

اثر نایسین بر روی استافیلوکوکوس ارئوس در سوپ جو تجارتي

میرحسین موسوی^{۱*}، افشین آخوندزاده بستی^۲، علی میثاقی^۲، گیتی کریم^۲، تقی زهرایی صالحی^۲، احسان مصطفوی^۲

^۱ دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران ^۲ دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۸/۵/۸۷، تاریخ پذیرش: ۱۵/۲/۸۸

Effect of Nisin on the Growth of Staphylococcus aureus in Commercial Barley Soup

Moosavy M.H.^{*1}, Basti A.A.², Misaghi A.², Karim G.², Zahraei Salehi T.², Mostafavi E.²

¹Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran. ²Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran,

Tehran, Iran

Received: 29 Jul. 2008, Accepted: 5 May, 2009

Objectives: Because of the side effects of chemical preservatives and attention of food producers to natural preservatives, evaluation of antimicrobial effects of them in the laboratory and food models seems to be necessary. In this study, effect of nisin as a bacterocin were studied on the growth and survival of Staphylococcus aureus in a commercial barley soup. **Methods:** Samples were prepared with 0.0, 0.25 and 0.5 µg/ml of nisin. The samples were inoculated with bacteria to a final concentration of 3 log CFU/ML and stored at 8 and 25°C for 21 days. Bacteria was counted at 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 15, 18 and 21 days. **Results:** Results showed that the effect of different concentrations of nisin was statistically significant ($P < 0.001$). The effect of storage temperature on the growth of bacterium was also statistically significant ($P < 0.001$). It means that by increasing the storage temperature (from 8 to 25°C) growth rate of the microorganism increased. **Conclusion:** Nisin utilization along by proper storage temperature can control the growth of Staphylococcus aureus.

Keywords: Staphylococcus aureus, Nisin, Natural preservative, Barley soup.

زمینه و هدف: با توجه به اثرات جانبی نگهدارنده های شیمیایی و توجه تولیدکنندگان مواد غذایی به نگهدارنده های طبیعی، ارزیابی اثرات ضد میکروبی نگهدارنده های طبیعی در مدل های آزمایشگاهی و غذایی به نظر می رسد ضروری باشد. در این بررسی اثر نایسین بعنوان یک باکتريوسین بر رشد و بقا استافیلوکوکوس ارئوس در سوپ جو تجارتي مورد مطالعه قرار گرفت. **روش ها:** نایسین به میزان صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر به نمونه های سوپ جو اضافه شد. باکتری استافیلوکوکوس ارئوس به تعداد ۱۰^۳ CFU/ml به نمونه های آزمایش اضافه شده و در دماهای ۸ و ۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. تعداد باکتریها در روزهای صفر، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ شمارش گردید. **یافته ها:** بر اساس یافته های این تحقیق مقادیر مختلف نایسین بر روی رشد باکتری مورد مطالعه تاثیر معنی داری داشت ($P < 0/001$). همچنین درجه حرارت نگهداری روی رشد باکتری بطور معنی داری موثر بود ($P < 0/001$). بدین معنی که با افزایش دمای نگهداری میزان رشد باکتری افزایش یافت. **نتیجه گیری:** مصرف نایسین به همراه درجه حرارت مناسب نگهداری می تواند رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس را کنترل نماید.

واژه های کلیدی: استافیلوکوکوس ارئوس، نایسین، نگهدارنده طبیعی، سوپ جو.

*Corresponding Author: Mir-Hassan Moosavy, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran. Tel: +98-411-3392377; Fax: +98-411-3357834; E-mail: moosavy@tabrizu.ac.ir

*نویسنده مسئول: میرحسین موسوی، استادیار، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۹۲۳۷۷-۰۴۱۱-نمابر: ۰۴۱۱-۳۳۵۷۸۳۴

۱- مقدمه

استافیلوکوکوس ارئوس یک باکتری گرم مثبت، کاتالاز مثبت (۲،۱) و بصورت سلولهای کروی بوده که معمولاً خوشه های نامنظمی شبیه به انگور تشکیل می دهد. این باکتری به راحتی روی انواع محیط های کشت رشد کرده و کربوهیدراتها را تخمیر می کند. استافیلوکوکوس ارئوس مواد خارج سلولی تولید میکند که شامل کاتالاز، کوآگولاز، هیالورونیاز، استافیلوکیناز، لکوسیدین، اگزوتوکسین ها و انتروتوکسین ها می باشند (۳). انتروتوکسین ها عامل بروز علائم مسمومیت غذایی استافیلوکوکی است (۴). این باکتری عامل بیماریزای اصلی انسان است تقریباً همه انسانها در طول زندگی خود نوعی عفونت استافیلوکوک اورئوس را تجربه می کنند که شدت آن از یک مسمومیت غذایی یا عفونت پوستی خفیف تا عفونتهای تهدید کننده زندگی متغیر است. مسمومیت غذایی استافیلوکوکی از مهمترین مسمومیت های غذایی به شمار می آید طوریکه در بسیاری از کشورها این باکتری بعنوان دومین یا سومین عامل بروز مسمومیت های غذایی بعد از سالمونلا و کلستریدیوم پرفرینجنس شناخته شده است. در اسپانیا طی سالهای ۱۹۹۳ الی ۱۹۹۸ سومین عامل بیماری ناشی از مواد غذایی تعیین شده است (۵). همینطور از مجموع حدود ۲۴ میلیون مورد مسمومیت غذایی گزارش شده در کشور آمریکا ۸/۹ میلیون مورد آن مربوط به استافیلوکوکوس ارئوس بوده که بیش از یک سوم موارد کل مسمومیت های غذایی در این کشور است (۲،۶).

علی رغم آنکه استافیلوکوکوس ارئوس توانایی رشد در شرایط بی هوازی را دارد ولی بهترین رشد آن در شرایط هوازی صورت می پذیرد. دمای مطلوب رشد این باکتری ۳۵ درجه سانتیگراد است هر چند که رشد این باکتری در محدوده حرارتی ۱۰ تا ۴۵ درجه سانتی گراد انجام می گیرد. pH مناسب برای رشد این باکتری بین ۴/۵ الی ۹/۳ میباشد که در آزمایشگاه pH مطلوب و مناسب ۷ تا ۷/۵ است (۷).

هدف از نگهداری مواد غذایی، ممانعت از بروز فساد توسط عوامل خارجی و یا داخلی و یا به تعویق انداختن آن می باشد که در نتیجه آن مواد غذایی بتوانند برای مدت معینی قابل مصرف باقی بمانند. با توجه به افزایش آگاهی مصرف کنندگان

در مورد عوارض استفاده از برخی روشهای ازدیاد زمان ماندگاری و تضمین سلامت غذا بویژه در خصوص استفاده از نگهدارنده ها، تقاضا برای مواد غذایی تازه تر و طبیعی تر همراه با کنترل سلامت، بالا رفته است. از طرف دیگر تولید کنندگان مواد غذایی هم با درک اثرات سوء نگهدارنده های شیمیایی و نیز توجه بیشتر متولیان بهداشتی به این موضوع، به تولید مواد غذایی بدون نگهدارنده یا با نگهدارنده هایی با منشاء طبیعی روی آوردند.

یکی از ترکیبات طبیعی، نایسین می باشد که توسط لاکتوکوکوس لاکتیس تولید می شود و در حال حاضر تنها باکتريوسین خالص شده برای استفاده در فرآورده های مورد مصرف انسان است (۹،۸) این باکتريوسین فعالیت ضد میکروبی مناسبی در مقابل باکتری های گرم مثبت دارد. WHO و FAO در سال ۱۹۶۹ نایسین را بعنوان افزودنی خوراکی مورد تایید قرار داده اند اگرچه کاربرد نایسین هنوز در حد جلوگیری از رشد کلستریدیومها در پنیر عمل آوری شده و دسرهای لبنی محدود مانده است، ولی زمینه های بالقوه ای برای استفاده از آن، هم در مواد غذایی و هم در مواد دارویی وجود دارد (۱۰،۱۱).

از آنجایی که لازم است قبل از بکارگیری هر نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی، اثرات آنها بر روی فاکتورهای رشدی میکروبهای بیماریزا و عامل فساد در محیطهای آزمایشگاهی، مواد غذایی مایع و جامد مورد بررسی قرار گیرد و مقادیر موثر آنها بر روی میکروارگانیسم های مختلف مشخص گردد. از اینرو در این تحقیق سعی شده است که اثر غلظت های مختلف نایسین بعنوان نگهدارنده طبیعی روی باکتری استافیلوکوکوس ارئوس در شرایط مختلف دمایی و مدت زمان نگهداری مورد مطالعه قرار گیرد.

۲- مواد و روشها

۲-۱: سویه باکتری

در این مطالعه از باکتری استافیلوکوکوس ارئوس ATCC 25923 استفاده شد. کشت لیوفیلیزه آن بعد از انتقال به محیط آبگوشت قلب و مغز (BHI، مرک-آلمان) در ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ ساعت دو مرتبه به طور متوالی کشت داده شد. سپس کشت ۱۸ ساعته دوم به نسبت پنج به یک با گلیسرول استریل مخلوط و در حجم های ۱۰۰

نگهداری می شد به محیط آبگوشت قلب و مغز منتقل و در ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸ ساعت نگهداری شد. گرمخانه گذاری با شرایط فوق مجدداً از کشت ۱۸ ساعته اول به عمل آمد. سپس با استفاده از مشخصات جذب نوری لوله کووت که مشخص کننده حدود 10^5 باکتری در هر میلی لیتر بود و انجام محاسبات ریاضی مقدار معینی از محتویات لوله کووت را برداشت نموده و به سوبسترا تلقیح می شد تا 10^3 باکتری در هر میلی لیتر سوبسترا به دست آید.

۲-۶: ارزیابی رشد باکتری

حالت‌های مختلف مورد مطالعه در دو درجه حرارت ۸ و ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند و در طی این مدت ۱۲ بار در روزهای ۰، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ از تمام حالت‌ها در شرایط استریل نمونه برداری انجام گرفت (۱۴) و با استفاده از لوله های رقت حاوی ۹ میلی لیتر آب پیتونه (یک در هزار) استریل سریالهای رقت ۱۰ تایی تهیه گردید و در محیط آگار قلب و مغز به روش سطحی (Surface plate) کشت داده شد. شمارش باکتریایی پس از گرمخانه گذاری پلیت‌ها در ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام می گرفت و نتایج در فرم‌های مربوط ثبت می شد.

۲-۷: تجزیه و تحلیل آماری

داده های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری (SPSS 15.0 for Windows, SPSS) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بدین ترتیب جهت بررسی اثر متغیرهای مستقل (مقادیر مختلف نایسین، درجه حرارت و مدت زمان نگهداری) بر روی متغیر وابسته (لگاریتم تعداد باکتری) از آزمون آنالیز واریانس و برای بررسی اثر متقابل متغیرهای مذکور از آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد.

۳- نتایج

بر اساس نتایج بدست آمده بطور کلی مقادیر مختلف نایسین بر رشد استافیلوکوکوس ارئوس تاثیر معنی داری داشت ($P < 0/001$). بین غلظت‌های صفر با ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر تفاوت معنی داری مشاهده شد ($P < 0/001$) اما بین غلظت‌های ۰/۲۵ با ۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ($P = 0/678$). ضریب همبستگی

میکرولیتر داخل میکروتیوب‌های اپندورف استریل در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید تا در طول تحقیق مورد استفاده قرار گیرد.

۲-۲: نایسین

نایسین از شرکت سیگما (Sigma-Aldrich Inc. United Kingdom, EC 215-807-5) خریداری شد که بصورت پودر و حاوی ۲/۵ درصد نایسین فعال بود. جهت تهیه محلول نایسین، ابتدا پودر نایسین در اسید کلریدریک ۲ درصد حل گردید و پس از سانتریفوژ کردن با دور ۷ هزار بمدت ده دقیقه، برای سترون کردن از فیلتر $0/45\mu\text{m}$ عبور داده شد.

۲-۳: تعیین میزان تلقیح باکتری

برای تعیین میزان تلقیح باکتریهای مورد مطالعه، کشت منجمد داخل میکروتیوب اپندورف را به محیط آبگوشت قلب و مغز منتقل نموده و دو مرتبه بطور متوالی در ۳۵ درجه سانتیگراد بمدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شد. از کشت ۱۸ ساعته دوم، مقادیر مختلفی به لوله های کووت (Cuvett) حاوی ۵ میلی لیتر محیط آبگوشت قلب و مغز استریل اضافه شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Roy Company, USA) جذب نوری آنها در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین گردید. همزمان با عمل فوق با نمونه برداری از محتویات لوله های کووت شمارش باکتریایی انجام گرفت و در نهایت لوله کووت که تقریباً حاوی 10^5 باکتری در هر میلی لیتر بود مشخص شد. در طول انجام مطالعه با استفاده از مشخصات جذب نوری لوله کووت مذکور انجام محاسبات ریاضی، دوز تلقیح در هر بار تلقیح به سوبسترا تعیین می گردید (۱۲، ۱۳).

۲-۴: تهیه مدل سوبسترا

هر بسته سوپ جو تجارتنی در یک لیتر آب مقطر حل گردید و اجازه داده شد به مدت بیست دقیقه در حرارت لازم بجوشد. سپس سوپ بدست آمده در ظروف شیشه ای در پیچ دار حاوی مگنت (در هر یک به میزان ۴۰ میلی لیتر) پخش گردید و در اتوکلاو (۱۲۱ درجه سانتی گراد بمدت ۱۵ دقیقه) سترون شدند. پس از سترون و خنک شدن شیشه های حاوی سوپ، غلظت های مورد نظر نایسین به آن‌ها اضافه گردید.

۲-۵: تلقیح باکتری به سوبسترا

جهت تلقیح باکتری به سوبسترا ابتدا باکتری که در میکروتیوب اپندورف در ۲۰- درجه سانتیگراد

نگهداری با لگاریتم تعداد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس ۰/۱۱۷- بود. اختلاف رشد بین روزهای صفر و سایر روزها معنی دار بوده است ($P < 0/001$). اما بین سایر روزها اختلاف آماری معنی داری از نظر میزان رشد باکتری دیده نشد. اثرات تداخلی متغیرهای مورد مطالعه بر یکدیگر (بصورت دو تایی) روی لگاریتم تعداد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس معنی دار بود ($P < 0/001$). همچنین اثرات تداخلی متغیرهای مورد مطالعه بر یکدیگر (بصورت سه تایی) روی لگاریتم تعداد باکتری به غیر از یک حالت (درجه حرارت نگهداری × غلظت نایسین × مدت زمان نگهداری) ($P = 0/658$) معنی دار بود ($P < 0/001$).

غلظت نایسین با لگاریتم تعداد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس ۰/۱۶۷- بود این ضریب منفی بدین معنی است که با افزایش غلظت نایسین، لگاریتم تعداد باکتری کاهش می یابد (جدول ۱). در تحقیق حاضر نمونه های مورد بررسی در مدت ۲۱ روز نگهداری در روزهای صفر، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ با سه بار تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. مدت زمان نگهداری بر لگاریتم تعداد استافیلوکوکوس ارئوس تاثیر آماری معنی داری داشت ($P < 0/001$). بیشترین رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس در ۸ درجه سانتی گراد روز سوم و کمترین رشد هم از روز پانزدهم تا بیست و یکم مشاهده شد. ضریب همبستگی مدت زمان

جدول ۱. لگاریتم (Log_{10}) تعداد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس در سوپ جو متأثر از غلظت های مختلف نایسین در طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ۸ درجه سانتیگراد

غلظت نایسین (mg/ml)		لگاریتم تعداد باکتری در روزهای مختلف
۰/۵	۰/۲۵	
۳	۳	۰
۰	۲	۳/۶۶
۰	۰	۳/۵۱
۰	۰	۳/۳۸
۰	۰	۳/۳۷
۰	۰	۳/۳۶
۰	۰	۳/۲۷
۰	۰	۳
۰	۰	۲/۸۴
۰	۰	۱۵
۰	۰	۱۸
۰	۰	۲۱

جدول ۲. لگاریتم (Log_{10}) تعداد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس در سوپ جو متأثر از غلظت های مختلف نایسین در طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد

غلظت نایسین (mg/ml)			
۰	۰/۲۵	۰/۵	لگاریتم تعداد باکتری در روزهای مختلف
۳	۳	۳	۰
۷/۰۲	۳	۲/۶۰	۱
۸/۲۸	۵/۷۰	۵/۴۳	۲
۸/۲۸	۷/۷۵	۷/۶۵	۳
۸/۲۸	۸/۱۴	۸/۰۲	۴
۸/۲۸	۸/۱۴	۸/۰۲	۵
۸/۲۸	۸/۱۴	۸/۰۲	۶
۸/۲۸	۸/۱۴	۸/۰۲	۹
۸/۲۸	۸/۱۴	۸/۰۲	۱۲
۸/۲۸	۸/۱۴	۸/۰۲	۱۵
۸/۲۸	۸/۱۴	۸/۰۲	۱۸
۸/۲۸	۸/۱۴	۸/۰۲	۲۱

۴- بحث

تاکنون مطالعات وسیعی در زمینه اثر ضد باکتریایی باکتریوسینها انجام شده است (۲۰-۱۵). نشان داده شده است استفاده از ۲/۵-۵ mg/kg نایسین در محصولات تخم مرغ (تخم مرغ کامل، سفیده و زرده) از رشد دو باکتری گرم مثبت باسیلوس سرئوس و لیستریا منوسیتوژنز جلوگیری می کند (۲۱).

Smid و Pol نیز در سال ۱۹۹۹ تاثیر باز دارندگی نایسین را بر روی باسیلوس سرئوس و لیستریا منوسیتوژنز مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که اثر باز دارندگی نایسین بر روی باسیلوس سرئوس بیشتر از لیستریا منوسیتوژنز می باشد و این اثر ممانعت کنندگی در ۸ درجه بیشتر از ۲۰ درجه سانتی گراد است (۱۸).

بر اساس یافته های مطالعه حاضر مقادیر مختلف نایسین بر روی رشد استافیلوکوکوس ارئوس در ۸ درجه سانتی گراد معنی دار ($P < 0.05$) و در ۲۵ درجه سانتی گراد بی معنی بود.

Banerjee در سال ۲۰۰۳ اثر Nisaplin را بر روی باسیلوس سرئوس، کلستریدیوم پرفرینجنس و استافیلوکوکوس ارئوس مورد مطالعه قرار داد و نشان داد که ۶۰-۷۰ درصد سویه های باسیلوس سرئوس و کلستریدیوم پرفرینجنس در مقابل

۵۰۰۰ IU/ML مقاومت نشان می دهند و MIC استافیلوکوکوس ارئوس در شرایط یکسان ۵۰۰۰-۳۰۰۰ IU/ML می باشد (۱۵). در مطالعه دیگر Bhatti و همکاران در سال ۲۰۰۴ اثر نایسین را بر روی لیستریا منوسیتوژنز در شیر بررسی نمودند و نشان دادند که نایسین بر روی باکتری فوق در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد موثر است (۱۶).

بر اساس نتایج مطالعه حاضر اثر بازدارندگی نایسین با کاهش دما افزایش می یافت که با یافته های میثاقی و آخوندزاده همخوانی دارد (۲۲).

در تحقیقی دیگر Gary در سال ۲۰۰۲ نشان داد MIC نایسین در محیط TSB برای باسیلوس سرئوس (ATCC 11778) برابر $\mu\text{g/ml}$ ۵۰۰ می باشد و همچنین نشان داد که نایسین بر روی باکتری های گرم منفی اثری ندارد (۱۷).

Pranoto در سال ۲۰۰۴، اثر ضد باکتریایی نایسین را بر روی باسیلوس سرئوس و باسیلوس سیرکولانس در بسته های وکیوم شده پوره سیب زمینی مورد مطالعه قرار داد و نشان داد که نایسین اثر ضد باکتریایی قوی بر روی هر دو سویه دارد. این محقق MIC نایسین را برای باسیلوس سرئوس (TZ 415) $\mu\text{g/ml}$

۵- نتیجه گیری

غلظت نایسین با دمای انکوباسیون تأثیر متقابل معنی داری را بر روی رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس دارد بنابراین استفاده از غلظتهای نایسین به همراه درجه حرارت مناسب نگهداری می تواند اثر باز دارندگی مناسبی را بر روی رشد باکتری مورد بررسی ایجاد نماید.

۶- تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران به خاطر تامین اعتبار این پروژه تشکر و قدردانی به عمل می آید.

۲۵ در ۷ و ۱۰ درجه سانتیگراد بدست آورد که این مقدار با افزایش دمای انکوباسیون به ۲۲ درجه سانتی گراد به $5.0 \mu\text{g/ml}$ افزایش می یافت (۱۹).

در برخی از کشورها افزودن نایسین به شیر پاستوریزه مجاز شناخته شده و همینطور در تهیه محصولات لبنی نظیر پنیر، ماست و خامه نیز از نایسین به میزان $10-25 \text{ mg/kg}$ استفاده می نمایند. همچنین امکان افزودن نایسین در محصولات آردی، مواد غذایی کنسرو شده و فرآورده های گوشتی نیز توسط محققین بررسی شده و در برخی کشورها از آن برای افزایش زمان ماندگاری محصولات مذکور استفاده می شود (۲۱).

References:

- Normanno G., Firinu A., Virgilio S., Mula G., Dambrosio A., Poggiu A., Decastelli L., Mioni R., Scuota S., Bozoni G, Di Giannatale E., Salinetti A.P., La Salandra G., Bartoli M., Zuccon F., Pirino T., Sias S., Parisi A., Quaglia N.C., Celano G.V. Coagulase-positive Staphylococci and Staphylococcus aureus in food products marketed in Italy, International Journal of Food Microbiology. 2005, 98(1):73-79.
- Jay M.J. Modern Food Microbiology. 6th ed. An Aspen publication. USA, 2000, 441- 456.
- Levinson W., Jawetz E. Medical microbiology & immunology examination and board review, Sixth edition. McGraw-Hill, USA, 2000, 85-89.
- Ananou S., Maqueda M., Martínez-Bueno M., Gálvez A., Valdivia E. Control of Staphylococcus aureus in sausages by enterocin AS-48, Meat Science., 2005, 71: 549-556.
- Blackburn C.V., Peter J.M. (2002): Foodborne pathogens, Hazard, Risk analyses and Control. CRC press. USA, 2002, 385-390.
- Pol I.E., Smid E.J. Combined action of nisin and carvacrol on Bacillus cereus and Listeria monocytogenes, Letters in Applied Microbiology. 1999, 29: 166-170.
- Banerjee M., Sarkar P.K. Antibiotic resistance and susceptibility to some food preservative measures of spoilage and pathogenic micro-organisms from spices, Food Microbiology, 2004, 21: 335-342.
- Breukink E., de kruijff B. The Lantibiotic nisin, a special case or not? Biochemica et Biophysica Acta (BBA). 1999, 1462(1): 223- 234.
- Dykes G.A., Amarowicz A., Pegg R.B. Enhancement of nisin antibacterial activity by a bearberry leaf extract, Food Microbiology. 2003, 20: 211-216.
- Rajkovic A., Uyttendaele M., Courtes T., Debevere J. Antimicrobial effect of nisin and carvacrol and competition between Bacillus Cereus and Bacillus Circulans in vacuum -packed potato puree, Food Microbiology. 2005, 22:189-197.
- Basti A.A., Misaghi A., 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 and Technology, 2007, 40: 973-981.
- Breukink E., van Heusden H.E., Vollmerhaus P.J., swiezewska E., Brunner L., walker S., Heck A.J.R., dekruijff B. Lipid II is an intrinsic component of the pore induced by nisin in bacterial membranes, J. Biol. Chem., 2003, 278:1989-1990.
- Hui Y.H. and et al. Foodborne Disease Handbook, 2nd ed. Dekker/CRC Inc. USA, 2001, 1 & 2: 345-372 and 427-428.
- Varnam A.H., Evans M.G. Food borne pathogens. Wolf publishing Ltd, UK, 1991, 235-265.
- Bhatti M., Veeranachanani A., Shelef, L.A. Factors affecting the antilisterial effects of nisin in milk, International Journal of Food Microbiology, 2004, 97: 215-219.
- Razavilar V., Genigeorgis C. Prediction of Listeria spp. Growth as affected by various levels of chemicals, pH, temperature and storage time in model broth, Int. J. Food Microbiol., 1998, 40: 149-157.
- Thomas LV, Ingram RE, Yu S., Delvest-Broughton J. Investigation of the effectiveness of Ascopyrone P as a food preservative, Int. J. Food Microbiol., 2004, 93: 319-323.
- Sobrinho-Lo´pez A., Martí n-Belloso O. Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products, International Dairy Journal., 2008, 18: 329-343.
- McAuliffe O., Ross R.P., Hill C. Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action, FEMS Microbiol. Rev., 2001, 25: 285-308.
- Misaghi A., Basti A.A. Effects of Zataria multiflora Boiss. Essential oil and nisin on Bacillus cereus ATCC 11778, Food Control, 2007, 18: 1043-1049.
- Delves-Broughton J. Nisin as a food preservative, Food Australia, 2005, 12: 525- 528.
- Bennett R.W., Lancette G.A. Bacteriological analytical manual, 8th edition, FDA, USA, 2001, 110-115.