۱۳).

نتایج این مطالعه نشان داد *لیستریا منوسیتوژنز* در نمونه تیمار دارای پروبیوتیک بیشترین کاهش را دارد. در مرحله رسیدن پنیر چدار(cheddar) و مرحله ذخیره سازی پنیر کلبی (Colby) شمار *لیستریا منوسیتوژنز* به‌تدریج از ۳/۵log به ۱/۵ log در هر گرم پنیر کاهش یافت(۱۴). در حالیکه در پنیر آبی (blue) پس از گذشت مدت کوتاهی از تولید آن و در مراحل اولیه رسیدن، شمار آن کاهش یافت و سپس ثابت باقی ماند(۱۵). در طی تولید پنیر کممبرت (Camembert) شمار این باکتری به‌میزان ۱۰ برابر افزایش یافت و در طی مدت ۱۸ روز نخست رسیدن کاهش یافت و در نهایت به‌دلیل افزایش میزان اسیدیته رشد این باکتری مهار شد(۱۶). در زمینه فعالیت ضد میکربی آغازگر تولید کننده نیسین بر علیه *لیستریا منوسیتوژنز* در پنیر مانچگو(Manchego) تولید شده از شیر خام بز، نشان داده شد که در تیمار دارای آغازگر مولد نیسین کاهش *لیستریا* در پایان روز ۶۰ نگهداری پنیر، log ۴/۶۲ و در تیمار دارای آغازگر فاقد خصوصیت تولید نیسین log ۱/۶۶ و در تیمار ترکیبی دو حالت قبلی log ۳/۳۱ در هر گرم پنیر بود(۱۷). در مطالعه حاضر بیشترین میزان کاهش *لیستریا منوسیتوژنز* در تیمار دارای پروبیوتیک و سپس در تیمار ترکیبی پروبیوتیک و آغازگر بود. این یافته با گزارشات موجود در این زمینه تطابق دارد(۱۳،۱۴و۱۷).

ارزیابی ماندگاری *لیستریا منوسیتوژنز* در مراحل مختلف تولید، رسیدن و نگهداری پنیر نرم لاکتیکی (soft lactic) تهیه شده از شیر میش آلوده شده به این باکتری نشان داد که در طی مرحله رسیدن شمار این باکتری کاهش یافته ولی همچنان در انتهای دوره رسیدن پنیر نرم لاکتیکی قابل جداسازی می‌باشد(۱۸). در مطالعه حاضر شمار *لیستریا منوسیتوژنز* در انتهای دوره رسیدن کاهش یافت ولی همچنان در پنیر بقاء دارد. یافته مذکور با گزارشات موجود در این زمینه مطابقت دارد(۱۸،۱۵).

باکتری‌های لاکتیک مولد باکتریوسین در زمینه تولید غذاهای تخمیری، جهت بهبود خصوصیات حسی و همچنین ممانعت از فساد به‌طور گسترده استفاده می‌شود. در این میان *لاکتوباسیل‌ها* به‌علت داشتن خصوصیاتی از

قبیل بهبود و ارتقاء سلامتی میزبان توجه زیادی را بـه‌خـود جلـب کـرده‌انـد(۴). جهـت اسـتفاده از پروبیوتیـک‌هـا در غـذاهـای عملگـرا (Functional Foods)، ایـن ارگانیسم‌ها باید به‌هنگام عبور از دستگاه گوارش باقی‌مانده و همچنـین توانـایی تکثیـر در آن را نیـز داشـته باشـند. *لاکتوباسیل‌ها* بـه‌عنـوان بـاکتری‌هـای پروبیوتیـک توانـایی ماندگاری در دسـتگاه گـوارش و همچنـین توانـایی بهبـود تعادل میکروفلـور آن را دارنـد(۴). کـاربرد *لاکتوباسـیلوس کازئی* در ترکیب بـا سـایر آغـازگرهـای تجـاری رایـج در صنعت فرآورده‌های لبنی واجد اثرات ضـد میکربـی، ضـد توموری و محرک سیستم ایمنی است(۱۹). تجویز خوراکی *لاکتوباسیلوس کـازئی* در مـوش‌هـای رت آلـوده شـده بـا *لیستریا منوسیتوژنز* سبب افزایش ایمنـی سـلولی شـد(۲۰). همچنین تجویز این باکتری پروبیوتیک در موش‌های آلـوده شـده بـا *E.coli*، سـبب ممانعـت از رشـد ایـن بـاکتری بیمـاریزا و کـاهش عفونـت گردیـد(۲۱، ۲۲). شـمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طـی ۱۵ روز ابتـدایی دوره رسیدن پنیر سفید در مقایسه با سایر روزهای دوره رسـیدن کاهش بیشتری نشان مـی‌دهـد. علـت آن را کـاهش میـزان رطوبت، افزایش میـزان نمـک و کـاهش دمـای نگهـداری گزارش می‌کنند(۲۲). در مطالعه حاضر نیز هر چنـد میـزان شمارش باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کـازئی* در طـی دوره رسیدن پنیر سفید تنزل یافت، اما میزان آن در انتهـای دوره رسیدن و نگهداری به‌کمتر از 10^6 cfu/g نرسـید کـه مطابق با میـزان توصـیه شـده بـرای مـواد غـذایی عملگـر می‌باشد.

نتیجه گیری:

کاهش در میـزان شـمارش *لیسـتریا منوسـیتوژنز* طـی دوره رسیدن و نگهداری پنیر سفید پروبیوتیک می‌تواند در نتیجه اثر ترکیبـی کـاهش pH و فعالیـت ضـد میکربـی بـاکتری پروبیوتیک و آغازگر مورد استفاده در این مطالعه باشـد. بـا این وجود، شرایط محیطی ایجاد شده جهت حـذف کامـل ایـن بیمـاری‌زا در پنیـر سـفید کـافی نیسـت. بنـابراین، دست‌انـدرکاران صـنعت مـواد غـذایی جهـت اطمینـان از سـلامتی و پایـداری میکربـی محصـولات لبنـی تخمیـری، به‌ویژه پنیر سفید، نباید فقـط بـه‌پاستوریزاسـیون و تخمیـر اکتفا کنند. بلکه، جهت ایجـاد شـرایط مطلـوب در مراحـل مختلف تولید و ذخیره سازی، از افزودنـی‌هـای مجـاز هـم باید استفاده شود. ماندگاری پروبیوتیـک مـورد مطالعـه در انتهای دوره رسیدن پنیر، جهت ایجاد اثرات مفید سـلامتی، بیشتر از حد لازم بـود. همچنـین بـاکتری مـذکور بـر روی خصوصیات حسی پنیر تاثیرات مثبـت نشـان داد. بنـابراین، پنیـر سـفید ایرانـی بـه‌عنـوان یـک مـاده غـذایی، حامـل باکتری‌های پروبیوتیک بسیار مناسب است.

فهرست مراجع:

1- Smith p, Stewart J and Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *J Food Microbiol* 2001; **18**: 463-70.

2- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, *et al*. Food-related illness and death in the United states. *Emerg Inf Dis* 1999; **5**: 607-25.

3- Benkerroum N, Oubel H, Zahar M, Dlia S, Filali-Maltouf A. Isolation of a bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* subsp. lactis and application to control *Listeria monocytogenes* in Moroccan Jben. *J Appl Microbiol* 2000; **89**: 960-9.

4- Food and Agriculture Organization of United Nations; World Health Organization. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, FAO/WHO (2001). Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Co´rdoba, Argentina. ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf

5- Gomes da Cruz A, Buriti FA, Batista de Souza CH, Fonseca Faria JA , Isay Saad SM. Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects. *J Food Science Technol* 2009; **20**: 344-54.

6- Bernbom N, Licht TR, Saadbye P, Vogensen FK and N?rrung B. *Lactobacillus plantarum* inhibits growth of *Listeria monocytogenes* in an in vitro continuous flow gut model, but promotes invasion of *Listeria monocytogenes* in the gut of gnotobiotic rats. *Int J Food Microbiol* 2006; **108**: 10 – 14.

7- Phillip SM, Kailasapathy K and Tran L. Viability of comrcial probiotic cultures (*L. aciduphillus*, *Bifidobacterium spp.* , *l. casei*, *l. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. *Int Jf Food Microbiol* 2006; **108**: 276-80.

8- Ong L, Henriksson A and Shah NP. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium spp*. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. *Int Dairy J* 2006; **16**: 446–56.

9- Basti AA, Misaghi A and Khaschabi D. Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora Boiss*. essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. LWT- *Food Science Tecnol* 2007; **40**(6): 973-81.

10- Meilgaard MC, Civille GV , Carr BT.. *Sensory evalution techniques*. 2nd edition. Crc prees, inc. bocaration, florida1991; PP: 123-130.

11- De Buyser ML, Dufour B, Maire M, Lafarge V. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries, *Int J Food Microbiol* 2001; **67**: 1-17.

12-Mazzotta AS. Thermal inactivation of stationary-phase and acid-adapted *Escherichia coli O157:H7*, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in fruit juice J Food Prot 2001; **64:** 315-20.

13-Maisnier-Patin S, Deschamps N, Tatini SR and Richard J. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Camembert cheese made with a nisin-producing starter. *Lait* 1992; **72**: 249-63.

14- Yousef AE, Marth EH. Behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and storage of Colby cheese. *J Food Prot* 1988; **51**: 12-15.

15- Papageorgiou DK, Marth EH. Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of blue cheese. J *Food Prot* 1989; **52**: 459-65.

16- Ryser ET, Marth EH. Behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of cheddar cheese. *J Food Pro* 1987a; **50**: 7-13.

17- Rodrıguez E, Gaya P, Nunez M, Medina M. Inhibitory activity of a nisin-producing starter culture on *Listeria innocua* in raw ewes milk Manchego cheese. Int J of Food Microbiol 1998; **39**: 129–32.

18- Morgan F, Bonnin V, Mallereau MP and Perrin G. Survival of *Listeria monocytogenes* during manufacture, ripening and storage of soft lactic cheese made from raw goat milk. *Int J of Food Microbiol* 2001; **64**: 217–21.

19-Matsuzaki, TR, Yamazaki S, Hashimoto o , Yokokura T.. The effect of oral feeding of *Lactobacillus casei* strain Shirota on immunoglobulin E production in mice. *J Dairy Sci* 1998; **81**: 48-53.

20-de Waard RJ, Garssen GC, Bokken, and Vos JG. Antagonistic activity of *Lactobacillus casei* strain Shirota against gastrointestinal *Listeria monocytogenes* infection in rats. *Int J Food Microbiol* 2002; **73**:93-100.

21-Ogawa M, Shimizu K, Nomoto K, Takahashi M, Watanuki M, Tanaka R, *et al*.. Protective effect of *Lactobacillus casei* strain Shirota on Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 infection in infant rabbits. *Infect Immun* 2001; **69**:1101-8.

22-Asahara T, Nomoto K, Watanuki M ,Yokokura T. Antimicrobial activity of intraurethrally administered probiotic *Lactobacillus casei* in a murine model of *Escherichia coli* urinary tract infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; **45**:1751-60.