

Biuletyn

Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej nr 502/2019

Ekologia bakterii *Listeria spp.* i *Listeria monocytogenes*

Znaczenie w produkcji mleczarskiej

Uwaga krajowa:

tłumaczenie na język polski zostało sfinansowane ze środków FUNDUSZU PROMOCJI MLEKA

Biuletyn Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej 502/2019

© 2019, Międzynarodowa Federacja Mleczarska

OGÓLNE WARUNKI I ZASADY KORZYSTANIA Z NINIEJSZEJ PUBLIKACJI ELEKTRONICZNEJ

WSTĘP

Korzystanie z materiału zawartego w niniejszej publikacji podlega Warunkom zawartym w niniejszym dokumencie. Warunki te mają wyjaśnić użytkownikom niniejszego materiału co mogą i czego nie mogą robić z zawartością niniejszego dokumentu. Naszym celem jest, aby Warunki te były jednoznaczne i jasne dla wszystkich użytkowników ale jeśli zaistnieje potrzeba dalszych wyjaśnień, prosimy o wystanie e-maila zawierającego pytania lub wątpliwości na adres info@fil-idf.org.

DOZWOLONE STOSOWANIE

Użytkownik może dokonywać nieograniczonego wykorzystywania Zawartości dokumentu, włącznie z przeglądaniem, pokazywaniem, dokonywaniem przeglądu na ekranie oraz drukowaniem dla celów badawczych, dydaktycznych lub studiów prywatnych, ale nie dla celów komercyjnych.

PRAWO AUTORSKIE – COPYRIGHT

Układ strony, wygląd, obrazy, programy, treść i inne informacje (zwane zbiorczo Zawartością) stanowią własność Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej i są chronione prawem autorskim oraz innymi prawami dotyczącymi własności intelektualnej. Użytkownicy nie mogą powielać, przedstawiać, rozpowszechniać, modyfikować, publikować, przetwarzać, przechowywać, transmitować, tworzyć prace pochodne ani sprzedawać lub udzielać licencji całości lub jakiegokolwiek części Zawartości niniejszej publikacji. Zastrzeżenia „copyright” nie mogą być modyfikowane lub usuwane z Zawartości uzyskanej w ramach niniejszego zezwolenia. Wszelkie pytania na temat czy jakieś szczególne stosowanie jest autoryzowane oraz wszelkie prośby o zezwolenie na publikację, reprodukcję, rozsyłanie, wyświetlanie lub tworzenie prac pochodnych na podstawie Zawartości należy kierować na adres info@fil-idf.org

DOSTĘPNOŚĆ

Mimo, że publikacje Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej są opracowywane w sposób mający na uwadze maksymalne ułatwienie dla użytkownika, Międzynarodowa Federacja Mleczarska nie może zagwarantować, że jej publikacje będą współdziałać w każdym i zgodnie z każdym poszczególnym systemem komputerowym.

ODPOWIEDZIALNOŚĆ

Chociaż Międzynarodowa Federacja Mleczarska podejmuje uzasadnione starania, aby informacje, dane i inne materiały dostępne w niniejszej publikacji były wolne od błędów i były aktualne, nie ponosi odpowiedzialności za zniekształcenie informacji, danych i innych materiałów, włącznie ale nie ograniczone do jakichkolwiek wad, spowodowanych przy transmisji lub przetwarzaniu informacji, danych lub innych materiałów. Informacje udostępnione w niniejszej publikacji zostały uzyskane ze źródeł lub są oparte na źródłach uznanych przez Międzynarodową Federację Mleczarską za wiarygodne, ale nie gwarantują dokładności lub kompletności. Informacje są dostarczane nieobowiązkowo i w rozumieniu, że każda osoba, która działa w oparciu o nie, lub też zmienia swoje stanowisko w zależności od nich, czyni to na własne ryzyko.

Wszelkie komentarze lub zapytania proszę kierować na adres:

International Dairy Federation (I.N.P.A.)

Boulevard Auguste Reyers 70/B

1030 Brussels

Belgium

Tel. + 32 2 325 67 40

Fax: + 32 2 325 67 41

E-mail: info@fil-idf.org

Web: www.fil-idf.org



Ekologia bakterii rodzaju *Listeria* spp. i *Listeria monocytogenes*

Znaczenie obecności w produkcji mleczarskiej

François Bourdichon^{1, 2}, Denise Lindsay³, Aurélie Dubois⁴, Kieran Jordan⁵

- 1 Food Safety, Microbiology, Hygiene, 74 Boulevard Blossac, 86100 Châtellerault, France.
- 2 Facoltà di Scienze agrarie, alimentari e ambientali, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza-Cremona, Italy
- 3 Fonterra Research and Development Centre, Private Bag 11029, Palmerston North, 4442, New Zealand
- 4 International Dairy Federation, 70 Boulevard Auguste Reyers, 1030 Brussels, Belgium.
- 5 Teagasc Food Research Centre, Moorepark, Fermoy, Cork Ireland

Ekologia bakterii rodzaju *Listeria spp.* i *Listeria monocytogenes* Znaczenie obecności w produkcji mleczarskiej

François Bourdichon, Denise Lindsay, Aurélie Dubois, Kieran Jordan

ABSTRAKT

Listeria monocytogenes jest w najwyższym stopniu bakterią wszechstronnie wiążącą się z pojawianiem się epidemii chorób przenoszonych drogą pokarmową (zatruciu pokarmowych) i jest związana z szerokim zakresem różnorodnych produktów spożywczych. Ostatnie zatrucia mięsem delikatesowym w Południowej Afryce, mrożonkami warzywnymi w Europie i lodami w USA wiążą zanieczyszczenia gotowego produktu ze środowiskiem przetwórstwa żywności. Historycznie, w przemyśle mleczarskim, środki zwalczania omawianej bakterii poprzez obróbkę cieplną (pasteryzację) mają zasadniczy wpływ na występowanie listeriozy, ale zanieczyszczanie tą bakterią zdarza się w dalszym ciągu. Wciąż istnieje potrzeba większego zrozumienia nisz ekologicznych występujących w obrębie zakładów mleczarskich, aby zminimalizować prawdopodobieństwo wystąpienia przypadków wtórnego zanieczyszczenia po określeniu i stosowaniu krytycznych punktów kontroli. Niniejszy przegląd ma na celu zestawienie różnych istotnych działań podejmowanych w procesie produkcji żywności, które muszą być realizowane, aby zmniejszyć do minimum prawdopodobieństwo wyprodukowania niebezpiecznego dla zdrowia gotowego produktu mleczarskiego w odniesieniu do *L. monocytogenes*.

Słowa kluczowe: *Listeria monocytogenes*, listerioza, przetwórstwo mleka, bezpieczeństwo żywności, monitorowanie środowiska przetwórstwa, środki zwalczania

44 strony – tylko w jęz. angielskim

Biuletyn IDF 502/2019 – bezpłatny – Data: 2019 r

Biuletyn Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej 502/2019

Cena: bezpłatny

ISSN 0250-5118

Ekologia bakterii rodzaju *Listeria spp.* i *Listeria monocytogenes*

Znaczenie w produkcji mleczarskiej

SPIS TREŚCI

Przedmowa	1
1. Wstęp	3
2. Wzrost obecności bakterii chorobotwórczej przenoszonej drogą pokarmową: <i>Listeria monocytogenes</i> w łańcuchu przetwórstwa mleka.....	5
3. Charakterystyka wzrostu <i>Listeria monocytogenes</i>	7
4. Chorobotwórczość <i>Listerii monocytogenes</i>	9
5. Przeżywalność bakterii <i>Listeria spp.</i> i <i>L. monocytogenes</i> podczas procesu produkcji mleka i jego przetwórstwa	11
6. Potencjał wzrostu <i>Listeria spp.</i> i <i>L. monocytogenes</i> w produktach mleczarskich	13
7. Metody analityczne wykrywania, oznaczania ilościowego i identyfikacji	15
8. Środki zwalczania <i>L. monocytogenes</i> w procesie produkcji produktów mleczarskich	19
9. Wniosek	25
10. Podziękowania	25
11. Literatura	27

Cena wersji elektronicznej Biuletynu za 2019 r: 600 Euro za wszystkie wydania. Proszę złożyć zamówienie na adres:

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION/FEDERATION INTERNATIONALE DU LAIT

Boulevard Auguste Reyers, 70/B – 1030 Brussels (Belgium)

Telephone: + 32 2 325 67 40 – Telefax - + 32 2 325 67 41 – E-mail: info@fil-idf.org – <http://www.fil-idf.org>

PRZEDMOWA

Listerioza jest chorobą przenoszoną przez żywność, spowodowaną obecnością drobnoustroju chorobotwórczego *Listeria monocytogenes*. *L. monocytogenes* jest obecnie uważana za jeden z głównych organizmów chorobotwórczych przenoszonych drogą pokarmową, nie z powodu wysokiego stopnia obecności w produktach spożywczych, ale z powodu wysokiego wskaźnika zachorowalności/śmiertelności choroby, listeriozy, którą omawiana bakteria może spowodować.

Oczekuje się od producentów żywności wprowadzania dobrych praktyk produkcyjnych, procedur funkcjonowania praktyk higienicznych i programów analizy zagrożenia i określania krytycznych punktów kontroli w celu zminimalizowania zanieczyszczenia środowiska przez *L. monocytogenes* i zmniejszenia do minimum prawdopodobieństwa wystąpienia zanieczyszczenia krzyżowego w zakładach przetwórczych i w środowisku handlu detalicznego.

Bezpieczeństwo gotowego do spożycia produktu mleczarskiego nie może polegać wyłącznie na badaniu gotowego produktu. Przeciwnie, musi polegać na wprowadzeniu przemyślanych systemów zarządzania ryzykiem, które obejmują połączenie niezbędnych wymaganych programów i programów kontroli procesu oraz monitorowania środowiska procesu (**ang.** environment monitoring programmes – PEM) w celu monitorowania zanieczyszczenia środowiska produkcyjnego (włączając tu organizmy chorobotwórcze i bakterie, będące wskaźnikami stanu sanitarnego takie jak *Enterobacteriaceae* i/lub bakterie z grupy coli).

Niniejszy przegląd ma na celu przedstawienie różnych istotnych działań stosowanych w procesie produkcji żywności, które muszą być przeprowadzane, aby zminimalizować prawdopodobieństwo produkcji niebezpiecznych, gotowych do spożycia produktów mleczarskich, wynikających z obecności *L. monocytogenes*.

Praca nad niniejszym Biuletynem była prowadzona przez szefa Grupy Zadaniowej François Bourdichon (Francja) z udziałem Kieran Jordan (Irlandia) i Denise Lindsay (Nowa Zelandia) pod egidą Stałego Komitetu IDF ds. Higieny Mikrobiologicznej (SCMH).

Caroline Edmond
Dyrektor Generalny
Międzynarodowa Federacja Mleczarska
Październik 2019

1

WSTĘP

Listerioza jest chorobą przenoszoną przez żywność, spowodowaną obecnością fakultatywnego organizmu chorobotwórczego *Listeria monocytogenes*. Bakterię po raz pierwszy opisał E.G.D. Murray w 1926 roku, w przypadku zoonozy u królików laboratoryjnych; początkowo uważano, że zakażenie to dotyczy tylko zwierząt, aż do 1929 roku, kiedy to pojawiła się informacja o pierwszym przypadku listeriozy u człowieka. Około 60 lat później, *L. monocytogenes* uznano za organizm chorobotwórczy przenoszony przez żywność w przypadku wystąpienia epidemii związanej ze spożyciem surówki coleslaw (1981 r) (Schlech et al., 1983). Po wybuchu tej epidemii i dalszych następnych, *L. monocytogenes* jest obecnie uważana za jeden z głównych drobnoustrojów chorobotwórczych przenoszonych drogą pokarmową; nie z powodu wysokiego stopnia występowania w produktach spożywczych, ale z powodu wysokiego wskaźnika zachorowalności/ śmiertelności choroby – listeriozy, którą może ona spowodować (de Noorshout i wsp., 2014). Po ocenie ryzyka, dokonanej przez połączone spotkanie ekspertów FAO i WHO ds. Oceny Ryzyka Mikrobiologicznego (JEMRA) dotyczące *L. monocytogenes* (JEMRA, 2014), Komitet Kodeksu ds Higieny Spożywczej (ang. Codex Committee on Food Hygiene) opublikował wytyczne dotyczące kryteriów mikrobiologicznych dla gotowych do spożycia („ready-to-eat”) produktów spożywczych w zależności od potencjalnego wzrostu *L. monocytogenes* (Codex Alimentarius, 2007). Państwa członkowskie Kodeksu uaktualniły według tych wytycznych swoje przepisy krajowe (FSANZ, 2014; Toddi wsp., 2011). Wytyczne opublikowane przez Ministerstwo Zdrowia Kanady (Health Canada, 2011) są także dostosowane do zaproponowanego uzasadnienia podczas gdy USDA-FDA opublikowały inne podejście – „zero tolerancji” dla *L. monocytogenes* w gotowych do spożycia produktach spożywczych (FDA, 2008), aczkolwiek we wcześniejszej swojej ocenie ryzyka rozważano klasyfikację w zależności od potencjału wzrostu bakterii (FDA, 2003). Po ostatnim wybuchu epidemii przenoszonej drogą pokarmową przy niskim poziomie zanieczyszczenia w produkcie gotowym, stanowisko FDA poparło politykę „zero tolerancji” (Archer, 2018).

Listerioza jest obecnie uważana za chorobę prawie wyłącznie przenoszoną drogą pokarmową. Oczekuje się, że producenci żywności będą stosować „dobre praktyki produkcyjne, procedury funkcjonowania praktyk higienicznych i programy analizy zagrożenia i krytycznych punktów kontroli w celu zminimalizowania zanieczyszczenia środowiska przez *L. monocytogenes* i zmniejszenia do minimum prawdopodobieństwa wystąpienia zanieczyszczenia krzyżowego w zakładach przetwórczych i w środowisku handlu detalicznego” (EFSA, 2018; ILSI, 2005; JEMRA, 2004). Temat niniejszego przeglądu skupia swoją uwagę na przemyśle mleczarskim.

Ponieważ rodzaj *Listeria* spp. jest wszechobecny, bezpieczeństwo gotowego do spożycia produktu mleczarskiego nie może polegać wyłącznie na badaniu gotowego produktu. Przeciwnie, musi polegać

na wprowadzaniu przemysłanych systemów zarządzania ryzykiem, które obejmują połączenie niezbędnie wymaganych programów i programów kontroli procesu oraz monitorowania środowiska procesu (**ang.** environment monitoring programmes – PEM) w celu monitorowania zanieczyszczenia środowiska produkcyjnego (włączając tu organizmy chorobotwórcze i bakterie będące wskaźnikiem stanu sanitarnego takie jak *Enterobacteriaceae* i/lub bakterie z grupy coli). *Listeria monocuca*, uważana za genetycznego przodka rodzaju, jest lepszym „ekologicznym konkurentem” niż *L. monocytogenes* (Liu i wsp., 2009). Poszukiwania rodzaju *Listeria* spp. w szczególności w środowisku przetwórstwa mleczarskiego, omówione później, mogą w lepszy sposób potwierdzić sukces posiadania w zakładzie stref o różnym poziomie higieny oraz określenia punktów krytycznych identyfikowanych przez plan analizy ryzyka i kontroli punktów krytycznych (HACCP) w celu zminimalizowania możliwości zanieczyszczenia przez *L. monocytogenes*, wobec tego dając przedsiębiorstwom sektora mleczarskiego lepsze zapewnienie bezpieczeństwa produktów.

2

WZROST BAKTERII CHOROBOTWÓRCZEJ *LISTERIA MONOCYTOGENES* W ŁAŃCUCHU PRZETWÓRSTWA MLEKA

L. monocytogenes jest dobrze znana z powodu swej obecności w surowym mleku (Lovetti i wsp., 1987; Paul i wsp., 2015) oraz w produktach mleczarskich z mleka surowego, co spowodowało wybuch choroby przenoszonej drogą pokarmową (Beckersi i wsp., 1987; Verraes i wsp., 2015). Poza tym, rodzaj *Listeria* spp., obejmujący gatunek *L. monocytogenes* jest rodzajem dobrze znanych bakterii występujących trwale w środowisku produkcji żywności, w tym w środowisku działu pasteryzacji, stosowanej w produkcji produktów mleczarskich (Carpentier i Cerf, 2011). Dane dotyczące cytowania licznych przykładów pasteryzowanych produktów mleczarskich w ciągu ostatnich 5 lat (patrz Tabela 1 dotycząca przykładów produktów w oparciu o dostępne dane on-line) pokazują, że *Listeria* jest ciągle trwającym problemem dla producentów produktów mleczarskich. Poza tym, w latach 1985 – 2019, stwierdzono 40 potwierdzonych ważniejszych wybuchów listeriozy w związku ze spożywaniem produktów mleczarskich, które zanotowano w literaturze lub podano nowe odniesienia literaturowe (Tab.2). W większości wspomnianych przypadków (18/22 – 80%) tam gdzie zidentyfikowano źródło choroby, znaleziono *L. monocytogenes* w niszowych miejscach (obszar mało znany, niewykorzystany – przyp. tłum.) środowiska przetwórstwa mleka, a zanieczyszczenie gotowego produktu miało miejsce w wyniku zanieczyszczenia krzyżowego po etapie obróbki cieplnej (pasteryzacja).

Z licznych gatunków rodzaju *Listeria*, trzy najbardziej powszechne gatunki związane ze środowiskiem produkcji produktów mleczarskich to *L. innocua*, *L. monocytogenes* i *L. seeligeri* (Barancelli i wsp., 2014; McIntyre i wsp., 2015; Rückerl i wsp., 2014). Wyizolowane także inne gatunki to *L. ivanovii*, *L. welshimeri* oraz okazjonalnie, *L. grayi* (Alvarez-Ordóñez i wsp., 2015; Barancelli i wsp., 2014; Silva i wsp., 2003). Obecność *L. innocua* w środowisku przetwórstwa jest dobrym wskaźnikiem wskazującym, że reżim sanitarny stosowany w danym zakładzie nie jest wystarczający, aby zmniejszyć obecność *Listeria* spp. w tym miejscu i wobec tego, istnieje prawdopodobieństwo zanieczyszczenia *L. monocytogenes* (Ryser i Marth, 2007). Jest to wiarygodne, gdyż stwierdzono, że *L. innocua* i *L. monocytogenes* zachowują się w podobny sposób w produktach mleczarskich (Petran i Swanson, 1993; Ryser i Martin, 2007) jak i w środowisku produkcyjnym produktów mleczarskich (Lui i wsp., 2009). Także, przyjmuje się powszechnie, że obecność *L. monocytogenes* w zakładach produkujących produkty mleczarskie jest większa w obszarach wilgotnych w porównaniu do miejsc, które pozostają suche (Redfern i Verran, 2017; Rückerl i wsp., 2014). W niektórych przypadkach, woda stosowana w przetwórstwie sama może być siedliskiem *L. monocytogenes*. W 2002 roku, na przykład, woda stosowana w procesie przetwórczym, która została zanieczyszczona przez ptaki przenoszące *L. monocytogenes*, wywołała wybuch choroby, spowodowany spożyciem sera w Kanadzie (Tab.2). (McIntyre i wsp., 2015). Dodatkowo, *L. monocytogenes* – tam gdzie jest obecna – ma tendencję do powszechniejszego występowania na powierzchniach nie mających kontaktu z żywnością (**ang.** non-FCS non-food contact surface) w porównaniu do powierzchni stykających się z żywnością (**ang.** FCS)

(Barancelli i wsp., 2014; Muhterem-Uyar i wsp., 2015). Jednakże może to być statystyczny błąd monitorowania środowiska procesu w danym miejscu, wynikający z faktu, że monitorowanie skupia się na potencjalnych niszach, gdzie *Listeria spp.* przeżywa przez długi czas w środowisku produkcyjnym. Niektóre przykłady z przeszłości pokazują gdzie *Listeria* przetrwała w zakładach przetwórczych mleka i obejmują, ale nie ograniczają się do: zbiorników do przechowywania, pasów transmisyjnych, nalewarek do mleka i solanki (Pritchard i wsp., 1995); urządzeń do mycia kratki i skrzynek, posadzek, miejsc mycia rąk i mat do rąk (Klausner i Donnelly, 1991; Kabuki i wsp., 2004). Nowsze badania wykazują, że nisze będące siedliskiem omawianej bakterii obejmują posadzki, kratki ściekowe w posadzkach, wózki transportowe, palety i stoły (Rückerl i wsp., 2014); solanki do solenia sera, baseny solankowe, oraz powiązane urządzenia do solenia (Alessandria i wsp., 2010; Barancelli i wsp., 2014); kotły serowarskie, chusty serowarskie oraz noże do cięcia skrzepu i chłodziarki do przechowywania produktów (Kousta i wsp., 2010). (Według niektórych doniesień, w kratkach ściekowych powinny być zamontowane podwójne syfony – przyp. tłum.). Powierzchnie nie mające kontaktu z żywnością (non-FCS) działają jak rezerwuary dla zanieczyszczenia powierzchni FCS, a następnie, zanieczyszczenia gotowego produktu, jak to wyraźnie pokazano podczas ostatniego wybuchu epidemii *L. monocytogenes* w lodach Blue Bell w Stanach Zjednoczonych (Tab.2) (CDC, 2015a).

Podejścia regulacyjne stosowane dla określenia obecności *L. monocytogenes* w produktach spożywczych koncentrują się głównie na badaniu gotowych produktów, z klasyfikacją produktów na trzy główne kategorie (zdolność do sprzyjania wzrostowi, nie wykazujące wzrostu i produkty dla niemowląt/z przeznaczeniem medycznym. Różne kryteria mikrobiologiczne uwzględniają kategorię danego produktu spożywczego.

Podejścia regulacyjne odnoszące się do obecności *L. monocytogenes* w gotowych do spożycia produktach są różne w poszczególnych krajach. Wytyczne Kodeksu Żywnościowego (Codex Alimentarius) proponują, aby dla produktów gotowych do spożycia (**ang.** RTE, ready-to-use), w których nie występuje wzrost bakterii, została ustalona granica odrzucenia produktu na poziomie obecności 100 jednostek tworzących kolonie (jtk) (**ang.** CFU, colony-forming units) w gramie produktu w jednej lub więcej z 5 próbek o masie 25 g. W gotowych do spożycia produktach, w których mógłby wystąpić wzrost bakterii, wymagane jest 5 próbek produktu o masie 25 g każda. Jeśli zdolność do wzrostu nie zostanie określona, zdolność ta zostaje założona i stosuje się kryterium nieobecności (Codex Alimentarius, 2007).

Australia (FSANZ) i Nowa Zelandia (MPI) przestrzegają tych kryteriów ustalonych przez Codex (Anon, 2014). W krajach Unii Europejskiej, Rozporządzenie Komisji Europejskiej (EC) 2073/2005 ustanawia limity, które zasadniczo są zgodne z wytycznymi Codex Alimentarius, z dodatkowym wprowadzeniem kryterium (nieobecność w 10 próbkach produktu o masie 25 g) dla żywności dla niemowląt i gotowych do spożycia produktów ze specjalnym przeznaczeniem medycznym. W Kanadzie, w 2011 r. dokonano uaktualnienia „Polityki w zakresie *L. monocytogenes* w produktach gotowych do spożycia”; jest ono zgodne z podejściem europejskim (Ministerstwo Zdrowia Kanady, Health Canada, 2011).

W Stanach Zjednoczonych, Departament Rolnictwa USA (USDA) podtrzymuje politykę „zera tolerancji” dla obecności *L. monocytogenes* w gotowych do spożycia (RTE) produktach” (Archer, 2018; FDA, 2008). Dalsze szczegóły dotyczące przepisów w zakresie *L. monocytogenes* można znaleźć w specjalnym wydaniu czasopisma „Food Control” (Todd, 2011) aczkolwiek w międzyczasie mogły nastąpić pewne zmiany w tym zakresie.

3

CHARAKTERYSTYKA WZROSTU *LISTERIA MONOCYTOGENES*

L. monocytogenes toleruje surowe warunki bytu i może wobec tego przeżyć lub rosnąć w różnych rodzajach produktów spożywczych. Drobnoustrój ten może rosnąć w niskich temperaturach (0.6 do 45°C) i w szerokim zakresie pH. Może także rosnąć w stężeniu soli do 14% i toleruje niską aktywność wody (Tab.3).

L. monocytogenes ma zdolność do wzrostu w temperaturze chłodziarki (4°C) (Lake et al., 2009). Przeżywa w warunkach zamrażania (Metzger et al., 2015) i obecność jej została stwierdzona w lodach, mleku mrożonym, sorbecie i różnego rodzaju nowinkach lodziarskich (El-Kest i Marth, 1992). *L. monocytogenes* ulega szybko inaktywacji w temperaturach powyżej 70°C, a w mleku wartość D w temperaturze 72°C jest szacowana na 0.9 – 2.7 s (Sutherland i Porritt, 1997).

Optymalne pH dla wzrostu omawianej bakterii wynosi 7.0 a zakres 4.4 – 9.4 (Lake et al., 2009). Okazjonalnie, niektóre szczepy wykazują potencjał wzrostu aż przy tak niskim pH jak 4.1 (Jay, 2003). Wspomniane wartości są mierzone przy użyciu HCl jako głównego źródła ukwaszenia. W przypadku fermentowanych produktów mleczarskich, wydaje się mało prawdopodobne, aby *L. monocytogenes* rosła w warunkach pH poniżej 5.2 (Sutherland i Porritt, 1997) z powodu hamowania bakterii przez kwas mlekowy. Wykazano, że wzrost *L. monocytogenes* nie następuje w stężeniach przekraczających 6.35 mM niezdysonowanego mleczanu (Aryani i wsp., 2016; Wemmenhove i wsp., 2018). Jeśli bakterie *L. monocytogenes* będą obecne w środowisku o łagodnej kwasowości (pH 5.5) przez pewien okres czasu, spowoduje to ich tolerancję na surowe warunki kwasowości środowiska (pH 3.5) (O’Driscoll i wsp., 1996). Komórki przystosowane do kwaśnego środowiska także przetrwają następnie lepiej w fermentowanych produktach mleczarskich, takich jak biały serek ziarnisty (cottage cheese), jogurt i pełnotłusty ser cheddar (Gahan i wsp., 1996).

L. monocytogenes rośnie optymalnie w warunkach mikroaerofilnych, ale rozwija się także dobrze w warunkach beztlenowych i tlenowych (Müller-Herbst i wsp., 2014). *L. monocytogenes* może rosnąć w atmosferze zawierającej stosunkowo wysokie poziomy CO₂ ale zahamowanie następuje przy podwyższonej jego zawartości (Bennik i wsp., 1995). *L. monocytogenes* może rosnąć nawet przy stosunkowo wysokim poziomie CO₂ (n.p. 30%), ale przy 100% CO₂ następuje zahamowanie wzrostu. Wzrost nie był opóźniany przy 5 – 10% CO₂ w powietrzu (Lake i wsp., 2009).

Uważa się, że minimalna aktywność wody (a_w) pozwalająca na wzrost *L. monocytogenes* wynosi $a_w = 0.92$ z 11.5% NaCl i 0.93 a 40% sacharozą (Jay, 2005). *L. monocytogenes* posiada zdolność przeżywania w suchych produktach spożywczych ($a_w = 0.83$) (Beuchat i wsp., 2011) a ostatnio wykazano zdolność tych bakterii do przeżywania w mące (Taylor i wsp., 2018) tak więc nie wolno niedocenić potencjału omawianego szczepu do przeżywania w produktach mleczarskich o niskim stopniu wilgotności. Jednakże, wykazano, że *L. monocytogenes* stopniowo ginie w beztłuszczowym mleku w proszku wraz z czasem przechowywania (Doyle i wsp., 1985). Sorbinian potasu będący przykładem powszechnie stosowanego środka konserwującego w produktach spożywczych, inaktywuje *L. monocytogenes* przy zawartości 2000 – 3000 ppm (pH 5.0) (Lake i wsp., 2009).

4

CHOROBOTWÓRCZOŚĆ BAKTERII *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Występowanie chorób spowodowanych obecnością rodzaju *Listeria* opisano u ponad 40 gatunków zwierząt. Mechanizm chorobotwórczości tej bakterii jest utrwalony i generalnie prowadzi do poronienia podczas ciąży, posocznicy, zapalenia opon mózgowych i mózgu jak również opisywanych przypadków biegunek, zakażeń skóry i zapalenia wsierdza (Farber i Peterkin, 1991). Zidentyfikowano trzynaście serotypów dla *L. monocytogenes*. Wszystkie z nich mogą być powiązane z listeriozą u ludzi; jednakże, większość zakażeń u człowieka wiąże się z serotypami 1/2a, 1/2b lub 4b. Wskaźnik hospitalizacji wynosi ponad 90%, a wskaźnik zgonów około 24% zakażonych osób (de Noordhout i wsp., 2014). Ostatnie badania wykazały, że larwy owada *Galleria mellonella* mogłyby być pożytecznym modelem zwierzęcym w badaniach nad chorobotwórczością *L. monocytogenes* (Martinez i wsp., 2017) (*Galleria mellonella* – polska nazwa: barciak błękitny, motylca; nocny owad z rzędu motyli. Niszczy wosk pszczele. Angielska nazwa *Wax Moth* – woskowa ćma. Trawi owoce i odpady organiczne oraz **polietylen. Najlepiej słyszące zwierzę świata** – przyp. tłum.)

Ze szczepem *L. monocytogenes* wiążą się dwa postacie choroby: listerioza nieinwazyjna i inwazyjna.

Nieinwazyjna listerioza (określana jako gorączkowe zapalenie żołądka i jelit – *listerial gastroenteritis*) jest łagodniejszą postacią choroby. Choroba występuje w ciągu 24 godzin po spożyciu produktu i obejmuje biegunkę, gorączkę i bóle mięśni (myalgia). Ogólnie, wybuch omawianej choroby wiąże się ze spożyciem dużych dawek *L. monocytogenes* przez zdrowych skądinąd osobników. Ogromna większość tych przypadków nie wykazuje dowodów inwazyjnej choroby poza jelitami i zazwyczaj ustępuje samoistnie (2 dni) (Ooi i Lorber, 2005).

Inwazyjna postać listeriozy dotyczy osób „wysokiego ryzyka” (ang. YOPI – co obejmuje młodzież, osoby starsze, kobiety w ciąży, noworodki oraz osoby dorosłe z upośledzoną odpornością) (McLauchlin i wsp., 2004). W inwazyjnej listeriozie czas inkubacji może wynosić od 2 tygodni do 3 miesięcy (McLauchlin i wsp., 2004). Infekcja podczas ciąży może nastąpić w każdym stadium, ale z doniesień wynika, że najczęściej zdarza się w trzecim trymestrze.

Przyszła matka zazwyczaj wykazuje łagodne objawy grypopodobne, ale u nienarodzonego dziecka lub noworodka może rozwinąć się ostra choroba układowa (McLauchlin i wsp., 2004). Powszechne są martwe porody, przedwczesne poronienia lub narodziny zakażonego noworodka. Układy odpornościowe płodów i noworodków są bardzo niedojrzałe i są niezwykle podatne na tego rodzaju zakażenia. Ogólnie mówiąc, omawiana choroba charakteryzuje się nie tylko ostrością objawów u wrażliwych osobników, ale także wysokim wskaźnikiem śmiertelności.

Prawdopodobieństwo, że obecność *L. monocytogenes* w produktach spożywczych spowoduje wystąpienie choroby jest różne i zależy od wielu czynników, w tym typu szczepu i różnic w podatności (wrażliwości) gospodarza. Podczas gdy, teoretycznie, jedna komórka bakterii może spowodować listeriozę, dawka komórek *L. monocytogenes* wywołująca chorobę u zdrowych osób szacowana jest na $10^7 - 10^9$ komórek i $10^5 - 10^7$ komórek dla osób o wysokim stopniu ryzyka (Farber i wsp., 1996; Dalton, 1997). Jednakże, zanotowano wiele wybuchów choroby przy dużo niższych dawkach (< 1000 CFU w niektórych przypadkach). Na przykład, podczas wybuchu choroby spowodowanej spożyciem masła w Finlandii, szacowano, że wspomniana dzienna dawka wynosiła $10^1 - 10^5$ CFU/dziennie (Maijala i wsp., 2001). W 2015 roku w USA, w przypadku spożycia lodów, wykazano nawet niższą potencjalną dawkę (najniższy poziom zakażenia lodów szacowano na 8 CFU/g, chociaż nie można było wykluczyć zakłóceń temperatury i wzrostu *L. monocytogenes* w koktajlach mlecznych sporządzonych z tych lodów, powodujących chorobę u pacjentów szpitalnych) (Pouillot i wsp., 2016). Ponadto, badania przeprowadzone przez Chen i wsp. (2006) także wskazywały, że istnieją szerokie wahania w stopniu zjadliwości związane z wyizolowanymi *L. monocytogenes*, zależnie od serotypu i szczepu, co ma wpływ na liczbę komórek potrzebną do wywołania choroby.

5

PRZEŻYWALNOŚĆ *LISTERIA* SPP. I *L. MONOCYTOGENES* W PROCESIE PRODUKCJI MLEKA I JEGO PRZETWÓRSTWA

L. monocytogenes może występować w wielu różnych środowiskach, w tym w glebie, ściekach, wodzie, odchodach zdrowych zwierząt i ludzi, uprawach roślinnych i kiszonkach (Welshimer i Donker-Voet, 1971). Istnieje opinia, że rozkładający się materiał roślinny i kiszonki są główną drogą zakażenia zwierząt gospodarskich. Zwierzęta gospodarskie nie są uważane za główny rezerwuar dla *L. monocytogenes*, chociaż omawiana bakteria może spowodować chorobę u zwierząt, a zainfekowane stado bydła mlecznego może rozprzestrzenić wspomniany drobnoustrój w całym środowisku gospodarstwa (Nightingale i wsp., 2004). Może także wystąpić zanieczyszczenie mleka w wymieniu w przypadkach klinicznego lub podklinicznego zapalenia wymion (*mastitis*) (Jensen i wsp., 1996; Hunt i wsp., 2012). W przypadku zakażenia u człowieka, *L. monocytogenes* przenosi się bezobjawowo w odchodach 2 – 6% populacji i znajdowano go w jamie nosowej oraz na rękach osób zatrudnionych przy produkcji żywności (El-Shenawy, 1998), ale nie zanotowano faktu przenoszenia z człowieka na człowieka jako głównej drogi zakażenia (z wyjątkiem transmisji od matki do płodu) (Lake i wsp., 2009). Spożycie produktu jest główną drogą zakażenia u ludzi (EFSA, 2018).

L. monocytogenes jest często obecna w produktach spożywczych pochodzenia zwierzęcego (niektóre produkty mleczarskie, różne rodzaje mięsa i produktów mięsnych takie jak wołowina, wieprzowina, kiełbasy fermentowane, owoce morza i produkty z ryb) i w produktach pochodzenia roślinnego (produkty świeże takie jak rzodkiewka, kapusta, seler, melon, kantalupa, jabłka karmelowe, sałata rzymska i kiełki) i może spowodować chorobę endemiczną w środowisku przetwórstwa żywności (Ghandi i Chikindas, 2007).

Omawiana bakteria może także być obecna w gotowanych produktach spożywczych w wyniku zanieczyszczenia po procesie produkcji albo niedostatecznej obróbki cieplnej, takich jak produkty mięsne gotowe do spożycia (Simmons i wsp., 2014). Produkty mleczarskie, które najczęściej wiąże się z obecnością *L. monocytogenes*, obejmują mleko surowe i sery miękkie, a w szczególności miękkie sery pleśniowe, gdzie ich wzrost może nastąpić wskutek wykorzystania kwasu mlekowego przez pleśń, dając w rezultacie wzrost pH na powierzchni. Jednakże, ostatnie wybuchy choroby pokazały, że *L. monocytogenes* może być także obecna i wywoływać chorobę przy spożyciu innych produktów

mleczarskich takich jak lody i mleko pasteryzowane (w wyniku wtórnego zanieczyszczenia po pasteryzacji).

Jak uprzednio wspomniano, *Listeria spp.* i *L. monocytogenes* zostały wyizolowane w wielu różnych miejscach w obrębie zakładów mleczarskich, chociaż bakterie te są najczęściej spotykane w środowisku wilgotnym lub w obszarach z nagromadzoną lub stojącą wodą lub miejscach z resztkami produktów spożywczych, w tym odprowadzenia ścieków, posadzki, chłodziarki, transportery, miejsca wokół kratak (przegląd: patrz Carpenter i Cerf, 2011). Biofilmy powstające w obrębie zakładów produkcyjnych, w tym w przetwórstwie mleczarskim, mogą także być źródłem *L. monocytogenes* dla przetwarzanych produktów (Valderrama i wsp., 2013).

Aby zminimalizować prawdopodobieństwo krzyżowego zanieczyszczenia bakterią *L. monocytogenes* w zakładach mleczarskich, stosuje się monitorowanie środowiska przetwórczego, jak to sugeruje FSMA (Food Safety Modernization Act – USA; Ustawa o Modernizacji Bezpieczeństwa Żywności, USA), w FSANZ (Australia i Nowa Zelandia, 2014) i Rozporządzenie UE 2073/2005 (Unia Europejska, 2005). Na przykład, artykuł 5 Rozporządzenia EU 2073/2005 zastrzega: „Przedsiębiorstwa sektora spożywczego produkujące żywność gotową do spożycia, która może stanowić zagrożenie dla zdrowia publicznego ze względu na obecność *Listeria monocytogenes*, pobierają próbki z obszarów produkcyjnych i sprzętu w celu sprawdzenia obecności *L. monocytogenes* w ramach stosowanych przez nie schematów pobierania próbek”. Chociaż nie wspomina się tutaj o częstotliwości pobierania próbek ani o liczbie próbek, należy omówić z właściwymi kompetentnymi organami stosowne schematy odpowiedzialności przedsiębiorstwa sektora spożywczego, aby zapewnić, że realizowany jest odpowiedni plan pobierania próbek gotowych produktów i z obszarów produkcyjnych.

6

POTENCJAŁ WZROSTU *LISTERIA* SPP. I *L. MONOCYTOGENES* W PRODUKTACH MLECZARSKICH

Ogólnie, do wywołania choroby potrzeba stosunkowo wysokiej liczby komórek *L. monocytogenes*. Z powodu „wrodzonych” czynników w produktach, takich jak niezdysocjowany mleczan w niektórych serach półtwardych lub w produktach ukwaszonych takich jak jogurty, nie wszystkie produkty mleczarskie sprzyjają wzrostowi *L. monocytogenes*, tak aby bakteria osiągnęła wysoką liczbę komórek (Aryani i wsp., 2016). Dodatkowo, jest mało prawdopodobne, aby zanieczyszczenie krzyżowe pochodzące ze środowiska produkcyjnego spowodowało bezpośrednio taką wysoką liczbę komórek. Wobec tego, największe znaczenie ma „zdolność” produktów mleczarskich do sprzyjania wzrostowi *L. monocytogenes*. Unia Europejska i inne kompetentne organizacje opublikowały wytyczne do podejmowania badań obciążeniowych (przechowalniczych) (ang. challenge studies) w celu określenia możliwości wzrostu *L. monocytogenes* w produkcji (Anon, 2014; Beaufort i wsp., 2014; Health Canada, 2011).

W celu oszacowania zdolności i zakresu wzrostu *L. monocytogenes* w danym produkcie mleczarskim można zastosować modelowanie prognostyczne jako wstępną ocenę przed badaniami ze sztucznym zanieczyszczeniem produktu. Do tego celu można stosować model *in silico* (dosłownie: ‘w krzemie’ – termin naukowy stosowany w biologii, informujący o tym, że badania zostały przeprowadzone za pomocą komputera, informacja z internetu – przyp. tłum.) takich jak „ComBase” (Baranyi i Tamplin, 2004), „Sym’Previs (Leporq i wsp., 2005) i „Program modelowania organizmu chorobotwórczego” (USDA, 2018). W programach tych, jeśli wzrost bakterii prognozowany jest w oparciu o systemy hodowli bakterii w pożywce, inne cechy charakterystyczne produktu nie brane są pod uwagę w modelach, które mogłyby potencjalnie zahamować wzrost *L. monocytogenes*, takie jak np. mikroflora konkurencyjna (Jordan i wsp., 2018). Stosując ComBase, Schwartzman i wsp. (2011) prognozowali wzrost w serze jako matrycy dla 40% przypadków, podczas gdy w rzeczywistości nie zaobserwowano wzrostu.

Zdolność produktów mleczarskich do sprzyjania wzrostowi *L. monocytogenes* musi być określona dla każdego rodzaju produktu spożywczego, w szczególności jeśli różnią się one zawartością wody, wartością pH podczas okresu przydatności do spożycia, zastosowanymi kulturami startowymi i sposobem obróbki powierzchni produktu, ponieważ zawartość różnych składników i różne metody produkcji mają istotny wpływ na potencjał wzrostu *L. monocytogenes*. Ponadto, wszelkie zmiany w

składnikach lub w procesie produkcji danego produktu mleczarskiego czy to z powodu próby przedłużenia okresu przydatności do spożycia produktu czy to będące odpowiedzią na oczekiwania nowości przez konsumentów produktów, mogłyby doprowadzić do zmiany zdolności *L. monocytogenes* do wzrostu lub wyginięcia. Potrzebne by było podejmowanie badań walidacyjnych, w tym próby obciążeniowe gdy zachodzi taka potrzeba, dla każdego nowo otrzymanego produktu mleczarskiego. Ekstrapolacja czynników od jednego typu produktu do drugiego albo od modeli generycznych bez walidacji określonego gatunku sera nie jest właściwa (Schvartzman i wsp., 2010). W przypadkach, gdzie wykazywany jest potencjał wzrostu, tj. ≥ 0.5 log, wzrost liczby bakterii od dnia 0 do dnia końca badania próby obciążeniowej w warunkach przechowalniczych (por. Dokument EURL dot. *L. monocytogenes* (**ang.** European Union Reference Laboratories – przyp. tłum.) (Wytyczne Techniczne, Beaufort i wsp. 2014), początkowa liczba obecna i stopień wzrostu pozwoli określić, czy liczba bakterii przekroczy granicę 100 jtk (**ang.** CFU)/g (w okresie przydatności do spożycia). Wytyczne EURL określają metodę przeprowadzania badań sztucznego zanieczyszczenia produktu w celu określenia stopnia wzrostu bakterii. Badania przechowalnicze mogą określać albo potencjał wzrostu, albo stopień wzrostu *L. monocytogenes* w podstawowym składzie danego produktu mleczarskiego (**ang.** dairy matrix). Zgodnie ze wspomnianymi wytycznymi, kiedy badany jest stopień wzrostu bakterii, każdy szczep musi być przebadany indywidualnie, pobieranie próbek musi być przeprowadzone conajmniej 10 razy (dla celów modelingu) a przechowywanie żywności musi mieć miejsce w jednolitej temperaturze (Beaufort i wsp., 2014). Zminimalizowanie wzrostu *L. monocytogenes* na poziomie sprzedaży detalicznej i dalej, w łańcuchu dystrybucji mogłoby doprowadzić do redukcji przypadków występowania listeriozy o 37% (EFSA, 2018).

7

METODY ANALITYCZNE WYKRYWANIA, OKREŚLANIA ILOŚCIOWEGO I IDENTYFIKACJA

Jak to określono w dokumencie Kodeksu, CAC GL 21/1997 zmodyfikowanym w 2013 roku (Codex Alimentarius, 2013), metody analityczne i parametry ich wykonywania są kluczowymi składnikami kryteriów mikrobiologicznych. Tradycyjne metody oparte na posiewie są stosowane od wczesnych lat osiemdziesiątych XX wieku. Badanie pod kątem obecności *Listeria* spp. i *L. monocytogenes* jest określone w ostatnio opublikowanych normach ISO (**ang.** International Standardization Organization) 11290, Część 1 i Część 2 (ISO, 2017a i 2017b). Jednakże w sektorze mleczarskim, czas potrzebny do wprowadzenia na rynek gotowych produktów z powodu oczekiwania na wyniki związane z obecnością organizmów chorobotwórczych stanowi koszt dla producentów. Obecnie są szeroko dostępne szybsze metody alternatywne oparte o próby immuno-enzymatyczne lub metody biologii molekularnej, tak długo jak wspomniana metoda alternatywna spełnia wymagania przepisów takich jak ustanowione w Rozporządzeniu (EU) 2073/2005: Artykuł 5 – „ Wykorzystanie alternatywnych metod analitycznych jest dopuszczalne pod warunkiem ich zwalidowania w odniesieniu do metod referencyjnych wymienionych w Załączniku 1 oraz jeśli metoda jest certyfikowana przez stronę trzecią zgodnie z protokołem zawartym w normie EN/ISO/16140 lub z innymi podobnymi protokołami uznanymi w skali międzynarodowej. Jeśli dane przedsiębiorstwo sektora spożywczego zamierza stosować inne metody analityczne niż metody walidowane i certyfikowane zgodnie z zapisami powyżej w akapicie 3, metody te muszą być zatwierdzone zgodnie z protokołami uznanymi w skali międzynarodowej, a ich stosowanie musi być zatwierdzone przez właściwy organ”. Do walidacji takich alternatywnych metod mikrobiologicznych zazwyczaj stosuje się Normę ISO 16140 Część 2 (ISO, 2016). Dalszym istotnym aspektem dla producentów produktów mleczarskich jest aby stosowana metoda była wykonana w kompetentnym laboratorium pracującym zgodnie z ISO 7218:2007 (ISO, 2007) i ISO 17025:2017 (ISO, 2017c).

Dostępne są także inne metodologie niż metody ISO, takie jak GB 4789.30-2016 (GB, 2016), stosowane w Chinach czy metoda USFDA BAM (BAM – Bacteriological Analytic Manual, Przewodnik Metod Mikrobiologicznych – przyp. tłum.) do oznaczania obecności *L. monocytogenes* w produktach spożywczych i próbkach środowiskowych (Hitchins i wsp., 2017), stosowana w USA. Alternatywne (opatentowane) metody nie mają programu uznanej walidacji i weryfikacji w Chinach, podczas gdy w USA, możliwe jest podejście AOAC (od 1965 r, Amerykańskie Stowarzyszenie Urzędowych Chemików Analitycznych – przyp. tłum.) oparte na normie ISO 16140 Część 2, jednak w oparciu o USFDA BAM jako metodzie referencyjnej a nie ISO 11290 Części 1 i 2 (ISO 2017a, i 2017b).

Alternatywne zastrzeżone metody oznaczania *Listeria spp.* i *L. monocytogenes* można znaleźć w Europie i w schemacie ISO na stronie internetowej AFNOR (<http://nf-validation.afnor.org/en/food-industry/listeria-monocytogenes/>), na stronie MICROVAL (<http://microval.org/en/issued-certificates/>) oraz w Stanach Zjednoczonych, na stronie FSIS (Food Safety and Inspection Service, Wydział Bezpieczeństwa Żywności i Kontroli Departamentu Rolnictwa USA, agencja rządowa – przyp. tłum.) (<http://content.govdelivery.com/accounts/USFSIS/bulletins/842385>). (Ważne jest zwalidowanie dostępnej dokumentacji walidacji, czy zakres walidacji (matryce produktów spożywczych) obejmuje analizowane składniki i technikę pobierania próbek (n.p. zbiorcze [ang. pooling] czy nie).

Metody typowania bakterii są wymagane w śledzeniu źródeł i dróg zanieczyszczenia *Listeria spp.* a zwłaszcza bakterii *L. monocytogenes*. Przez wiele lat aż do czasów obecnych stosowano metodę elektroforezy pulsowej w żelu (ang. pulsed field gel electrophoresis, PFGE) która dostarcza odcisk genomu bakteryjnego jako złoty standard identyfikacji i grupowania (określanie klonalności) wyizolowanych bakterii. Jednakże, całkowite sekwencjonowanie genomu (WGS) wprowadzono po raz pierwszy w USA w 2008 roku, i stało się to instrumentem w rozwiązywaniu problemu pojawienia się *Listerii* w lodach Blue Bell. Odtąd, niniejsza metoda zastąpiła PFGE i stała się preferowaną metodą FDA dla identyfikacji i śledzenia wyizolowanych organizmów chorobotwórczych w próbkach produktów spożywczych i w miejscach produkcji produktów spożywczych. Wiele organów zajmujących się bezpieczeństwem żywności stosuje obecnie na szeroką skalę omawianą technikę w innych regionach na świecie, a szczególnie w krajach Unii Europejskiej (Hendriksen i wsp., 2018). Metoda **WGS** (ang. Whole Genome Sequencing) jest techniką analityczną, która pozwala na określenie całkowitej sekwencji genomowej DNA bakterii. Dzięki dokładności w określaniu jak bakterie są wzajemnie ze sobą powiązane, metoda WGS usprawnia wykrywanie, nadzór i reakcję na choroby przenoszone drogą pokarmową i wybuchy epidemii choroby. Technologia niniejsza zapewnia ujednolicone systemy typowania w środowisku, w sektorze zwierzęcym, spożywczym i w środowisku ludzi i daje możliwość śledzenia zanieczyszczeń przenoszonych drogą pokarmową wstecz aż do źródeł mikrobiologicznych pomijając różnice geograficzne (FAO-WHO, 2016).

Metoda WGS jest dokładniejsza niż określanie serotypowe i bardziej różnicująca niż techniki PFGE, rybotypowanie i RFLP (ang. Restriction Fragment Length Polymorphism – Polimorfizm Długości Fragmentów Restrykcyjnych). Niniejsza metoda może pokazać z najwyższą rozdzielczością i w szczególności krótkim czasie relacje pomiędzy szczepami. Metoda WGS zapewnia zdolność do różnicowania źródeł zanieczyszczenia, nawet w obrębie tej samej epidemii choroby; określenia, który składnik został pierwotnie zanieczyszczony przez organizm chorobotwórczy związany z wybuchem epidemii choroby i wobec tego, zawężenia poszukiwań źródła zanieczyszczonego składnika; oznaczania nieoczekiwanych nośników zanieczyszczenia żywności i dostarczenia informacji dla analizy przyczynowej pochodzenia choroby oraz określenia fenotypowych cech wyizolowanych bakterii takich jak oporność na środki myjące i przyleganie do powierzchni (Kovac, 2017).

Informacje o identyfikacji całego genomu można wymieniać i porównywać pomiędzy laboratoriami na świecie, stosując międzynarodowe bazy danych z otwartym dostępem, takie jak GenomeTrakr. Mikrobiolodzy żywności i mikrobiolodzy kliniczni mogą obecnie sprecyzować pochodzenie zanieczyszczenia drogą pokarmową przez porównanie klinicznych wyizolowanych drobnoustrojów. W rezultacie, choroby przenoszone drogą pokarmową mogą być łatwo prześledzone do określonego miejsca ich pochodzenia. Kompetentne organy mogą obecnie identyfikować pochodzenie niewielkich wybuchów epidemii przy wykorzystaniu małej liczby wyizolowanych klinicznie drobnoustrojów lub

identyfikować zdarzenia długotrwałego zanieczyszczenia powodujące ograniczoną liczbę przypadków w populacji.

Z czasem, przewiduje się, że metoda WGS stanie się nową normą identyfikacji izolatów i zastąpi inne stosowane w tym celu metody. Aby móc śledzić dane z przeszłości zmieniając technikę identyfikacji, ważne jest zatrzymanie jeśli nie wszystkich izolatów, to przynajmniej szczepy danego typu każdej kultury. Posiadanie kolekcji szczepów jest ważne, gdyż metoda WGS staje się coraz szerzej stosowana i należy podejmować lokalne/przemysłowe/krajowe inicjatywy w celu zgromadzenia wspomnianych izolatów.

Obecnie głównym wyzwaniem stosowania metody WGS są koszty metody typowania w porównaniu do innych metod typowania, brak technicznej metody WGS dotyczącej metodologii i brak uzgodnionych, w skali międzynarodowej, wartości „odcięcia”, które różnicują szczepy (polimorfizmy pojedynczych nukleotydów, **ang. SNP**, single nucleotide polymorphisms) (zjawisko zmienności sekwencji DNA – przyp. tłum.) Możliwa do przyjęcia liczba SNPs może być specyficzna dla każdego drobnoustroju. Interpretacja wyników wymaga specjalistów w dziedzinie bioinformatyki podczas gdy nie ma obecnie zaakceptowanego w skali międzynarodowej podejścia dotyczącego ochrony przed nadużyciami informacji i danych uzyskanych metodą WGS, przechowywanych w bankach danych. Problemy związane z ogniskami choroby lub incydentami dotyczącymi bezpieczeństwa żywności nie mogą być rozwiązywane wyłącznie na podstawie danych uzyskanych metodą WGS, ale zawsze musi być odniesienie do danych epidemiologicznych dla potwierdzenia tych wyników.

Od ponad 30 lat stosuje się PFGE jako „złotą” normę dla typowania szczepów. Z powodu rozwoju zdolności (szkolenie, urządzenia, pomieszczenia, przetwarzanie danych...), omawiana technologia nie może zostać zastąpiona z dnia na dzień metodologią, która nie jest jeszcze znormalizowana. Także, w niektórych sytuacjach, gdzie zastosowanie metody WGS byłoby zbyt kosztowne do ustanowienia, zastosowanie techniki PFGE będzie kontynuowane jako cenne narzędzie przeprowadzenia analizy.

Dla zapewnienia czytelnikom więcej informacji na temat stosowania metody WGS w przemyśle spożywczym, ostatni przegląd opracowany przez Jagadeesan i wsp. (2019) dostarcza czytelnikom opis różnych technologii metody WGS stosowanych obecnie i wytyczne dotyczące określania różnic w SNP tzn. zjawiska zmienności sekwencji DNA dla różnych bakterii, które to zvalidowano instrumentami działania opartymi na SNP, niektóre zalecane do stosowania zvalidowane bazy danych w porównaniu z metodą cgMLST (**ang. core-genome multi locus sequence typing**; metoda sekwencjonowania wymagająca informacji o całym genomie – przyp. tłum.) i jej stosowania wobec powszechnie występujących organizmów chorobotwórczych przenoszonych drogą pokarmową. Wspomniane opracowanie podaje także najbardziej odpowiednie odniesienia literaturowe w celu zapewnienia wskazówek do analizy drzewa filogenetycznego (drzewo filogenetyczne – graf acykliczny przedstawiający ewolucyjne zależności pomiędzy sekwencjami lub gatunkami wszystkich organizmów; rodzaj dendrogramu; informacja z Internetu (Wikipedia) – przyp. tłum.) i wyboru najbardziej powszechnie stosowanych narzędzi bioinformatycznych i dróg prowadzących do analizy metodą WGS.

8

ŚRODKI ZWALCZANIA *L. MONOCYTOGENES* NA PRZESTRZENI CAŁEGO PROCESU PRODUKCJI PRODUKTÓW MLECZARSKICH

Historycznie ujmując, obróbka cieplna stosowana jest do surowców w celu zmniejszenia wyjściowego zanieczyszczenia mikrobiologicznego do poziomu możliwego do przyjęcia. Aktualne obróbki termiczne oparte są albo na wytycznych dla przemysłu, kodeksach praktyk lub na przepisach ustanowionych głównie w oparciu o historię, na poziomie wymaganej redukcji populacji drobnoustrojów. W odniesieniu do produktów mleczarskich, ogólnie uznawana pasteryzacja mleka surowego przez 15 sek w temperaturze 72°C spowoduje >6-log redukcję *L. monocytogenes*. Poza tym, wzrost *L. monocytogenes* w gotowych do spożycia produktach można zahamować stosując jeden lub więcej z następujących środków kontroli:

- pH niższe lub równe 4.4 (Rozporządzenie UE 2073/2005, FDA, 2018)
- Aktywność wody mniejsza niż lub równa 0.92 (np. mleko w proszku produkowane przez przemysł mleczarski) lub mniejsza niż lub równa 0.94 w połączeniu z pH mniejszym lub równym 5.0 (Rozporządzenie UE 2073/2005, FDA, 2018)
- Formuła produktu zawierająca jedną lub więcej substancji hamujących, które same, lub w połączeniu, zmniejszają do minimum prawdopodobieństwo wzrostu *L. monocytogenes* (np. bioutrwalenie przy użyciu spożywczych kultur bakteryjnych takich jak stosowane w produkcji serów typu twardego (Wemmenhove i wsp., 2018) i niezdisocjowany kwas mlekowy w stężeniu powyżej 6.35 mM (Aryani i wsp., 2016)
- Stałe utrzymywanie łańcucha chłodniczego (np. chłodzenie mleka spożywczego w produkcji mleczarskiej)
- Zminimalizowanie prawdopodobieństwa zanieczyszczenia krzyżowego (np. stosowanie się do zasad dobrej praktyki produkcyjnej, **ang.** GMP) i zanieczyszczenia wtórnego (np. wymagania dobrej praktyki higienicznej, **ang.** GHP) produktów spożywczych poddanych obróbce cieplnej (np. oddzielenie stref w środowisku produkcji mleka surowego i przetwórstwa mleka).

Z powodu niskiej zawartości omawianych bakterii w większości produktów spożywczych, badanie produktu gotowego nie jest skuteczne. Jest ważnym sposobem badania tylko tam, gdzie jest możliwe, że *L. monocytogenes* występuje często. W przypadkach gdzie *L. monocytogenes* nie jest często obecny,

badanie produktu gotowego dostarcza niewiele informacji na temat zanieczyszczenia produktu, pochodzenia tego zanieczyszczenia i możliwości jego zmniejszenia. Wszelkie działania powinny skupiać się na ciągłym i świadomym pobieraniu próbek ze środowiska produkcyjnego, obszarów „docelowych” z dodatnim wynikiem w zakresie obecności tej bakterii i dodatkowych środków sanitarnych np. analiza źródeł problemu. Ponieważ zaobserwowano, że zanieczyszczenie powierzchni nie mających kontaktu z żywnością bakteriami rodzaju *Listeria spp.*, w tym *L. monocytogenes* zazwyczaj poprzedza zanieczyszczenie powierzchni mających kontakt z żywnością (GMA, 2014), wobec tego bardziej korzystną strategią jest posiadanie w zakładzie produkcyjnym zwalidowanego i skutecznego programu monitorowania obecności w środowisku drobnoustrojów chorobotwórczych PEM (ang. Pathogen Environmental Monitoring Program), w tym bakterii *Listeria spp.*, gdyż wówczas zmniejsza się prawdopodobieństwo zanieczyszczenia krzyżowego w gotowym produkcie mleczarskim.

Ponieważ *Listeria spp.* są powszechnie obecne w środowisku, całkowite wyeliminowanie ze środowiska produkcyjnego tego rodzaju bakterii, a *L. monocytogenes* w szczególności, jest celem nierealnym. Natomiast zwalczanie *L. monocytogenes* w środowisku produkcyjnym jest celem osiągalnym. Uzyskanie kontroli nad wspomnianym gatunkiem bakterii wymaga znajomości ekologii *L. monocytogenes*. Ponieważ inne gatunki rodzaju *Listeria spp.* nie są chorobotwórcze, ich obecność w środowisku produkcji mleczarskiej nie stanowi ryzyka dla zdrowia publicznego i jest brana pod uwagę jako dobry wskaźnik potencjalnej obecności *L. monocytogenes* (Liu i wsp., 2009; Ryser i Marth, 2007). Nie jest to wskaźnik w dosłownym tego słowa znaczeniu przy okazji przeprowadzania badania pod kątem obecności *Enterobacteriaceae* i/lub bakterii *coli* dla oceny higienicznej, ale jest to raczej wskazanie zdolności *L. monocytogenes* do przeżycia w środowisku produkcyjnym i przewidywanie wprowadzenia tego szczepu. Badanie na obecność *Listeria spp.* w programie PEM i reagowanie na wyniki dodatnie tak jakby to były bakterie *L. monocytogenes* przewiduje program bardziej starannej i szerszej weryfikacji oraz zwalczania niż byłoby to badanie samego *L. monocytogenes*, szczególnie biorąc pod uwagę spodziewane bardzo niskie występowanie tego organizmu chorobotwórczego w dobrze utrzymanym, starannie czyszczonym i dezynfekowanym środowisku przetwórstwa mleka.

Pobieranie próbek ze środowiska przetwórstwa mleka na obecność *L. monocytogenes* opiera się na poszukiwaniu miejsc będących siedliskiem, gdzie mogłoby wystąpić zanieczyszczenie w przeciwieństwie do wybierania miejsc pobierania próbek tylko w celu uzyskania ujemnych wyników zgodnie z przepisami. Dobrze zaprojektowany program PEM to program, który w rzeczywistości znajduje dany patogen tak, że można zastosować dane do prześledzenia wszelkich trendów wzrostowych i malejących danego drobnoustroju w środowisku przetwórstwa mleka. Molekularna metoda typowania wyizolowanych bakterii, które uzyskuje się w ściśle określonym programie PEM może być kosztowna, ale naprawdę dostarcza cenne informacje dotyczące charakterystyki otrzymanych izolatów oraz charakteru zanieczyszczenia. Na przykład, powtórzone wyizolowanie szczepu o tym samym profilu molekularnym może wskazywać na trwałe zanieczyszczenie, które wymagałoby innego działania niż w sytuacji gdyby każdy szczep był inny. Aby obniżyć koszty analizy molekularnej, typowanie molekularne trzeba wykonywać tylko dla próbek otrzymanych z obszarów wysokiego ryzyka.

Pobieranie próbek ze środowiska przetwórstwa powinno opierać się na pobieraniu próbek w miejscu produkcji produktu, w tym na poszukiwaniu miejsc będących siedliskiem drobnoustrojów w pobliżu stref produktu gotowego. Program PEM dla *L. monocytogenes* i *Listeria spp.* powinien koncentrować się na mokrych strefach środowiska np. stacja mycia, miejsca gromadzenia się wody i odpływy ścieków

(jeśli są takowe) (Carpentier i Cerf, 2011, Valderrama i wsp., 2013) w porównaniu do PEM dla *Salmonella*, który to program skupia swoją uwagę na obszarach suchych z *Enterobacteriaceae* jako wskaźnikiem stanu higieny w danym miejscu. Na przykład, jednym z najbardziej powszechnych obszarów zanieczyszczenia *L. monocytogenes* są kratki w posadzkach, gdyż każde zanieczyszczenie jest prawdopodobnie wyplukiwane przez otwory w instalacji ściekowej, tam gdzie *L. monocytogenes* może przetrwać w biofilmach (przegląd, patrz Carpentier i Cerf, 2011). Niekoniecznie należy uważać otwory ściekowe w instalacjach za jedyne miejsca osiedlania się drobnoustrojów, ale mogą one także wskazywać na obecność niszowego miejsca na otaczającym obszarze. Należy zauważyć, że monitorowanie środowiska produkcyjnego nie jest monitorowaniem skuteczności procedur mycia. Pobieranie próbek z umytych powierzchni pod kątem obecności *L. monocytogenes* powinno być przeprowadzane tylko dla oceny skuteczności procedur mycia po wykryciu próbek dodatnich.

Aby program PEM był skuteczny, pobieranie próbek powinno być wykonywane przy użyciu wacika typu gąbka lub gaza, pozwalającego na pobranie próbki z dostatecznie dużej powierzchni danego obszaru zgodnie z zaleceniami ISO 18593-2018 (ISO, 2018). Odpowiednie pobranie próbek pozwoli na „czynne” podejście do świadomego systemu zarządzania bezpieczeństwem żywności tam gdzie badanie produktu gotowego jest podejściem „biernym”. Zanieczyszczenie gotowych produktów mleczarskich bakterią *L. monocytogenes* jest dużo poważniejszym problemem, który wymaga znacznie większej interwencji niż zanieczyszczenie na etapie środowiska produkcyjnego. Przepisy dotyczące pobierania próbek z obszaru środowiska produkcyjnego, określone w art.5 Rozporządzenia UE 2073/2005 lub oczekiwań FSMA powinny być właściwie realizowane. Dokument Unii Europejskiej na temat wytycznych dotyczących pobierania próbek dostarcza zalecenia m. in. w odniesieniu do czasu pobierania próbek i miejsc pobierania próbek (EC, 2012). Miejsca do pobierania próbek, mogące dać najwięcej informacji mogą się różnić zależnie od urządzeń i typu wytwarzanych na nich produktów. Informację taką można uzyskać z wykonanych badań przesiewowych powierzchni mających kontakt z żywnością (FCS) i powierzchni nie mających kontaktu z żywnością (non-FCS); ważne jest uzyskanie równowagi pomiędzy tymi różnymi rodzajami próbek. Odpowiednie pobieranie próbek na obecność *L. monocytogenes* pomoże we wczesnym zidentyfikowaniu problemu i umożliwi natychmiastowe działanie. Powinno się regularnie dokonywać przeglądu takiego programu w zależności od uzyskanych wyników.

W urządzeniach przetwórczych o średniej i dużej wielkości należy rozważyć ustalenie krytycznych obszarów kontroli (CCA, **ang.** critical control areas). CCA powinny być wyraźnie zaznaczone, a bariery sanitarne powinny zmniejszyć do minimum prawdopodobieństwo, że CCA ulegną zanieczyszczeniu poprzez zanieczyszczenie krzyżowe w wyniku nieodpowiednich praktyk. W celu zmniejszenia możliwości krzyżowego zanieczyszczenia bakterią *L. monocytogenes*, można wprowadzić miejsca do mycia racic zwierząt oraz zmianę ochronnego ubioru pracowników. Określenie obszarów CCA może ułatwić ukierunkowane pobieranie próbek we wspomnianych obszarach i, wobec tego, wprowadzenie różnych działań opartych na dodatnich wynikach otrzymanych z różnych obszarów CCA. Na przykład, im bliżej ktoś analizuje powierzchnię kontaktu z gotowym produktem mleczarskim, tym większe jest prawdopodobieństwo uzyskania dodatniego wyniku, który mógłby spowodować zanieczyszczenie krzyżowe produktów mleczarskich. W urządzeniach przetwórczych o małej wielkości, określenie CCA przy istniejących barierach sanitarnych mogłoby być niemożliwe, ale należy rozważyć określenie CCA, przy ograniczonym dostępie nieprzeszkolonego personelu do obszarów mających kontakt z produktem mleczarskim.

Częstotliwość pobierania próbek powinna być oceniana na podstawie indywidualnego przypadku, dla każdego środowiska przetwórczego. Kiedy pobiera się próbki ze środowiska produkcyjnego po raz pierwszy, należy pobierać wiele próbek w celu zidentyfikowania dróg zanieczyszczenia i potencjalnych miejsc zasiedlanych przez tę bakterię. Jeśli dostępna jest historia monitorowania miejsc pobierania próbek, lub stan zanieczyszczenia jest już znany, można ograniczyć liczbę miejsc pobierania próbek. Częstotliwość pobierania próbek należy dostosować do nowych punktów ich pobierania, jeśli uzyskane zostaną wyniki ujemne, ale należy ją zwiększyć, jeśli zostaną uzyskane wyniki dodatnie lub jeżeli nastąpią zmiany w środowisku produkcyjnym lub w procesie produkcji (EU, 2005). Takie zmiany w pobieraniu próbek powinny być podejmowane w odpowiednim przypadku, w konsultacji z ekspertami zewnętrznymi.

Podczas prac remontowych lub budowlanych, trudno utrzymać warunki higieniczne w zakładzie produkcyjnym. Może być trudne zalecenie stosowania ochrony sanitarnej (kalosze, płaszcze ochronne) przez rzemieślników i robotników budowlanych, lub zachowania środków higieny w stosunku do materiałów budowlanych często przechowywanych na powietrzu przed ich wykorzystaniem i zastosowaniem. Może zaistnieć konieczność wyrobu danych produktów w pomieszczeniach produkcyjnych przylegających do obszaru budowy. Ważne jest, aby mieć świadomość zwiększonego prawdopodobieństwa zanieczyszczenia krzyżowego podczas wspomnianych prac budowlanych. Pierwszym ważnym krokiem jest zbudowanie bariery fizycznej pomiędzy obszarem produkcyjnym a strefą budowy. Zwiększona częstotliwość pobierania próbek w celu monitorowania danego środowiska produkcyjnego, w połączeniu ze zwiększonym poziomem świadomości ułatwi także zmniejszenie możliwości zanieczyszczenia krzyżowego. Rejestracja uzyskanych danych jest kluczowa dla przetwórcy mleka. Tak jak rejestracja wyników programu monitorowania środowiska produkcyjnego, równie ważna jest rejestracja danych dotyczących składników i surowców, tak aby istniała możliwość zidentyfikowania wszelkich zachodzących korelacji, na przykład, zanieczyszczenie środowiska produkcyjnego w odniesieniu do partii surowca lub zmiana dostawcy. Ważne jest także analizowanie uzyskanych danych. Przetwórcy powinni analizować trendy występujące w wynikach swych badań, albo wykonując wykresy graficzne, albo przedstawiając je w postaci tabel. W przypadku monitorowania środowiska produkcyjnego w szczególności, obraz graficzny pomoże producentom zaobserwować trend w kierunku niezadawalających wyników, co pozwoli na jego prześledzenie oraz podjęcie stosownych działań naprawczych w danej sytuacji.

Utrzymanie środowiska produkcyjnego całkowicie wolnego od *L. monocytogenes* jest stosunkowo trudne do uzyskania, ponieważ na obecność tych bakterii wpływa wiele czynników. Obejmują one, na przykład, wprowadzanie do produkcji zanieczyszczonych surowców, pracowników jako nośników tych bakterii, niedostateczne mycie i nieodpowiednie programy pobierania próbek, a z drugiej strony, odpowiednią konstrukcją urządzeń w celu zminimalizowania prawdopodobieństwa zanieczyszczenia, umieszczanie urządzeń blisko gospodarstwa rolnego i podobne. Innym ważnym czynnikiem występowania *L. monocytogenes* jest odpowiednie zarządzanie oraz poziom świadomości pracowników w zakresie zagrożenia i edukacja dotycząca produkcji i urządzeń produkcyjnych oraz ewentualnych problemów wystąpienia w nich zanieczyszczenia. Brak takiej świadomości może doprowadzić do istotnych problemów z produktem gotowym, które mogą spowodować wycofanie produktu ze sprzedaży, pogorszenie reputacji firmy, procesy sądowe, choroby, a nawet przypadki śmierci. Tak więc, świadomość pracowników, odpowiednie pobieranie próbek i analiza są kluczowymi czynnikami pomyślnego zwalczania *L. monocytogenes*. Jeśli zostanie wykryta obecność

drobnoustrojów, można je wyeliminować poprzez docelowe działania interwencyjne, zmniejszając do minimum prawdopodobieństwo wtórnego zanieczyszczenia produktu gotowego (Leong i wsp., 2016).

Stosowanie dezynfekcji chemicznej w celu zwalczania *L. monocytogenes*, wybór środków dezynfekcyjnych przez przedsiębiorców branży spożywczej jest często ograniczany przez przepisy. Aby środki te były skuteczne, FDA (Food and Drug Agency, Agencja ds Żywności i Leków, USA – przyp. tłum.) zaleca stosowanie środków dezynfekcyjnych, zawierających czwartorzędowe związki amonowe (QACs, **ang.** Quarternary Ammonium Compounds, lub QUATS); także dlatego, że mają one częściowy wpływ przeciwdrobnoustrojowy (FDA, 2008). Niniejsze zalecenie jest skorelowane z badaniami, które wykazały, że QAC mogą być bardziej skuteczne w zwalczaniu biofilmów z *L. monocytogenes* niż środki dezynfekcyjne zawierające chlor (Olszewska i wsp., 2016). Niektóre badania jednakże wykazały, że *L. monocytogenes* może rozwijać tolerancję na działanie QAC (Meregheretti i wsp., 2000; Olszewska i wsp., 2016). Badania wykazały dwu- do czterokrotny wzrost tolerancji komórek *L. monocytogenes* na QAC po ekspozycji przez kilkaset „pokoleń” bakterii (Kastbjerg i Gram, 2012), a obecność plazmidów w niektórych szczepach może następnie przyczynić się do wspomnianej tolerancji (Naditz i wsp., 2019). W przeciwieństwie do tego, takiego wzrostu tolerancji nie stwierdzono w przypadku podchlorynu lub kwasu nadoctowego/nadtlenku wodoru (Kastbjerg i Gram, 2012). Dlatego też, należy w zakładach mleczarskich rozsądnie stosować środki dezynfekcyjne QAC i ich rotację w celu zminimalizowania możliwości osadzania się populacji bakterii i zwiększyć ogólną skuteczność działań przeciwbakteryjnych (FDA, 2008). Środki dezynfekcyjne można stosować przemiennie, na przykład kwas nadoctowy/nadtlenek wodoru, które okazały się skuteczne w inaktywacji komórek biofilmów z *L. monocytogenes* (Belessi i wsp., 2011). Na przykład, badanie Costa i wsp. (2016) pokazało, że środek dezynfekcyjny zawierający kwas nadoctowy/nadtlenek wodoru skutecznie redukował populację 16 odpornych szczepów *L. monocytogenes* (w zakładzie produkcji sera Gorgonzola) o ponad 4 log jtk (**ang.** CFU, **pol.** jednostki tworzące kolonie).

Tak jak w przypadku innych bakterii, planktonowe (błakające się – przyp. tłum.) komórki *L. monocytogenes* są łatwo dezaktywowane przy powszechnym stosowaniu środków dezynfekcyjnych w porównaniu do ich inaktywacji, kiedy przyczepią się jako biofilmy do powierzchni ze stali nierdzewnej (Luque-Sastre i wsp., 2018). Kilka dziesiątek lat badań wykazało także, że populacje komórek *L. monocytogenes* przyczepionych do różnych materiałów reagują w różny sposób na stosowane środki dezynfekcyjne (Tabela 4 przedstawia niektóre przykłady). Wspomniane wyniki badań podkreślają potrzebę wyboru odpowiedniego środka dezynfekcyjnego przy realizacji programów dezynfekcji w środowisku produkcyjnym zakładu mleczarskiego, ponieważ zarówno typ środka dezynfekcyjnego, czas jego stosowania, jego stężenie jak i typ powierzchni, która będzie dezynfekowana, wydają się mieć wpływ na prawdopodobny sukces w zwalczaniu *L. monocytogenes* (Skowron i wsp., 2018).

Jednak czasem, bez względu na skuteczność środka dezynfekcyjnego, obecność *L. monocytogenes* jest stwierdzana w miejscach produkcji. Sugeruje się, że odpowiednie warunki wzrostu w miejscach nagromadzenia drobnoustrojów tj. w elementach konstrukcji urządzeń i w pomieszczeniach, nie zapewniających warunków higienicznych lub niehigieniczne lub uszkodzone materiały sprzyjają obecności *Listerii*; omawiany organizm chorobotwórczy staje się trudny do wyeliminowania (Belessi i wsp., 2011; Carpentier i Cerf, 2011). Tak więc, fizyczna dbałość o urządzenia jest także istotna dla zmniejszenia prawdopodobieństwa rozwoju endemicznej (lokalnej – przyp. tłum.) populacji *L. monocytogenes* w zakładach mleczarskich.

9

WNIOSEK

Podczas gdy możnaby sądzić, że posiadamy dostateczną wiedzę na temat *L. monocytogenes* w zwalczaniu wspomnianego zagrożenia w łańcuchu produktów mleczarskich, ostatnie wybuchy epidemii choroby i przypadki wycofywania produktów z rynku powodują postrzeganie, w perspektywie, zdolności omawianego drobnoustroju do zasiedlania licznych nisz ekologicznych i pozostawania w stanie „uśpionym” w środowisku produkcyjnym przez wiele lat. Badanie produktu gotowego nie wystarcza, aby zapewnić bezpieczeństwo produkcji żywności. Skuteczne monitorowanie środowiska przetwórstwa poprzez pobieranie wymazów z powierzchni mających kontakt z żywnością i z nie mających kontaktu pozostaje najbardziej skutecznym proaktywnym sposobem podejścia do zagadnienia redukcji liczby *L. monocytogenes*. Ostatnie osiągnięcia w zakresie śledzenia źródeł zanieczyszczenia, szczególnie przy zastosowaniu metody WGS (sekwencjonowanie całego genomu, patrz rozdział 7, przyp. tłum.), pomagają ukierunkować podejście „genomowe” mające na celu lepszą charakterystykę obecnych szczepów, ich oporności na środki myjące oraz przylegania do powierzchni mających kontakt z produktami mleczarskimi. Środki zwalczania można dostosować lepiej do danego celu, przy odpowiedniej konstrukcji urządzeń zapewniających warunki higieniczne i skuteczne racjonalne uzasadnienie dla stosowania chemicznych środków myjących. W oparciu o równanie (wzór) ICMSF dla bezpiecznej żywności ($H_0 - \Sigma R + \Sigma I \leq FSO$), dobre praktyki doju zmniejszają powszechne występowanie *L. monocytogenes* w zakładzie przetwórstwa mleka (H_0): pasteryzacja zmniejsza zanieczyszczenie (jeśli jest) przetwarzanego mleka zawierającego *L. monocytogenes* (ΣR); „wrodzony” charakter produktu i monitorowanie środowiska produkcyjnego (PEM) zapewnia niepojawianie się przypadków późniejszego (wtórnego) zanieczyszczenia szczepem *L. monocytogenes* ($\Sigma I = \Sigma \text{Wzrost} + \Sigma \text{Zanieczyszczenie}$), w ten sposób spełniając cel bezpieczeństwa żywności (**ang.** Food Safety Objective, FSO) w tym dla bezpiecznych produktów mleczarskich.

10

PODZIĘKOWANIA

Niniejsza publikacja jest sygnowana przez społeczność naukową Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej (**ang.** IDF). Autorzy pragną podziękować Stałemu Komitetowi ds. Higieny Mikrobiologicznej (SCMH), Stałemu Komitetowi ds. Harmonizacji Metod Mikrobiologicznych (SCHMM) oraz Krajowym Komitetom (NC) IDF za wsparcie, komentarze oraz przegląd niniejszego dokumentu.

11

BIBLIOGRAFIA

1. ACMS and Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food (2003) Recent trends in listeriosis in the UK. https://acmsf.food.gov.uk/sites/default/files/mnt/drupal_data/sources/files/multimedia/pdfs/acm667.pdf (Accessed on 02-10-2019).
2. Alessandria, V., Rantsiou, K., Dolci, P. & Cocolin, L. (2010) Molecular methods to assess *Listeria monocytogenes* route of contamination in a dairy processing plant. *International Journal of Food Microbiology*, 141, S156–S62.
3. Alvarez-Ordóñez, A., Leong, D., Morgan, C.A., Hill, C., Gahan, C.G. & Jordan, K. (2015) Occurrence, persistence, and virulence potential of *Listeria ivanovii* in foods and food processing environments in the Republic of Ireland. *BioMed Research International*, Article ID 350526, <https://doi.org/10.1155/2015/350526>.
4. Anonymous (2014) Guidance on the application of microbiological criteria for *Listeria monocytogenes* in RTE food, The Australian and New Zealand food standards system, Food standards Australia New Zealand, 1–13. [http://www.foodstandards.gov.au/foodsafety/standards/Pages/Microbiological-limits-for-food-\(Standard-1.6.1\).aspx](http://www.foodstandards.gov.au/foodsafety/standards/Pages/Microbiological-limits-for-food-(Standard-1.6.1).aspx). (Accessed on 02-10-2019)
5. Aryani, D.C., Zwietering, M.H. & Den Besten, H.M.W. (2016) The effect of different matrices on the growth kinetics and heat resistance of *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus plantarum*. *International Journal of Food Microbiology* 238, 326–37.
6. Archer, D.L. (2018) The evolution of FDA's policy on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in the United States. *Current Opinion in Food Science*, 20, 64–68.
7. Barancelli, G.V., Camargo, T.M., Gagliardi, N.G., Porto, E., Souza, R.A., Campioni, F., Falcão, J.P., Hofer, E., Cruz, A.G. & Oliveira, C.A. (2014) Pulsed-field gel electrophoresis characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from cheese manufacturing plants in São Paulo, Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 173, 21–29.
8. Baranyi, J. & Tamplin, M.L. (2004) ComBase: a common database on microbial responses to food environments. *Journal of Food Protection*, 67, 1967–71.
9. Beaufort, A., Bergis, H., Lardeux, A-L., Polet, M., Botteldoorn, N., Papageorgiou, G., Andersen, J.K., Boel, J., Hickey, B., Prencipe, V., Jacobs-Reitsma, W., Fitz-James, I., Pires Gomes, M.C., Cabanova, L., Sarabia, C.A. & Skjerdal, T. (2014) Eurl Lm technical guidance document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods, Version 3, 1–47. <https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/>

[safety/docs/biosafety_fh_mc technical_guidance_document_listeria_in_rte_foods.pdf](#) (Accessed on 02-10-2019)

10. Beckers, H.J., Soentoro, P.S.S. & Delgou-van Asch, E.H.M. (1987) The occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft cheeses and raw milk and its resistance to heat. *International Journal of Food Microbiology*, 4, 249–56.
11. Bennik, M.H.J., Smid, E.J., Rombouts, F.M. & Gorris, L.G.M. (1995) Growth of psychrotrophic foodborne pathogens in a solid surface model system under the influence of carbon dioxide and oxygen. *Food Microbiology*, 12, 509–19.
12. Beuchat, L., Komitopoulou, E., Betts, R., Beckers, H., Bourdichon, F., Joosten, H., Fanning, S. & Kuile, B. (2011) Persistence and survival of pathogens in dry foods and dry food processing environments. ILSI Europe report series. <http://ilsi.eu/wp-content/uploads/sites/3/2016/06/Persistence-and-survival-report.pdf> (Accessed on 02-10-2019)
13. Belessi, C.E.A., Gounadaki, A.S., Psomas, A.N. & Skandamis, P.N. (2011) Efficiency of different sanitation methods on *Listeria monocytogenes* biofilms formed under various environmental conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 145, S46–S52.
14. Canadian Food Inspection Agency (2008) Cropwell Bishop Creamery finest blue stilton cheese may contain *Listeria monocytogenes*. <http://epe.lac-bac.gc.ca/100/206/301/cfia-acia/2011-09-21/www.inspection.gc.ca/english/corpaffr/recarapp/2008/20081220be.shtml> (Accessed on 02-10-2019)
15. Canadian Food Inspection Agency (2016) *Listeria monocytogenes* food safety investigation Saputo Inc. Georgetown, ON, establishment 1590. <http://www.inspection.gc.ca/food/information-for-consumers/food-safety-investigations/saputo-inc/eng/1481319454061/1481319686139> (Accessed on 02-10-2019)
16. Carpentier, B. & Cerf, O. (2011) Review-Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 1–8.
17. CDC (2013) Multistate outbreak of listeriosis linked to Crave Brothers Farmstead Cheeses (final update). <http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-07-13/> (Accessed on 02-10-2019)
18. CDC (2014) Oasis Brands, Inc. Cheese recalls and investigation of human listeriosis cases (final update). <http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-10-14/index.html> (Accessed on 02-10-2019)
19. CDC (2015a) Multistate outbreak of listeriosis linked to Blue Bell Creameries products (final update):. <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/ice-cream-03-15/> (Accessed on 02-10-2019)
20. CDC (2015b) Multistate outbreak of listeriosis linked to soft cheeses distributed by Karoun Dairies, Inc. (final update). <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/soft-cheeses-09-15/index.html> (Accessed on 02-10-2019)

21. CDC NORS (2018) Centers for Disease Control and Prevention's (CDC) online foodborne disease outbreak database. <http://wwwn.cdc.gov/foodborneoutbreaks/> (Accessed on 02-10-2019)
22. Chen, Y., Ross, W.H., Gray, M.J., Wiedmann, M., Whiting, R.C. & Scott, V.N. (2006) Attributing risk to *Listeria monocytogenes* subgroups: dose response in relation to genetic lineages. *Journal of Food Protection* 69, 335–44.
23. Codex Alimentarius (2007) Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in foods.: http://www.codexalimentarius.org/download/standards/10740/CXG_061e.pdf (Accessed on 02-10-2019)
24. Codex Alimentarius (2013) Principles and guidelines for the establishment and application of microbiological criteria related to foods. http://www.fao.org/input/download/standards/394/CXG_021e.pdf (Accessed on 02-10-2019)
25. Costa, A., Bertolotti, L., Brito, L. & Civera, T. (2016) Biofilm formation and disinfectant susceptibility of persistent and non persistent *Listeria monocytogenes* isolates from Gorgonzola cheese processing plants. *Foodborne Pathogens and Disease*, 13, 602–09.
26. Dalton, C.B., Austin, C.C., Sobel, J., Hayes, P.S., Bibb, W.F., Graves, L.M., Swaminathan, B., Proctor, M.E. & Griffin, P.M. (1997) An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. *New England Journal of Medicine*, 336, 100–06.
27. de Castro, V., Escudero, J., Rodriguez, J., Muniozguren, N., Uribarri, J., Saez, D. & Vazquez, J. (2012) Listeriosis outbreak caused by Latin-style fresh cheese, Bizkaia, Spain, August 2012. *Euro Surveill*, 17, 42. <http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V17N42/art20298.pdf> (Accessed on 02-10-2019)
28. De Buyser, M.L., Dufour, B., Maire, M. & Lafarge, V. (2001) Implication of milk and milk products in foodborne diseases in France and in different industrialised countries. *International Journal of Food Microbiology*, 67, 1–17.
29. de Noordhout, C.M., Devleeschauwer, B., Angulo, F.J., Verbeke, G., Haagsma, J., Kirk, M., Havelaar, A. & Speybroeck, N. (2014) The global burden of listeriosis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 14, 1073–82.
30. Doyle, M.P., Meske, L.M. & Marth, E.H. (1985) Survival of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and storage of nonfat dry milk. *Journal of Food Protection*, 48, 740–42.
31. EFSA (2018) *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. *EFSA Journal*, 16: 5134, 1–173.
32. El-Kest, S.E. & Marth, E.H. (1992) Freezing of *Listeria monocytogenes* and other microorganisms: a review. *Journal of Food Protection*, 55, 639–48.
33. El-Shenawy, M.A. (1998) Sources of *Listeria* spp. in domestic food processing environment. *International Journal of Environmental Health Research*, 8, 241–51.

34. EU Regulation (2005) EU Regulation No 2073/2005: Requirements on microbiological criteria for foodstuffs.
35. EC (2012) Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes*, Version 3. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/biosafety_fh_mc_guidelines_on_sampling.pdf (Accessed on 02-10-2019)
36. Farber, J.M. & Peterkin, P.I. (1991) *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. *Microbiological Reviews*, 55, 476–511.
37. Farber, J.M., Ross, W.H. & Harwig, J. (1996) Health risk assessment of *Listeria monocytogenes* in Canada. *International Journal of Food Microbiology*, 30, 145–56.
38. FDA (2003) Quantitative assessment of relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods.: <https://www.fda.gov/food/cfsan-risk-safety-assessments/quantitative-assessment-relative-risk-public-health-foodborne-listeria-monocytogenes-among-selected> (Accessed on 02-10-2019)
39. FDA (2008) Guidance for industry: Control of *Listeria monocytogenes* in refrigerated or frozen ready-to-eat foods; draft guidance. <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/ucm073110.htm> (Accessed on 02-10-2019)
40. FDA (2018) Draft Guidance for Industry: Hazard Analysis and Risk-Based Preventive Controls for Human Food. Appendix 3. <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/ucm517412.htm> (Accessed on 02-10-2019)
41. FAO-WHO (2016) Applications of whole genome sequencing in food safety management. Technical Background Paper. <http://www.fao.org/3/a-i5619e.pdf> (Accessed on 02-10-2019)
42. Food Safety News (2012) <http://www.foodsafetynews.com/2012/03/listeria-case-prompts-cheese-recall-in-new-jersey/#.VH0l-632-M8> (Accessed on 02-10-2019)
43. Food Safety News (2014) http://www.foodsafetynews.com/2014/12/ice-cream-recalled-for-possible-listeria-contamination/#.VKFR_rACA (Accessed on 02-10-2019)
44. FSANZ (2014) Proposal P1017 – Criteria for *Listeria monocytogenes* – Microbiological Limits for Foods. Available at: <http://www.foodstandards.gov.au/code/proposals/Pages/proposalp1017criteri5439.aspx> (Accessed on 02-10-2019)
45. Gahan, C.G., O’Driscoll, B. & Hill, C. (1996) Acid adaptation of *Listeria monocytogenes* can enhance survival in acidic foods and during milk fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 3128–32.
46. Gandhi, M. & Chikindas, M.L. (2007) *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. *International Journal of Food Microbiology* 113, 1–15.
47. Gaulin, C., Ramsay, D. & Bekal, S. (2012) Widespread listeriosis outbreak attributable to pasteurized cheese, which led to extensive cross-contamination affecting cheese retailers, Quebec, Canada, 2008. *Journal of Food Protection*, 75, 71–78.

48. GB (2016) GB 4789.30-2016 - National food safety standard food microbiological examination: *Listeria monocytogenes*.
49. GMA (2014) *Listeria monocytogenes* guidance on environmental monitoring and corrective actions in at-risk foods. <https://www.gmaonline.org/forms/store/ProductFormPublic/LEMP> (Accessed on 02-10-2019)
50. Health Canada (2011) Policy on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/legislation-guidelines/policies/policy-listeria-monocytogenes-ready-eat-foods-2011.html> (Accessed on 02-10-2019)
51. Hendriksen, R.S., Pedersen, S.K., Leekitcharoenphon, P., Malorny, B., Borowiak, M., Battisti, A., Franco, A., Alba, P., Carfora, V., Ricci, A., Mastroianni, E., Losasso, C., Longo, A., Petrin, S., Barco, L., Wołkiewicz, T., Gierczyński, R., Zacharczuk, K., Wolaniuk, N., Wasyl, D., Zając, M., Wieczorek, K., Pótorak, K., Holmes, L.P., Davies, R., Tang, Y., Grant, K., Underwood, A., Dallman, T., Painset, A., Hartman, H., Al-Shabib, A., Cowley, L. (2018) Final report of ENGAGE - Establishing next generation sequencing ability for genomic analysis in Europe. EFSA Supporting Publications, 15, 1431E, doi: 10.2903/sp.efsa.2018.EN-1431.
52. Hitchins, D.A., Jinneman, K. & Chen, Y. (2017) Bacteriological Analytical Manual (BAM), Chapter 10, Detection of *Listeria monocytogenes* in foods and environmental samples, and enumeration of *Listeria monocytogenes* in foods. <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071400.htm> (Accessed on 02-10-2019)
53. Hunt, K., Drummond, N., Murphy, M., Butler, F., Buckley, J. & Jordan, K. (2012) A case of bovine raw milk contamination with *Listeria monocytogenes*. Irish Veterinary Journal, 65, 13, <https://doi.org/10.1186/2046-0481-65-13>.
54. ILSI (2005) ILSI research foundation. Achieving continuous improvement in reductions in foodborne listeriosis-a risk-based approach. Journal of Food Protection, 68, 1932–94.
55. ISO (2007) ISO 7218:2007 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations. <https://www.iso.org/standard/36534.html> (Accessed on 02-10-2019)
56. ISO (2016) ISO 16140-2:2016 - Microbiology of the food chain - Method validation - Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method. <https://www.iso.org/standard/54870.html> (Accessed on 02-10-2019)
57. ISO (2017a) ISO 11290-1: 2017 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. - Part 1: Detection method. <https://www.iso.org/standard/60313.html> (Accessed on 02-10-2019)
58. ISO (2017b) ISO 11290-2: 2017 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp.

- Part 2: Enumeration method. <https://www.iso.org/standard/60314.html> (Accessed on 02-10-2019)
59. ISO (2017c) ISO/IEC 17025 - General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. <https://www.iso.org/publication/PUB100424.html> (Accessed on 02-10-2019)
60. ISO (2018) ISO 18593: 2018 - Microbiology of the food chain - Horizontal methods for surface sampling. <https://www.iso.org/standard/64950.html> (Accessed on 02-10-2019)
61. Jagadeesan, B., Gerner-Smidt, P., Allard, M.W., Leuillet, S., Winkler, A., Xiao, Y., Chaffron, S., Van Der Vossen, J., Tang, S., Katase, M. & McClure, P. (2019) The use of next generation sequencing for improving food safety: Translation into practice. *Food Microbiology*, 79, 96–115.
62. Jay, J. (2005) *Modern Food Microbiology*, 7th Edition, Aspen publications, 485–510.
63. JEMRA (2004) Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods, MRA Series 4 and 5. http://www.who.int/foodsafety/publications/mra_listeria/en/ (Accessed on 02-10-2019)
64. Jensen, A., Frederiksen, W. & Gerner-Smidt, P. (1994) Risk factors for listeriosis in Denmark, 1989–1990. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 26, 171–78.
65. Jensen, N.E., Aarestrup, F.M., Jensen, J. & Wegener, H.C. (1996) *Listeria monocytogenes* in bovine mastitis. Possible implication for human health. *International Journal of Food Microbiology*, 32, 209–16.
66. Johnsen, B.O., Lingaas, E., Torfoss, D., Strøm, E.H. & Nordøy, I. (2010) A large outbreak of *Listeria monocytogenes* infection with short incubation period in a tertiary care hospital. *Journal of Infection*, 61, 465–70.
67. Jordan, K., Hunt, K., Lourenco, A. & Penone, V. (2018) *Listeria monocytogenes* in the food processing environment. *Current Clinical Microbiology Reports*, 5, 106–19.
68. Kabuki, D.Y., Kuaye, A.Y., Wiedmann, M. & Boor, K.J. (2004) Molecular subtyping and tracking of *Listeria monocytogenes* in Latin-style fresh-cheese processing plants. *Journal of Dairy Science*, 87, 2803–12.
69. Kastbjerg, V.G. & Gram, L. (2012) Industrial disinfectants do not select for resistance in *Listeria monocytogenes* following long term exposure. *International Journal of Food Microbiology*, 160, 11–15.
70. Klausner, R.B. & Donnelly, C.W. (1991) Environmental sources of *Listeria* and *Yersinia* in Vermont Dairy Plants. *Journal of Food Protection*, 54, 607–11.
71. Koch, J., Dworak, R., Prager, R., Becker, B., Brockmann, S., Wicke, A., Wichmann-Schauer, H., Hof, H., Werber, D. & Stark, K. (2010) Large listeriosis outbreak linked to cheese made from pasteurized milk, Germany, 2006–2007. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7, 1581–84.
72. Korany, A.M., Hua, Z., Green, T., Hanrahan, I., El-Shinawy, S.H., El-Kholy, A., Hassan, G. & Zhu, M.J. (2018) Efficacy of ozonated water, chlorine, chlorine dioxide, quaternary

- ammonium compounds and peroxyacetic acid against *Listeria monocytogenes* biofilm on polystyrene surfaces. *Frontiers in Microbiology*, 9, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02296>.
73. Kovac, J., den Bakker, H., Carroll, L.M., Wiedmann, M. (2017) Precision food safety: A systems approach to food safety facilitated by genomics tools. *Trends in Analytical Chemistry*, 96, 52–61.
 74. Kousta, M., Mataragas, M., Skandamis, P. & Drosinos, E.H. (2010) Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control*, 21, 805–15.
 75. Kryszynski, E.P., Brown, L.J. & Marchisello, T.J. (1992) Effect of cleaners and sanitizers on *Listeria monocytogenes* attached to product contact surfaces. *Journal of Food Protection*, 55, 246–51.
 76. Lake, R., Cressey, P. & Hudson, A. (2009) Risk profile: *Listeria monocytogenes* in ice cream. <https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/35355-risk-profile-listeria-monocytogenes-in-ice-cream> (Accessed on 02-10-2019)
 77. Leong, D., Alvarez-Ordóñez, A., Jooste, P. & Jordan, K. (2016) *Listeria monocytogenes* in food: Control by monitoring the food processing environment. *African Journal of Microbiology Research*, 10, 1–14.
 78. Leporq, B., Membre, J.M., Dervin, C., Buche, P., Guyonnet, J.P. (2005). The Sym'Previus software, a tool to support decisions to the foodstuff safety. *International Journal of Food Microbiology*, 100, 231–37.
 79. Linnan, M.J., Mascola, L., Lou, X.D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W., Yonekura, M.L., Hayes, P., Weaver, R. & Audurier, A. (1988) Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *New England Journal of Medicine*, 319, 823–28.
 80. Liu, S., Puri, V.M. & Demirci, A. (2009) Evaluation of *Listeria innocua* as a suitable indicator for replacing *Listeria monocytogenes* during ripening of Camembert cheese. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 29–35.
 81. Lovett, J., Francis, D.W. & Hunt, J.M. (1987) *Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence, and pathogenicity. *Journal of Food Protection*, 50, 188–92.
 82. Luque-Sastre, L., Fox, E.M., Jordan, K. & Fanning, S. (2018) A comparative study of the susceptibility of *Listeria* species to sanitizer treatments when grown under planktonic and biofilm conditions. *Journal of Food Protection*, 81, 1481–90.
 83. Lyytikäinen, O., Autio, T., Maijala, R., Ruutu, P., Honkanen-Buzalski, T., Miettinen, M., Hatakka, M., Mikkola, J., Anttila, V.J., Johansson, T. & Rantala, L. (2000) An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. *Journal of Infectious Diseases*, 181, 1838–41.
 84. Magalhães, R., Almeida, G., Ferreira, V., Santos, I., Silva, J., Mendes, M.M., Pita, J., Mariano, G., Mâncio, I., Sousa, M.M. & Farber, J. (2015) Cheese-related listeriosis outbreak, Portugal, March 2009 to February 2012. *Eurosurveillance*, 20, 21104.

- <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=21104> (Accessed on 02-10-2019)
85. Maijala, R., Lyytikäinen, O., Johansson, T., Autio, T., Aalto, T., Haavisto, L. & Honkanen-Buzalski, T. (2001) Exposure of *Listeria monocytogenes* within an epidemic caused by butter in Finland. *International Journal of Food Microbiology*, 70, 97–109.
 86. Rakic Martinez M, Wiedmann M, Ferguson M, Datta AR (2017) Assessment of *Listeria monocytogenes* virulence in the *Galleria mellonella* insect larvae model. *PLoS ONE* 12(9): e0184557. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184557>.
 87. Mascola et al. (1999) Proceedings of Society for Industrial Microbiology-Comprehensive Conference on *Listeria monocytogenes*, Rohnert Park, CA, Oct. 2–5, Abstr. P-10. Cited in Ryser ET. (1999) Foodborne listeriosis. In *Listeria, Listeriosis and Food Safety* ed. Ryser, E.T. and Marth, E.H. 2nd Edition, Marcel Dekker, New York. p 307.
 88. McIntyre, L., Wilcott, L. & Naus, M. (2015) Listeriosis outbreaks in British Columbia, Canada, caused by soft ripened cheese contaminated from environmental sources. *BioMed Research international*, Article ID 131623, <https://doi/10.1155/2015/131623>. (Accessed on 02-10-2019)
 89. McLaughlin, J., Mitchell, R.T., Smerdon, W.J. & Jewell, K. (2004) *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *International Journal of Food Microbiology*, 92, 15–33.
 90. Mereghetti, L., Quentin, R., Marquet-Van Der Mee, N. & Audurier, A. (2000) Low sensitivity of *Listeria monocytogenes* to quaternary ammonium compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 5083–86.
 91. Metzger, N., Alvarez-Ordóñez, A., Leong, D., Hunt, K. & Jordan, K. (2015) Survival of foodborne pathogens during frozen storage of cheese made from artificially inoculated milk. *Dairy Science and Technology* 95, 759–67.
 92. Muhterem-Uyar, M., Dalmaso, M., Bolocan, A.S., Hernandez, M., Kapetanakou, A.E., Kuchta, T., Manios, S.G., Melero, B., Minarovičová, J., Nicolau, A.I. & Rovira, J. (2015) Environmental sampling for *Listeria monocytogenes* control in food processing facilities reveals three contamination scenarios. *Food Control*, 51, 94–107.
 93. Müller-Herbst, S., Wüstner, S., Mühlig, A., Eder, D., Fuchs, T.M., Held, C., Ehrenreich, A. & Scherer, S. (2014) Identification of genes essential for anaerobic growth of *Listeria monocytogenes*. *Microbiology* 160, 752–65.
 94. Naditz, A.L., Dzieciol, M., Wagner, M. & Schmitz-Esser, S. (2019) Plasmids contribute to food processing environment-associated stress survival in three *Listeria monocytogenes* ST121, ST8, and ST5 strains. *International Journal of Food Microbiology*, 299, 39–46.
 95. News Ontario (2004) Ontario issues warning against Morra Cheese products. <http://news.ontario.ca/archive/en/2004/09/10/Ontario-issues-warning-against-Morra-Cheese-products.html> (Accessed on 02-10-2019)

96. Nightingale, K.K., Schukken, Y.H., Nightingale, C.R., Fortes, E.D., Ho, A.J., Her, Z., Grohn, Y.T., McDonough, P.L. & Wiedmann, M. (2004) Ecology and transmission of *Listeria monocytogenes* infecting ruminants and in the farm environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 4458–67.
97. NSW Communicable Diseases Report (2013) Enteric infections, Outbreaks of suspected foodborne disease. <http://www.publish.csiro.au/NB/pdf/NBv24n3> (Accessed on 02-10-2019)
98. O'Driscoll, B., Gahan, C.G. & Hill, C. (1996) Adaptive acid tolerance response in *Listeria monocytogenes*: isolation of an acid-tolerant mutant which demonstrates increased virulence. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 1693–98.
99. Olszewska, M.A., Zhao, T. & Doyle, M.P. (2016) Inactivation and induction of sublethal injury of *Listeria monocytogenes* in biofilm treated with various sanitizers. *Food Control*, 70, 371–79.
100. Ooi, S.T. & Lorber, B. (2005) Gastroenteritis due to *Listeria monocytogenes*. *Clinical Infectious Diseases*, 40, 1327–32.
101. Paul, M., Baranzoni, G.M., Albonetti, S. & Brewster, J.D. (2015) Direct, quantitative detection of *Listeria monocytogenes* in fresh raw whole milk by qPCR. *International Dairy Journal*, 41, 46–49.
102. Petran, R.L. & Swanson, K.M. (1993) Simultaneous growth of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. *Journal of Food Protection*, 56, 616–18.
103. Pritchard, T.J., Flanders, K.J. & Wright Donnelly, C. (1995) Comparison of the incidence of *Listeria* on equipment versus environmental sites within dairy processing plants. *International Journal of Food Microbiology*, 26(3):375-84.
104. Pouillot, R., Klontz, K.C., Chen, Y., Burall, L.S., Macarisin, D., Doyle, M., Bally, K.M., Strain, E., Datta, A.R., Hammack, T.S. & Van Doren, J.M. (2016) Infectious dose of *Listeria monocytogenes* in outbreak linked to ice cream, United States, 2015. *Emerging Infectious Diseases*, 22, 2113–19.
105. Redfern, J. & Verran, J. (2017) Effect of humidity and temperature on the survival of *Listeria monocytogenes* on surfaces. *Letters in Applied Microbiology*, 64, 276–82.
106. Ronner, A.B. & Wong, A.C. (1993) Biofilm development and sanitizer inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* on stainless steel and Buna-n rubber. *Journal of Food Protection*, 56, 750–58.
107. Ross, T. (2013) Understanding the recent *listeria*-linked cheese recall. <http://theconversation.com/understanding-the-recent-listeria-linked-cheese-recall-12213>. (Accessed on 02-10-2019)
108. Ryser, E.T. & Marth, H. (2007) *Listeria*, Listeriosis, and Food Safety, Third Edition, CRC Press, Taylor and Francis, USA, p 364.

109. Rückerl, I., Muhterem-Uyar, M., Muri-Klinger, S., Wagner, K.H., Wagner, M. & Stessl, B. (2014) *L. monocytogenes* in a cheese processing facility: Learning from contamination scenarios over three years of sampling. *International Journal of Food Microbiology*, 189, 98–105.
110. Schwartzman, M.S., Belessi, X., Butler, F., Skandamis, P. & Jordan, K. (2010) Comparison of growth limits of *Listeria monocytogenes* in milk, broth and cheese. *Journal of Applied Microbiology* 109, 1790–99.
111. Schwartzman, M.S., Belessi, C., Butler, F., Skandamis, P. & Jordan, K. (2011) Effect of pH and Water Activity on the Growth Limits of *Listeria monocytogenes* in a cheese matrix at two contamination levels. *Journal of Food Protection* 74:1805–13.
112. Schlech, W.F. 3rd, Lavigne, P.M., Bortolussi, R.A., Allen, A.C., Haldane, E.V., Wort, A.J., Hightower, A.W., Johnson, S.E., King, S.H., Nicholls, E.S. & Broome, C.V. (1983) Epidemic listeriosis - evidence for transmission by food. *New England Journal of Medicine*, 308, 203–06.
113. Schoder, D., Stessl, B., Szakmary-Brändle, K., Rossmanith, P. & Wagner, M. (2014) Population diversity of *Listeria monocytogenes* in quargel (acid curd cheese) lots recalled during the multinational listeriosis outbreak 2009/2010. *Food Microbiology*, 39, 68–73.
114. Silva, I.M., Almeida, R.C.D.C., Alves, M.A.O. & Almeida, P.F.D. (2003) Occurrence of *Listeria* spp. in critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. *International Journal of Food Microbiology*, 81, 241–48.
115. Simmons, C., Stasiewicz, M.J., Wright, E., Warchocki, S., Roof, S., Kause, J.R., Bauer, N., Ibrahim, S., Wiedmann, M. & Oliver, H.F. (2014) *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. contamination patterns in retail delicatessen establishments in three US states. *Journal of Food Protection*, 77, 1929–39.
116. Skowron, K., Hulisz, K., Gryń, G., Olszewska, H., Wiktorczyk, N. & Paluszak, Z. (2018) Comparison of selected disinfectants efficiency against *Listeria monocytogenes* biofilm formed on various surfaces. *International Microbiology*, 21, 23–33.
117. Sutherland, P.S. & Porritt, R. J. (1997) *L. monocytogenes*. In A.D. Hocking, G. Arnold, I. Jenson, K. Newton & P. Sutherland, (Eds.). *Foodborne Microorganisms of Public Health Significance*, North Sydney: AIFST (NSW Branch) Food Microbiology Group, 5th ed., pp. 333–78.
118. Taylor, M.H., Tsai, H.C., Rasco, B., Tang, J. & Zhu, M.J. (2018) Stability of *Listeria monocytogenes* in wheat flour during extended storage and isothermal treatment. *Food Control*, 91, 434–39.
119. Todd, E.C.D. (2011) Food Control Special Issue: *Listeria* regulation, 22, 9, 1477–1550.
120. USDA (2018) Agricultural Research Service, Pathogen Modeling Program (PMP) Online, <https://pmp.errc.ars.usda.gov/PMPOnline.aspx#nogo> (Accessed on 02-10-2019)

121. USFDA (2016) FDA resolves criminal and civil actions against cheese manufacturer, <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm482839.htm> (Accessed on 02-10-2019)
122. USFDA (2019) FDA suspends food facility registration of Working Cow Homemade, Inc., <https://www.fda.gov/Food/RecallsOutbreaksEmergencies/SafetyAlertsAdvisories/ucm624256.htm> (Accessed on 02-10-2019)
123. Verraes, C., Vlaemynck, G., Van Weyenberg, S., De Zutter, L., Daube, G., Sindic, M., Uyttendaele, M. & Herman, L. (2015) A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk. *International Dairy Journal*, 50, 32–44.
124. Valderrama, W.B. & Cutter, C.N. (2013) An ecological perspective of *Listeria monocytogenes* biofilms in food processing facilities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 801–17.
125. Welshimer, H.J. & Donker-Voet, J. (1971) *Listeria monocytogenes* in nature. *Applied Microbiology*, 21, 516–19.
126. Wemmenhove, E., van Valenberg, H.J.F., van Hooijdonk, A.C.M., Wells-Bennik, M.H.J. & Zwietering, M.H. (2018) Factors that inhibit growth of *Listeria monocytogenes* in nature ripened Gouda cheese: A major role for undissociated lactic acid. *Food Control* 84, 413–18.
127. Yde, M., Naranjo, M., Mattheus, W., Stragier, P., Pochet, B., Beulens, K., De Schrijver, K., Van den Branden, D., Laisnez, V., Flipse, W., Leclercq, A., Lecuit, M., Dierick, K. & Bertrand, S. (2012) Usefulness of the European epidemic intelligence information system in the management of an outbreak of listeriosis, Belgium, 2011. *Eurosurveillance*, 17 (38). <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.17.38.20279-en> (Accessed on 02-10-2019)

Tabela 1. Przykłady wycofania z handlu produktów mleczarskich z powodu obecności *Listeria monocytogenes* w ciągu ostatnich 5 lat

Produkt mleczarski	Data wycofania	Typ lub marka	Kraj	Związane z chorobą przenoszoną drogą pokarmową/wybuch choroby
Masło	Marzec 2016	Masło smakowe Tesco	Zjedn. Królestwo W. Brytanii	Nie
	Lipiec 2017	Perron and Beurre de Luc	Kanada	Nie
	Lipiec 2017	St Laurent	Kanada	Nie
	Styczeń 2018	Masło Plaquette	Belgia	Nie
	Czerwiec 2019	Masło spółdzielni Bandon	Irlandia	Nie
Ser	Styczeń 2015	Ser miękki Queseria Bendita i ukwaszona śmietana	USA	Tak
	Wrzesień 2015	Produkt do smarowania oparty na serze Picnic Gourmet	USA	Nie
	Wrzesień 2015	Ser z zakładów mleczarskich Karoun	USA i Kanada	Tak
	Październik 2015	Dip serowy ze świeżym serem letnim	Kanada	Nie
	Listopad 2015	Ser cheddar Inverloch	Kanada	Nie
	Grudzień 2015	Ser rozdrobniony Bothwell	Kanada	Nie
	Kwiecień 2016	Ser Ricotta z mleka pełnego Kopobbi	USA	Nie
	Kwiecień 2016	Miękki ser irlandzki Brewers Gold	W. Brytania	Nie
	Październik 2016	Ser Kuster	USA	Nie
	Luty 2017	Ser Fromi	USA	Nie
	Luty 2017	Związek Producentów Mleka w Michigan (Saputo), ser Deutche Käse Haus	USA	Nie
	Maj 2017	Ser świeży Queso (Global Garlic Inc.)	USA (pochodzący z Nikaragui)	Nie
	Październik 2017	Ser Little Milk Co.	Irlandia	Nie
	Styczeń 2018	Śer śmietankowy z rybą	USA	Nie
	Styczeń 2018	Ser śmietankowy Panera Bread	USA	Nie
	Kwiecień 2018	Ser z zakładu produkującego ser brie, Exploateur, dojrzewający ser miękki	USA (ser z Francji)	Nie
	Listopad 2018	Ser Green Cedar Ackawi	USA	Nie
	Listopad 2018	Ser Sprout Creek Margie	USA	Nie
	Styczeń 2019	Ser Yorkshire – Brie Barncliffe	Zj. Królestwo W. Brytanii	Nie
	Luty 2019	JOD – Produkty spożywcze – Irlandzki ser cheddar z chilli	Irlandia	Nie
Kwiecień 2019	Zakład produkujący ser Brie (Société Fromagère)	Francja (i inne kraje)	Tak	
Czerwiec 2019	Ser tarty średnio zabarwiony firmy Lactalis McLelland Galloway	W. Brytania/Szkocja	Nie	
Lipiec 2019	Damse Mokke Koe (biały ser pleśniowy – przyp. tłum.)	Belgia/UE	Nie	

Produkt mleczarski	Data wycofania	Typ lub marka	Kraj	Związane z chorobą przenoszoną drogą pokarmową/wybuch choroby
Śmietana	Sierpień 2015	Pasteryzowana śmietanka „tortowa” z W. Brytanii – dotyczy wielu firm	W. Brytania	Nie
Deser mleczarski	Czerwiec 2019	Firma Cadbury Zj. Król. (Müller, UK)	Zj. Król. W. Brytanii	Nie
Lody	Styczeń 2015	Lody Ful Tilt	USA	Nie
	Styczeń 2015	Lody Pinks	USA	Nie
	Marzec 2015	Lody Blue Bell	USA	Tak
	Kwiecień 2015	Lody Jen’s Splendid	USA	Nie
	Czerwiec 2016	Lody Agave	USA	Nie
	Wrzesień – październik 2016	Lody Blue Bell drugie wycofanie produktu		Nie
	Październik 2016	Lody Nestle	USA	Nie
	Październik 2016	Lody Publix	USA	Nie
	Październik 2016	Lody Blue Bunny	USA	Nie
	Październik 2016	Lody czekoladowe Shoppe	USA	nie
	Listopad 2016	Niskotłuszczowe lody z kruszonym ciastem od Weight Watchers	USA	Nie
	Listopad 2016	Lody Ashbey Sterling	USA	Nie
	Listopad 2016	Lody Cedar Crest	USA	Nie
	Listopad 2016	Lody z zakładu AC Creamery	USA	Nie
	Listopad 2016	Lody Agave	USA	Nie
	Listopad 2016	Lody z zakładu z Los Angeles (L.A. Creamery)	USA	Nie
	Listopad 2016	Lody Mc Connell	USA	Nie
	Grudzień 2016	Lody firmy Foxy	USA	Nie
	Grudzień 2016	Lody firmy Snow Monkey	USA	Nie
	Kwiecień 2017	Lody z wanilią firmy Wholesome Foods	USA	Nie
	Styczeń 2018	Lody firmy Fieldbrook Foods	USA	Nie
	Wrzesień 2018	Lody firmy Reilly Craft Creamery	USA	Nie
	Październik 2018	Lody firmy Working Cow Homemade	USA	Tak
Mleko spożywcze	Czerwiec 2016	Mleko smakowe czekoladowe firmy Neilson	Kanada	Tak

Tabela 2. Przypadki wybuchu epidemii *L. monocytogenes*, dostępne w literaturze i na stronach internetowych, związane z handlowymi pasteryzowanymi produktami mleczarskimi (od 1985 roku)

Data	Produkt mleczarski	Kraj	Serotyp organizmu chorobotwórczego	Źródło organizmu chorobotwórczego, jeśli znane	Liczba zachorowań	Liczba zgonów	Literatura
1985	Ser miękki w stylu meksykańskim	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	142	52	Linnan i wsp., (1988)
1987	Masło	USA	<i>L. monocytogenes</i> , serotyp 1/2a	Nieznane	11	0	Mascola i wsp., (1999)
1989-1990	Ser z błękitną pleśnią/ser twardy	Dania	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	26	6	Jensen i wsp. (1994)
1994	Mleko smakowe czekoladowe	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	52	0	De Buyser i wsp. (2001)
1994	Mleko	USA	<i>L. monocytogenes</i> 1/2b	Zanieczyszczenie popasteryzacyjne	45	Nie podano	Dalton i wsp., (1997)
1998 – 1999	Masło	Finlandia	<i>L. monocytogenes</i> 3a	Uporzeczywy szczep w zakładzie mleczarskim, zanieczyszczenie popasteryzacyjne	25	6	Lyttikäinen i wsp., (2000)
2002	Ser dojrzewający miękki	Kanada	<i>L. monocytogenes</i> 4b	Prawdopodobnie nastąpiła transmisja środowiskowa ze zwierząt gospodarskich na pracowników i kultur mleczarskich stosowanych podczas produkcji sera	49	0	McIntyre i wsp., (2015)
2002	Ser dojrzewający miękki	Kanada	<i>L. monocytogenes</i> 4b	Zidentyfikowano ptaki jako prawdopodobne źródło zanieczyszczenia dostaw wody w zakładzie mleczarskim i sera podczas etapu płukania skrzepu	86	0	McIntyre i wsp., (2015)
2003	Masło	Zj. Król. W. Brytanii	<i>L. monocytogenes</i> , typ V, serotyp 4 b, fag typu A	Wyizolowana próbka masła pochodząca z kratki ściekowej z zakładzie mleczarskim	17	0	ACMS i Komitet Doradczy ds. Bezpieczeństwa Mikrobiologicznego Żywności (2003)
2004	Ser morra bocconcini	Kanada	<i>L. monocytogenes</i>	Niedostateczna pasteryzacja mleka	1	0	News Ontario (2004)
2006	Ser	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	3	1	CDC NORS (2018)
2006-2007	Ser (skrzep kwasowy)	Niemcy	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	189	Nie podano	Koch i wsp., (2010)
2007	Mleko (smakowe i zwykłe)	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Środowiskowe zanieczyszczenie krzyżowe (szczególnie kratki ściekowe) w obszarze produktów gotowych	5	3	CDC NORS (2018)

Data	Produkt mleczarski	Kraj	Serotyp organizmu chorobotwórczego	Źródło organizmu chorobotwórczego, jeśli znane	Liczba zachorowań	Liczba zgonów	Literatura
2008	Ser świeży w typie meksykańskim, queso fresco	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Zanieczyszczenie urządzeń po etapie pasteryzacji	13	2	CDC NORS (2018)
2008	Ser	Kanada	<i>L. monocytogenes</i>	Krzyżowe zanieczyszczenie urządzeń produkcyjnych (solanka hipotetycznie potencjalnym źródłem, ale nie udowodniono)	38	5	Gaulin i wsp. (2012)
2008	Ser Blue Stilton (Cropwell)	Kanada	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	1	0	Kanadyjska Inspekcja Żywności (2008)
2008	Ser w stylu meksykańskim	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	8	0	CDC NORS (2018)
2009 – 2010	Ser camembert (z pasteryzowanego mleka)	Norwegia	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	17	3	Johnsen i wsp. (2010)
2009 – 2012	Ser Queijo fresco	Portugalia	<i>L. monocytogenes</i> IVb	Problemy w zakładzie serowarskim, prawdopodobnie zanieczyszczenie krzyżowe	30	11	Magalhães i wsp. (2015)
2009 – 2010	Ser Quargel (skrzep)	Austria/Niemcy/Republika Czeska	<i>L. monocytogenes</i> 1/2a	Zanieczyszczenie urządzeń produkcyjnych przez insekty	34	8	Schoder i wsp. (2014)
2009	Ser w stylu meksykańskim	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	18	0	CDC NORS (2018)
2009	Ser w stylu meksykańskim	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	8	0	CDC NORS (2018)
2010	Queso fresco i inne sery miękkie (Queseria soft cheeses)	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	5	1	CDC NORS (2018)
2010	Ser w stylu meksykańskim	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	6	1	CDC NORS (2018)
2011	Ser twardy	Belgia	<i>L. monocytogenes</i> 1/2a	Nieznane	12	4	Yde i wsp. (2012)
2012	Świeży ser w typie latynoskim	Hiszpania	<i>L. monocytogenes</i>	Po pasteryzacji i podczas przygotowywania	2	0	De Castro i wsp. (2012)
2012	Sery camembert i brie (z pasteryzowanego mleka)	Australia	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane (źródła nie znaleziono)	26	4	Ross (2013)

Data	Produkt mleczarski	Kraj	Serotyp organizmu chorobotwórczego	Źródło organizmu chorobotwórczego, jeśli znane	Liczba zachorowań	Liczba zgonów	Literatura
2012	El Rancho del Sur, ser miękki	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	1	0	Food Safety News (2012)
2013	Bitka śmietanka (w proffiterolkach-ptysiach)	Australia	<i>L. monocytogenes</i>	Zanieczyszczenie urządzeń po etapie pasteryzacji	3	1	NSW Communicable Diseases Report (2013)
2013	Ser	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Nieodpowiednie obchodzenie się podczas etykietowania produktu	6	2	CDC (2013)
2013	Ser w stylu meksykańskim	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	9	1	CDC NORS (2018)
2014	Pół-miękki ser w stylu latynoskim (Cajjada en Terron)	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Krzyżowe zanieczyszczenie i zła praktyka higieniczna w zakładzie, przeciekający dach, rdzewiejące i psujące się urządzenia oraz pozostałości żywności na urządzeniach nawet po myciu	11	1	USFDA (2016)
2014	Pół-miękki ser w stylu latynoskim, zwany quesito casero (Oasis Brand)	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Krzyżowe zanieczyszczenie w środowisku produkcyjnym zakładu	5	1	CDC (2014)
2014	Lody	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Krzyżowe zanieczyszczenie w zakładzie – stwierdzone w urządzeniach produkcyjnych	2	0	Food Safety News (2014)
2015	Różne odmiany sera miękkiego (Queseria Bendita Brand)	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Nieznane	3	1	USFDA (2015)
2015	Lody Blue bell	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Urządzenia w zakładzie produkcyjnym powiązane ze szczytem epidemicznym, chroniczne problemy z myciem i dezynfekcją, wspomniany szczyt stwierdzony w napełniarkach kartonów i urządzeniach do mycia. Liczba bakterii coli wskazuje na problem (>100 jtk/g).(uważa się że epidemia rozpoczęła się w 2010 roku – śledzenie retrospektywne).	10	3	CDC (2015a)
2015	Różne odmiany pasteryzowanego miękkiego sera (Kaoron Dairies)	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Podawane przypadki śledzone od 2010 roku. Prawdopodobnie krzyżowe zanieczyszczenie pochodzące z zakładu produkcyjnego, ale konkretnego źródła (np. urządzenia) nie podano.	30	3	CDC (2015b)

Data	Produkt mleczarski	Kraj	Serotyp organizmu chorobotwórczego	Źródło organizmu chorobotwórczego, jeśli znane	Liczba zachorowań	Liczba zgonów	Literatura
2016	Częściowo odtłuszczone smakowe mleko czekoladowe (Saputo Inc)	Kanada	<i>L. monocytogenes</i>	Pobranie próbek ze środowiska potwierdziło obecność szczepu epidemicznego <i>L. monocytogenes</i> na urządzeniach stosowanych po pasteryzacji w produkcji smakowego mleka czekoladowego jak również na powierzchniach nie mających kontaktu z żywnością (non-FCS)	34	0	Kanadyjska Inspekcja Żywności (2016)
2018	Lody	USA	<i>L. monocytogenes</i>	Niehygieniczne warunki produkcji. Ten sam szczep <i>Listerii</i> w środowisku produkcyjnym i u pacjentów.	3	0	USFDA (2019)
2019	Ser	Francja	<i>L. monocytogenes</i>	Nie stwierdzone ale możliwe zanieczyszczenie krzyżowe, ponieważ firma produkuje sery z mleka surowego jak i pasteryzowanego	2	2 (osoba dorosła/plód (ser z mleka surowego))	Food Safety News (2019)

Tab. 3. Tabelaryczne zestawienie parametrów wzrostu *L. monocytogenes*

Warunki wzrostu	
Temperatura	Zakres: 0.6 – 45°C Optimum: 37°C
pH	Zakres: 4.4 – 9.4 (minimum 5.2 w produkcie fermentowanym)
Atmosfera	Fakultatywny beztlenowiec
Aktywność wody	Minimum $a_w = 0.92$
Toksyczność lub zakażenie	Zakażenie
Dynamika inaktywacji /przeżywalności	
Temperatura inaktywacji	Inaktywacja (wartość D) w temp. 72°C/0.9 – 2.7 sek w mleku Przeżywa w warunkach chłodniczych (-18 do -20°C)
pH	Wykazano tolerancję na ostry stres kwasu (pH 3.5) wywołaną poddaniem na działanie łagodnej kwasowości (pH 5.5) przez pewien okres czasu
Aktywność wody	Przeżywa $a_w \leq 0.83$
Hamowanie	Inaktywacja sorbinianem potasu (2000 – 3000 ppm)

Tab. 4 . Przykłady inaktywacji (redukcja log) biofilmów z *L. monocytogenes* (48 – 72 h) przy stosowaniu powszechnie stosowanych środków dezynfekcyjnych na różnych typach powierzchni (kompilacja na podstawie Korany i wsp., 2018; Krysiński i wsp., 1992; Ronner i Wong, 1993; Skowron i wsp., 2018).

Testowany środek dezynfekcyjny	Redukcja log (powierzchnia stal nierdzewna)	Redukcja log (powierzchnia guma)	Redukcja log (powierzchnia poliester/poliuretan)	Redukcja log (powierzchnia polistyren)
Chlor (podchloryn sodu)	(1-5 min, 0.5%) 1.97 – 3.55 (2 min, 100 ppm 4.5 (10 min.) 1.3	(1 – 5 min, 0.5%) 1.79 – 2.21	(10 min.) <1	(1 min, 200 ppm) 2.57
Kwas nadoctowy (z nadtlenkiem wodoru lub bez)	(1 – 5 min., 0.5% 6.63 (10 min.) (>4)	(1 – 5 min, 0.5%) 5.10 – 5.70	(10 min.) 1.4	(1 min, 200 ppm) 3.85
Środki kwasowo-anionowe	(2 min. 200 ppm) 4 – 5 (10 min.) (>4)	(2 min, 200 ppm) <1	(10 min.) <1	-
QAC (czwartorzędowe związki amoniowe)	(1 min, 200 ppm) 4 (1 – 5 min, 0.5%) 4.06 – 5.01 (>4)	(1 – 5 min, 0.5%) 1.72 – 3.14	(10 min.) 1.4)	(1 min, 400 ppm) 2.20

