

## بررسی رفتار لیستریا مونوسایتوجنز در نوعی پنیر نرم تازه بدون استفاده از مایه لاکتیک متأثر از فاکتورهای سروتیپ باکتری، حرارت و زمان نگهداری

دکتر ودود رضویلر\*

### خلاصه:

پنیر نرم تازه (بدون مایه لاکتیک) که با فرآیند کامل به روش تجارتی در آزمایشگاه از شیر پاستوریزه ساخته شده بود، پس از تلقیح تعداد  $2 \times 10^4$  CFU لیستریا مونوسایتوجنز در هر گرم از نمونه، مورد آزمایش قرار گرفتند و سویه Scott A و V7 (سروتیپ‌های 4b و 1a لیستریا مونوسایتوجنز) به‌طور جداگانه آزمایش شدند. نمونه‌های پنیر تلقیح‌شده در حرارت‌های ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۸، ۱۲ و ۴ درجه بسته به حرارت نگهداری تا مدت ۶۰ روز در کیسه‌های پلاستیکی استریل واکيوم‌شده گرمخانه‌گذاری شدند. تجزیه شیمیایی نمونه‌ها نشان داد که پنیر مورد آزمایش حاوی یک درصد نمک، ۱/۸ درصد آب نمک (Brine)، ۵۳ درصد رطوبت، ۱۸/۷ درصد چربی و pH نهایی برابر با ۶/۶ بود. زمان دو برابر شدن باکتری (G) و حداکثر جمعیت میکروبی (Maximum population) در تمام شرایط نگهداری برای دو سویه لیستریا مونوسایتوجنز محاسبه گردید. مقایسه G در حرارت‌های ۳۰، ۲۰، ۱۲، ۸ و ۴ درجه برای سویه‌های Scott A و V7 به ترتیب (۰/۸۱ و ۰/۸۹)، (۱/۷۸ و ۱/۹۳)، (۶/۳ و ۷/۷)، (۸/۴۹ و ۸/۲۳) و (۲۱ و ۱۸/۹) ساعت محاسبه گردید. حداکثر جمعیت باکتری در هر گرم از نمونه در مورد سویه Scott A در حرارت ۳۰، ۲۰، ۱۲، ۸ و ۴ درجه به ترتیب  $1.6 \times 10^8$  پس از ۱۶ ساعت،  $1.3 \times 10^8$  پس از ۷۳ ساعت،  $1.7 \times 10^7$  پس از ۸۷ ساعت،  $2.5 \times 10^7$  پس از ۶ روز و  $2 \times 10^7$  پس از ۱۹ روز نگهداری بود، در حالیکه در مورد سویه V7 ارقام حداکثر جمعیت میکروبی در روزهای مشابه به ترتیب  $6 \times 10^7$ ،  $6.8 \times 10^7$ ،  $1.3 \times 10^7$ ،  $1.4 \times 10^7$  و  $2 \times 10^7$  در هر گرم از نمونه محاسبه گردید. نتایج حاکی از رشد عالی اورگانیزم در تمام شرایط نگهداری بوده و از آنجایی که احتمال آلودگی محصول ضمن تهیه بعد از پروسس زیاد است لذا استفاده از مهارکننده‌های رشد باکتری در این نوع محصولات جهت سلامتی مصرف‌کننده ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: رفتار رشد لیستریا، پنیر نرم

مقدمه:

پاستوریزه و پنیر نرم از کشورهای مختلف دنیا از جمله

کانادا، انگلستان و سویس گزارش گردیده است (۲، ۳،

۴، ۶، ۷ و ۱۳).

اپیدمی‌ها و موارد انفرادی متعددی از

لیستریوزیس (Listeriosis) در اثر مصرف شیر

استفاده از رنین و بدون مایه لاکتیک به صورت تازه ساخته شده و به صورت واکيوم قابل فروش تا ۴۵ روز در شرایط یخچال می‌باشد. مصرف این پنیر در سال ۱۹۸۵ در کالیفرنیا اپیدمی لیستریوزیس بزرگی را به همراه داشت که باعث مرگ و میر بالایی در بین افراد مریض و نوزادان آنها گردید و در نتیجه باعث توجه شدید محافل علمی و پزشکی به سلامتی محصولات لبنی گردید (۱۳). مقاله موجود بخشی از بررسی‌های رفتار لیستریا مونوسایتوجنز را در چنین پنیرهایی نشان می‌دهد که در آن دو سروتیپ (V7(1a و Scott A(4b که در بیش از ۹۰ درصد اپیدمی‌های لیستریوزیس غذایی از جمله اپیدمی کالیفرنیا به عنوان عامل بیماری جدا گردیده بود تحت شرایط خلاء در حرارت‌های ۴ تا ۳۰ درجه نگهداری مورد آزمایش قرار گرفت تا میزان رشد باکتری در شرایط طبیعی نگهداری چنین محصولی (سرما) و شرایط غلط نگهداری (Abused temperature) در طول دو ماه نگهداری با استفاده از مدل‌های ریاضی مشخص گردد. مواد و روش کار:

#### الف - فورمولاسیون پنیر

پنیر مورد آزمایش با استفاده از دستور ساخت تجارتي آن به شرح ذیل در آزمایشگاه تهیه گردید. شیر پاستوریزه کامل با ۳/۶ درصد چربی (Whole milk) با شیر پاستوریزه کم چربی با ۲ درصد چربی با حجم مساوی مخلوط گردیده و حرارت آن با استفاده از بن‌ماری به ۲۴ درجه سانتیگراد افزایش داده و محلول کلرور کلسیم (Marschall products, Madison, WI) به مقدار ۰/۰۵ میلی‌لیتر به ازاء هر لیتر شیر اضافه گردید.

مرگ و میر حاصل از موارد اپیدمیک حدود ۲۸ تا ۳۳ درصد تخمین زده می‌شود (۹). فراخوانی‌های (Product recalls) عمده‌ای از محصولات مختلف نیز گزارش شده است (۱) که در آن شیر خام و یا آلودگی پس از پروسس از محیط به‌عنوان منبع اورگانیزم مشخص گردیده است (۵ و ۱۰).

رفتار لیستریا مونوسایتوجنز در طول ساخت و نگهداری انواع مختلف پنیر شامل پنیرهای Cottage, Comembert, Mozzarella, Brick, Cheddar, Calby, Blue, Feta, Cold-Pack و Parmesan مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۵، ۱۶، ۲۱، ۲۲، ۲۳ و ۲۴).

پنیرهای نرم و تازه (Fresh soft cheeses) یکی از فرآورده‌های مهم شیر است که اغلب به‌طور سنتی در اقصی نقاط جهان از جمله کشور خودمان بر پایه انعقاد کازئین شیر به روش‌های ساده با استفاده از اسیدهای اورگانیک و یا رنین بدون استفاه از مایه‌های لاکتیک و بدون طی زمان رسیدن تهیه می‌شود. این نوع پنیرها اغلب به دلیل pH نزدیک خنثی، نمک کم، رطوبت بالا و عدم استفاده از آغازگرها (Starters) می‌تواند همانند شیر مایع محیط بسیار مناسبی جهت رشد باکتری‌های بیماری‌زایی که در طول ساخت و عملیات بعد از ساخت، محصول را آلوده می‌کند باشد (۸). یکی از انواع این نوع پنیرها که در امریکا تجارت چندین میلیون دلاری به خود اختصاص داده و از نظر بافت و طعم محصول بسیار مورد توجه می‌باشد پنیر نرم و تازه‌ای به نام Queso fresco می‌باشد از انواع پنیرهای نرم اسپانیولی (امریکای لاتین) می‌باشد که با

### ج - اورگانیزم مورد آزمایش و نمونه گیری

لیستریا مونوسایتوجنز سروتیپ‌های V7(la) و Scott A را از کلکسیون آزمایشگاه که کشت لیوفیلیزه آن در ۲۰- درجه نگهداری می‌شد انتخاب کرده و کشت مورد نیاز از هر کدام از طریق انتقال آن به محیط آبگوشت مادر (BHI (Brain Heart Infusion Broth, Difco) انجام گرفت. به محیط آبگوشت مادر پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در ۳۵ درجه مقدار ۱/۰ میلی‌لیتر از کشت آبگوشت به ۱۰ میلی‌لیتر آبگوشت BHI دیگر انتقال داده شد و به مدت ۱۸ ساعت در ۳۵ درجه گرمخانه‌گذاری گردید.

سلول‌های هر کدام از سروتیپ‌های لیستریا با کشت روی آگار BHI و محیط انتخابی Modified Mc Bride Agar, Difco و گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در ۳۵ درجه در شرایط هوازی شمارش گردید (۱۴ و ۱۸). از نمونه پنیر تلقیح نشده نیز شمارش میکروبی (Aerobic total plate count) در محیط آگار BHI و جستجوی لیستریا در محیط Modified Mc Bride Agar به عمل آمد.

### د - تلقیح پنیر و نگهداری در حرارت ۴-۳۰ درجه

در شرایط استریل به‌عنوان تقریبی  $2 \times 10^4/g$  باکتری از هر کدام از سروتیپ‌های لیستریا در نمونه‌های ۵ گرمی پنیر داخل کیسه‌های پلاستیکی استریل (Cryovac type B 540, W.R. Grace and Co., Hayward, CA) تلقیح و پس از مخلوط نمودن با استفاده از واکيوم (Multivac A 300, Model 22, Sepp Haggemuller, KG, F, F.R.G.) واکيوم شده و در حرارت‌های ۳۰، ۲۰، ۱۲، ۸ و ۴ به مدت حداکثر

پس از ۳ دقیقه مخلوط کردن از محلول رنین Rennet (Marzyme II, Double strength, Marschall products, Medison, WI) به میزان ۰/۱۷۳ میلی‌لیتر به ازاء هر لیتر شیر اضافه گردیده و خوب مخلوط شد. در حالیکه حرارت شیر ثابت نگهداشته می‌شد، ۴۰ دقیقه بعد، لخته بریده می‌شد و حرارت به ۳۷ درجه بالاتر برده می‌شد. پس از ۵ دقیقه مخلوط کردن و تأمل ۳ دقیقه، آب پنیر دور ریخته شده و نمک به مقدار ۳/۶ گرم به ازاء هر لیتر شیر در لخته اضافه شده و خوب مخلوط می‌گردید و لخته حاصله را در یک کرباس استریل قرار داده و در سرمای ۴ درجه سانتیگراد تحت فشار ۳ کیلوگرم وزنه به مدت ۲ ساعت نگهداری می‌گردید.

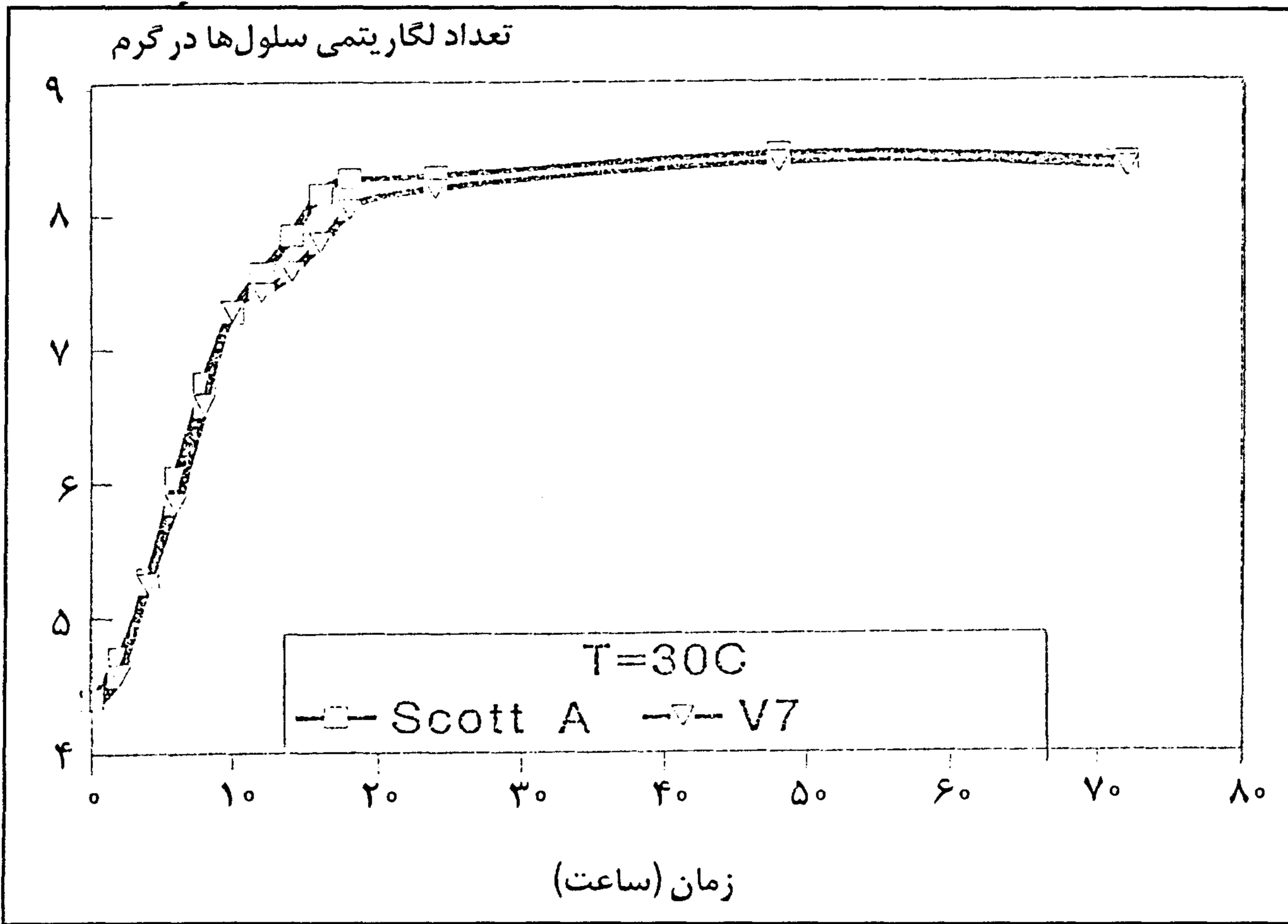
### ب - تجزیه شیمیایی پنیر مورد آزمایش

pH پنیر پس از یکنواخت کردن ۵ گرم نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط دستگاه 2000 Ion Analyzer (Bechman Instruments, Inc., Irvine, CA) با استفاده از Combination electrode (Orion gel - Filled electrode model 91-05, Cambridge, MA) اندازه‌گیری شد. میزان آب پنیر (رطوبت) از طریق خشک کردن ۵ گرم نمونه در حرارت ۱۲۵ درجه به مدت ۲ ساعت محاسبه گردید. میزان نمک (NaCl) با استفاده از (AOAC, 1975) Quantab chloride titrators تعیین گردید. درصد آب نمک (Brine) با استفاده از فرمول ذیل محاسبه گردید.

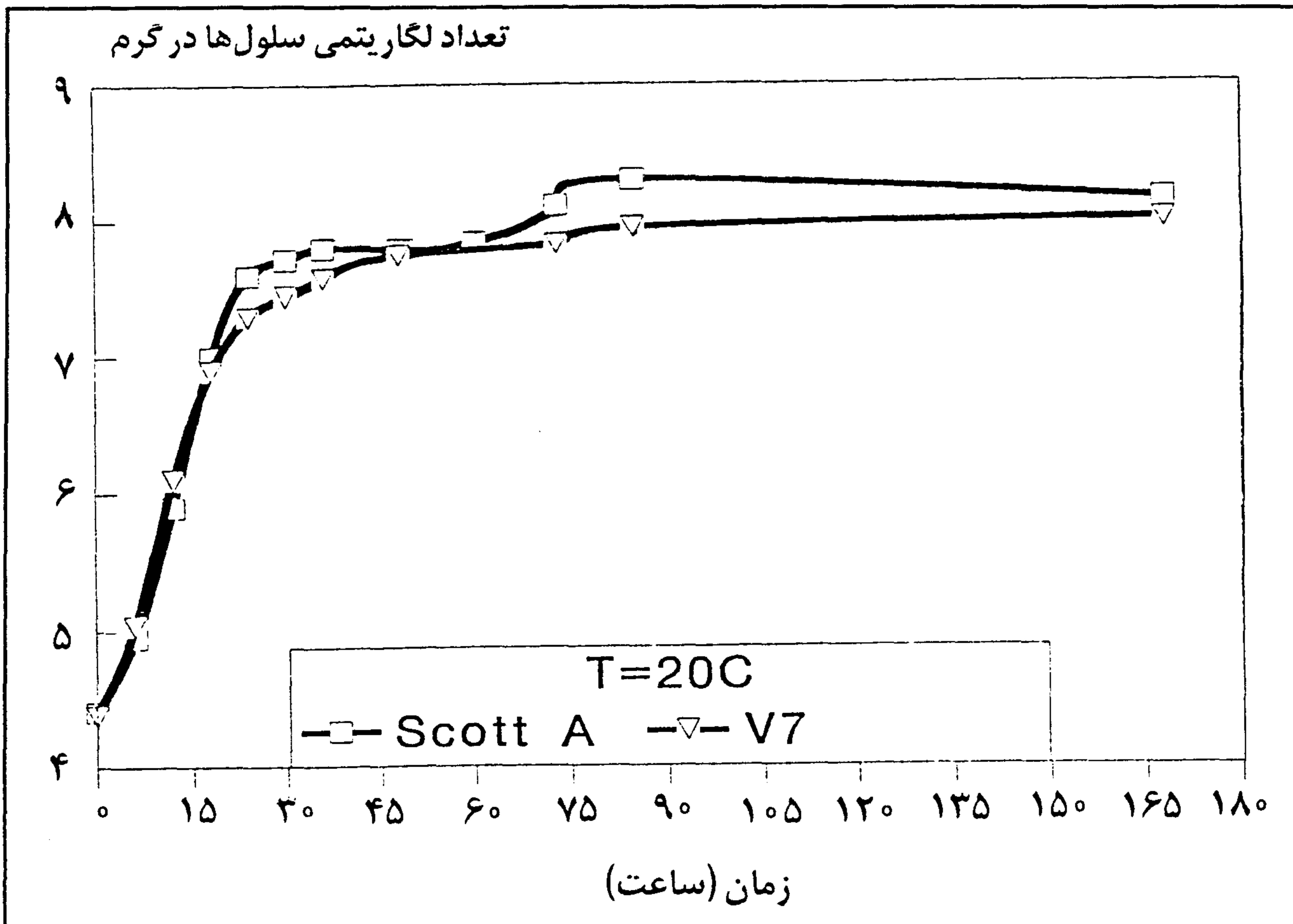
$$\% \text{ brine} = (\% \text{ NaCl} \times 100) / (\% \text{ NaCl} + \% \text{ Water})$$

میزان تقریبی چربی پنیر نیز با استفاده از فرمول ذیل محاسبه گردید.

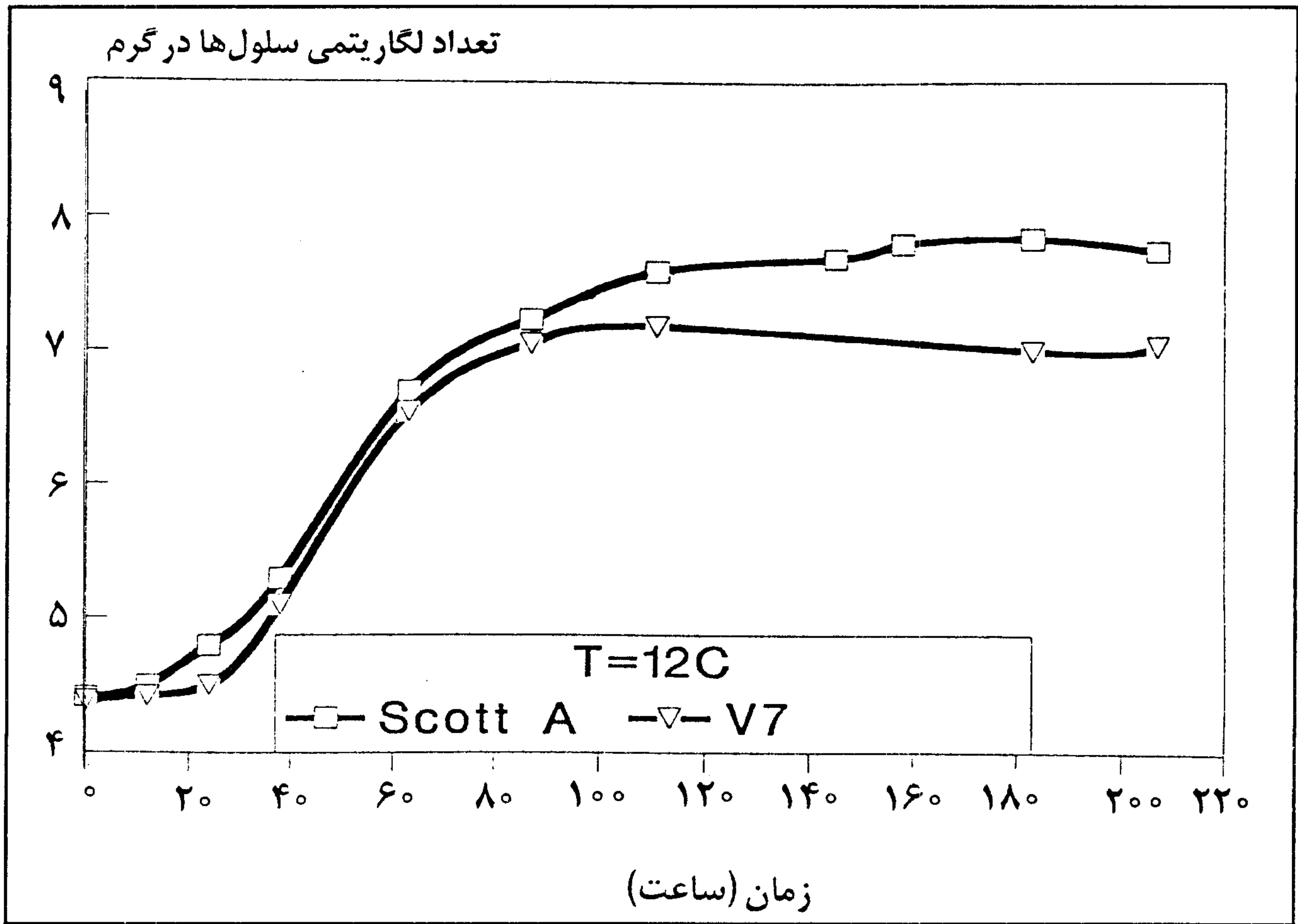
$$\% \text{ Fat} = \text{Fat} \% \text{ of milk (2.8\%)} \times 15\% \text{ Cheese Yeild (100/15)}$$



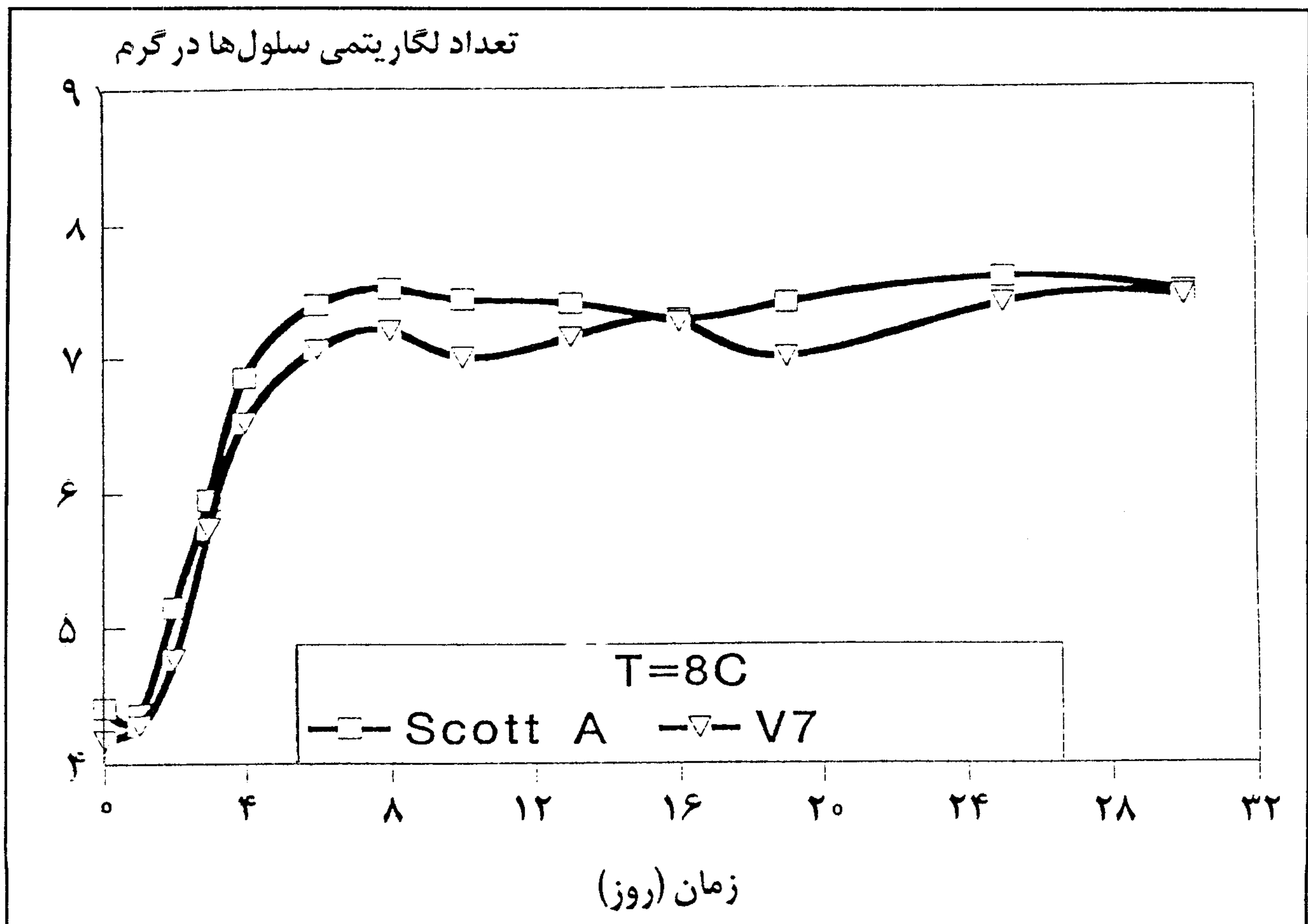
نمودار ۱ - رشد لیستریا مونوسایتوجنز در نوعی پنیر نرم تازه نگهداری شده در ۳۰ درجه سانتیگراد



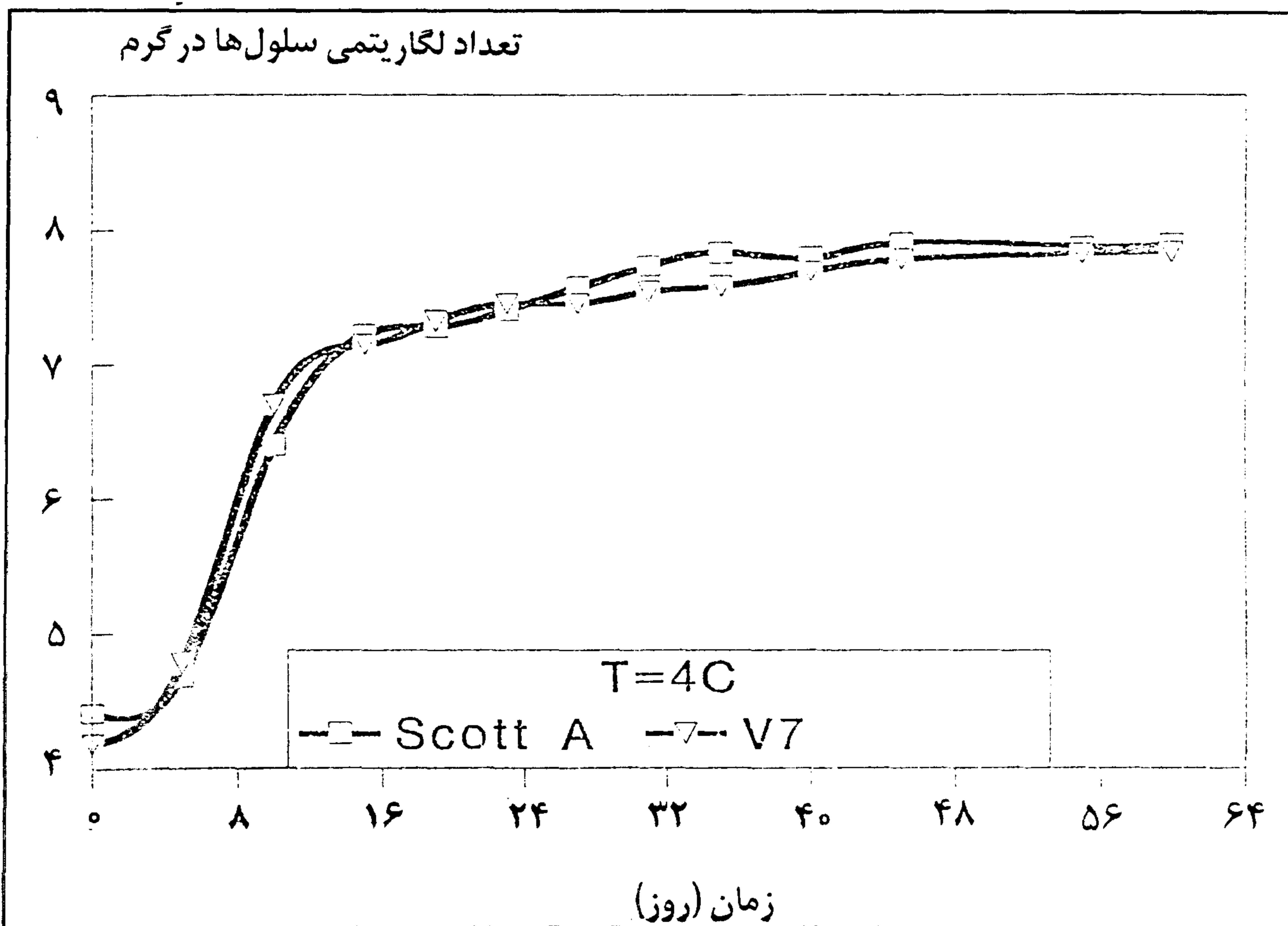
نمودار ۲ - رشد لیستریا مونوسایتوجنز در نوعی پنیر نرم تازه نگهداری شده در ۲۰ درجه سانتیگراد



نمودار ۳ - رشد لیستریا مونوسایتوجنز در نوعی پنیر نرم تازه نگهداری شده در ۱۲ درجه سانتیگراد



نمودار ۴ - رشد لیستریا مونوسایتوجنز در نوعی پنیر نرم تازه نگهداری شده در ۸ درجه سانتیگراد



نمودار ۵ - رشد لیستریا مونوسایتوجنز در نوعی پنیر نرم تازه نگهداری شده در ۴ درجه سانتیگراد

که در آن  $N_0$  تعداد سلول باکتری تلقیح شده در نمونه پنیر در زمان  $t_0$  و  $N$  تعداد سلول باکتری در زمان‌های  $t$  از رشد باکتری در طول نگهداری در گرمخانه می‌باشد و  $t-t_0$  اختلاف بین زمان اولیه (تلقیح و گرمخانه گذاری) و زمان کشت و شمارش باکتری برای محاسبه  $K$  می‌باشد. مقدار  $\ln 2$  از جدول لگاریتم به دست می‌آید (۱۱). در پایان آزمایش حداکثر جمعیت باکتری رشد کرده از روی منحنی رشد تعیین گردید.

#### نتایج:

تجزیه شیمیایی پنیر مورد آزمایش تهیه شده به روش تجارتي در آزمایشگاه نشان داد که حاوی یک درصد نمک (NaCl)، ۱/۸ درصد آب نمک (Brine)،

۶۰ روز نگهداری گردید. برای هر درجه حرارتی ۱۵ نمونه و مجموعاً برای دو سروتیپ ۱۵۰ نمونه ۵ گرمی مورد آزمایش قرار گرفت.

ر - محاسبه ضریب رشد ( $K$ ) و زمان دو برابر شدن باکتری ( $G$ )

بر پایه نمونه برداری تکراری در فواصل زمانی مناسب درجه حرارت نگهداری شده و کشت و شمارش لیستریا در محیط Modified Mc Bride Agar, Difco و ترسیم منحنی رشد باکتری، ضریب رشد ( $K$ ) و زمان دو برابر شدن باکتری ( $G$ ) با استفاده از فرمول‌های ذیل محاسبه گردید.

$$K = (\log N - \log N_0) \frac{2.303}{t-t_0} \quad \text{و} \quad G = \frac{\ln 2}{K}$$

۵۳ درصد آب (رطوبت)، ۱۸/۷ درصد چربی و pH نهایی برابر با ۶/۶ بود.

رفتار لیستریا مونوسایتوجنز در پنیر نرم مورد آزمایش نگهداری شده در حرارت‌های ۲۰، ۳۰، ۱۲، ۸ و ۴ درجه در نمودارهای ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب نشان داده شده است.

مقادیر G (Generation time) یا زمان دو برابر شدن باکتری در حرارت‌های ۲۰، ۳۰، ۱۲، ۸ و ۴ درجه برای دو سروتیپ Scott A(4b) و V7(1a) به ترتیب (۰/۸۱ و ۰/۸۹)، (۱/۷۸ و ۱/۹۳)، (۶/۳ و ۷/۷)، (۸/۴۹ و ۸/۲۳) و (۲۱ و ۱۸/۹) ساعت محاسبه گردید. حداکثر جمعیت باکتری در هر گرم از نمونه در مورد سروتیپ Scott A(4b) در ۳۰، ۲۰، ۱۲، ۸ و ۴ درجه به ترتیب  $10^8 \times 1/6$  پس از ۱۶ ساعت،  $10^8 \times 1/3$  پس از ۷۳ ساعت،  $10^7 \times 1/7$  پس از ۸۷ ساعت،  $10^7 \times 2/5$  پس از ۶ روز و  $10^7 \times 2$  پس از ۱۹ روز نگهداری بود و در مورد سروتیپ V7(1a) مقادیر حداکثر جمعیت باکتری در حرارت‌های ۳۰، ۲۰، ۱۲، ۸ و ۴ درجه به ترتیب  $10^7 \times 6/3$  پس از ۱۶ ساعت،  $10^7 \times 6/8$  پس از ۷۳ ساعت،  $10^7 \times 1/3$  پس از ۸۷ ساعت،  $10^7 \times 1/4$  پس از ۶ روز و  $10^7 \times 2$  پس از ۱۹ روز نگهداری بود (نمودارهای ۱ تا ۵). ضمناً هیچگونه لیستریایی از نمونه‌های پنیر تلقیح شده جدا نگردید و شمارش کل باکتری در پنیر تلقیح نشده (Aerobic total plate count) به طور تقریبی برابر با  $10^4$  باکتری در هر گرم پنیر بود.

بحث:

نتایج آزمایش روی پنیر نرم مورد آزمایش که

نوع تجارتنی آن (Queso fresco) عامل اپیدمی لیستریوزیس سال ۱۹۸۵ در کالیفرنیا شناخته شده بود نشان داد که لیستریا مونوسایتوجنز می‌تواند در تمام درجات حرارت مورد آزمایش از جمله ۴ درجه سانتیگراد به خوبی رشد کند و تنها اختلاف مهم فراهم بودن زمان طولانی‌تر در درجات حرارت پایین‌تر برای رشد کامل باکتری می‌باشد و در بین دو سروتیپ مورد استفاده رشد سروتیپ Scott A(4b) سریع‌تر بود. این زنگ خطری است برای این نوع پنیر و پنیرهای مشابه که بدون استفاده از مایه لاکتیک و بدون رسیدن و با خصوصیات pH و رطوبت بالا و نمک کم به بازار عرضه می‌شوند. لازم به ذکر است که مشابه چنین پنیری آن هم بدون رعایت استانداردهای بهداشتی به صورت پنیر نرم تازه در نقاط مختلف کشور تهیه و به مصرف می‌رسد.

بنابراین برای کنترل رشد لیستریا در چنین پنیرهایی با توجه به اینکه لیستریا یک اورگانیزم در همه جا حاضر است و امکان آلودگی ضمن و پس از تهیه محصول فوق‌العاده زیاد است لذا استفاده از مهارکننده‌های رشد میکروب در مقیاس تولیدات صنعتی این نوع پنیرها ضروری به نظر می‌رسد. جهت نیل به این هدف مطالعات دیگری روی این نوع پنیر انجام گرفت که طی آن مواد ضد میکروبی مختلف مورد آزمایش قرار گرفته و نتایج آن به صورت مدل‌های ریاضی قادر به پیش‌بینی رشد اورگانیزم، تنظیم و جهت انتشار فرستاده شده است (۱۷). در مطالعه‌ای که توسط محققین دیگر روی همین پنیر در مورد رفتار E. Coli O157:H7 صورت گرفته است بیانگر رشد

Whipping cream اتوکلاو شده گزارش کردند که زمان دو برابر شدن باکتری (G) روی هم رفته ۴۱ دقیقه در ۳۵ درجه، یک ساعت و ۴۵ دقیقه تا ۱ ساعت و ۵۵ دقیقه در ۳۱ درجه، ۴ ساعت و ۲۷ دقیقه تا ۶ ساعت و ۵۵ دقیقه در ۱۳ درجه، ۸ ساعت و ۴۰ دقیقه تا ۱۴ ساعت در ۸ درجه و ۲۹ ساعت و ۴۴ دقیقه تا ۴۵ ساعت و ۳۳ دقیقه در ۴ درجه سانتیگراد بوده است. در تمام موارد حداکثر جمعیت باکتری حداقل  $10^7$  باکتری در میلی‌لیتر با تلقیح اولیه  $10^3$  باکتری در میلی‌لیتر نمونه‌های مورد آزمایش گزارش گردید (۱۹). این نتایج در مقایسه با نتایج به دست آمده در پنیر نرم مورد آزمایش در این بررسی بسیار نزدیک به هم بوده و لذا از نظر خطر رشد لیستریا مونوسایتوجنز پنیر نرم مورد آزمایش را می‌توان مشابه محصولات شیر مایع محسوب نمود و با توجه به اینکه نگهداری سرد نیز قادر به تضمین سلامت فرآورده نیست لذا باید امکان آلودگی این نوع محصولات لبنی را با لیستریا مونوسایتوجنز از بین برده و در غیر این صورت از مهارکننده‌های ضد میکروبی مناسب استفاده نمود تا از رشد اورگانیزم در طول مدت نگهداری محصول جلوگیری شود.

سریعتر لیستریا مونوسایتوجنز می‌باشد. گرچه E. Coli خود یک اورگانیزم تند رشد در مواد غذایی می‌باشد. این محققین در مورد کنترل رشد E. Coli پنیر مورد آزمایش نیز استفاده از مواد ضد میکروبی را پیشنهاد و روش کنترل آن را به صورت مدل ریاضی مشخص کرده‌اند (۱۳). گزارش‌های موجود در مورد رفتار لیستریا مونوسایتوجنز در پنیرهای سخت رسیده که با استفاده از مایه لاکتیک تهیه شده است بیانگر بقای این اورگانیزم به مدت طولانی در پنیر می‌باشد. مثلاً در مورد پنیر فتا (Feta cheese) لیستریا مونوسایتوجنز سروتیپ Scott A با تلقیح  $5 \times 10^3$  باکتری در هر گرم پنیر نگهداری شده در ۴ درجه در داخل آب نمک حتی با pH زیر ۴/۵ توانست بیش از ۹۰ روز زنده بماند گرچه قادر به رشد نبود (۱۵). همچنین در پنیر چدار (Cheddar cheese) دو سروتیپ V7 و Scott A تلقیح شده به تعداد  $5 \times 10^2$  باکتری در گرم توانست بیش از یکسال در طول رسیدن پنیر در حرارت ۶-۱۳ درجه زنده بماند (۲۰).  
Marth, Rosenow ۱۹۸۷ در آزمایش دو سروتیپ Scott A و V7 از لیستریا مونوسایتوجنز در شیر بدون چربی، شیر کامل، شیر شکلاتی و



- 19 - Rosenow, E.M. and Marth, E.H. Growth of *L. monocytogenes* in skim whole and chocolate milk and in whipping cream during incubation at 4, 8, 13, 21 and 35°C J. Food Prot. 50: 452-459, (1987).
- 20 - Ryser, E.T. and Marth, E.H. behavior of *L. monocytogenes* during the manufacture and ripening of cheddar cheese. J. Food Prot. 50: 7-13, (1987).
- 21 - Ryser, E.T., Marth, E.H. and Doyle, M.P. Survival of *L. monocytogenes* during manufacture and storage of cottage cheese. J. Food Prot. 48: 476-485, (1985).
- 22 - Ryser, E.T. and Marth, E.H. Behaviour of *L. monocytogenes* during manufacture and ripening of brick cheese. J. Dairy Sci. 72: 838-852, (1989).
- 23 - Yousef, A.E. and Marth, E.H. Behaviour of *L. monocytogenes* during th manufacture and storage of colby cheese. J. Food Prot. 51: 12-15, (1988).
- 24 - Yousef, A.E. and Marth, E.H. Fate of *L. monocytogenes* during the manufacture and ripening of parmesan chees. J. Dairy Sci. 73: 3351-3356, (1990).

## References :

- 1 - Anonymous. French firm agrees to stop shipment of Brie cheese. Food chem. News 27: 12-14, (1986).
- 2 - Anonymous. Listeriosis warning from Switzerland. Newsletter No. 14 Institute of veterinary medicine-robert von ostertag institute, Berlin, (1987).
- 3 - Azadian, B.S., Finnerty, G.T. and Pearson, A.D. Cheese borne *Listeria* meningitis in immunocompetent patient. Lancet: 322-323, (1989).
- 4 - Bannister, B. *Listeria monocytogenes* meningitis associated with eating soft cheese. J. Infection 15: 165-168, (1987).
- 5 - Charlton, B.R., Kinde, H. and Jensen, L.H. Environmental survey for *Listeria* species in California plants. J. food prot. 53: 198-201, (1990).
- 6 - Farber, J.M., Carter, A.O., Varughese, P.V., Ashton, F.E. and Ewan, E.P. Listeriosis traced to the consumption of salafalfo tablets and soft cheese. N. England J. Med. 322: 338, (1990).
- 7 - Fleming, D.W., Cochi, S.L., MacDonald, K.L., Brondum, L., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.B. Audurier, A., Broome, C.V. and Reingold, A.L. Pasteurized milk as vehicle of infection in an outbreak of Listeriosis. New Eng. J. Med: 312: 404-407, (1985).
- 8 - Food and Agricultural Organization. The technology of traditional milk products in developing countries. Animal production and health paper (8). FAO, Rome, Italy, (1990).
- 9 - Gellin, B.G. and Broome, C.V. Listeriosis. J. Am. Med. Assoc. 261; 1313-1320, (1989).
- 10 - Goff, H.D. and Slade, P.J. Transmission of a *Listeria spp.* through a cold-air wind tunnel. Dairy, food envir. Sanit. 10: 340-343, (1990).
- 11 - Ingraham, J.L., Maaloe, O. and Neidhardt, F.R. Growth of the Bacterial cell. Sinauer association, Inc. USA. PP: 227-235, (1983).
- 12 - Kasrazadeh, M. and Genigeorgis, C. Potential growth and control of E. coli 0157: H7 in soft hispanic type cheese. Int. J. Food microbiol. 25: 289-300, (1995).
- 13 - Linnan, M.L., Mascola, L., Lou, X.D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W., Yonekura, M.L., Hayes, P., Weaver, R., Audurier, A., Plikaytin, B.D., Fannin, S.L., Kleks, A. and Broome, C.V. Epidemic listeriosis associated with Mexican style cheese. N Engl. J. Med. 319: 823-828, (1988).
- 14 - Lovett, J. Isolation and enumeration of *L. monocytogenes*. Food technol. 42: 172-175, (1988).
- 15 - Papageorgiou, D.K. and Marth, E.H. Fate of *L. monocytogenes* during the manufacture, ripening and storage of feta cheese. J. Food prot. 52: 82-87, (1989a).
- 16 - Papageorgiou, D.K. and Marth, E.H. Fate of *L. monocytogenes* during the manufacture, ripening and storage of blue cheese. J. Food Prot. 52: 459-465, (1989b).
- 17 - Razavilar, V. and Genigeorgis, C. Predicting the safe storage of soft hispanic type cheese in the presence of selected anti-microbials with respect to *L. monocytogenes* growth by modeling growth rate and lag time. Int. J. Food Microbiol. (Submitted for publication), (1996).
- 18 - Razavilar, V. and Genigeorgis, C. Interactive effect of temperature atmosphere and storage time on the probability of colony formation on blood agar by four *Listeria* species. J. Food Prot. 55: 88-92 (1992).

## **Behavior of *Listeria monocytogenes* in a soft fresh type cheese without lactic starter affected by serotype, temperature and storage time**

**Razavilar, V.\***

### **Summary :**

The behavior of *L. monocytogenes* on fully processed fresh soft (hispanic type) cheese made in laboratory from pasteurized milk was examined. Two strains of *L. monocytogenes* (Scott A, V7 serotypes 4b and 1a, respectively) inoculated individually in cheese curd to contain  $2 \times 10^4$ /g of samples. The inoculated cheeses incubated at 30, 20, 12, 8 and 4°C up to 60 days. The chemical analysis revealed 1% salt, 1.8% brine, 53% moisture, 18.7% fat and final pH of 6.6 in cheese samples. Generation time (G) and maximum population levels for both strains were calculated for all storage conditions. The amount of G for strains scott A and V7 at 30, 20, 12, 8 and 4°C were (0.81 and 0.89), (1.78 and 1.93), (6.3 and 7.7), (8.49 and 8.23) and (21 and 18.9) hours, respectively. Maximum population levels per gram of samples for strain scott A at 30, 20, 12, 8 and 4°C were  $>1.6 \times 10^8$  after 16 hours,  $>1.3 \times 10^8$  after 73 hours,  $>1.7 \times 10^7$  after 87 hours,  $>2.5 \times 10^7$  after 6 days and  $>2 \times 10^7$  after 19 days of storage respectively, whereas for strain V7 the maximum population levels at similar times of storage were  $>6.3 \times 10^7$ ,  $>6.8 \times 10^7$ ,  $>1.3 \times 10^7$ ,  $1.4 \times 10^7$  and  $2 \times 10^7$  per gram of cheese samples respectively. The result showed excellent growth of the organism at all storage conditions and since the possibility of *Listeria* contamination during and after cheese processing is high, therefore, the use of proper antimicrobials in this kind of cheeses seems to be necessary to inhibit the growth of the organism during storage time.

**Key words :Soft cheese, Listeria growth, Behavior**

---

\* - Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.