

**KONTROLA *LISTERIA MONOCYTOGENES* U POGONIMA ZA  
PROIZVODNJU HRANE\***  
*CONTROL OF LISTERIA MONOCYTOGENES IN FOOD PRODUCTION  
PLANTS*

Mirjana Dimitrijević, N. Karabasil, Nataša Kilibarda, V. Teodorović,  
M. Ž. Baltić\*\*

*L. monocytogenes* je ustanovljena u različitim pogonima za proizvodnju hrane, uključujući mlekare, klanice, pogone za obradu i preradu ribe, kao i one za pripremu hrane spremne za jelo (RTE-Ready to eat), što se razmatra kao primarni mehanizam kontaminacije hrane ovom bakterijom. Kontaminirana proizvodna oprema je takođe brojna i raznolika, jer poseduje pojedine delove koji su nepristupačni za propisno čišćenje i dezinfekciju. Temperatura, mesto, kao i materijal radne površine takođe su povezani sa kontaminacijom pogona ovom bakterijom.

Dosadašnja istraživanja su doprinela boljem razumevanju načina i vremena kontaminacije namirnica u toku proizvodnog procesa, ali i dalje ima nerazjašnjenih problema, među kojima je svakako najveći adherencija bakterija i stvaranje biofilma, pri čemu je bakterija u tom stanju otpornija na tzv. stres faktore koji se uobičajeno koriste u industriji hrane u cilju dekontaminacije površina sa kojima hrana dolazi u kontakt.

Kontrola *L. monocytogenes* u pogonima za proizvodnju hrane moguća je prvenstveno primenom integrisanog programa, kompatibilnog sa sistemima Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) i Good Hygienic Practice (GHP), neophodnih u proizvodnji hrane bezbedne za potrošača. U osnovi, kontrolne mere koje mogu da doprinesu smanjenju učestalosti nalaza *L. monocytogenes* u gotovom proizvodu, kao i smanjenju nivoa kontaminacije ovom bakterijom su sa

\* Rad saopšten na simpozijumu "Bezbednost namirnica animalnog porekla", Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Beograd 16 i 17. oktobar 2008. godine

\*\* Dr sci. med. vet. Mirjana Dimitrijević, docent, dr sci. med. vet. Neđeljko Karabasil, docent, Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; mr sci. med. vet. Nataša Kilibarda, Veterinarski specijalistički institut "Subotiča", Subotica; dr sci. med. vet. Vlado Teodorović, redovni profesor, dr sci. med. vet. Milan Ž. Baltić, redovni profesor, Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

*jedne strane vezane za postupke higijene u proizvodnom procesu, a sa druge za tehnološke postupke u njemu.*

*Ključne reči: Listeria monocytogenes, pogoni za proizvodnju hrane, kontrola*

### **Alimentarna listerioza / *Alimentary listeriosis***

Termin "alimentarna listerioza" se koristi za pojavu listerioze kod ljudi, nastalu kao posledica infekcije preko hrane, i najčešće je povezana sa nedovoljnim znanjem o patogenim bakterijama koje se mogu preneti hranom i izazvati oboljenja. Serijom izbijanja infekcija u Severnoj Americi tokom osamdesetih godina, generalno je prihvaćeno da je hrana glavni izvor infekcije i sredstvo prenošenja listerioze na ljude. Iako je listerioza relativno retko oboljenje kod ljudi (sa manje od deset slučajeva na milion osoba), veoma je aktuelno i zabrinjavajuće, s obzirom na visoku stopu mortaliteta (od 20%) (Gellin i Broome, 1989). Manifestacije listerioze kod ljudi mogu se podeliti u dve kategorije: invazivna (septikemična forma) i ne-invazivna listerioza.

Invazivnoj listeriozi prethodi inicijalna infekcija digestivnog trakta sa *L.monocytogenes*, nakon koje dolazi do infekcije drugih organa i tkiva kao što su gravidni uterus, CNS, ili više organa odjednom. Ovaj oblik infekcije je redak, sa učestalošću na godišnjem nivou od 2-9 slučajeva na milion, ali sa visokom stopom smrtnosti, koja se kreće od 20% do 30% (Mead *et al.*, 1999; Anonymous 2003a). Vreme inkubacije kod ove forme oboljenja varira od jednog dana do nekoliko nedelja. Infektivna doza je nepoznata i pretpostavlja se da je individualna (Crum, 2002).

Neinvazivna listerioza (koja je označena kao febrilni listerialni gastroenteritis) praćena je tokom mnogobrojnih epidemija gde su se u većini slučajeva ispoljavali simptomi gastroenteritisa (dijareja, temperatura, bolovi u glavi i mišićima), kao i dermatitisa, nakon kratkog perioda inkubacije od 18h do 28h (Aureli i sar., 2000; Sim i sar., 2002). Ove epidemije su uglavnom nastale kao posledica ingestije visokih doza *L. monocytogenes* ( $1.9 \times 10^5$ - $1.6 \times 10^9$  cfu/g) od strane klinički zdravih osoba (Frye sar., 2002). Stopa incidencije i faktori uključeni u ovu infektivnu formu neinvazivne listerioze još uvek nisu u potpunosti poznati.

### **Prisustvo *L.monocytogenes* u namirnicama animalnog porekla / *Presence of L. monocytogenes in foods of animal origin***

Kao najčešći izvor infekcije kod ljudi smatra se kontaminirana hrana (oko 90% obolelih) (Mead *et al.*, 1999). Kao kontaminent *L. monocytogenes* se pojavljuje kod mnogih vrsta namirnica, kako animalnog, tako i biljnog porekla. Mnoge domaće i divlje životinje (ovce, krave, koze, zečevi, psi, mačke, jeleni i pilići) mogu pasivno da nose uzročnika, a samim tim i da predstavljaju značajan

rezervoar ovog mikroorganizma. Epidemiološko-epizootiološki aspekt listerioze (rasprostranjenost *L. monocytogenes* u životnoj sredini i hrani), otkrivanje izvora zaraze i način prenošenja na ljude i životinje, veoma je čest predmet izučavanja brojnih istraživača. Ustanovljeno je da njeno prisustvo u hrani može biti posledica postprocesne kontaminacije u proizvodnoj okolini, unakrsne kontaminacije usled manipulacije hranom, ili nakon kontakta sa kontaminiranim površinama ili drugom hranom u okolini skladištenja.

Tabela 1. *Epidemije alimentarne listerioze / Table 1. Epidemics of alimentary listeriosis*

| Izvor infekcije /<br><i>Source of infection</i>                                    | Godina /<br><i>Year</i> | Broj slučajeva<br>(smrtnih) /<br><i>Number of cases<br/>(fatalities)</i> | Zemlja /<br><i>Country</i> | Reference /<br><i>Reference</i> |
|--|-------------------------|--|----------------------------|---------------------------------|
| Pasterizovano mleko /<br><i>Pasteurized milk</i>                                   | 1983                    | 49 (14)  | USA                        | Fleming i sar. 1985             |
| Meksički sir / <i>Mexican cheese</i>   | 1985                    | 142 (48)   | USA                        | Linnan i sar. 1988              |
| Meki sir / <i>Soft cheese</i>  | 1983-87                 | 122 (34)   | Švajcarska                 | Bille 1990                      |
| Pate / <i>Pate</i>   | 1987-89                 | 366 (nepoznat)   | UK                         | McLauchlin i sar. 1991          |
| Blue mould ili tvrdi sir /<br><i>Blue mould or hard cheese</i>                     | 1989-90                 | 27 (nepoznat)  | Danska                     | Jensen i sar. 1994              |
| Rakovi <sup>a</sup> / <i>Shellfish<sup>a</sup></i>                                 | 1989                    | 10 (0)   | USA                        | Riedo i sar. 1994               |
| Procesirano meso ili pate /<br><i>Processed meat or pate</i>                       | 1990                    | 11 (nepoznat)  | Australija                 | Watson i Ott 1990               |
| Svinjski jezici u želeu /<br><i>Pig tongues in gelatin</i>                         | 1992-93                 | 279 (85)   | Francuska                  | Goulet i sar. 1993              |
| Rillettes / <i>Rillettes</i>   | 1993                    | 38 (1)   | Francuska                  | Goulet i sar. 1998              |
| Salata od pirinča <sup>a</sup> /<br><i>Rice salad<sup>a</sup></i>                  | 1993                    | 18 (0)   | Italija                    | Salamina i sar. 1996            |
| Čokoladno mleko <sup>a</sup> /<br><i>Chocolate milk<sup>a</sup></i>                | 1994                    | 48 (0)   | USA                        | Dalton i sar. 1997              |
| Pastrmka / <i>Trout</i>  | 1994-95                 | 8 (2)  | Švedska                    | Ericsson i sar. 1997            |
| Sir od sirovog mleka /<br><i>Cheese made from raw milk</i>                         | 1995                    | 20 (0)   | Francuska                  | Goulet i sar. 1995              |
| Pastrmka <sup>a</sup> / <i>Trout<sup>*</sup></i>                                   | 1997                    | 5 (0)  | Finska                     | Miettinen i sar. 1999           |
| Salata od tune i kukuruza <sup>a</sup> /<br><i>Tuna and corn salad<sup>a</sup></i> | 1997                    | 1566 (0)   | Italija                    | Aureli i sar. 2000              |
| Mesni proizvodi /<br><i>Meat products</i>  | 1998                    | 40 (4)   | USA                        | Anonymous 1998                  |
| Rillettes / <i>Rillettes</i>   | 1999-2000               | 10 (3)   | Francuska                  | De Valk i sar. 2001             |
| Svinjski jezici u želeu /<br><i>Pig tongues in gelatin</i>                         | 1999-2000               | 32 (5)   | Francuska                  | De Valk i sar. 2001             |

| nastavak Tabele 1. / cont. Table 1                   |         |        |             |                  |
|--|---------|--------|-------------|------------------|
| Deli ćureće meso /<br><i>Deli turkey meat</i>        | 2000    | 29 (4) | USA         | Anonymous 2000   |
| RTE meso <sup>a</sup> / <i>RTE meat</i> <sup>a</sup> | 2000    | 7 (0)  | Novi Zeland | Sim i sar. 2002  |
| RTE meso <sup>a</sup> / <i>RTE meat</i> <sup>a</sup> | 2000    | 21 (0) | Novi Zeland | Sim i sar. 2002  |
| Meksički sir / <i>Mexican cheese</i>                 | 2000-01 | 12 (0) | USA         | Anonymous 2001   |
| Ćuretina <sup>a</sup> / <i>Turkey</i> <sup>a</sup>   | 2001    | 16 (0) | USA         | Frye i sar. 2002 |

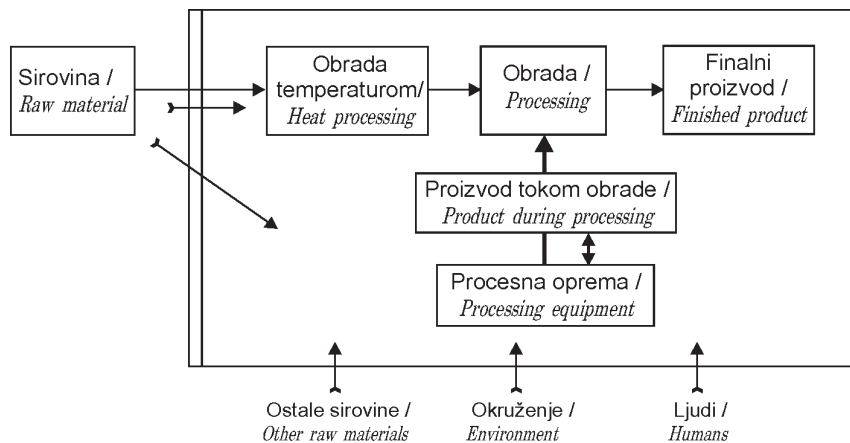
Legenda: <sup>a</sup> ...gastroenteritis / *gastroenteritis*

Tako je *L. monocytogenes* izolovana iz različitih namirnica, ali najčešće iz sirove hrane. Iako je nađena u sirovoj ribi i mleku, čini se da je ova bakterija prisutnija kod goveđeg, svinjskog i živinskog mesa (Johansson i sar. 1999, Jayarao i Henning 2001). Nalaz *L. monocytogenes* u hrani spremnoj za jelo (RTE), koja obuhvata širok spektar različitih namirnica, kreće se od niskog do veoma visokog. Naročiti rizik predstavljaju proizvodi kod kojih je u toku proizvodnje uključena manipulacija, kao na primer, slajsovanje. Hladno dimljeni proizvodi od ribe predstavljaju takođe, veoma rizične namirnice (Johansson i sar. 1999, Loncarevic i sar. 1996, Dimitrijević 2007). Ustanovljeno je da je nalaz ovog patogena veći kod vakuum pakovanih proizvoda od ribe, nego kod nevakumiranih (Keto i Rahkio 1998, Dimitrijević 2007). Među mlečnim proizvodima, naročito meki sirevi su često kontaminirani ovom bakterijom, ali se listerija takođe može naći i u drugim sirevima i mlečnim proizvodima.

#### **Prisustvo *L.monocytogenes* u pogonima za proizvodnju hrane / Presence of *L.monocytogenes* in food production plants**

Poznato je da je *L. monocytogenes* široko rasprostranjena u prirodi, pa stoga postoji velika verovatnoća da se hrana često može kontaminirati tokom proizvodnje i skladištenja i na taj način postati izvor infekcije za ljude (Shema 1). Ustanovljeno je da je ova bakterija čest kontaminant proizvodnih pogona. Dokazana je i u sirovinama, proizvodnoj okolini, na opremi i u finalnom proizvodu (Dauphin i sar., 2001; Fannesbech i sar., 2001; Berrang 2002; Hansen i sar., 2006). Izolovana je kako iz delova pogona gde se obrađuje sirovina, tako i u delovima nakon termičke obrade (Thevenot i sar., 2005). Ustanovljena je u različitim pogonima za proizvodnju hrane, uključujući mlekare, klanice i one za pripremu hrane spremne za jelo (RTE). Uglavnom je više bila prisutna u proizvodnoj okolini i delovima koji nisu u kontaktu sa namirnicama. Stoga, kontaminacija proizvodne okoline ne mora uvek da uslovi kontaminaciju opreme unutar iste fabrike (Pritchard i sar., 1995). Najčešće navedena mesta na kojima je dokazana ova bakterija, a koja nisu u dodiru sa hranom su podovi, zidovi, kamioni, cipele, vrata, kvake na vratima i toaleti (Norton i sar., 2001; Suihko i sar., 2002). Mesta u kontaktu sa hranom uglavnom budu kontaminirana od proizvodne opreme, ali je

takođe oprema radnika zabeležena kao rezervoar *L. monocytogenes*. Kontaminirana proizvodna oprema je brojna i raznolika, a uključuje kontejnere, bazene za prihvatanje namirnica, mašine za hlađenje i smrzavanje, mašine za skidanje kože, sečenje, rezanje, filetiranje i pakovanje (Aguado i sar., 2001; Miettinen i sar., 2001; Norton i sar., 2001; Chasseignaux i sar., 2002; Lunden i sar., 2002; Suihko i sar., 2002). Kako ova oprema ima pojedine delove koji su nepristupačni, teško se čiste i dezinfikuju, stoga ne iznenađuje čest nalaz *Listeria monocytogenes* na njima.



Shema 1. Mogući putevi kontaminacije gotovog proizvoda / Schematic presentation 1. Possible pathways of contamination of finished product

U radovima Chasseignaux i sar. (2002) se navodi da su temperatura i mesto radne površine takođe povezani sa nalazom listerija u proizvodnim pogonima. Dokazana je na radnim površinama pri niskim temperaturama, dok je nalaz manji pri višim temperaturama ( $> 10^{\circ}\text{C}$ ). Isti autori takođe ukazuju na to da su materijal i stanje površine bitni za prisustvo listerija na njima, koje je veće na oštećenim, neravnim površinama, ali i na onim koje nisu od metala.

U klanicama za goveda i svinje *L. monocytogenes* je takođe prisutna. Žive životinje su rezervoari listerije, jer se one normalno nalaze u fecesu, tonzilama i na koži (Bunčić i sar., 1991, 2001). Smatra se da se pojedine listerije mogu adaptirati na opremi i u klanici (Giovannaci i sar., 1999) i na taj način kontaminirati meso. Nalaz *L. monocytogenes* u mesu živine je veoma redak. Ova vrsta životinja je često negativna pri kontroli prisustva listerija ili se nađe u veoma niskom broju, što ukazuje na to da je proizvodna oprema u klanicama najčešći izvor za kontaminaciju mesa živine (Ojenyi i sar., 2000). Isto se može reći i za meso ribe. Sa radnih površina i opreme u toku obrade i prerade ribe bakterije se takođe lako prenose na ribu, te je i posledična rekontaminacija ribe moguća u svim fazama proizvodnog procesa (Lundén i sar. 2000; Fonnesbech i sar. 2001). U proizvodnji hladno dimljene ribe faza soljenja ribe, kao i faze koje slede iza toga (kačenje i skidanje sa

ramova, sortiranje pre pakovanja) jesu faze u kojima najčešće dolazi do rekontaminacije ribe. Različiti sojevi *L. monocytogenes* se mogu izolovati iz sveže ribe, kao i iz finalnih ribljih proizvoda, što ukazuje na to da riba može biti kontaminirana tokom bilo kog procesa između ulova i konzumacije. Kako se ova bakterija može naseliti u proizvodnim pogonima, ova činjenica se uzima kao primarni mehanizam kontaminacije ribljih proizvoda. Drugi nepovoljni uslovi u proizvodnom pogonu samo doprinose prisustvu ovog patogena, kojeg je veoma teško izolovati i otkloniti. Posle završene proizvodnje, vreme i temperature skladištenja su sledeći faktori koji utiču na dalji rast eventualno prisutne *L. monocytogenes*. Iz literaturnih podataka (Hoffman i sar., 2003) se može zaključiti da nivo listerija do trenutka konzumacije proizvoda retko prelazi  $10^3$  cfu g<sup>-1</sup>.

Dosadašnja brojna istraživanja su delimično pomogla boljem razumevanju načina i vremena kontaminacije ribe u toku proizvodnog procesa, ali je i dalje puno nerazjašnjenih pitanja, među kojima je svakako najveći adherencija bakterija i stvaranje biofilma. Pripajanje *L. monocytogenes* za proizvod ili opremu, kao stvaranje biofilma imaju veoma veliki značaj za održavanje higijene, jer je bakterija u tom stanju znatno otpornija na tzv. stres faktore koji se uobičajeno koriste u industriji hrane u cilju dekontaminacije površina sa kojima hrana dolazi u kontakt. Sama adherencija bakterija (koja prethodi stvaranju biofilm formacije) odvija se u dve faze (Dunne, 2002). Bakterije se najpre vezuju reverzibilno na površine, uglavnom elektrostatičkim i hidrofobnim interakcijama, a zatim nastaje ireverzibilna faza adherencije, koja uključuje stvaranje egzopolisaharida (EPSs-exopolysaccharides), koji su opisani kao učvršćivači bakterija za površine. Stvoreni biofilm se definiše kao stadijum kada su bakterije ireverzibilno vezane za površine (tj. kada se one ne mogu ukloniti uobičajenim pranjem), kao i kada u sebi sadrže uglavnom egzopolisaharide (Donlan, 2002). Pokazalo se da *L. monocytogenes* može da adherira na nekoliko tipova materijala koji dolaze u kontakt sa hranom (na primer nerđajućim čelikom, gumom i plastikom), kao i da postaje otpornija na sredstva za čišćenje, desinficijense i na toplotu. Same razlike u stepenu adherencije, zavisno od vrste materijala kontakt površine, postoje, ali su veoma male (Beresford i sar., 2001).

Brojna istraživanja su pokazala da postupci čišćenja i sanitacije mogu da uklone prisutnu *L. monocytogenes* sa linije proizvodnje, kao i sa opreme, ali se rekontaminacije može pojaviti ubrzo posle obnavljanja, tj. otpočinjanja nove proizvodnje. Kako se listerija lako može ustaliti u proizvodnom pogonu (Autio i sar., 1999), većina autora se slaže da se primenom propisane sanitacije i čišćenja kritičnih zona može održavati inicijalno nizak nivo kontaminacije, ali još uvek nije realno očekivati proizvode slobodne od listerija nakon primene samo ovih mera.

**Mogućnost kontrole *L.monocytogenes* u pogonima za proizvodnju hrane / Possibilities for control of *L.monocytogenes* in food production plants**

*Listeria monocytogenes* je u uslovima *in vitro* osetljiva na delovanje većeg broja dezinficijenasa koji se koriste u industriji namirnica. Međutim, ustanovljeno je da prisutne organske materije mogu smanjiti njihovo dejstvo (efekat dezinficijensa), a takođe stvaranje biofilma povećava otpornost bakterija na iste (Reij M. i E.D. De Aantrekker, 2004). Takođe, različiti serotipovi *L. monocytogenes* mogu da se adaptiraju na neke vrste dezinficijenasa (Lundén i sar., 2003).

Food Safety and Inspection Service (FSIS) je preduzela regulativne mere koje bi pomogle smanjenju pojave ovog patogena u mesnim i živinskim proizvodima spremnim za jelo (RTE). Objavljene su smernice "najbolje prakse" koje bi pomogle razvijanje efektivnih kontrolnih programa za *L. monocytogenes*, kao i privremene norme za pogone koje proizvode RTE mesne i živinske proizvode, koje bi sprečile kontaminaciju sa *L. monocytogenes*. FSIS je takođe u studiji "FSIS Risk Assessment for *Listeria monocytogenes* in Deli Meats", od maja 2003. godine, ukazala na to da su najznačajniji nalazi ove procene rizika – da rigorozna sanitacija površina koje su u kontaktu sa hranom, koja je potvrđena testovima, daje proporcionalno niže nivoe redukcije *L. monocytogenes* u gotovim mesnim proizvodima. Takođe, ukazuje se na to da je kombinacija mera (sanitacija površina koje su u kontaktu sa hranom, letalne mere pre i posle pakovanja, inhibicija rasta) mnogo efektivnija, nego kada se one koriste pojedinačno. Kombinacija pomenutih mera doprinosi smanjenju potencijalne kontaminacije finalnog RTE proizvoda sa *L. monocytogenes*, pa samim tim i smanjuje rizike infekcije kod ljudi.

Koristeći nalaze dobijene na osnovu procene rizika FSIS je doneo neophodne privremene mere "Control of *Listeria monocytogenes* in RTE meat and poultry products" (68 FR 34208) (objavljene u oktobru, 2003. godine). Ovim merama se zahteva od proizvođača primena HACCP planova i preduslovnih programa (SSOP - Sanitation Standard Operating Procedures) u cilju kontrole kontaminacije proizvoda sa *L.monocytogenes*. Takođe je doneta Direktiva 10,240.4, "Verification Procedures for the *Listeria monocytogenes* Regulation and Microbial Sampling of RTE Products for the FSIS Verification Testing Program", kojom bi FSIS upravljao verifikacionim programima za testiranje koji se baziraju na riziku, kako bi procenio efektivnost operacija kod RTE hrane u kontroli *L. monocytogenes*, sa još intenzivnijom verifikacijom pogona koji imaju visok rizik na prisustvo ove bakterije. Sve ovo ima za cilj svođenja rizika na minimum.

Kontrolu *L. monocytogenes* u pogonima za proizvodnju i obradu hrane moguće je prvenstveno obezbediti primenom integrisanog programa koji bi obuhvatio sve proizvodne programe i smanjio prisustvo listerije u proizvodnoj okolini, a samim tim i prevenirao unakrsnu kontaminaciju tokom proizvodnje i skladištenja. Takvi sveobuhvatni programi moraju da uključe strategiju koja je kompatibilna sa sistemima Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) i pre-



duslovnim programina, kao što su GMP (Good Manufacturing Practices), SSOP (Sanitation Standard Operating Procedures) Good Hygienic Practice (GHP), koji su neophodni u proizvodnji hrane bezbedne za potrošača. U osnovi, kontrolne mere koje mogu da doprinesu smanjenju učestalosti nalaza *L. monocytogenes* u gotovom proizvodu, kao i smanjenju nivoa kontaminacije ovom bakterijom, sa jedne strane su vezane za higijenske postupke u proizvodnom procesu, a sa druge za tehnološke postupke u njemu. Tako se u proizvodnji hladno dimljenog lososa pokazalo da su identifikacija kritičnih kontrolnih tačaka (Critical control Point-CCP) u kojima najčešće dolazi do kontaminacije sa *L. monocytogenes* i sprovođenje odgovarajućih kontrolnih mera u tim tačkama (sanitacija parom, vodom ili vazduhom zagrejanim na 80°C, lična higijena radnika, uvođenje zabrane posetilaca) imali uticaja na smanjenje nivoa ovog patogena u proizvodima od ribe. Efikasnim su se takođe pokazali i postupci odvajanja nekih radnih postupaka koje obavljaju radnici, a koji sprečavaju rekontaminaciju proizvoda. Značajan nivo kontaminacije ovim patogenom smatra se da potiče sa površina u proizvodnom pogonu, gde listerije stvaraju tzv. biofilmove, te je veoma važna primena režima čišćenja i sanitacije, kao i njihovo regularno praćenje. Stvaranje biofilмова moglo bi se sprečiti na sledeće načine:

- korišćenjem opreme koja se lako čisti i koja ima glatku površinu od materijala koji je neporozan, otporan na toplotu;
- korišćenjem specifičnih sredstava za dezinfekciju po preporučenom uputstvu za koncentraciju, temperaturu, pH;
- povećanjem učestalosti čišćenja (vremenski intervali ne smeju da prelaze 8h), jer je stare biofilmove teže ukloniti od novih;
- povremenim menjanjem vrste dezinfekcionog sredstva (npr. hipohlorit, QUAT);
- temeljnim uklanjanjem nagomilane nečistoće pre upotrebe sredstva za dezinfekciju;
- mehaničkim čišćenjem površina koje su dostupne;
- edukovanjem osoblja o važnosti efekta čišćenja i
- implementiranjem protokola testiranja koji uključuju korake kontrole kvaliteta.

Upotreba toplote (visokih temperatura) je najsigurnija fizička mera za uklanjanje *L. monocytogenes*, ali se pri tome mora tačno za svaki tip proizvoda odrediti decimalno redukciono vreme ili D-vrednost (Tabela 2).

Kod toplo dimljenih proizvoda treba obratiti pažnju na to da se proizvod ne kontaminira tokom procesa dimljenja (temperiranja). Principi dobre higijenske prakse (GHP-a) usmereni su ka higijenskim aspektima u proizvodnji namirnica. Oni su preduslovi da bi se uopšte uveo bilo koji sistem koji bi garantovao zdravstvenu bezbednost namirnice. GHP ukazuje na najbolji način održavanja higijene u proizvodnom pogonu, a bazira se na naučnim istraživanjima i samoj dostupnosti primene. Osnovni principi GHP-a bi podrazumevali:



- tehnički i konstrukcioni plan fabrike koji zadovoljava higijenske kriterijume;
- upotreba higijenski sigurnih i ispravnih mašina i opreme;
- postojanje plana održavanja, čišćenja i sanitacije;
- stalnu edukaciju osoblja o ličnoj higijeni i njenim uticajima na bezbednost namirnice;
- usvojene standadne operativne procedure (SOPs) i
- identifikaciju sledljivosti.

Tabela 2. Limitirajući faktori rasta i toplotna osetljivost *L. monocytogenes* (FAO 1999)  
Table 2. Limiting growth factors and heat sensitivity of *L. monocytogenes* (FAO 1999)

| Parametar / <i>Parameter</i>                   | Opseg / <i>Range</i>  |
|--|---|
| aW   | >0.92   |
| Temperatura (°C) / <i>Temperature (°C)</i>     | -0.4-45 (optimum 30-37)   |
| pH   | 4.5-9.6   |
| NaCl   | <0.5-10   |
| Toplotna osetljivost / <i>Heat sensitivity</i> | D <sub>60</sub> = 2.4-16.7 min u mesu / <i>min in meat</i><br>D <sub>60</sub> = 1.95-4.48 min u ribi / <i>min in fish</i> |

Sami principi GHP-a su nedovoljni, naročito kod visoko-rizičnih namirnica i trebalo bi da su preduslovi šireg sistema koji razmatra bezbednost hrane. Istraživanja koja smo mi sprovedli pokazala su da se kontaminacija proizvoda uglavnom javlja tokom proizvodnje i pretpostavlja se da se bakterija nastanjena na proizvodnoj opremi kasnije prenosi na proizvod. Mnogi autori su tokom svojih ispitivanja ustanovili da su udubljenja na mašinama i opremi bitni za kontaminaciju proizvoda (Norton i sar. 2001; Lundén i sar. 2002; 2003). Smatra se da se to dešava zbog otežanog i nepotpunog čišćenja i dezinfekcije. Iako se može zaključiti da je kontaminacija proizvoda povezana sa linijom proizvodnje, ostaje nerazjašnjena inicijalna kontaminacija, koja, s obzirom da je *L. monocytogenes* ubikvitaran mikroorganizam, može poticati od sirovog materijala, drugih materijala koji se koriste u proizvodnji, unutrašnjeg transporta i ljudi.

Primena i razvijanje principa dobre higijenske prakse (GHP-a) i dobre proizvodne prakse (GMP-a), kao preduslovnih programa za uvođenje HACCP sistema, omogućava smanjenje broja patogena koji bi se mogli naći u namirnicama. Tako Reij i De Aantrekker (2004), kao i Dimitrijević i sar. (2007) napominju da ukoliko se kombinuju mehaničko čišćenje sa hemijskim dezinficijensima koji se adekvatno upotrebljavaju, *L. monocytogenes* se može ukloniti iz proizvodnog pogona. Isto tako Thevenot i sar. (2005) ukazuju na značaj čišćenja pogona, jer se na taj način odstranjuju organske materije koje se nalaze na površinama proizvodne linije, a takođe i biofilm koji *L. monocytogenes* može da stvara. Neki autori preporučuju korišćenje dezinfekcionog sredstva u koncentraciji jačoj od pre-

poručene, na mestima gde bi se moglo očekivati postojanje biofilmova, naročito onim koji su manje dostupni za mehaničko čišćenje.

#### **Zaključak / Conclusion**

S obzirom na to da se, ukoliko je prisutna u proizvodnom pogonu, *L. monocytogenes* brzo adaptira na uslove tokom proizvodnog procesa, distribucije i maloprodaje, postprocesna kontaminacija se ne može isključiti i otuda nije realno očekivati proizvode slobodne od listerija i pored primene svih propisanih mera sanitacije. Međutim, proizvodni procesi i pogoni moraju biti pod stalnom kontrolom, kako bi se mogućnost rekontaminacije proizvoda smanjila na minimum tokom proizvodnje.

#### **Literatura / References**

1. Aguado V, Vitas AI, Garcia-Jalon I. Random amplified polymorphic DNA typing applied to the study of cross contamination by *L.monocytogenes* in processed food products. J. Food. Prot. 2000; 64: 716-2.
2. Anonymous. Multistate outbreak of listeriosis - United States. MMWR. Morb. Mortal. Wkly Rep. 1998; 47: 1085-6.
3. Anonymous. Multistate outbreak of listeriosis- United States. MMWR. Morb. Mortal. Wkly Rep. 2000; 49: 1129-30.
4. Anonymous. Outbreak of listeriosis associated with homemade Mexican-style cheese- North Carolina, October 2000-January 2001. MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep. 2001; 50: 560-2.
5. Anonymous. Infection register. National Public Health Institute. 1.9.2003;http://www.ktl.fi/ttr
6. Aureli P, Fiorucci GC, Caroli D, Marchiaro G, Novara O, Leone L and Salmaso S. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. N. Eng. J.Med. 2000; 342: 1236-41.
7. Autio T, Hielm S, Miettinen M, Sjöberg A, Aarnisalo K, Bjørkroth J, Mattila-Sandholm T, Korkeala H. Sources of *Listeria monocytogenes* Contamination in a Cold-Smoked Rainbow Trout Processing Plant Detected by Pulsed-Field Gel Electrophoresis Typing. Applied and Environmental Microbiology 1999; 65 (1):150-5.
8. Beresford MR, Anrew PW, Shama G. *Listeria monocytogenes* adheres to many materials found in food processing environments. J. Appl. Microbiol. 2001; 90: 1000-5.
9. Bille J. Epidemiology of human listeriosis in Europe, with special reference to the Swiss outbreak. In: Miller AJ, Smith JL and Somkuti GA, editors. Foodborne Listeriosis. Elsevier, Amsterdam, 1990. 71-4.
10. Berrang ME, Meinersmann RJ, Northcutt JK, Smith DP. Molecular characteriyation of *Listeria monocytogenes* isolated from a poultry further processing facility and from fully cooked product. J. Food Prot. 2002; 65, 1574-9.

11. Buncic S, Avery SM, Rocourt J, Dimitrijevic M. Can food-related environmental factors induce different behaviour in two key serovars 4b and 1/2a, of *Listeria monocytogenes*? Int. J. Food Microbiol. 2001; 65: 201-12.
12. Bunčić S. The incidence of *Listeria monocytogenes* in slaughtered animals, in meat, and in meat products in Yugoslavia. Int. J. Food Microbiol. 1991; 12:173-80.
13. Chasseignaux E, Gérault P, Toquin MT, Salvat G, Colin P, Ermel G. Ecology of *L. monocytogenes* in the environment of raw poultry meat and raw pork meat processing plants. FEMS Microbiol. Lett. 2002; 210: 271-5.
14. Crum NF. Update on *Listeria monocytogenes* infection. Curr. Gastroenterol. Rep. 2002; 4: 287-96.
15. Dalton CB, Austin CC, Sobel J, Hayes PS, Bibb WF, Graves LM, Swaminathan B, Proctor ME, Griffin PM. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. N. Eng. J. Med. 1997; 336: 100-5.
16. De Valk H, Vaillant V, Jacquet C, Rocourt J, Le Querrec F, Stainer F, Quelquejeu N, Pierre O, Pierre V, Descenclos JC, Goulet V. Two consecutive nationwide outbreaks of Listeriosis in France, October 1999-February 2000. Am. J. Epidemiol. 2001; 154: 944-50.
17. Dauphin G, Ragimbeau C, Malle P. Use of PFGE typing for tracing contamination with *Listeria monocytogenes* in three cold-smoked salmon processing plants. International Journal of Food Microbiology. 2001; 64:51-61.
18. Dimitrijević M. Ispitivanje puteva kontaminacije i preživljavanja različitih sojeva *Listeria monocytogenes* u dimljenom mesu riba. 2007; Doktorska disertacija.
19. Donlan R M. Biofilms: Microbial life on surfaces. Emerg. Infect. Dis. 2002; 8: 881-90.
20. Dunne WM. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? Clin. Microbiol. Rev. 2002; 15: 155-166.
21. European Commission. Directive no. 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. 22.12.2005. Off. J. Eur. Union L3381:1-26.
22. Ericsson H, Eklöv A, Danielsson-Tham ML, Loncarevic S, Mentzing LO, Persson I, Unerstad H and Tham W. An outbreak of Listeriosis Suspected To Have Been Caused by Rainbow Trout. Journal of Clinical Microbiology. 1997; 35 (11): 2904-7.
23. FAO Fisheries Report. No. 604. Report of the FAO Expert Consultation on the Trade impact of *Listeria* in Fish Products. FAO Fish Utilisation and Marketing Service; FAO Food Quality and Standard Service. 1999; Amhest, MA, USA, 34.
24. Fleming DW, Cochi SL, MacDonald KL, Brondum J, Hayes PS, Plikaytis BD, Holmes MB, Audurier A, Broome CV, Reinhold AL. Pasteurized milk as a vehicle of infection in a outbreak of listeriosis. N. Eng. J. Med. 1985; 312: 404-7.
25. Fonnesbech Vogel B, Huss H, Ojeniyi B, Ahrens P, Gram L. Elucidation of *Listeria monocytogenes* contamination routes in cold-smoked salmon processing plants detected by DNA-based typing methods. Appl. Environ. Microbiol. 2001; 67: 2586-95.
26. Fraye DM, Zweig R, Sturgeon J, Tormey M, LeCavalier M, Lee I, Lawani L, Mascola L. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with delicatessen meat contaminated with *Listeria monocytogenes*. CID. 2002; 35: 943-9.
27. Gellin BG, Broome CV. Listeriosis. JAMA 1989; 261 (9): 1313-20.
28. Giovannacci I, Ragimbeau C, Oueguiner, Salvat G, Vendevre JL, Carlier V, Ermel G. *Listeria monocytogenes* in pork slaughtering and cutting plants: use of RAPD, PFGE and PCR-REA for tracing and molecular epidemiology. Int. J. Food Microbiol. 1999; 53: 127-40.

29. Goulet V, Lepoutre A, Rocourt J, Courtier AL, Dehaumont P, Veit P. Epidémie de listeriosis en France-bilan final et resultants de l'enquête épidémiologique. Bull. Epidémiol. Hebdom. 1993; 4:13-4.
30. Goulet V, Jacquet C, Vallant V, Rebiere I, Mouret E, Lorente C, Maillot E, Stainer F, Rocourt J. Listeriosis from consumption of raw.milk cheese. Lancet 1995; 345: 1501-2.
31. Goulet V, Rocourt J, Rebiere I, Jacquet C, Moyse C, Dehamount P, Salvat G, Veit P. Listeriosis outbreak associated with the consumption of rillettes in France in 1993. J. Inf. Dis. 1998; 177: 155-60.
32. Hansen CH, Vogel BF, Gram L. Prevalence and Survival of *Listeria monocytogenes* in Danish Aquatic and Fish-Processing Environments. Journal of Food Protection, 2006; 69(9): 2113-2112.
33. Hoffman AD, Gall KL, Norton DM, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* contamination patterns for the smoked fish processing environment and for raw fish. J. Food Prot. 2003; 66(1): 52-60.
34. Jensen A, Fredriksen W and Gerner-Smidt P. Risk factors for listeriosis in Denmark, 1989-1990. Scand. J. Infect. Dis. 1994; 26: 171-8.
35. Johansson T, Rantala L, Palmu L and Honkanen-Buzalski T. Occurrence and typing of *Listeria monocytogenes* strains in retail vacuum-packaged fish products and in a production plant. Int. J. Food Microbiol. 1999; 47: 111-9.
36. Keto R, Rahkio M. *Listeria* review. *Listeria* in fish products. The microbiological quality and safety of fresh cheeses. National Food Administration, Research notes 5/1998. Helsinki. 28 +app.
37. Linnan MJ, Mascola L, Lou XD, Goulet V, May S, Salminen C, Hird DW, Yonekura ML, Hayes P, Weaver R, Audurier A, Plikaytis BD, Fannin SL, Kleks A, Broome CV. Epidemic listeriosis associated with Mexican style cheese. N. Engl. J. Med. 1998; 319: 823-8.
38. Loncarevic S, Tham W and Danielsson-Tham L. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in Smoked and "Gravad" Fish. Acta Vet. Scand. 1996; 37: 13-8.
39. Lundén JM., Autio T, Markkula A, Hellstrom S, Korkeala H. Adaptive and cross-adaptive responses of persistent and non-persistent *Listeria monocytogenes* strains to disinfectants. Int. J. Food Microbiol. 2003; 82: 265-72.
40. Lundén JM, Autio TJ, Korkeala HJ, Transfer of persistent *Listeria monocytogenes* contamination between food-processing plants associated with a dicing machine. J. Food. Prot. 2002; 65: 1129-33.
41. McLauchlin J, Hall SM, Velani SK, Gilbert RJ. Human listeriosis and pate: a possible association. Br. Med. J. 1991; 303: 773-5.
42. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCraig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. Emerging Infectious Diseases. 1999; 5: 607-25.
43. Miettinen MK, Siitonen A, Heiskanen P, Haahanen H, Korkeala B. Molecular Epidemiology of an Outbreak of Febrile Gastroenteritis caused by *Listeria monocytogenes* in Cold Smoked Rainbow Trout. J Clin Microbiol. 1999; 37(7): 2358-60.
44. Miettinen MK, Aarnisalo K, Salo S, Sjöberg AM. Evaluation of surface contamination and the presence of *L.monocytogenes* in fish processing factories. J. Food. Prot. 2001; 64: 635-9.

45. Norton DM, McCamey MA, Gall KL, Boor JM, Wiedmann M. Molecular Studies on the Ecology of *Listeria monocytogenes* in Fish Processing Industry, *Appl Environ Microbiol.* 2001; 67 (1): 198-205.
46. Ojenyi B, Christensen J and Bisgard M. Comparative investigations of *Listeria monocytogenes* isolated from a turkey processing plant, turkey products, and from human cases of listeriosis in Denmark. *Epidemiol. Infect.* 2000; 125: 303-8.
47. Pritchard TJ, Flanders KJ, Donnelly CW. Comparison of the incidence of *Listeria* on equipment versus environmental sites within dairy processing plants. *Int. J. Food Microbiol.* 1995; 26: 375-84.
48. Reij M, De Aantrekker E.D. Recontamination as a source of pathogens in processed foods. *Int. J. Food Microbiol.* 2004; 91: 1-11.
49. Riedo F, Pinner R, Toscs M, Cartter M, Graves L, Reeves M, Weaver R, Plikaytis B, Broome C. A Point-Source Foodborne Listeriosis Outbreak: Documented Incubation period and Possible Mild Illness. *Journal of Infectious diseases.* 1994; 170, 693-6.
50. Rørsvick LM. *Listeria monocytogenes* in the smoked salmon industry. *International Journal of Food Microbiology* 2000; 62 (3): 183-90.
51. Salamina G, Dalle Donne E, Niccolini A, Poda G, Cesaroni D, Bucci M, Fini R, Maldini M, Schuchat A, Swaminathan B, Bibb W, Rocourt J, Binkin N and Salmaso S. A foodborne outbreak of gastroenteritis involving *Listeria monocytogenes*. *Epidemiol. Infect.* 1996; 117: 429-36.
52. Sim J, Hood D, Finnie L, Wilson M, Graham C, Brett M, Hudson JA. Series of incidents of *Listeria monocytogenes* non-invasive febrile gastroenteritis involving ready-to-eat meats. *Lett. Appl. Microbiol.* 2002; 35: 409-13.
53. Suihko ML, Salo S, Niclasen O, Gudbjörnsdóttir B, Torkelsson G, Bredholt S, Sjöberg AM, Gustavsson P. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from the meat, poultry and seafood industries by automated ribotyping. *Int. J. Food Microbiol.* 2002; 72: 137-46.
54. Thevenot D, Delignette-Muller ML, Christieans S, Vernozy-Rozand C. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 dried sausage processing plants and their products. *International Journal of Food Microbiology* 2005; 102 (1) : 513-23.
55. U.S. Food and Drug Administration, Food Safety and Inspection Services. Interpretative summary: quantitative assessment of the relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. Food Safety and Inspection Services, 2003; U.S. Food and Drug Administration, Washington, D.C.
56. Watson C, Ott K. *Listeria* outbreak in Western Australia. *Commun. Dis. Intell.* 1990; 24: 9-12.

ENGLISH

## CONTROL OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN FOOD PRODUCTION PLANTS

Mirjana Dimitrijević, N. Karabasil, Nataša Kilibarda, V. Teodorović, M. Ž. Baltić

*L. monocytogenes* has been established in different plants for the production of food, including dairy plants, abattoirs, plants for the processing of fish, as well as those

for the production of ready-to-eat (RTE) food and this fact is being considered as the primary mechanism of food contamination with this bacteria. There is also the factor of numerous and diverse contaminated production equipment, because it has certain parts that are inaccessible for the necessary cleaning and disinfection. The temperature, position, as well as the material of the work surface are also linked to the contamination of plants with this bacteria.

Investigations carried out so far have helped toward the better understanding of the manner and time of contamination of food items in the course of the production process, but there are still unresolved problems, including most certainly the biggest one – the adherence of bacteria and the creation of a biofilm, when the bacteria is in that condition more resistant to so-called stress factors which are usually used in the food industry for the purpose of decontamination of the surfaces with which foods come into contact.

The control of *L.monocytogenes* in food production plants is possible primarily by using an integrated programme, compatible with the systems Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) and Good Hygiene Practice (GHP), necessary in the production of food that is safe for the consumer. Essentially, the control measures that can contribute to reducing the incidence of findings of *L.monocytogenes* in the finished product, as well as the reducing of the level of contamination with this bacteria are linked, on the one hand, with hygiene procedures in the production process, and, on the other, with the applied technological procedures.

Key words: *Listeria monocytogenes*, food production plants, control

## РУССКИЙ

### КОНТРОЛЬ *LISTERIA MONOCYTOGENES* В ЦЕХАХ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА КОРМА

Мириана Димитриевич, Н. Карабасил, Наташа Килибарда, В. Теодорович,  
М. Ж. Балтич

*L. monocytogenes* устновлена в различных цехах для производства корма, включая молочные, бойни, цехи для обработки и переработки рыбы, словно и те для подготовки корма готовые для корма (*RTE – Ready to eat*) и этот факт рассматривается как первичный механизм контаминации корма этой бактерией. Контаминированное оборудование также численное и разнообразное, ибо обладает некоторыми частями, которые недоступные для предписанной чистки и дезинфекции. Температура, место, словно и материал рабочей поверхности также связаны с контаминацией цеха этой бактерией.

Прежние исследования помогли лучшему пониманию способа и времени контаминации пищевых продуктов в течение производственного процесса, но и дальше имеет необъяснимых проблем, между которыми во всяком случае самое большое сдилание бактерий и создание биофильма, при чём бактерия в этом состоянии более устойчивая на так называемый стресс факторы, которые привычно пользуются в промышленности корма с целью деконтаминации поверхностей с которыми корм доходит в контакт.

Контроль *L. monocytogenes* в цехах для производства корма возможен в первую очередь применением интегрированной программы, компатибельной с системами *Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP)* и *Good Higienic Practice (GHP)*,

необходимых в производстве корма безопасны для потребителя. В основе, контрольные меры, которые могут внести свой вклад уменьшению частоты результатов *L. monocytogenes* в готовом продукте, словно и уменьшению уровня контаминации этой бактерией с одной стороны, связанные для поступков гигиены в производственном процессе, а с другой для технологических поступков в нём.

Ключевые слова: *Listeria monocytogenes*, цехи для производства корма, контроль