



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
ΜΠΣΒιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

***Listeria monocytogenes* και τρόφιμα-ένα αναδυόμενο
παθογόνο βακτήριο**

POST GRADUATE THESIS

***Listeria monocytogenes* and food-an emerging pathogenic bacterium**

ΟΝΟΜΑΦΟΙΤΗΤΗ (ΤΩΝ)/NAME OF STUDENTS

Δόμνα Μαρίνα Αγγελή

Domna Marina Angeli

ΟΝΟΜΑΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Γεωργία Μανδηλαρά

GeorgiaMandilara

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences
Postgraduate program:
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATETHESIS

Listeria monocytogenes and food-an emerging pathogenic bacterium

Domna Marina Angeli

20001

marinakiaggeli@gmail.com

FIRST SUPERVISOR

Georgia Mandilara

SECOND SUPERVISOR

Apostolos Beloukas

AIGALEO 2023

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 2/11/2023

Όνόματα εξεταστών

Υπογραφή

1^{ος} Εξεταστής Γεωργία Μανδηλαρά

2^{ος} Εξεταστής Απόστολος Μπελούκας

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Δόμνα Μαρίνα Αγγελή του Νικολάου, με Αριθμό Μητρώου 20001 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα

Δόμνα Μαρίνα Αγγελή

Ευχαριστίες

Η παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία πραγματοποιήθηκε στη Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής και συγκεκριμένα στο Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω τον σύζυγό μου για την αμέριστη στήριξη και συμπαράστασή του, καθόλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Ευχαριστώ τους γονείς μου και τον αδερφό μου που με στήριξαν σε όλη τη διαδρομή των σπουδών μου μέχρι σήμερα.

Να ευχαριστήσω την καθηγήτριά μου Δρ. Γεωργία Μανδηλαρά για την πολύτιμη υποστήριξή της.

Ακόμα ευχαριστώ τον καθηγητή Δρ. Πέτρο Καρκαλούσο για την άριστη συνεργασία που είχαμε και για τον πολύτιμο χρόνο που μου διέθεσε, για να με οδηγήσει στην εκπόνηση της παρούσας εργασίας. Η βοήθειά του ήταν ανεκτίμητη.

Κλείνοντας, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Δρ. Αναστάσιο Κριεμπάρδη, που η συμβολή του ήταν καθοριστική για να ολοκληρωθεί το μεταπτυχιακό μου.

Περίληψη

Εισαγωγή: Η *Listeria monocytogenes*, η οποία είναι ένα ζωνοσογόνο τροφιμογενές (foodborne) παθογόνο βακτήριο, θεωρείται ως ένας από τους κύριους αιτιολογικούς παράγοντες, υπεύθυνους για σοβαρές ασθένειες τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα. Η *Listeria monocytogenes* είναι διαδεδομένη στη φύση και αποικίζει το χώμα, τα φυτά και το έντερο των θηλαστικών και ως εκ τούτου μεταδίδεται στον άνθρωπο από τροφές προς κατανάλωση. Η νόσος που προκαλεί στους ανθρώπους λιστερίωση, εμφανίζεται κυρίως με σποραδικά κρούσματα. Έχουν περιγραφεί επιδημίες που προήλθαν από μολυσμένες τροφές, όπως γάλα, γαλακτοκομικά προϊόντα (μαλακά τυριά), προϊόντα κρέατος κλπ. Ταχεία και ακριβής ανίχνευση της *L. monocytogenes* στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα λαχανικά, το κρέας, τα πουλερικά και τα θαλασσινά είναι απαραίτητη για να αποτραπεί η διάδοσή της μέσω της τροφικής αλυσίδας.

Σκοπός: Η παρούσα εργασία παρέχει μια επισκόπηση των ερευνών σχετικά με τον επιπολασμό της *Listeria* spp., ιδιαίτερα της *L. monocytogenes*, στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τις μεθόδους ανίχνευσης και τον τύπο τους και την τρέχουσα κατάσταση των ποσοστών αντοχής στα αντιβιοτικά, που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της λιστερίωσης.

Αποτελέσματα: Η λιστέρια είναι ένας από τους κύριους αιτιολογικούς παράγοντες που ευθύνεται για σοβαρές ασθένειες σε ανθρώπους και ζώα μέσω της κατανάλωσης γάλακτος και άλλων γαλακτοκομικών προϊόντων, καθώς και κρέατος, πουλερικών και έτοιμων προς κατανάλωση προϊόντων. Δύο από τις πιο σημαντικές μεθόδους αναφοράς για την ανίχνευση της *Listeria* σε όλα τα δείγματα τροφίμων είναι οι βακτηριολογικές και αναλυτικές μέθοδοι του Οργανισμού Τροφίμων και Φαρμάκων, FDA, (BAM) και οι μέθοδοι του Διεθνούς Οργανισμού Standard (ISO) 11290. Επί του παρόντος, οι πιο κοινές θεραπευτικές στρατηγικές για τη θεραπεία της λιστερίωσης είναι η χορήγηση πενικιλίνης ή αμπικιλλίνης μαζί με αμινογλυκοσίδες.

Συζήτηση: Το *Listeria monocytogenes* είναι ένα παθογόνο που μπορεί να προκαλέσει τροφιμογενείς ασθένειες και συγκεκριμένα λιστερίωση. Η πρόληψη της εξάπλωσης και της επιμονής του *L. monocytogenes* είναι ζωτικής σημασίας για τη δημόσια υγεία και την ασφάλεια των τροφίμων.

Λέξεις-κλειδιά: *Listeria monocytogenes*, ασφάλεια των τροφίμων, παθογόνο βακτήριο

Abstract

Introduction: *Listeria monocytogenes*, which is a zoonotic foodborne pathogen, is considered as one of the main causative agents responsible for serious diseases in both humans and animals. *Listeria monocytogenes* is widespread in nature and colonizes soil, plants and the gut of mammals and is therefore transmitted to humans from food for consumption. The disease that causes listeriosis in humans occurs mainly in sporadic cases. Outbreaks have been described that originated from contaminated foods, such as milk, dairy products (soft cheeses), meat products, etc. Rapid and accurate detection of *L. monocytogenes* in milk and dairy products, vegetables, meat, poultry and seafood is necessary to prevent its spread through the food chain.

Purpose: This paper provides an overview of research on the prevalence of *Listeria* spp., especially *L. monocytogenes*, in milk and milk products, their detection methods and type, and the current status of antibiotic resistance rates, which are used to treat listeriosis.

Results: *Listeria* is one of the main causative agents responsible for serious illness in humans and animals through the consumption of milk and other dairy products, as well as meat, poultry and ready-to-eat products. Two of the most important reference methods for the detection of *Listeria* in all food samples are the Food and Drug Administration (BAM) bacteriological and analytical methods and the International Standard Organization (ISO) 11290 methods. Currently, the most common therapeutic strategies for the treatment of listeriosis are the administration of penicillin or ampicillin along with aminoglycosides.

Discussion: *Listeria monocytogenes* is a pathogen that can cause foodborne illness, specifically listeriosis. Prevention of the spread and persistence of *L. monocytogenes* is crucial for public health and food safety.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, food safety, pathogenic bacterium

Περιεχόμενα

1. Γενικό μέρος - Περιγραφή βακτηρίου και επιδημιολογία	2
1.1 Επιδημιολογικά δεδομένα	4
1.2 Επιδημίες λιστερίωσης	6
2. Ανίχνευση <i>Listeria spp</i> σε κλινικό δείγμα και τρόφιμα ISO. Μέθοδος ανίχνευσης/καταμέτρησης	7
2.1. Εκλεκτικά μέσα	9
3. Μέθοδοι τυποποίησης για <i>L. monocytogenes</i>	10
2.2. Λυσιτυπία	11
2.3. Ηλεκτροφόρηση DNA μετά από πέψη με περιοριστική ενδονουκλεάση σε παλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο (Pulsed Field Gel Electrophoresis-PFGE)	11
3. Μοριακός χαρακτηρισμός στελεχών <i>L. monocytogenes</i>	11
3.1. Μέθοδοι PCR-Μοριακή οροτυποποίηση	11
3.2. Πανευρωπαϊκή διερεύνηση επιπολασμού <i>L. monocytogenes</i>	12
4. Αντιμικροβιακή αντοχή	14
4.1. Αντοχή στα αντιβιοτικά, στα τρόφιμα και στο περιβάλλον	14
4.2. Θεραπευτικά σχήματα και μηχανισμοί αντοχή στα αντιβιοτικά στη <i>Listeria monocytogenes</i>	15
4.3. Ο ρόλος άλλων βακτηρίων στην εμφάνιση ανθεκτικότητας στελεχών <i>Listeria monocytogenes</i>	16
5. Επιδημιολογικά δεδομένα για την <i>Listeria monocytogenes</i> στην Ελλάδα	17
5.1. Λιστερίωση – Ορισμός κρούσματος	17
5.2. Επιδημιολογικά δεδομένα στην Ελλάδα	20
5.3. Κατανομή ηλικίας και φύλου	21
5.4. Εποχικότητα	21
5.5. Γεωγραφική κατανομή	22
5.6. Παράγοντες κινδύνου/Αποτέλεσμα	22
6. Νομοθεσία τροφίμων και <i>Listeria monocytogenes</i>	22
Συμπεράσματα	23
Βιβλιογραφία	30

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome	Σύνδρομο Επίκτητης Ανοσοανεπάρκειας
EFSA	European Food Safety Authority	Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων
CFU	Colony Forming Units	Μονάδες σχηματισμού αποικιών
FDA	Food and Drug Administration	Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων
ISO	International Organization for Standardization	Διεθνής Οργανισμός Τυποποίησης
USDA	United States Department of Agriculture	Υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών
PI-PLC	Phosphatidylinositol-specific phospholipase C	Φωσφατιδυλινοσιτόλη δράση φωσφολιπάσης C
GMP	Good Manufacturing Practices	Ορθές Πρακτικές Παραγωγής

Πρόλογος

Ως τροφιμογενείς ασθένειες αναφέρονται οποιεσδήποτε ασθένειες που προκύπτουν από την κατανάλωση τροφίμων μολυσμένων με βακτήρια, ιούς, παράσιτα ή λόγω παρουσίας τοξινών και άλλων χημικών ουσιών (eody.gov.gr, n.d.).

Η κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων ευθύνεται για την μετάδοση περισσότερων από διακόσιους γνωστούς παθογόνους οργανισμούς. Οι τροφιμογενείς ασθένειες ευθύνονται για το ένα τρίτο των θανάτων μεταξύ των παιδιών ηλικίας κάτω των πέντε ετών (Silk, et al., 2013). Ετησίως 420.000 άνθρωποι πεθαίνουν στον πλανήτη λόγω τροφιμογενών ασθενειών. Σύμφωνα με τα στοιχεία των ομοσπονδιακών υπηρεσιών ελέγχου και πρόληψης νοσημάτων των Ηνωμένων Πολιτειών, οι τροφιμογενείς ασθένειες αγγίζουν τα 76 εκατομμύρια κρούσματα ετησίως. Το σχετικό ρίσκο μόλυνσης έχει αυξηθεί τα τελευταία 20 χρόνια, παρά το γεγονός ότι τα μέτρα και οι έλεγχοι για την ποιότητα των τροφίμων έχουν ενταθεί και έχουν βελτιωθεί ποιοτικά. Η κατανάλωση μολυσμένου τροφίμου επηρεάζει σύμφωνα με εκτιμήσεις το 25% του παγκόσμιου πληθυσμού, αποτελώντας ένα σημαντικό παράγοντα θνησιμότητας και ανησυχίας για τους διαχειριστές των συστημάτων δημόσιας υγείας (Silk, et al., 2013).

Υπάρχουν διάφοροι παράγοντες όπως βακτήρια, ιοί και παράσιτα που προκαλούν τροφιμογενείς ασθένειες. Μία από τις πιο συχνές αιτίες που προκαλούν τροφιμογενή νοσήματα είναι η παρουσία βακτηρίων. Η λιστέρια μπορεί να προκαλέσει σοβαρή ασθένεια τόσο στα ζώα όσο και στον άνθρωπο, ιδιαίτερα μέσω της κατανάλωσης μολυσμένων προϊόντων, γαλακτοκομικών, κρέατος ή και συσκευασμένων προϊόντων.

Το βακτήριο *Listeria monocytogenes* προκαλεί τη νόσο της λιστερίωσης. Είναι μια σοβαρή, αλλά συνήθως σε υγιή πληθυσμό αποτρέψιμη και θεραπεύσιμη ασθένεια. Ωστόσο, μπορεί να αποβεί ιδιαίτερα επικίνδυνη για άτομα σε ανοσοκαταστολή, εγκύους, ηλικιωμένους και γενικότερα άτομα με αδύναμο ανοσοποιητικό. Τα συγκεκριμένα άτομα θα πρέπει να αποφεύγουν συστηματικά την κατανάλωση τροφίμων που θεωρούνται υψηλής επικινδυνότητας, όπως προϊόντα παστά, έτοιμα ή προμαγειρεμένα, αλλά και μαλακά τυριά. Σημαντικός παράγοντας επικινδυνότητας θεωρείται και η διαδεδομένη παρουσία του βακτηρίου στο φυσικό περιβάλλον, γεγονός που αυξάνει τις πιθανότητες επιμόλυνσης των τροφίμων.

Παρά το γεγονός ότι η λιστερίωση θεωρείται μία σπάνια ασθένεια που δεν ξεπερνάει τα 10 κρούσματα για κάθε ένα εκατομμύριο πληθυσμού, η επικινδυνότητα της ασθένειας θεωρείται σημαντική, καθιστώντας την μία από τις πιο επικίνδυνες ασθένειες που σχετίζονται με το τρόφιμο. Στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της ασθένειας θεωρούνται ο υψηλός δείκτης θνησιμότητας, αλλά και η ικανότητα του βακτηρίου να επιβιώνει στις χαμηλές θερμοκρασίες που συντηρούνται τα προϊόντα, επιτρέποντας την επιμόλυνση μεγάλο αριθμό ατόμων. Η ασθένεια μπορεί να μεταδοθεί από άνθρωπο σε άνθρωπο, ενώ η παρουσία της στην κοπριά, στο νερό και στο φυσικό περιβάλλον γενικότερα, επιτρέπει την μετάδοση της μέσω των λαχανικών και των ζωικών τροφών και των παραγώγων τους. Συχνά τα προϊόντα μπορεί να μολυνθούν κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, ενώ τα επίπεδα παρουσίας του βακτηρίου μπορούν να αυξηθούν σε όλα τα στάδια της παραμονής του τροφίμου στην εφοδιαστική αλυσίδα.

Η αναγνώριση του βακτηρίου ως παράγοντα τροφιμογενούς μόλυνσης έγινε το 1981, όταν στη Νέα Σκωτία και συγκεκριμένα στο Χάλιφαξ, η κατανάλωση λαχανικών συνδέθηκε με μολυσμένη κοπριά. Υπήρξε επιδημία με 41 περιστατικά, εκ των οποίων τα 18 ήταν θανατηφόρα και αφορούσαν κυρίως εγκυμονούσες και νεογέννητα βρέφη. Ύστερα από το συγκεκριμένο περιστατικό, έχουν αναφερθεί πολλά κρούσματα και πολλές συρροές τροφιμογενούς λιστερίωσης και η *L. monocytogenes* αναγνωρίζεται πλέον ευρέως ως σημαντικός κίνδυνος στη βιομηχανία τροφίμων.

1. Γενικό μέρος - Περιγραφή βακτηρίου και επιδημιολογία

Η *Listeria* spp. είναι ένα θετικό κατά Gram, μικροαερόφιλο βακτήριο, που δεν σχηματίζει ενδοσπόρια, θετικό σε καταλάση και σε σχήμα ράβδου (βάκιλλος), το οποίο είναι εγγενές παθογόνο (Larsen, Kallipolitis, Christiansen, Olsen, & Ingmer, 2006; Abdollahzadeh, Ojagh, Hosseini, & Irajian, 2016; Shamloo, et al., 2019). Η *Listeria* spp. ταξινομήθηκε την δεκαετία του 1960 στην οικογένεια *Corynebacteriaceae* σύμφωνα με την 7η έκδοση του Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Parte, et al., 2012), αλλά τοποθετήθηκε σε μια νέα οικογένεια, που ονομάστηκε *Listeria* ceae το 2004 (Goodfellow, et al., 2009). Ωστόσο, υπάρχει στενή σχέση μεταξύ της αλληλουχίας 16S rRNA της *Listeria* και των *Lactobacillus* και *Erysipelothrix*, γεγονός που οδήγησε στην κοινή ταξινόμησή τους. (Vos, et al., 2009). Το συγκεκριμένο βακτήριο όμως, δεν επιβιώνει μόνο στην ιδανική θερμοκρασία των 37

βαθμών κελσίου, αλλά και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, ενώ χαρακτηρίζεται από την παρουσία τείχοϊκού οξέος, όπως συμβαίνει στα θετικά βακτήρια κατά Gram. Το βακτήριο *Listeria* αποτελείται από 17 είδη, μεταξύ των οποίων έξι είδη είναι πιο συχνά: *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Listeria seeligeri*, *Listeria innocua*, *Listeria welshimeri* και *Listeria grayi* (Gasanon, Hughes, & Hansbro, 2005). Μεταξύ αυτών ιδιαίτερα επικίνδυνο για τον άνθρωπο και τα ζώα είναι το *L. monocytogenes*.

Η μόλυνση από το βακτήριο *Listeria monocytogenes* μπορεί να προέλθει από ποικιλία πηγών. Το βακτήριο μπορεί να μολύνει το έδαφος, το νερό καθώς και διαφορετικά τρόφιμα, καταλήγοντας στα ζώα και στον άνθρωπο (Rabiey, Hosseini, & Rezaei, 2014). Η παραγωγή της κυτολυσίνης λιστεριολυσίνη O (LLO), ενεργοποιείται σε περιβάλλον χαμηλού pH, ενώ δεν εμποδίζεται από τη θερμική επεξεργασία (Liu, Lawrence, Austin, & Ainsworth, 2007). Η *Listeria monocytogenes* είναι ένας κύριος αιτιολογικός παράγοντας νοσηλείας και θνησιμότητας.

Η κατηγοριοποίηση των στελεχών της *Listeria monocytogenes* με βάση την παρουσία του σωματικού αντιγόνου O, περιγράφει 13 διαφορετικούς ορότυπους. Παρά την συχνότητα παρουσίας και τη διάδοση των οροτύπων αυτών στα τρόφιμα, ένας συγκεκριμένος, ο 4b, σχετίζεται στενά με τα κρούσματα λιστερίωσης (Abdollahzadeh, Ojagh, Hosseini, & Irajian, 2016). Το γεγονός ότι το βακτήριο μπορεί να ανιχνευτεί σε πολλά σημεία στην φύση και στην αλυσίδα επεξεργασίας και διανομής τροφίμων, σχετίζεται με την ικανότητά του να επιβιώνει και να αναπτύσσεται σε διαφορετικά περιβάλλοντα θερμοκρασίας και υγρασίας, ενώ μπορεί να επιβιώσει και σε περιβάλλον υψηλής περιεκτικότητας σε αλάτι.

Το βακτήριο μπορεί εύκολα να αναπτυχθεί σε διάφορα τρόφιμα που φυλάσσονται στο ψυγείο (Manijeh, Mohammad, Hjieh Ghasemian, & Ehsan, 2012). Παράλληλα, η λιστέρια προσαρμόζεται με επιτυχία στο γαστρεντερικό περιβάλλον του ανθρώπου. Μπορεί να επιβιώσει παρά τα χαρακτηριστικά της οξύτητας και της έλλειψης οξυγόνου, εμφανίζοντας αντοχή στα χολικά άλατα και στα πεπτίδια. Η ικανότητα προσαρμογής στο γαστρεντερικό σύστημα του ανθρώπου, ευθύνεται για την δημιουργία χρόνιων λοιμώξεων (Gahan, 2005). Τα συμπτώματα της λοίμωξης, ανάλογα με την κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος του ατόμου, μπορεί να είναι από ήπια έως αρκετά σοβαρά. Τα άτομα με αδύναμο ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να παρουσιάσουν συμπτώματα σηψαιμίας ή μηνιγγίτιδας, ενώ στην περίπτωση της εγκυμοσύνης μπορεί να προκαλέσει

πρώωρο τοκετό ή και αποβολή. Ιδιαίτερα έντονα συμπτώματα εμφανίζουν ασθενείς σε ανοσοκαταστολή.

Τα συμπτώματα παρουσιάζονται πιο ήπια στους υγιείς ενήλικες. Συνήθως έχουν την μορφή γαστρεντερικών εκδηλώσεων, που συνοδεύονται από ήπιο πυρετό και ναυτία. Στις Ηνωμένες Πολιτείες εκτιμάται ότι σε ετήσια βάση μολύνονται τουλάχιστον 1600 άτομα, με τα θανατηφόρα περιστατικά να ανέρχονται περίπου στα 260. Τα κρούσματα και η θνησιμότητα παρουσιάζουν εποχικό χαρακτήρα και κορυφώνονται συνήθως μεταξύ των μηνών Ιουλίου και Οκτωβρίου (Sauders, et al., 2003).

1.1 Επιδημιολογικά δεδομένα

Η μόλυνση με *Listeria monocytogenes* είναι σχετικά σπάνια, και η ετήσια επίπτωση έχει μειωθεί από 7,7 κρούσματα ανά εκατομμύριο σε 3,1 κρούσματα ανά εκατομμύριο κατά την περίοδο 1990-2003 στις ΗΠΑ (MMWR, 2011). Σύμφωνα με ευρωπαϊκά δεδομένα, από το 1999 έως το 2003 τα κρούσματα ανά εκατομμύριο μειώθηκαν από 4,5 σε 3,4 (MMWR, 2011). Με βάση τα στοιχεία άλλων μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί στις Ηνωμένες Πολιτείες, σε ετήσια βάση παρουσιάζονται από 1795 έως 1860 κρούσματα για κάθε 100.000 πληθυσμού (Shamloo, et al., 2019). Παράλληλα, η θνησιμότητα σύμφωνα με έρευνες που έχουν γίνει στις Ηνωμένες Πολιτείες, είναι αρκετά υψηλή και αγγίζει περίπου το 30%. Αντίστοιχα ευρωπαϊκά στοιχεία της ευρωπαϊκής αρχής για την ασφάλεια των τροφίμων (EFSA), αναφέρουν 1.760 περιστατικά το 2013, ενώ το 99% των περιστατικών συνοδεύτηκε από νοσηλεία (MMWR, 2011).

Οι ομοσπονδιακές υπηρεσίες ελέγχου και πρόληψης νοσημάτων στις Ηνωμένες Πολιτείες, κατέστησαν τη λιστερίωση υποχρεωτικά δηλούμενη ασθένεια το 2001. Παράλληλα ξεκίνησε μία συστηματική προσπάθεια για την μελέτη του επιπολασμού αλλά και την διερεύνηση των απομονώσεων του παθογόνου. Τα δείγματα που συλλέγονται προωθούνται, διερευνώνται και ταξινομούνται σε εθνικά εργαστήρια ενώ όλοι οι οργανισμοί παροχής υπηρεσιών υγείας είναι υποχρεωμένοι να αναφέρουν σχετικά περιστατικά. Οι αναφορές θα πρέπει να συνοδεύονται και από συνεντεύξεις των ατόμων που έχουν μολυνθεί με σκοπό την παραγωγή κρίσιμων δεδομένων σχετικά με την πρόελευση της μόλυνσης, μέσα από μία συστηματική παρακολούθηση των πληθυσμών και των πηγών μόλυνσης (Zhu, Gooneratne, & Hussain, 2017). Αξιοποιώντας το διευρυμένο σύστημα παρακολούθησης των περιστατικών και των αναφορών, οι υγειονομικές αρχές

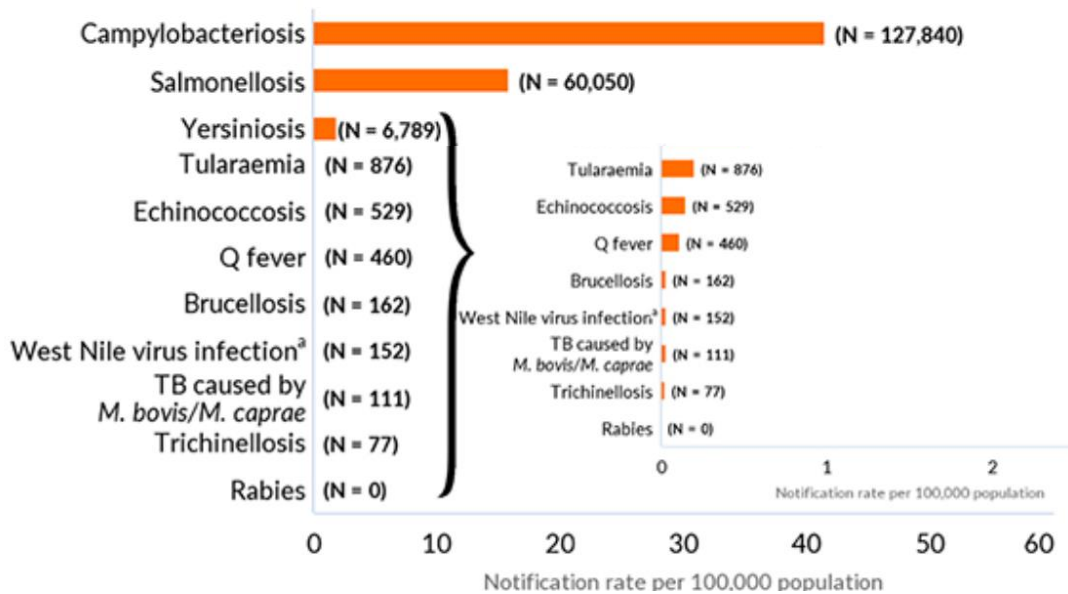
των ΗΠΑ ανέφεραν ανάμεσα σε 884 περιπτώσεις τροφιμογενούς νόσησης, μόνο ένα περιστατικό λιστερίωσης το 2006, παρά την σχετική παγκόσμια αύξηση που παρατηρήθηκε την επόμενη διετία. Σημαντικό επίσης θεωρείται το γεγονός ότι τα κρούσματα σε παγκόσμιο επίπεδο μειώθηκαν κατά 42% σε σχέση με τον αριθμό των αναφερόμενων κρουσμάτων το 1998(Chen, et al., 2006).

Τα τελευταία χρόνια, τα περιστατικά που σχετίζονται με την κατανάλωση έτοιμων προϊόντων έχουν μειωθεί, ενώ τα περισσότερα περιστατικά που εμφανίζονται σχετίζονται κυρίως με την κατανάλωση γαλακτοκομικών (Olaimat, et al., 2018). Υπάρχουν ωστόσο και σημαντικά περιστατικά που συνδέονται με άλλα είδη διατροφής. Έχουν αναφερθεί περιστατικά που σχετίζονται με την κατανάλωση λαχανικών και φρούτων, ενώ στα περιστατικά συμπεριλαμβάνονται και άτομα που κατανάλωσαν παγωτό ή πεπόνι, παρά το γεγονός ότι τα συγκεκριμένα προϊόντα σχετίζονται συνήθως με την παρουσία χαμηλού βακτηριδιακού φορτίου. Τον Μάρτιο του 2015 αναφέρθηκε επιδημία λιστερίωσης από κατανάλωση παγωτού. Στην συγκεκριμένη επιδημία αναφέρθηκε το σπάνιο φαινόμενο της ταυτόχρονης συνύπαρξης στα δείγματα του τροφίμου τριών διαφορετικών οροτύπων (1/2b, 3b και 1/2a), παρά το γεγονός ότι το επίπεδο μόλυνσης του παγωτού θεωρήθηκε σχετικά χαμηλό. Θα πρέπει επίσης να ληφθεί υπόψη, ότι η κατάσταση της υγείας των ασθενών έχει μεγάλη συσχέτιση με τη μόλυνση από *L. monocytogenes*, καθώς το ποσοστό μόλυνσης είναι υψηλότερο σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς (Buchanan, Gorris, Hayman, Jackson, & Whiting, 2017).

Παρά το γεγονός ότι οι πιο διαδεδομένοι ορότυποι δεν θεωρούνται επικίνδυνοι για τον άνθρωπο, ευθύνονται για το 30% των περιστατικών που χρειάζονται νοσηλεία.(Burall, Grim, Mammel, & Datta, 2017). Στην Ευρώπη, το 2013 αναφέρθηκαν 1.760 κρούσματα λιστερίωσης από την Ευρωπαϊκή αρχή για την ασφάλεια των τροφίμων. Τα συγκεκριμένα κρούσματα συνδέονται με την κατανάλωση θαλασσινών, κρέατος, διαφόρων προϊόντων κρέατος, τυριών χυμών και λαχανικών (Zhu, Gooneratne, & Hussain, 2017). Σε αντίστοιχες έρευνες που έγιναν στην Κίνα παρουσιάστηκαν ποσοστά επιμόλυνσης των τροφίμων που άγγιξαν το 20%. Παράλληλα παρατηρήθηκε παρουσία διαφορετικών οροτύπων στις βόρειες και στις νότιες περιοχές της Κίνας. Το γεγονός αυτό συνδέθηκε με το κλίμα και την ανθεκτικότητα των οροτύπων στις υψηλές ή τις χαμηλές θερμοκρασίες(Wu, et al., 2015).

Με βάση τα στοιχεία της ευρωπαϊκής ένωσης για το 2021, η λιστερίωση παρουσιάζεται στην 5η θέση των πιο συχνά αναφερόμενων ζωνοδόσων. Αναφέρθηκαν

2183 περιστατικά, γεγονός που αντιστοιχεί σε μία αύξηση των περιπτώσεων κατά 14% συγκριτικά με τα στοιχεία του 2020. Τα περιστατικά σε μεγάλο ποσοστό αφορούσαν κρούσματα ασθενών άνω των 64 ετών. Η Ευρωπαϊκή Ένωση προχώρησε στη δημιουργία διαδραστικών εργαλείων με στόχο την επικαιροποίηση των στοιχείων για τον επιπολασμό της νόσου αλλά και την ενημέρωση των ευρωπαίων πολιτών με πληροφορίες, τόσο για τη νόσο όσο και για τα στοιχεία που διαθέτει η ευρωπαϊκή αρχή για την ασφάλεια των τροφίμων. Τα διαγνωστικά εργαλεία παρέχουν στοιχεία που συλλέγονται εντός και εκτός ευρωπαϊκής ένωσης από το 2017.



Εικόνα 1. Έκθεση για τις ζωνοσόους της Ευρωπαϊκής Ένωσης (EFSA, 2022)

1.2 Επιδημίες λιστερίωσης

Εδώ είναι μερικές από τις επιδημίες λιστερίωσης που έχουν καταγραφεί στο παρελθόν (Olaimat, etal., 2018):

- Επιδημία λιστερίωσης στα σαλάμι το 1998 στις Ηνωμένες Πολιτείες: Αυτή η επιδημία συνδέθηκε με μολυσμένα σαλάμι και προκάλεσε αρκετά κρούσματα λιστερίωσης και θανάτους.
- Επιδημία λιστερίωσης σε ψιλικά της διατροφής στην Ευρώπη το 2013: Αυτή η επιδημία σχετίστηκε με την κατανάλωση μολυσμένων ψιλικών, όπως κρέας, και προκάλεσε αρκετά κρούσματα λιστερίωσης.
- Επιδημία λιστερίωσης σε αποξηραμένα τυριά στη Γαλλία το 2014: Αυτή η επιδημία συνδέθηκε με αποξηραμένα τυριά και προκάλεσε αρκετά κρούσματα λιστερίωσης.

- Επιδημία λιστερίωσης στις Ηνωμένες Πολιτείες το 2011: Αυτή η επιδημία συνδέθηκε με μια υποκατηγορία του *Listeria monocytogenes* που βρέθηκε σε προϊόντα από το καταψύκτη, όπως παγωτά και παγωμένους χυμούς. Προκλήθηκαν αρκετοί θάνατοι και ασθένειες.
- Επιδημία λιστερίωσης στην Ευρώπη το 2017: Αυτή η επιδημία συνδέθηκε με σάντουιτς και αλλαντικά και προκάλεσε αρκετά κρούσματα λιστερίωσης σε πολλές ευρωπαϊκές χώρες.
- Επιδημία λιστερίωσης στη Νότια Αφρική το 2017-2018: Αυτή η επιδημία σχετίστηκε με την κατανάλωση προϊόντων διατροφής όπως πολύχρωμα πιπέρια και ντομάτες, και προκάλεσε αρκετά θύματα.

Αυτές είναι μερικές παραδείγματα επιδημιών λιστερίωσης που έχουν καταγραφεί στο παρελθόν. Η πρόληψη της λιστερίωσης περιλαμβάνει την αποφυγή κατανάλωσης υποκατεργασμένων τροφίμων, καθώς και την ασφαλή μαγειρική και ψύξη τροφίμων.

2. Ανίχνευση *Listeria spp* σε κλινικό δείγμα και τρόφιμα ISO.

Μέθοδος ανίχνευσης/καταμέτρησης

Η λιστερίωση είναι μία από τις πιο επικίνδυνες νόσους που σχετίζεται με το ανθρώπινο τρόφιμο. Από τη στιγμή που η έρευνα αποκάλυψε ότι το *L. monocytogenes* είναι ένα τροφιμογενές παθογόνο βακτήριο, υπάρχει μια συνεχής προσπάθεια σχετικά με την απομόνωση του βακτηρίου από τρόφιμα και άλλα δείγματα. Οι πρωτογενείς μελέτες έδειξαν ότι η *L. monocytogenes* μπορεί να αναπτυχθεί σε χαμηλή θερμοκρασία (Burall, Grim, Mammel, & Datta, 2017). Συνεπώς, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν αυτό το στοιχείο για την απομόνωσή της από κλινικά δείγματα με καλλιέργεια για μεγάλο χρονικό διάστημα στους 4°C. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος δεν ήταν ιδανική για την καλλιέργεια των κυττάρων της *Listeria*, τα οποία επηρεάζονται από τις συνθήκες θερμοκρασίας και δεν μπορούσαν να αναπτυχθούν επαρκώς. Για την απομόνωση κλινικών δειγμάτων χρειάζεται ο εμπλουτισμός των βακτηρίων σε ανιχνεύσιμο επίπεδο πέντε μονάδων σχηματισμού αποικίας ανά χιλιοστόλιτρο του δείγματος. Σε κάθε 25 γραμμάρια δείγματος τροφίμων θα πρέπει να υπάρχει μία ανιχνεύσιμη μονάδα *Listeria*. Αξιοποιήθηκαν βακτηριοστατικοί παράγοντες για να αναπτυχθούν οι μονάδες αποικίας εξαιτίας του γεγονότος ότι το βακτήριο δεν αναπτύσσεται με γρήγορους ρυθμούς, ενώ την ανάπτυξη του μπορεί να

δυσχεράνει η παρουσία μικροοργανισμών που δρουν ανταγωνιστικά (Gasanon, Hughes, & Hansbro, 2005).

Κατά τη διαδικασία καλλιέργειας και εμπλουτισμού του δείγματος, είναι σημαντικό να ελέγχονται η προέλευση του βακτηρίου καθώς και η προσθήκη ανασταλτικών μέσων που θα εμποδίσουν την ανάπτυξη ανταγωνιστικών βακτηρίων. Με βάση την πηγή προέλευσης του βακτηρίου αξιοποιούνται διαφορετικοί βακτηριοφάγοι, αναστολείς ανάπτυξης και μέσα εμπλουτισμού της διαδικασίας. Αξιοποιούνται συστηματικά τα μέσα ηλεκτρικού ζυμού λιστέριας, τα μέσα του πανεπιστημίου Vermont και τα μέσα Fraser. Τα μέσα του ηλεκτρικού ζυμού παρουσιάζουν την υψηλότερη εξειδίκευση, παρέχοντας το κατάλληλο περιβάλλον για απομόνωση και ανάπτυξη του βακτηρίου όταν προέρχεται από θαλασσινά (Burall, Grim, Mammel, & Datta, 2017). Η αξιοποίηση των μέσων Vermont αποδίδει μεγαλύτερο αριθμό ψευδών αρνητικών αποτελεσμάτων από τα μέσα Frazer (Loncarevic, Økland, Sehic, Norli, & Johansson, 2008).

Η διαδικασία του εμπλουτισμού αποτελεί μία από τις πιο συχνά αξιοποιούμενες μεθόδους στο χώρο του ελέγχου της ποιότητας των τροφίμων. Παράγει αποτελέσματα συνήθως ύστερα από επτά ημέρες. Παράλληλα άλλες σημαντικές διαδικασίες αναφοράς για την ανίχνευση της *Listeria* σε όλα τα δείγματα τροφίμων είναι οι βακτηριολογικές και αναλυτικές μέθοδοι του Οργανισμού Τροφίμων και Φαρμάκων, FDA, (BAM) και οι μέθοδοι του Διεθνούς Οργανισμού Standard (ISO) 11290 (Hitchins&Hitchins, 2001). Ο εμπλουτισμός στην πρώτη μέθοδο πραγματοποιείται με την παρουσία επιλεγμένων παραγόντων που υποστηρίζουν την ανάπτυξη του βακτηριδίου, με την ταυτόχρονη παρουσία παραγόντων που εμποδίζουν την παράλληλη ανάπτυξη μυκήτων. Η διαδικασία συνοδεύεται από την ανάπτυξη για 48 ώρες σταθερής θερμοκρασίας 30 βαθμών κελσίου. Αντίθετα η μέθοδος ISO συνίσταται στην εφαρμογή δύο σταδίων. Στο πρώτο στάδιο αξιοποιείται για 24 ώρες ζυμός Fraser, ενώ στο δεύτερο στάδιο, η διαδικασία εμπλουτίζεται εκ νέου με ζυμό Fraser για την επίτευξη μεγαλύτερης ισχύος κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού (Gasanon, Hughes, & Hansbro, 2005).

Η αξιοποίηση του ζυμού Fraser, συμπεριλαμβάνει την χρήση των ίδιων βακτηριοστατικών στοιχείων με τη μέθοδο FDA. Για να ελεγχθεί η δράση των συγκεκριμένων στοιχείων στην ανάπτυξη των βακτηρίων, οι παράγοντες αυτοί προστίθενται μετά από μία διαδικασία τεσσάρων περίπου ωρών που επιτρέπει την ανάκαμψη και την επώαση των κυττάρων (Hitchins&Hitchins, 2001).

Υπάρχουν ωστόσο κι άλλες διαδικασίες εμπλουτισμού και ανάπτυξης όπως για παράδειγμα η μέθοδος που έχει αναπτύξει το υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών. Στη συγκεκριμένη μέθοδο αξιοποιείται αρχικά το μέσο του πανεπιστημίου Vermont, ενώ στη συνέχεια αξιοποιείται ο ζωμός Fraser, με την παράλληλη χρήση τροποποιημένων εκλεκτικών παραγόντων. Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη δειγμάτων που προέρχονται από αυγά, πουλερικά κρέας αλλά και περιβαλλοντικά δείγματα (Hau&Scharigo, 2010).

Για τον εμπλουτισμό συγκεκριμένων δειγμάτων που προέρχονται από γαλακτοκομικά προϊόντα, αξιοποιείται η διαδικασία AOA/IDF 990.12. Η διαδικασία αξιοποιεί τα ίδια βακτηριοστατικά στοιχεία και παράγοντες εμπλουτισμού, ενώ στη συνέχεια τα βακτήρια καλλιεργούνται σε άγαρ Oxford. Σύμφωνα με το πρωτόκολλο ανίχνευσης και απαρίθμησης *L. monocytogenes* της σκανδιναβικής επιτροπής (Αρ. 136), το 95 έως 96% των δειγμάτων είναι ανιχνεύσιμα αξιοποιώντας το πρώτο βήμα της διαδικασίας ISO, αξιοποιώντας τα μισά μέσα από όσα απαιτεί η μέθοδος Fraser, ενώ το δεύτερο βήμα χρειάζεται μόνο στην περίπτωση που η επιμόλυνση του δείγματος είναι σε χαμηλό επίπεδο (Loncarevic, Økland, Sehic, Norli, & Johansson, 2008).

2.1. Εκλεκτικά μέσα

Τρεις μέθοδοι εμπλουτισμού δείγματος αξιοποιούν ως εκλεκτικό μέσο palcam και άγαρ oxford, παρά την αδυναμία διαχωρισμού παθογόνων και μη παθογόνων *Listeria s.* (Aurora, Prakash, & Prakash, 2009). Σε τελευταίες έρευνες αξιοποιήθηκαν χρωμογόνα μέσα που βασίζονται σε βασικούς παθογόνους παράγοντες λοιμογόνου δράσης της *Listeria*. Τα χρωμογόνα μέσα είναι η πιο δημοφιλής μέθοδος επιβεβαίωσης καλλιέργειας λόγω της εύκολης προετοιμασίας και παρατήρησής τους. Επιτρέπουν την ταυτοποίηση της *L. monocytogenes* μέσα σε ένα εικοσιτετράωρο. Η χρήση στην πλάκα ALOA μέσων που επιτρέπουν την διάγνωση με βάση τα χρώματα αξιοποιεί, την ανίχνευση συγκεκριμένων στοιχείων λιπαρού οξέος που προκαλεί τη δημιουργία ενός περιμετρικού αδιάφανου στεφανιού στις μονάδες της αποικίας (Greenacre, Brocklehurst, Waspe, Wilson, & Wilson, 2003).

Υπάρχει ποικιλία μέσων που χρησιμοποιεί παρόμοιες διαγνωστικές μεθόδους, αλλά και διάγνωση που βασίζεται στον εντοπισμό αιμολυτικού και μη αιμολυτικού βακτηρίου λιστέριας. Η μέθοδος βασίζεται στη δημιουργία κίτρινου περιγράμματος σε

αποικία με μπλε χρώμα η οποία βασίζεται στη ζύμωση της ξυλόζης. Ανάλογα με τον τύπο της λιστέριας, η αποικία μπορεί να έχει άλλους χρωματισμούς όπως λευκός, με ή χωρίς την παρουσία κίτρινου περιγράμματος.(Jantzen, et al., 2006).

Το άγαρ BBLCHROM χρησιμοποιείται για την απομόνωση της *Listeria* από διαφορετικές πηγές, όπως τρόφιμα και περιβαλλοντικά δείγματα. Συγκρίσεις μεταξύ ALOA, Oxford και PALCAM, παρουσιάζουν κοινές δυνατότητες των τριών μεθόδων στον εντοπισμό του βακτηρίου, ωστόσο η απομόνωση του *L. innocua* υπήρξε δεκαπλάσια όταν αξιοποιήθηκε η μέθοδος ALOA, η οποία εμφανίζει υψηλότερα ποσοστά ανάκτησης εντός 24 ωρών(Loncarevic, Økland, Sehic, Norli, & Johansson, 2008).

3. Μέθοδοι τυποποίησης για *L. monocytogenes*

Οι μέθοδοι τυποποίησης για τη *Listeria monocytogenes* περιλαμβάνουν τη διαφοροποίηση διαφόρων στελεχών που σχετίζονται με ανθρώπινες λοιμώξεις και επιμολύνσεις τροφίμων. Για να επιτευχθεί αυτό, έχει χρησιμοποιηθεί ένας συνδυασμός ορολογικών και μοριακών τεχνικών.

3.1. Ορολογικές μέθοδοι

Η ταξινόμηση των ειδών της *Listeria monocytogenes* βασίζεται κυρίως στον ορολογικό προσδιορισμό, ο οποίος λαμβάνει υπόψη τόσο τα σωματικά (O) όσο και τα flagellar (H) αντιγόνα. Συγκεκριμένα, η *L. monocytogenes* έχει κατηγοριοποιηθεί σε 15 ορότυπους σύμφωνα με το θερμοσταθερό αντιγόνο O και σε τέσσερις ορότυπους με βάση το θερμοευαίσθητο αντιγόνο H. Ορισμένοι ορότυποι προκύπτουν από συνδυασμό τόσο των αντιγόνων O όσο και των αντιγόνων H, με αποτέλεσμα να προκύπτουν συνολικά 13 διακριτοί ορότυποι, μεταξύ των οποίων οι 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e και 7 (Clark, 2015-2017). Ειδικότερα, οι ορότυποι 1/2a, 1/2b και 4b συνδέονται συχνά με ανθρώπινες ασθένειες. Ειδικότερα, ο ορότυπος 4b συνδέεται συχνά με επιδημικές επιδημίες *Listeria*, ενώ οι 1/2a και 1/2b είναι πιο σποραδικές (de Vasconcelos Byrne, Hofer, Vallim, & de Castro Almeida, 2016). Ωστόσο, παρατηρείται μια πρόσφατη αύξηση των κρουσμάτων που αφορούν τον ορότυπο 1/2a σε χώρες όπως ο Καναδάς, η Γερμανία και η Αυστρία (Chenal-Francisque, et al., 2011). Παρόλο που οι μέθοδοι προσδιορισμού

ορότυπου είναι σχετικά απλές, ενδέχεται να έχουν περιορισμένη ευαισθησία και συχνά συμπληρώνονται από πρόσθετες μοριακές τεχνικές.

2.2. Λυσιτιπία

Τα στελέχη των ειδών *Listeria monocytogenes* θα μπορούσαν να διακριθούν με βάση την ευαισθησία τους σε συγκεκριμένους φάγους. Σε αυτή τη δοκιμασία, μετά τη χορήγηση καθορισμένων στελεχών φάγων που στοχεύουν ειδικά αντιγόνα σε κύτταρα *Listeria monocytogenes*, λαμβάνει χώρα λύση των κυττάρων *Listeria monocytogenes*. Στη συνέχεια, ο τύπος φάγου κάθε απομόνωσης χαρακτηρίζεται με βάση την ευαισθησία των στελεχών *Listeria*. Αυτή η δοκιμασία είναι μια αξιόπιστη δοκιμή για τη διάκριση των στελεχών *Listeria* (Olaimat, et al., 2018).

2.3. Ηλεκτροφόρηση DNA μετά από πέψη με περιοριστική ενδονουκλεάση σε παλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο (Pulsed Field Gel Electrophoresis-PFGE)

Η ηλεκτροφόρηση DNA μετά από πέψη με περιοριστική ενδονουκλεάση σε παλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο (Pulsed Field Gel Electrophoresis - PFGE) είναι μια αποτελεσματική και εύχρηστη μέθοδος για την τυποποίηση παθογόνων στελεχών *Listeria monocytogenes* από μολυσμένα δείγματα (Abdollahzadeh, Ojagh, Hosseini, & Irajian, 2016). Η μέθοδος αυτή επιτρέπει τη διαφοροποίηση διαφόρων στελεχών *Listeria monocytogenes* που προέρχονται από διαφορετικές πηγές. Η διαδικασία περιλαμβάνει τον κατακερματισμό ολόκληρου του γονιδιώματος του βακτηρίου σε πολλαπλά κομμάτια με τη χρήση ενζύμων περιορισμού (ενδονουκλεάσες). Αυτά τα θραύσματα DNA δημιουργούν διακριτά μοτίβα ζωνών όταν διαχωρίζονται σε πηκτή αгарόζης. Στη συνέχεια, το *L. monocytogenes* κατηγοριοποιείται σε διακριτούς υποτύπους, που αναφέρονται ως παλλότυποι, με βάση προκαθορισμένα πρότυπα PFGE.

3. Μοριακός χαρακτηρισμός στελεχών *L. monocytogenes*

3.1. Μέθοδοι PCR-Μοριακή οροτυποποίηση

Έχει αναπτυχθεί μια εξειδικευμένη μακροσυστοιχία *Listeria*, η οποία περιλαμβάνει ανιχνευτές που αντιπροσωπεύουν συγκεκριμένες αλληλουχίες που προέρχονται από τρία διαφορετικά γονιδιώματα *Listeria*: *L. monocytogenes* serovar 1/2a στέλεχος EGDe, *L.*

monocytogenesserovar 4b στέλεχος CLIP 80459 και *L. innocuaserovar* CLIP 80459 (CLIPa1126). Αυτή η μακροσυστοιχία χρησιμοποιήθηκε για υβριδισμό με γονιδιωματικό DNA από στελέχη *Listeria* που συλλέχθηκαν από διάφορες πηγές. Με βάση το μεταβλητό περιεχόμενο γονιδίου, οι τρεις σειρές I, II και III του *L. monocytogenes* χωρίστηκαν περαιτέρω σε πέντε φυλογενετικές ομάδες, καθεμία από τις οποίες συσχετίστηκε με ορούς: I.1 (1/2a-3a), I.2 (1/2c-3c), II.1 (4b4d-4e), II.2 (1/2b-3b-7) και III (4a-4c) (Doumith, et al., 2004).

Ταυτοποιήθηκαν γονίδια-δείκτες που σχετίζονται ειδικά με τις τέσσερις ομάδες που αναφέρθηκαν πρώτα. Πράγματι, 19 γονίδια που ταυτοποιήθηκαν στο στέλεχος EGDe 1/2αοροπαραγωγής *L. monocytogenes* συσχετίστηκαν ειδικά με τη σειρά I της *L. monocytogenes* (1/2a-3a-1/2c-3c) και πέντε γονίδια που ταυτοποιήθηκαν στη μερική αλληλουχία του *L. monocytogenesserovar* 4b στέλεχος CLIP 80459 συσχετίστηκαν ειδικά με *L. monocytogenes* lineage II (1/2b-3b-7-4b-4d-4e). Περαιτέρω, τρία γονίδια που ταυτοποιήθηκαν στο στέλεχος CLIP 80459 του *L. monocytogenesserovar* 4b βρέθηκαν ειδικά για τη σειρά II.1 (4b4d-4e). Η γενεαλογική γραμμή I.2 (1/2c-3c) χαρακτηρίζεται από την παρουσία δύο γονιδίων, των Imo1118 και Imo1119, τα οποία εντοπίστηκαν αρχικά στο στέλεχος EGDe της *Listeria monocytogenesserovar* 1/2a. Τα γονίδια αυτά παρουσίασαν υβριδισμό αποκλειστικά με στελέχη από την ομάδα ορότυπων 1/2c-3c, εκτός από το στέλεχος EGDe του ορότυπου 1/2a. Αυτή η εξαιρετική περίπτωση υποδηλώνει ότι το στέλεχος EGDe είναι ένας άτυπος εκπρόσωπος της ομάδας οροπαραγωγών 1/2a. Η παρατήρηση αυτή υποστηρίζεται περαιτέρω από προηγούμενα ευρήματα υβριδισμού με μακροσυστοιχίες, τα οποία υποδεικνύουν ότι η συνολική γονιδιωματική δομή του στελέχους EGDe σχετίζεται στενότερα με τα στελέχη της ομάδας οροπαραγωγών 1/2c-3c από ό,τι με εκείνα της ομάδας οροπαραγωγών 1/2a-3a. Εναλλακτικά, εξακολουθεί να είναι πιθανό ότι η παρουσία αυτών των συνοδευτικών γονιδίων στο στέλεχος EGDe του ορότυπου 1/2a είναι αποτέλεσμα οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων (Doumith, et al., 2004).

3.2. Πανευρωπαϊκή διερεύνηση επιπολασμού *L. monocytogenes*

Λαμβάνοντας υπόψιν την επικινδυνότητα του βακτηρίου καθώς και την πιθανότητα παρουσίας του σε έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα, η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θεσπίσει κανόνες ασφαλείας για την ασφάλεια των τροφίμων. Ύστερα από αίτημα της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, η Ευρωπαϊκή επιτροπή για την ασφάλεια των τροφίμων (EFSA), εξέδωσε

τεχνικές προδιαγραφές για την διερεύνηση του επιπολασμού του *L. monocytogenes* σε τρόφιμα αλλά και σε περιστατικά που αφορούσαν άτομα σε εθελοντική βάση μέχρι το τέλος του 2011. Στη διαδικασία συμμετείχαν εκτός από τους ευρωπαϊκούς φορείς, εθνικά ινστιτούτα υγείας, εθνικοί φορείς ασφαλείας τροφίμων, εργαστήρια καθώς και τοπικές και περιφερειακές αρχές ασφαλείας τροφίμων και δημόσιας υγείας. Ύστερα από ανώνυμη διασταύρωση των στοιχείων, προέκυψαν 993 απομονώσεις, Από τις οποίες το 58% προήλθε από άνθρωπο ενώ το 42% προήλθε από τρόφιμα (ECDC, 2021).

Εξαιτίας της σοβαρής επικινδυνότητας της μόλυνσης από το βακτήριο, τα στελέχη που έχουν απομονωθεί, ιδιαίτερα από ανθρώπινες περιπτώσεις θα πρέπει να ελεγχθούν και να συγκριθούν, ώστε να εντοπιστούν τα πιο ανθεκτικά, ενώ παράλληλα θα πρέπει να διερευνηθεί σε ποιες περιπτώσεις υπάρχουν επαναλαμβανόμενα κρούσματα μόλυνσης. Περαιτέρω έρευνα κρίνεται απαραίτητη για στελέχη που σχετίζονται με επαναλαμβανόμενα περιστατικά λοιμώξεων σε παρατεταμένο χρονικό διάστημα σε πανευρωπαϊκό επίπεδο (ECDC, 2021).

Η τεχνική Whole Genome Sequencing (WGS) για το παθογόνο *Listeria* είναι μια τεχνολογία που επιτρέπει την ανάλυση της πλήρους γενετικής πληροφορίας ενός μικροοργανισμού. Ειδικά για τη *Listeria monocytogenes*, η οποία είναι ένας κύριος παθογόνος που προκαλεί λιστερίωση, η WGS μπορεί να προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες για την επιδημιολογία, την παθογένεια και την αντοχή στα αντιβιοτικά (Ferreira, Wiedmann, Teixeira, & Stasiewicz, 2014).

Οι πληροφορίες που προκύπτουν από τη WGS μπορούν να χρησιμοποιηθούν για (Ferreira, Wiedmann, Teixeira, & Stasiewicz, 2014):

1. **Ταυτοποίηση Επιδημικών Συστάδων:** Η WGS μπορεί να βοηθήσει τους επιστήμονες να προσδιορίσουν αν δύο ή περισσότερα κρούσματα λιστερίωσης συνδέονται επιδημιολογικά, δηλαδή αν προέρχονται από την ίδια πηγή.
2. **Παθογένεια και Βιουλεντότητα:** Η ανάλυση του γονιδιώματος μπορεί να αποκαλύψει γονίδια που συνδέονται με την παθογένεια και το virulence του παθογόνου.
3. **Αντίσταση στα Αντιβιοτικά:** Η WGS μπορεί να εντοπίσει γονίδια αντοχής στα αντιβιοτικά και να βοηθήσει τους ερευνητές να κατανοήσουν πώς η αντίσταση διαδίδεται.

Επιπλέον, τα δεδομένα που προκύπτουν από τη WGS μπορούν να συνεισφέρουν στην ανάπτυξη νέων διαγνωστικών εργαλείων, στη βελτίωση των στρατηγικών πρόληψης και στον σχεδιασμό πιο αποτελεσματικών θεραπευτικών προσεγγίσεων.

4. Αντιμικροβιακή αντοχή

4.1. Αντοχή στα αντιβιοτικά, στα τρόφιμα και στο περιβάλλον

Οι Olaimatetal. (1996) ανέφεραν για πρώτη φορά την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά σε στελέχη *Listeria monocytogenes* που απομονώθηκαν από τυρί και χοιρινό κρέας. Μεταγενέστερες μελέτες που διεξήχθησαν σε διάφορες χώρες αποκάλυψαν ποικίλα ποσοστά επικράτησης της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά σε διάφορα είδη *Listeria*, που κυμαίνονταν από 0,6% έως 59%, ανάλογα με τις πηγές από τις οποίες ελήφθησαν τα βακτήρια (Walsh, Duffy, Sheridan, Blair, & McDowell, 2001; Antunes, Réu, Sousa, Pestana, & Peixe, 2002; Srinivasan et al., 2005).

Ειδικότερα, η αντοχή στην οξακιλλίνη φαίνεται να είναι η πιο διαδεδομένη μορφή ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, όπως παρατηρήθηκε στην τουρκική βιομηχανία τροφίμων, όπου τα ποσοστά κυμαίνονται από 59% έως 63%, ανάλογα με την πηγή απομόνωσης της *Listeria* (Lyon, Berrang, Fedorka-Cray, Fletcher, & Meinersmann, 2008).

Πρόσφατα ευρήματα από τους Byrne et al. (2016) τόνισαν ότι το 50% των ειδών *Listeria* που απομονώθηκαν από λαχανικά παρουσίασαν ανθεκτικότητα, με δύο απομονωμένα είδη *L. monocytogenes* από έτοιμα προς κατανάλωση λαχανικά να παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην πενικιλίνη G (PEG) και την τετρακυκλίνη (TET).

Επιπλέον, οι Abdollahzadeh et al. (2016) ανέφεραν υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στην *L. monocytogenes*, ιδίως έναντι της αμπικιλίνης, της κεφοταξίμης και της πενικιλίνης. Μεταξύ των κλινικών απομονωμένων ατόμων και των θαλασσινών, η αντοχή στην κεφοταξίμη παρατηρήθηκε στο 100% των περιπτώσεων, ενώ η αντοχή στην πενικιλίνη παρατηρήθηκε στο 71,4% των κλινικών απομονωμένων ατόμων και στο 57% των απομονωμένων ατόμων των θαλασσινών (Abdollahzadeh, Ojagh, Hosseini, & Irajian, 2016).

4.2. Θεραπευτικά σχήματα και μηχανισμοί αντοχή στα αντιβιοτικά στη

Listeria monocytogenes

Οι θεραπευτικές προσεγγίσεις και οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά της *Listeria monocytogenes* αποτελούν αντικείμενο σημαντικής ανησυχίας λόγω των επιπτώσεών τους στη διαχείριση των κρουσμάτων και στην ανθρώπινη υγεία. Κατά την αντιμετώπιση της λιστερίωσης, οι επαγγελματίες υγείας συχνά συνταγογραφούν διάφορα αντιβιοτικά, κυρίως β-λακτάμες όπως η πενικιλίνη και η αμπικιλίνη, είτε μόνα τους είτε σε συνδυασμό με αμινογλυκοσίδες όπως η γενταμικίνη. Σε περιπτώσεις αλλεργίας στην πενικιλίνη, η σουλφαμεθοξαζόλη είναι μια εναλλακτική λύση, ενώ η βανκομυκίνη χρησιμοποιείται επίσης για τη θεραπεία της λιστερίωσης. Επιπλέον, για ασθενείς με βακτηριακιά ή μολυσμένες έγκυες γυναίκες, συνιστάται ερυθρομυκίνη, ριφαμπικίνη, τετρακυκλίνη (TET) και χλωραμφενικόλη. Ευτυχώς, τα περισσότερα είδη *Listeria* είναι ευαίσθητα σε αυτά τα αντιβιοτικά (Troxler, vonGraevenitz, Funke, Wiedemann, & Stock, 2000).

Ωστόσο, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η ανθεκτικότητα των ειδών *Listeria* στα αντιβιοτικά μπορεί να επηρεαστεί από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως το pH, η χαμηλή θερμοκρασία και η συγκέντρωση αλάτων. Επιπλέον, η ικανότητα της *Listeria* να σχηματίζει βιοφίλμ, η έκφραση αντλιών εκροής που μπορούν να προσδώσουν αντοχή στις φθοριοκινολόνες και η μεταφορά κινητών γενετικών στοιχείων, όπως τα γονίδια *tet* που προέρχονται από τον Εντερόκοκκο, συγκαταλέγονται στους κύριους παράγοντες της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά (O'laimat, et al., 2018). Αξίζει να σημειωθεί ότι δύο βασικές αντλίες εκροής, οι MdrL και Lde, είναι παρούσες σχεδόν σε όλους τους ορότυπους του *L. monocytogenes*. Οι αντλίες MdrL παίζουν ρόλο στην αποτοξίνωση των μακρολιδίων, της κεφοταξίμης, των βαρέων μετάλλων και του βρωμιούχουαιθιδίου (EtBr), ενώ η αντλία Lde αποτοξινώνει τα αντιβιοτικά φθοριοκινολόνης και ορισμένες παρεμποδιστικές ουσίες όπως το EtBr και το πορτοκαλί ακριδίνη (Mata, Baquero, & Pérez-Díaz, 2000).

Επί του παρόντος, οι πιο συνηθισμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις για τη θεραπεία της λιστερίωσης περιλαμβάνουν τη χορήγηση πενικιλίνης ή αμπικιλίνης σε συνδυασμό με αμινογλυκοσίδες (Swaminathan & Gerner-Smith, 2007). Τα είδη λιστέριας έχουν επιδείξει ανθεκτικότητα στην κεφαλοσπορίνη, τη φωσφομυκίνη, την κινολόνη πρώτης γενιάς και τη σουλφαμεθοξαζόλη. Ορισμένες μελέτες έχουν επίσης αναφέρει τη χρήση άλλων αντιβιοτικών όπως η βανκομυκίνη, η τριμεθοπρίμη, η σουλφαμεθοξαζόλη

και η ριφαμπικίνη για τη θεραπεία (Srinivasan et al., 2005). Ειδικότερα, υπάρχουν αναφορές που υποδεικνύουν ανθεκτικότητα της *L. monocytogenes* σε αντιμικροβιακούς παράγοντες όπως η πενικιλίνη, η αμπικιλίνη, η TET, η στρεπτομυκίνη, η κλινδαμυκίνη, η οξακιλλίνη και η βανκομυκίνη (Troxler, von Graevenitz, Funke, Wiedemann, & Stock, 2000-Conteretal., 2009).

Το αυξανόμενο ποσοστό μόλυνσης από *L. monocytogenes*, ανεξάρτητα από τις βελτιώσεις στις διαδικασίες παραγωγής τροφίμων και γάλακτος, αποτελεί σημαντική ανησυχία για τη δημόσια υγεία. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μικροβιακή αντοχή παρατηρείται κυρίως στα ζώα και όχι στους ανθρώπους. Η πρώτη αναφορά αντοχής στα αντιβιοτικά στην *L. monocytogenes* χρονολογείται από το 1988 στη Γαλλία, ενώ οι επακόλουθες αναφορές ήταν όλο και πιο συχνές (Antunes, Réu, Sousa, Pestana, & Peixe, 2002).

4.3. Ο ρόλος άλλων βακτηρίων στην εμφάνιση ανθεκτικότητας στελεχών *Listeria monocytogenes*

Υπάρχουν σημαντικά στοιχεία που υποδηλώνουν τη μεταφορά πλασμιδίων και γενετικών στοιχείων από διάφορα βακτήρια στη *Listeria monocytogenes*, συμβάλλοντας στην εμφάνιση ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Ένα αξιοσημείωτο παράδειγμα είναι η μετάδοση του πλασμιδίου *pIP501*, που διευκολύνεται μέσω μηχανισμών βακτηριακής σύζευξης, από τον *Streptococcus agalactiae* στον *L. monocytogenes*. Το συγκεκριμένο πλασμίδιο προσδίδει ανθεκτικότητα στη χλωραμφενικόλη, στις μακρολίδες, στις λινκοσαμίδες και στις στρεπτοκουστίνες. Επιπλέον, αναφορές υποδεικνύουν τη μετάδοση άλλων πλασμιδίων, όπως το *pAMβ1* από *Enterococcus faecalis*, που προσδίδει αντοχή στην ερυθρομυκίνη, και το *pIP823* από *Enterococcus faecalis* και *E. coli* σε *L. monocytogenes*. Επιπλέον, η έρευνα έχει καταδείξει τη μεταφορά του γονιδιακού συμπλέγματος *van A* από το *E. faecium* και γονιδίων ανθεκτικότητας στην ερυθρομυκίνη από βακτήρια με γαλακτικό οξύ. Σε μια ξεχωριστή μελέτη, παρατηρήθηκε επίσης η μεταφορά ενός τρικοζονίου, του *tn916*, που φέρει το γονίδιο *tetA*, το οποίο παρέχει αντοχή στην τετρακυκλίνη (TET), από το *E. faecalis* στο *L. innocua* (Abdollahzadeh, Ojagh, Hosseini, & Irajian, 2016). Αυτές οι περιπτώσεις γενετικής μεταφοράς διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά σε στελέχη της *Listeria monocytogenes*.

5. Επιδημιολογικά δεδομένα για την *Listeria monocytogenes*

στην Ελλάδα

Η Υπουργική Απόφαση Δ1α/Γ.Π. οικ. 16711/2022 - ΦΕΚ 1665/Β/7-4-2022 αναδιαμόρφωσε τον κατάλογο των υποχρεωτικώς δηλούμενων νοσημάτων, δηλαδή αυτών τα οποία πρέπει υποχρεωτικά να δηλώνονται και να καταχωρίζονται στο αρχείο κρουσμάτων λοιμωδών νοσημάτων του Εθνικού Οργανισμού Δημόσιας Υγείας (ΕΟΔΥ). Κάθε δημόσιος ή ιδιωτικός φορέας πρωτοβάθμιας, δευτεροβάθμιας ή τριτοβάθμιας παροχής υπηρεσιών υγείας σε όλη την Επικράτεια, κάθε ιατρός που παρέχει υπηρεσίες με οποιαδήποτε σχέση εργασίας είτε στο Δημόσιο, σε Ο.Τ.Α. ή Ν.Π.Δ.Δ., είτε σε Ν.Π.Ι.Δ., καθώς και κάθε ελεύθερος επαγγελματίας ιατρός, υποχρεούται να ενημερώσει τον ΕΟΔΥ για κάθε κρούσμα νοσήματος του καταλόγου. Η αναζήτηση του ορισμού κρούσματος για κάθε νόσημα και του αντίστοιχου εντύπου «Δελτίο Δήλωσης Λοιμώδους Νοσήματος» γίνεται στον ιστότοπο του Εθνικού Οργανισμού Δημόσιας Υγείας (ΕΟΔΥ).

Η λιστερίωση συμπεριλαμβάνεται στον κατάλογο των Υποχρεωτικώς Δηλούμενων Νοσημάτων.

5.1. Λιστερίωση – Ορισμός κρούσματος

Σύμφωνα με τον ορισμό Κρούσματος (ΕΟΔΥ, 2022), τα κλινικά κριτήρια κρούσματος λιστερίωσης για κάθε άτομο με ένα τουλάχιστον από τα ακόλουθα πέντε, είναι:

- Πυρετό Μηνιγγίτιδα, μηνιγγοεγκεφαλίτιδα ή εγκεφαλίτιδα.
- Συμπτώματα γριπώδους συνδρομής.
- Σηψαιμία.
- Εντοπισμένες λοιμώξεις όπως αρθρίτιδα, ενδοκαρδίτιδα, ενδοφθαλμίτιδα και αποστήματα.

Λιστερίωση στην εγκυμοσύνη: Η λιστερίωση στην εγκυμοσύνη ορίζεται ως:

- Αποβολή, θνησιγένεια ή πρόωρος τοκετός.

Η λιστερίωση των νεογνών ορίζεται ως ένα από τα ακόλουθα:

Θνησιγένεια (θάνατος εμβρύου μετά την 20η εβδομάδα της κύησης), πρόωρος τοκετός (πριν την 37η εβδομάδα της κύησης), ή τουλάχιστον ένα από τα ακόλουθα πέντε κατά τον πρώτο μήνα της ζωής (νεογνική λιστερίωση):

- Μηνιγγίτιδα ή μηνιγγοεγκεφαλίτιδα.
- Σηψαιμία.
- Δύσπνοια.
- Σηπτική κοκκιωμάτωση.
- Αλλοιώσεις του δέρματος, των βλεννογόνων ή των επιπεφυκώτων.

Εργαστηριακά κριτήρια:

Είτε απομονώνεται *Listeria monocytogenes* από κλινικό δείγμα που συνήθως θεωρείται απαλλαγμένο από μόλυνση, είτε ανιχνεύεται νουκλεϊκό οξύ του παθογόνου σε ένα τέτοιο δείγμα.

Σε περιπτώσεις που σχετίζονται με την εγκυμοσύνη, τα πρόσθετα κριτήρια περιλαμβάνουν την απομόνωση της *Listeria monocytogenes* ή την ανίχνευση του νουκλεϊκού οξέος της σε κλινικά δείγματα που συνήθως δεν είναι αποστειρωμένα (π.χ. πλακουντιακός ιστός, αμνιακό υγρό, μεκόνιο, κοιλιακό δείγμα) ή σε έμβρυο, νεκρό νεογνό, νεογέννητο ή στη μητέρα.

Επιδημιολογικά κριτήρια:

Για τον εντοπισμό πιθανών κρουσμάτων λιστερίωσης, θα πρέπει να πληρούται τουλάχιστον μία από τις ακόλουθες τέσσερις προϋποθέσεις:

Έκθεση σε κοινή πηγή.

Μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο (κάθετη μετάδοση).

Έκθεση σε μολυσμένα τρόφιμα.

Μετάδοση από ζώο σε άνθρωπο.

Ταξινόμηση των κρουσμάτων:


Η ταξινόμηση των κρουσμάτων λιστερίωσης έχει ως εξής:

A. Πιθανή εστία: Η κατηγορία αυτή δεν χρησιμοποιείται.

B. Πιθανή εστία: Περιλαμβάνει άτομα που πληρούν τα κλινικά κριτήρια και έχουν επιδημιολογική σύνδεση.

C. Επιβεβαιωμένο κρούσμα: Ένα άτομο χαρακτηρίζεται ως επιβεβαιωμένο κρούσμα εάν πληροί τα εργαστηριακά κριτήρια, ιδίως όταν η *Listeria monocytogenes* απομονώνεται από μη αποστειρωμένο κλινικό δείγμα. Σε περιπτώσεις που σχετίζονται με την

εγκυμοσύνη, όπου είτε η μητέρα είτε ένα νεογέννητο κατά τον πρώτο μήνα της ζωής πληροί τα εργαστηριακά κριτήρια, μόνο η μητέρα αναφέρεται ως κρούσμα.

ΥΠΟ ΥΡΓΕΙΟ ΥΓΕΙΑΣ ΕΘΝΙΚΟΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ Διεύθυνση Επιδημιολογίας, Επιτήρησης και Πρόληψης για Λοιμώδη Νοσήματα Αγγάρων 3-5, Μαρούσι *τ.κ. 15123 Αττική		 <small>Τηλ. 210 5212 000 Τηλ. 210 9993 000 e-mail: epi@eody.gov.gr</small>	
ΔΕΛΤΙΟ ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΗΣ ΔΗΛΩΣΗΣ ΛΟΙΜΩΔΟΥΣ ΝΟΣΗΜΑΤΟΣ			
ΔΙΣΤΕΡΙΩΣΗ			
▶ Ημερομηνία δήλωσης: ____/____/____		▶ Μονάδα υγείας / ιδιώτης που δηλώνει το κρούσμα: _____	
Α Σ Θ Ε Ν Η Σ			
1.1 ΑΜΚΑ:	▶ Επώνυμο:	▶ Όνομα:	
1.2 Ημέρα γέννησης: ____/____/____	ΕΑΝ ΑΓΝ → ΗΛΙΚΙΑ: ____	ΕΤΩΝ ΜΗΝΩΝ ΗΜΕΡΩΝ (ΒΑΤΕ ΣΕ ΚΙΝΟ ΑΝΑΛΟΓΩΣ)	1.3 Φύλο: <input type="checkbox"/> Άρρεν <input type="checkbox"/> Θήλυ
1.4 Τόπος διαμονής: Π.Ε.Ρ.Θ. Ενότητα (Νομός):	▶ Δήμος:		<input type="checkbox"/> Άστυγος
▶ Πόλη/χωριό:	▶ Οδός/Αριθμός:	▶ Τ.Κ.:	Α.Τ.Θ.
1.5 Έχει αλλοδαπή εθνικότητα;	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Χώρα:		
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΗΣ			
2.1 Υπάρχει σύνδεση με άλλο κρούσμα;	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Σχέση:		
2.2 Πηγαίνει παιδαγωγικά σχολεία/σχολή;	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Παιδιά:		
2.3 Διαμονή σε ομαδική διαβίωση;	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Πού:		
2.4 Είναι: ▶ ταξιδιώτης από το εξωτερικό;	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Ήρθε από	→ Αφίξη: ____/____/____	
▶ Μετανάστης/Πρόσφυγος;	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Από πατρίδα:	→ Από πού: ____/____/____	
2.5 Ειδική πληθυσμιακή ομάδα;	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Παιδιά:		
2.6 Ήταν πρόσφατα στο εξωτερικό ¹ ;	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Χώρα:	Αφίξη στην Ελλάδα: ____/____/____	
2.7 Επάγγελμα υψηλού κινδύνου;	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> Κτηνοτρόφος <input type="checkbox"/> Κοσμητολόγος/οφθαλμίατρος <input type="checkbox"/> Κτηνίατρος <input type="checkbox"/> Αγρότης	<input type="checkbox"/> Άλλο →	
2.8 Επαφή με χώματα, κοπριά κτλ; (κατά τους 2 μήνες πριν από έναρξη νόσου)	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Πού-πότε:		
2.9 Κατανάλωση υποπίπτου τροφίμου; (κατά τους 2 μήνες πριν από έναρξη νόσου)	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Αν ναι, τι:	<input type="checkbox"/> Μαλακό τυρί <input type="checkbox"/> Αλλαντικά/Επιεξεργασμένο κρέας <input type="checkbox"/> Μη παστεριωμένα γαλακτοκομικά <input type="checkbox"/> Άλλο	
Διακρίνετε (τι, πού, πότε) : _____			
2.10 Εάν νεογνό, είχε η μητέρα στην εγκυμοσύνη: ▶ Εμπόρετο νόσημα;	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Πότε: ____/____/____	▶ Διαταράξεις; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Πότε: ____/____/____	
ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ			
3.1 Ημέρα έναρξης συμπτωμάτων: ____/____/____	ΣΥΜΠΛΗΡΩΝΕΤΑΙ ΑΠΟ ΔΙΟΧ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ Η ΕΟΔΥ ΔΕΗΤΕ ΚΕΝΟ <input type="checkbox"/> Επιβεβαιωμένο κρούσματος: <input type="checkbox"/> Πιθανό		
3.2 Νοσηλεία σε Νοσοκομείο; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ	ΕΑΝ ΝΟΣΗΛΕΙΑ: ▶ Νοσοκομείο: _____		
3.3 Ειδική κατάσταση: <input type="checkbox"/> Άνοσος/ασθενής <input type="checkbox"/> Υποκείμενο νόσημα <input type="checkbox"/> Εγκυμοσύνη → <input type="checkbox"/> Αποβολή/θνητογένεια <input type="checkbox"/> Προεμμηνορροιακή → Ηλικία κύησης: _____ <input type="checkbox"/> Μητέρα μετά τον τοκετό(σε εβδομάδες) _____	→ Ημερίδα εισαγωγής: ____/____/____		
3.4 Εκδηλώσεις: <input type="checkbox"/> Πυρετός <input type="checkbox"/> Μηνιγγίτιδα <input type="checkbox"/> Άλλες εκδηλώσεις από ΚΝΣ <input type="checkbox"/> Γαστρίτις/σύνδρομο <input type="checkbox"/> Σπασμοί <input type="checkbox"/> Άλλες	→ Τι: _____		
3.5 Έκβαση: <input type="checkbox"/> Ίαση <input type="checkbox"/> Ακόμη ασθενής <input type="checkbox"/> Θάνατος	→ Ημέρα θανάτου: ____/____/____		
▶ Ο/η θεράπων ιατρός: _____	▶ Υπογραφή (& σφραγίδα): _____		
▶ Τηλέφωνο για συνεννόηση: _____			
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ			
4.1 Καλλιέργεια κλινικού δείγματος: ▶ Υλικό: _____	<input type="checkbox"/> ΑΡΝ <input type="checkbox"/> ΘΕΤ <input type="checkbox"/> Δεν έγινε <input type="checkbox"/> Αναμένεται		
4.2 PCR κλινικού δείγματος: ▶ Υλικό: _____	<input type="checkbox"/> ΑΡΝ <input type="checkbox"/> ΘΕΤ <input type="checkbox"/> Δεν έγινε <input type="checkbox"/> Αναμένεται		
4.3 Είδος/τύπος παθογόνου: _____	Υπογραφή (& σφραγίδα): _____		
4.4 Στάλθηκε το στέλεχος σε Κέντρο Αναφοράς: <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Παιδιά: _____			
▶ Ο/η εργαστηριακός ιατρός: _____			

¹ Κατά τους 2 μήνες πριν την έναρξη της νόσου. Για κρούσματα με εκδηλώσεις από το ΚΝΣ ή βακτηριαιμία, πρόσφατο ταξίδι θεωρείται αυτό που έχει γίνει κατά τις δύο εβδομάδες πριν την έναρξη της νόσου.

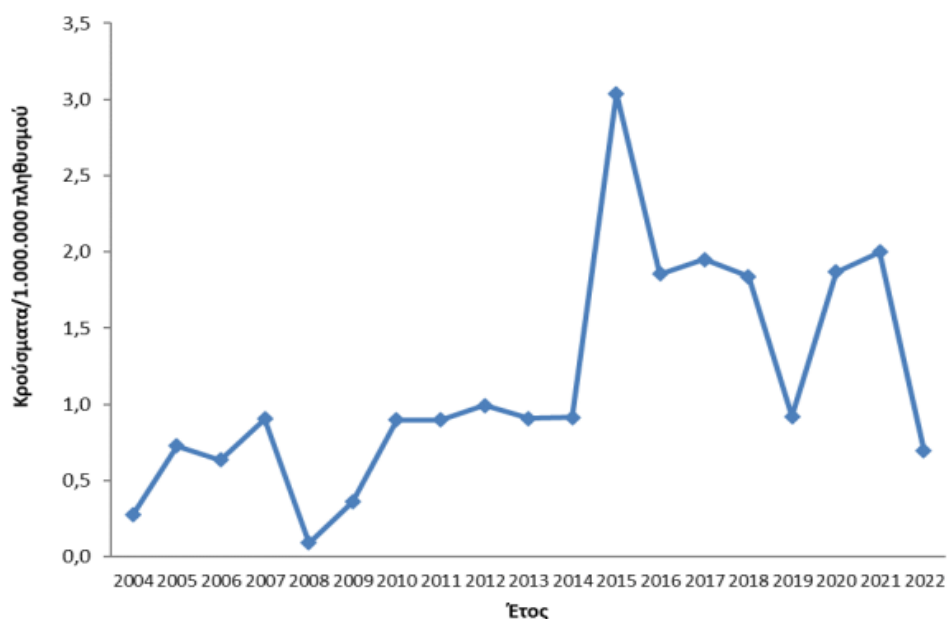
ΤΟ ΔΕΛΤΙΟ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΕΙ ΕΙΤΕ ΑΠΟ ΤΟΝ ΘΕΡΑΠΟΝΤΑ ΚΑΙ ΤΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΙΑΤΡΟ
ΕΙΤΕ ΑΠΟ ΕΝΑΝ ΓΙΑΤΡΟ ΜΟΝΟ, ΚΛΙΝΙΚΟ Ή ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ.

Εικόνα 2. Δελτίο Υποχρεωτικής Δήλωσης του ΕΟΔΥ(eody.gov.gr, n.d.)

5.2. Επιδημιολογικά δεδομένα στην Ελλάδα

Σύμφωνα με τα στοιχεία του Εθνικού οργανισμού υγείας, η εκδήλωση κρουσμάτων Λιστερίωσης παραμένει σε χαμηλά επίπεδα ενώ η σχετική αύξηση των κρουσμάτων το 2015, συνοδεύτηκε από μείωση. Ωστόσο, η θνητότητα της Λιστερίωσης είναι υψηλή σε σχέση με την αντίστοιχη θνητότητα άλλων τροφιμογενών νοσημάτων. Για αυτό το λόγο συμπεριλαμβάνεται στα υποχρεωτικά δηλούμενα νοσήματα.

Συνολικά, στην Ελλάδα αναφέρθηκαν 235 κρούσματα λιστερίωσης από το 2004 έως το 2022. Ο μέσος ετήσιος αριθμός κρουσμάτων ήταν 12,4 (τυπική απόκλιση: 8) και ο μέσος ετήσιος ρυθμός δήλωσης ήταν 1,1 περιπτώσεις ανά 1.000.000 πληθυσμού. Το 2015 παρατηρήθηκε αυξημένος αριθμός κρουσμάτων λιστερίωσης (3 περιπτώσεις ανά 1.000.000 πληθυσμού). Ο αριθμός των κοινοποιημένων κρουσμάτων και τα ποσοστά κοινοποίησης για τα έτη 2004-2019 παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Η επίπτωση της λιστερίωσης ανά έτος απεικονίζεται στην Εικόνα 3(eody.gov.gr, 2022):



Εικόνα 3. Ετήσιο ποσοστό δήλωσης λιστερίωσης στην Ελλάδα (αριθμός κρουσμάτων ανά 1.000.000 πληθυσμού), Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης, 2004-2022 (eody.gov.gr, 2022)

Πίνακας 1 - Ετήσιος αριθμός κοινοποιημένων κρουσμάτων και ποσοστόκοινοποίησηςλιστερίωσης στην Ελλάδα. Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης, 2004-2022.

Έτος	Αριθμός Κρουσμάτων	Ετήσια επίπτωση (ανά 1.000.000 πληθυσμού)
2004	3	0,3
2005	8	0,7
2006	7	0,6
2007	10	0,9
2008	1	0,1
2009	4	0,4
2010	10	0,9
2011	10	0,9
2012	11	1,0
2013	10	0,9
2014	10	0,9
2015	33	3,0
2016	20	1,9
2017	21	2,0
2018	19	1,8
2019	10	0,9
2020	20	1,9
2021	21	2,0
2022	7	0,7
Σύνολο	235	1,1*

*Μέση ετήσια δηλούμενη επίπτωση για το διάστημα 2004-2022

5.3. Κατανομή ηλικίας και φύλου

Για την περίοδο 2004-2022, του ψηλότερο μέσο ετήσιο ποσοστό κοινοποίησης της νόσου, αφορούσε την ηλικιακή ομάδα ≥ 65 ετών (3,1 ανά 1.000.000 πληθυσμό) ακολουθούμενη από την ηλικιακή ομάδα 0-4 ετών (1,3 ανά 1.000.000 πληθυσμό). Κατά την ίδια περίοδο, το μέσο ετήσιο ποσοστό κοινοποίησης ήταν 1,3 περιπτώσεις ανά 1.000.000 πληθυσμό για τους άνδρες και 1,0 ανά 1.000.000 πληθυσμό για τις γυναίκες (eody.gov.gr, 2022).

5.4. Εποχικότητα

Το μέσο μηνιαίο ποσοστό κοινοποίησης της νόσου για την περίοδο 2004-2022 αυξήθηκε την άνοιξη, με κορύφωση τον Μάρτιο και σταδιακά μειώθηκε τους επόμενους μήνες (eody.gov.gr, 2022).

5.5. Γεωγραφική κατανομή

Η γεωγραφική περιφέρεια Αττικής είχε τουψηλότερο μέσο ετήσιο ποσοστό κοινοποίησης για την περίοδο 2004-2019 (1,6/1.000.000 πληθυσμό) και η Βόρεια Ελλάδα (0,6/1.000.000 πληθυσμό) το χαμηλότερο (eody.gov.gr, 2022).

5.6. Παράγοντες κινδύνου/Αποτέλεσμα

Τα 123 (52,3%) από τα συνολικά αναφερθέντα περιστατικά λιστερίωσης, ήταν ανοσοκατεσταλμένα, 9 (3,8%) ήταν έγκυες, και 9 (3,8%) ήταν νεογέννητα. Αναφέρθηκαν 3 (1,3%) περιπτώσεις αποβολής και 7 (3,0%) περιπτώσεις πρόωρου τοκετού. Μεταξύ των κρουσμάτων με γνωστή έκβαση (n=217), καταγράφηκαν 48 (22,1%) θάνατοι (eody.gov.gr, 2022).

Από τους ελέγχους του ΕΦΕΤ, έχει ανιχνευτεί *L. monocytogenes* σε παρτίδες προϊόντων οι οποίες έχουν ανακληθεί. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η ανάκληση ανθότυρου με προέλευση την Πελοπόννησο, παραγωγής 11-2021 και ημερομηνία λήξης ένα μήνα μετά την ημερομηνία παραγωγής, καθώς και η ανάκληση που εξέδωσε ο ΕΦΕΤ για χαβιάρι γερμανικής προελεύσεως και ημερομηνία λήξεως 12-2023. Ο ΕΦΕΤ κάλεσε και στις δύο περιπτώσεις τους καταναλωτές που έχουν προμηθευτεί τις συγκεκριμένες παρτίδες να μην τις καταναλώσουν.

6. Νομοθεσία τροφίμων και *Listeria monocytogenes*

Σύμφωνα με τον κανονισμό 2073/2005 της Ευρωπαϊκής Ένωσης «*μικροοργανισμοί είναι τα βακτήρια, οι ιοί, οι ζυμομύκητες, οι ευρώτες, τα άλγη, τα παρασιτικά πρωτόζωα, οι μικροσκοπικοί παρασιτικοί έλμινθες, καθώς και οι τοξίνες και οι μεταβολίτες τους*», «*μικροβιολογικό κριτήριο είναι ένα κριτήριο που καθορίζει το αποδεκτό ενός προϊόντος, μιας παρτίδας τροφίμων ή μιας διαδικασίας, με βάση την απουσία, την παρουσία ή τον αριθμό μικροοργανισμών, ή/και με βάση την ποσότητα των τοξινών ή μεταβολιτών τους, ανά μονάδα μάζας, όγκου, επιφάνειας ή ανά παρτίδα*» και «*κριτήριο ασφάλειας των τροφίμων είναι ένα κριτήριο που καθορίζει το αποδεκτό ενός προϊόντος ή μιας παρτίδας τροφίμων και το οποίο εφαρμόζεται στα προϊόντα που διατίθενται στην αγορά*» (ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ.2073, 2005).

Όπως αναφέρεται στον κανονισμό, η παρουσία του βακτηρίου *Listeria* επιτρεπτή για τρόφιμα που υποστηρίζουν την ανάπτυξη του μέχρι του ορίου των 100 cfu/g σε 25g δείγματος στα σημεία πώλησης, ενώ θα πρέπει να υπάρχει μηδενική παρουσία μέχρι την αποστολή του από τον παραγωγό. Σε τρόφιμα που δεν υποστηρίζουν την ανάπτυξη του βακτηρίου, το όριο παραμένει ίδιο στα σημεία πώλησης, ενώ η νομοθεσία προβλέπει μηδενική ανοχή στα σημεία πώλησης σε σχέση με τις παιδικές τροφές (Τυμπής, Πετράκης, & Κοντελής, 2016).

Σύμφωνα με την Chilled Food Association, έναν από τους μεγαλύτερους κατασκευαστές τροφίμων απλής ψύξης του Ηνωμένου Βασιλείου, η Ευρωπαϊκή Ένωση αναμένεται να προβεί σε μεταβολές στη νομοθεσία για τα μικροβιολογικά κριτήρια που αφορούν τη *Listeria monocytogenes*. Πιο συγκεκριμένα αναμένονται αλλαγές στον κανονισμό 2073/2005 της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Το όριο 100 cfu/g αναμένεται να αποτελέσει το ανώτατο όριο στα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα ενώ ο καθορισμός της διάρκειας ζωής των τροφίμων αναμένεται να καθορίζεται από διαδικασία challenge και όχι durability testing. Οι ανακοινώσεις αυτές ακολουθούν τις διαπιστώσεις ότι το 2021 η λιστερίωση αυξήθηκε κατά 14% στην Ευρωπαϊκή Ένωση, αποτελώντας την πέμπτη πιο συχνά αναφερόμενη ζωνόσο (PanosianDunavan, 2023).

Συμπεράσματα

Το *Listeria monocytogenes* είναι ένα παθογόνο που μπορεί να προκαλέσει τροφιμογενείς ασθένειες και συγκεκριμένα λιστερίωση. Η πρόληψη της εξάπλωσης και της επιμονής του *L. monocytogenes* είναι ζωτικής σημασίας για τη δημόσια υγεία και την ασφάλεια των τροφίμων.

Συμπερασματικά, η *Listeria monocytogenes* είναι ένα παθογόνο που ευθύνεται για την πρόκληση τροφιμογενών ασθενειών, ιδίως της λιστερίωσης. Ο έλεγχος της εξάπλωσης και της παραμονής της *L. monocytogenes* είναι υψίστης σημασίας τόσο για τη δημόσια υγεία όσο και για την ασφάλεια των τροφίμων.

Παρά τις σημαντικές προόδους στις ανεπτυγμένες χώρες, ιδίως στους τομείς της δημόσιας υγείας, της ασφάλειας των τροφίμων, των προγραμμάτων προαγωγής της υγείας και της εργαστηριακής διάγνωσης, ο *L. monocytogenes* εξακολουθεί να αποτελεί σημαντική πρόκληση για τη βιομηχανία τροφίμων. Αυτό το βακτήριο παρουσιάζει

ανθεκτικότητα σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, μπορεί να αντέξει διάφορες καταπονήσεις, όπως θερμικές επεξεργασίες, και έχει την ικανότητα να επιμένει σε επιφάνειες που έρχονται σε επαφή με τρόφιμα για παρατεταμένα χρονικά διαστήματα.

Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος, είναι ζωτικής σημασίας για τη βιομηχανία τροφίμων να εφαρμόσει Ορθές Παραγωγικές Πρακτικές (ΟΠΠ) (όπως απεικονίζεται στην Εικόνα 4), που περιλαμβάνουν τομείς όπως η βελτίωση της ποιότητας των προϊόντων τροφίμων, οι κατάλληλες πρακτικές αποθήκευσης, αποστολής και χειρισμού. Επιπλέον, θα πρέπει να δοθεί προτεραιότητα στην υιοθέτηση προγραμμάτων κατάρτισης για την ασφάλεια των τροφίμων, ιδίως για τους υπαλλήλους και το προσωπικό που εργάζονται σε εστιατόρια ή κέντρα διανομής. Επιπλέον, το σύστημα ανάλυσης κινδύνων και κρίσιμων σημείων ελέγχου (HACCP) θα πρέπει να ενσωματωθεί σε κάθε στάδιο της επεξεργασίας τροφίμων για να διασφαλιστεί η παραγωγή ασφαλών τροφίμων, καλύπτοντας διαδικασίες από τον χειρισμό των πρώτων υλών έως την αποθήκευση και τη μεταφορά.



Εικόνα 4. Good Manufacturing Practices
-GMP

Το βακτήριο *L. Monocytogenes* είναι υπεύθυνο για υψηλό ποσοστό θνητότητας σε σχέση με άλλα τροφιμογενή παθογόνα μικρόβια. Αυτή η μορφή του βακτηρίου υπάρχει σε προϊόντα διατροφής, αλλά είναι βιολογικά ανενεργή, και δεν μπορεί να ανιχνευθεί ούτε με χημικό τρόπο στα μέσα καλλιέργειας. Ως εκ τούτου, η βελτίωση της μεθοδολογίας ανίχνευσης και των δεδομένων σχετικά με τις οδούς μετάδοσής του και τους μηχανισμούς

αντοχής στα αντιβιοτικά είναι επιτακτική ανάγκη για την πρόληψη της εξάπλωσής του και τον έλεγχο ασθενειών, που προκαλούνται από αυτό το βακτήριο σε ανθρώπους και ζώα.

Το ποσοστό δήλωσης της λιστερίωσης είναι χαμηλό στην Ελλάδα (1 κρούσμα ανά 1.000.000 πληθυσμού για το έτος 2019). Το μέσο ποσοστό κοινοποίησης στις χώρες της ΕΕ και του ΕΟΧ/ΕΖΕΣ ήταν 4,7 περιπτώσεις ανά 1.000.000 πληθυσμού για το έτος 2018. Κατά την ερμηνεία αυτής της διαφοράς, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η πιθανή υποαναφορά των συστημάτων επιτήρησης. Η ηλικιακή κατανομή, το υψηλό ποσοστό ανοσοκατεσταλμένων ατόμων μεταξύ των περιπτώσεων και η υψηλή θνησιμότητα είναι ευρήματα συμβατά με εκείνα άλλων ευρωπαϊκών χωρών. Τέλος, μεταξύ των ευρημάτων που παρατηρήθηκαν και σε άλλες ευρωπαϊκές χώρες, είναι η παρατηρούμενη αύξηση της αναφερόμενης επίπτωσης την περίοδο 2015-2018 καθώς και η εποχικότητα της νόσου.

Τα προληπτικά μέτρα και ο έλεγχος της ασφάλειας των τροφίμων είναι παράγοντες εξαιρετικής σημασίας για την προστασία από τη λιστερίωση. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, έχει προτείνει οδηγίες για την σύσταση πολυεπίπεδων μέτρων ασφαλείας για τη διασφάλιση της υγείας του καταναλωτή. Συγκεκριμένα στάνταρ υλικοτεχνικής υποδομής θα πρέπει να τηρούνται κατά την κατασκευή και τον εξοπλισμό μονάδων παραγωγής τροφίμων. Οι μονάδες παραγωγής τροφίμων θα πρέπει να εφαρμόζουν το μοντέλο HACCP για τον έλεγχο και την ασφάλεια των τροφίμων. Οι εγκαταστάσεις θα πρέπει να συντηρούνται να ελέγχονται και να απολυμαίνονται, ενώ θα πρέπει να ελέγχεται συστηματικά η διαχείριση αποβλήτων. Θα πρέπει να τηρούνται αυστηρά μέτρα ατομικής υγιεινής και ασφάλειας σε σχέση με το προσωπικό, το οποίο θα πρέπει να εκπαιδεύεται συστηματικά και να επικαιροποιεί τις γνώσεις του σχετικά με την ασφάλεια των τροφίμων (Tabit, 2017).

Τα προληπτικά μέτρα και ο έλεγχος της ασφάλειας των τροφίμων είναι παράγοντες εξαιρετικής σημασίας για την προστασία από τη λιστερίωση. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, έχει προτείνει οδηγίες για την σύσταση πολυεπίπεδων μέτρων ασφαλείας για τη διασφάλιση της υγείας του καταναλωτή. Συγκεκριμένα στάνταρ υλικοτεχνικής υποδομής θα πρέπει να τηρούνται κατά την κατασκευή και τον εξοπλισμό μονάδων παραγωγής τροφίμων. Οι μονάδες παραγωγής τροφίμων θα πρέπει να εφαρμόζουν το μοντέλο HACCP για τον έλεγχο και την ασφάλεια των τροφίμων. Οι εγκαταστάσεις θα πρέπει να συντηρούνται να ελέγχονται και να απολυμαίνονται, ενώ θα πρέπει να ελέγχεται συστηματικά η διαχείριση αποβλήτων. Θα πρέπει να τηρούνται

αυστηρά μέτρα ατομικής υγιεινής και ασφάλειας σε σχέση με το προσωπικό, το οποίο θα πρέπει να εκπαιδεύεται συστηματικά και να επικαιροποιεί τις γνώσεις του σχετικά με την ασφάλεια των τροφίμων (Tabit, 2017).

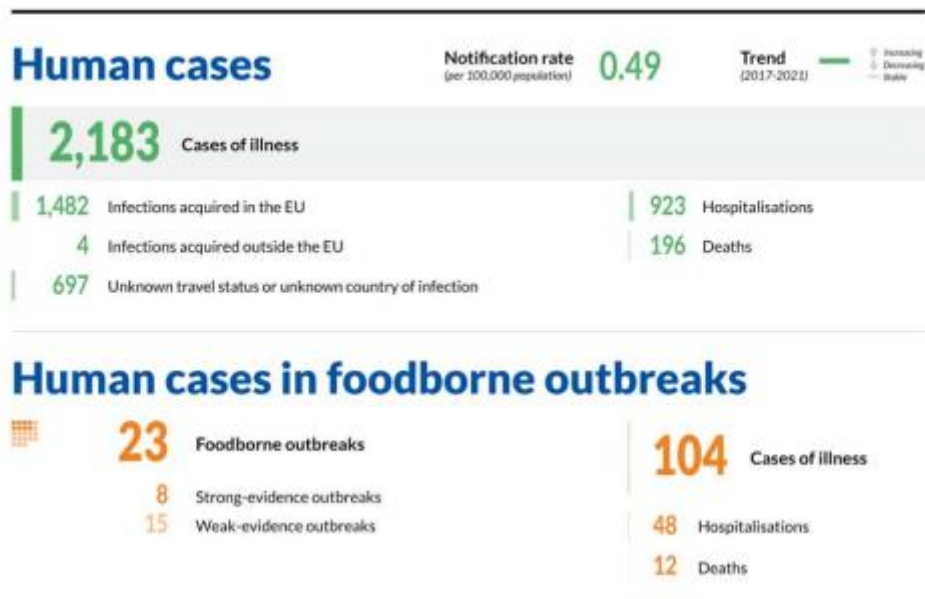
Ένα σημαντικό προληπτικό μέτρο είναι η υγιεινή των χεριών. Η υγιεινή των χεριών, συμπεριλαμβανομένου του πλυσίματος των χεριών και της απολύμανσης των χεριών, θεωρείται το μοναδικό πιο σημαντικό μέτρο για την πρόληψη νοσοκομειακών λοιμώξεων (Al-Wazzan, et al., 2011). Αυτή η πρακτική είναι επίσης εφαρμόσιμη σε άλλα περιβάλλοντα, συμπεριλαμβανομένων των εγκαταστάσεων επεξεργασίας τροφίμων, όπου η σωστή υγιεινή των χεριών μπορεί να βοηθήσει στην ελαχιστοποίηση του κινδύνου μόλυνσης από *L. monocytogenes* (Zoellner, Jennings, Wiedmann, & Ivanek, 2019). Η υγιεινή των χεριών θα πρέπει να εφαρμόζεται από τους εργαζόμενους στον τομέα της υγειονομικής περίθαλψης, τους χειριστές τροφίμων και γενικά τα άτομα για τη μείωση της μετάδοσης παθογόνων μικροοργανισμών.

Εκτός από την υγιεινή των χεριών, ο καθαρισμός και η απολύμανση των επιφανειών είναι απαραίτητες σε περιβάλλοντα υγειονομικής περίθαλψης για την ελαχιστοποίηση της αυτομόλυνσης και την προστασία από τον ενοφθαλμισμό των επιφανειών του βλεννογόνου και της αναπνευστικής οδού (Dreyer, et al., 2016). Ο ενισχυμένος καθαρισμός και η απολύμανση των επιφανειών μπορεί να βοηθήσει στη μείωση του κινδύνου διασταυρούμενης μόλυνσης και της επιμονής του *L. monocytogenes* στο περιβάλλον (Dreyer, et al., 2016).

Ο σωστός χειρισμός των τροφίμων και η υγιεινή του εξοπλισμού είναι επίσης ζωτικής σημασίας για την πρόληψη της μόλυνσης από *L. monocytogenes* στη βιομηχανία τροφίμων.

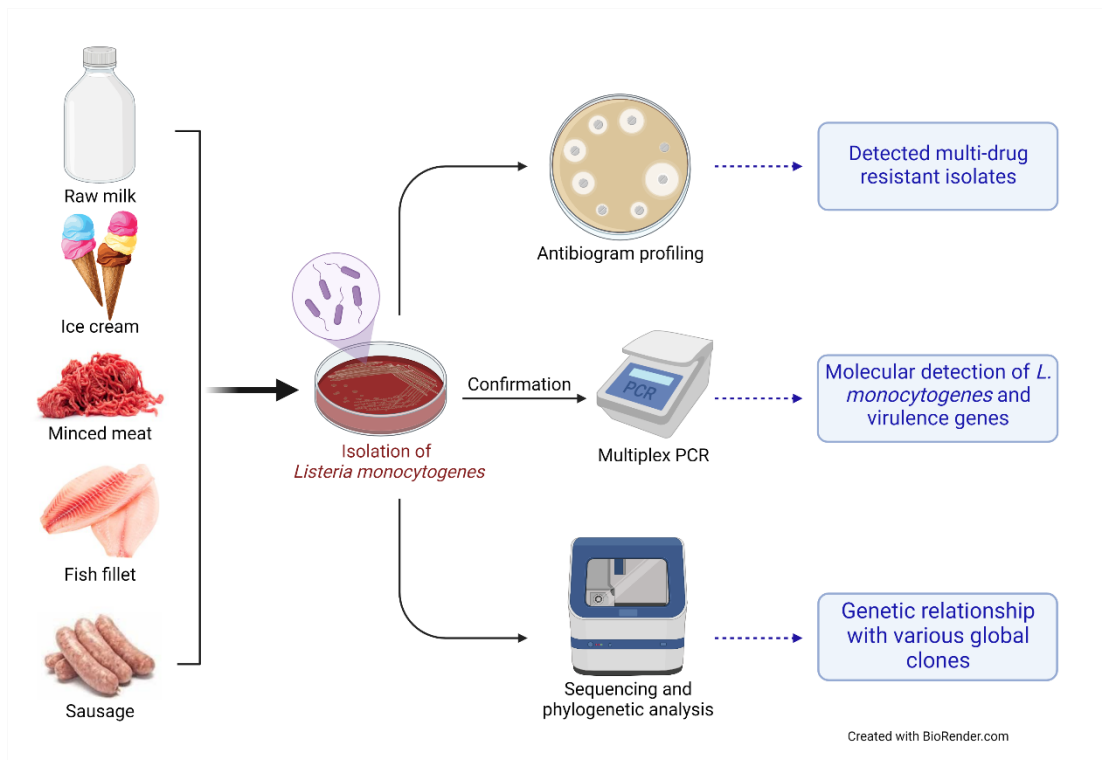
Το *L. monocytogenes* μπορεί να παραμείνει σε διάφορα στάδια της τροφικής αλυσίδας, συμβάλλοντας στη μόλυνση των τελικών προϊόντων (Ferreira, Wiedmann, Teixeira, & Stasiewicz, 2014). Ως εκ τούτου, θα πρέπει να καταβληθούν προσπάθειες για την ενσωμάτωση δεδομένων σχετικά με την επιμονή του *L. monocytogenes* για την καλύτερη κατανόηση του αντίκτυπου του παθογόνου στη δημόσια υγεία και την οικονομία (Ferreira, Wiedmann, Teixeira, & Stasiewicz, 2014). Μάλιστα, το 2021 στην Ευρώπη αναφέρθηκαν πάνω από 2000 κρούσματα (Εικόνα 5), με 23 εξάρσεις να αποδίδονται σε τρόφιμα (EFSA, 2022).

Listeria in the EU, 2021



Εικόνα 5. Η λιστερίωση σε αριθμούς στην Ευρωπαϊκή Ένωση (EFSA, 2022)

Παράλληλα σύμφωνα με το CDC, τα άτομα ηλικίας 65 ετών και άνω καθώς και τα άτομα με προβλήματα στο ανοσοποιητικό ή σε κατάσταση εγκυμοσύνης θα πρέπει να αποφεύγουν κάποιες τροφές και να προτιμούν κάποιες άλλες (Εικόνα 6). Θα πρέπει να αποφεύγονται μη παστεριωμένα τυροκομικά προϊόντα και να προτιμώνται τα παστεριωμένα, τα σκληρά τυριά όπως το cheddar, η παρμεζάνα και η φέτα. Θα πρέπει να αποφεύγονται προϊόντα που συμπεριλαμβάνουν αλλαντικά που δεν έχουν ζεσταθεί σε θερμοκρασία τουλάχιστον 74 βαθμών κελσίου. Θα πρέπει επίσης να αποφεύγονται τρόφιμα που φυλάσσονται σε συντήρηση όπως πατέ, αλείμματα κρέατος, ή καπνιστό ψάρι ενώ μπορούν να καταναλωθούν εφόσον δεν χρειάζεται να διατηρηθούν στο ψυγείο πριν από το άνοιγμα ή εφόσον μαγειρευτούν σε υψηλή θερμοκρασία. Πρέπει να αποφεύγονται το ωμό γάλα και γαλακτοκομικά ενώ θα πρέπει να προτιμώνται τα παστεριωμένα (CDC, 2023).



Εικόνα 6. Έλεγχος τροφίμων (Abdeen, et al., 2021)

Η πρόληψη της εξάπλωσης λοιμώξεων του ουρογεννητικού συστήματος, που μπορεί να προκληθούν από το *L. monocytogenes*, απαιτεί από τα άτομα που διατρέχουν κίνδυνο να αλλάξουν τις υγιεινές πρακτικές και συμπεριφορές τους (Al-Kotb, Elbahnasawy, Samia, Nagar, & Ghabyen, 2016). Αυτό περιλαμβάνει τη βελτίωση της γνώσης της φυσιολογίας του ουρογεννητικού συστήματος, την άσκηση καλής προσωπικής υγιεινής, την κατανάλωση άφθονο νερό για την απομάκρυνση των βακτηρίων και τη χρήση βαμβακερών εσρούχων που δεν παγιδεύουν την υγρασία (Al-Kotb, Elbahnasawy, Samia, Nagar, & Ghabyen, 2016).

Η πρόληψη του σχηματισμού βιοφίλμ είναι ένα άλλο σημαντικό μέτρο ελέγχου για τη μείωση του επιπολασμού και της επιβίωσης του *L. monocytogenes* σε περιβάλλοντα ανάπτυξης και σε φρέσκα προϊόντα (Zhu, Gooneratne, & Hussain, 2017). Τα βιοφίλμ μπορούν να παρέχουν ένα προστατευτικό περιβάλλον για το *L. monocytogenes*, επιτρέποντάς του να επιμένει και να μολύνει πιθανώς τα τρόφιμα. Ως εκ τούτου, θα πρέπει να εφαρμόζονται στρατηγικές για την πρόληψη του σχηματισμού βιοφίλμ στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας τροφίμων.

Συνολικά, η πρόληψη της εξάπλωσης και της επιμονής του *L. monocytogenes* απαιτεί μια πολύπλευρη προσέγγιση που περιλαμβάνει την υγιεινή των χεριών, τον

καθαρισμό και την απολύμανση της επιφάνειας, τον σωστό χειρισμό τροφίμων και την υγιεινή του εξοπλισμού και την πρόληψη του σχηματισμού βιοφίλμ. Αυτά τα μέτρα είναι ζωτικής σημασίας για την προστασία της δημόσιας υγείας και τη διασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων(Cox & Nelson, 2012).

Βιβλιογραφία

- Abdeen, E. E., Mousa, W. S., Harb, O. H., Fath-Elbab, G. A., Nooruzzaman, M., Gaber, A.,...
Abdeen, A. (2021). *Prevalence, Antibiogram and Genetic Characterization of Listeria monocytogenes from Food Products in Egypt*. (Foods, Vol.: 10 (6))
doi:<https://doi.org/10.3390/foods10061381>
- Abdollahzadeh, E., Ojagh, S., Hosseini, H., & Irajian, G. (2016). Prevalence and molecular characterization of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* isolated from fish, shrimp, and cooked ready-to-eat (RTE) aquatic products in Iran. Στο *LWT, Vol.: 73* (σσ. 205-211). doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.020>
- Al-Kotb, H., Elbahnasawy, H. T., Samia, A., Nagar, E., & Ghabyen, N. S. (2016). Prevention for Genitourinary Tract Infection among Female Adolescents Students. Στο *IOSR Journal of Nursing and Health Science (IOSR-JNHS), Vol.: 5 (4)* (σσ. 12-18).
Ανάκτηση 2023
- Al-Wazzan, B., Salmeen, Y., Al-Amiri, E., Abul, A., Bouhaimed, M., & Abdullah, A.-T. (2011). Hand hygiene practices among nursing staff in public secondary care hospitals in Kuwait: self-report and direct observation. Στο *Medical Principles & Practice, Vol.: 20 (4)* (σσ. 326-331). doi:10.1159/000324545
- Antunes, P., Réu, C., Sousa, J., Pestana, N., & Peixe, L. (2002). Incidence and Susceptibility to Antimicrobial Agents of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* Isolated from Poultry Carcasses in Porto, Portugal. Στο *Journal of Food Protection, Vol.: 65 (12)* (σσ. 1888-1893). doi:<https://doi.org/10.4315/0362-028X-65.12.1888>
- Aurora, R., Prakash, A., & Prakash, S. (2009). Genotypic characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from milk and ready-to-eat indigenous milk products. Στο *Food Contor, Vol.: 20 (9)*, (σσ. 835-839).
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.10.017>
- Buchanan, R. L., Gorris, L. G., Hayman, M. M., Jackson, T. C., & Whiting, R. C. (2017). A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. Στο *Food Control, Vol.: 75* (σσ. 1-13).
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.016>
- Burall, L. S., Grim, C. J., Mammel, M. K., & Datta, A. R. (2017). A Comprehensive Evaluation of the Genetic Relatedness of *Listeria monocytogenes* Serotype 4b Variant Strains. Στο *Public Health*. doi:<https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00241>
- Cathy, O. (2017). *Weapons of Math Destruction: How Big Data Increases Inequality and Threatens Democracy*. Chicago: Crown Random House.
- CDC. (2023). *Investigation Details*. (Centers for Disease Control and Prevention) Ανάκτηση 2023, από <https://www.cdc.gov/Listeria/outbreaks/ice-cream-08-23/details.html>
- 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. Στο *Journal of Food Protection*, Vol.: 69 (2), pp: 335-344.
doi:10.4315/0362-028x-69.2.335
- Chenal-Francisque, V., Lopez, J., Cantinelli, T., Caro, V., Tran, C., Leclercq, A.,... Brisse, S. (2011). Worldwide Distribution of Major Clones of *Listeria monocytogenes*. Στο *Emerging Infectious Diseases*. doi:10.3201/eid1706.101778
- Conter, M., Paludi, D., Zanardi, E., Ghidini, S., Vergara, A., & Ianieri, A. (2009). Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. Στο *International Journal of Food Microbiology*, Vol.: 128 (3) (σσ. 497-500).
doi:https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.10.018
- Cox, M. M., & Nelson, D. L. (2012). *Lehninger Principles of Biochemistry*. doi:10.1007/978-3-662-08289-8
- de Vasconcelos Byrne, V. V., Hofer, E., Vallim, D. C., & de Castro Almeida, R. C. (2016). *Occurrence and antimicrobial resistance patterns of Listeria monocytogenes isolated from vegetables*. (Brazilian Journal of Microbiology)
doi:https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.033
- Doumith, M., Cazalet, C., Simoes, N., Frangeul, L., Jacquet, C., Kunst, F.,... Buchrieser, C. (2004). New Aspects Regarding Evolution and Virulence of *Listeria monocytogenes* Revealed by Comparative Genomics and DNA Arrays.
doi:https://doi.org/10.1128/iai.72.2.1072-1083.2004
- Dreyer, M., Aguilar-Bultet, L., Rupp, S., Guldemann, C., Stephan, R., Schock, A.,... Oevermann, A. (2016). *Listeria monocytogenes* sequence type 1 is predominant in ruminant rhombencephalitis. Στο *Scientific Reports*, Article number: 36419, Vol.: 6.
- ECDC. (2021). *Listeriosis, Annual Epidemiological Report for 2021*.
- EFSA. (2022). *Listeria*. Στο *European Food Safety Authority*.
- EFSA. (2022). *The European Union One Health 2021 Zoonoses Report*. Ανάκτηση 2023, από <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/7666>
- eody.gov.gr. (2022). *Λιστερίωση*. Ανάκτηση 2023, από <https://eody.gov.gr/disease/listeriosi/>
- eody.gov.gr. (n.d.). *Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης*. (ΕΟΔΥ) Ανάκτηση 2023, από <https://eody.gov.gr/epidimiologika-statistika-dedomena/systima-ypochreotikis-dilosis/>
- eody.gov.gr. (n.d.). *Τροφιμογενή Νοσήματα*. (ΕΟΔΥ) Ανάκτηση 2023, από <https://eody.gov.gr/cat-disease/trofimogeni-nosimata/>
- Ferreira, V., Wiedmann, M., Teixeira, P., & Stasiewicz, M. (2014). *Listeria monocytogenes* Persistence in Food-Associated Environments: Epidemiology, Strain Characteristics, and Implications for Public Health. Στο *Journal of Food Protection*, Vol.: 77 (1) (σσ. 150-170). doi:https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-150

- Gahan, C. (2005). Gastrointestinal phase of *Listeria monocytogenes* infection. Στο *Journal of Applied Microbiology*, Vol.: 98 (6), pp: 1345–1353.
doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02559.x>
- Gasanov, U., Hughes, D., & Hansbro, P. M. (2005). Methods for the isolation and identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*: a review. Στο *FEMS Microbiology Reviews*, Vol.: 29 (5) (σσ. 851–875).
doi:<https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.12.002>
- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M. E., Suzuki, K.-i., Ludwig, W., & Whitman, W. B. (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer Link.
- Greenacre, E., Brocklehurst, T., Waspe, C., Wilson, D., & Wilson, P. (2003). *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and *Listeria monocytogenes* Acid Tolerance Response Induced by Organic Acids at 20°C: Optimization and Modeling.
doi:<https://doi.org/10.1128/AEM.69.7.3945-3951.2003>
- Guanglun, M. M., Yang, H., & Yan, W. (2017, October). Building resilience of students with disabilities in China: The role of inclusive education teachers. *Teacher and Teaching Education*, σσ. 125-134.
- Hansen, C., Vogel, B., & Gram, L. (n.d.). Prevalence and Survival of *Listeria monocytogenes* in Danish Aquatic and Fish-Processing Environments. σσ. 2113-2122.
doi:<https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.9.2113>
- Hau, J., & Schapiro, S. J. (2010). *Handbook of Laboratory Animal Science, Volume I* (3 εκδ.). Essential Principles and Practices. doi:<https://doi.org/10.1201/b10416>
- Hitchins, A., & Hitchins, A. (2001). Food-borne *Listeria monocytogenes* risk assessment. Στο *Food Additives & Contaminants*, Vol.: 18 (12), pp:1108-1117.
doi:<https://doi.org/10.1080/02652030110050104>
- Jantzen, M., Navas, J., Corujo, A., Moreno, R., López, V., Suarez, M., & Joaquín, V. (2006). Review. Specific detection of *Listeria monocytogenes* in foods using commercial methods From chromogenic media to real-time PCR. Στο *CSIC - Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA)* (Τόμ. 4 (3), σσ. 235-247). doi:10.5424/sjar/2006043-198
- Larsen, M. H., Kallipolitis, B. H., Christiansen,, J. K., Olsen, J. E., & Ingmer, H. (2006). The response regulator ResD modulates virulence gene expression in response to carbohydrates in *Listeria monocytogenes*. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05328.x>
- Liu, D., Lawrence, M. L., Austin, F. W., & Ainsworth, A. (2007). A multiplex PCR for species- and virulence-specific determination of *Listeria monocytogenes*. Στο *Journal of Microbiological Methods*, Vol.: 71 (2) (σσ. 133-140).
doi:<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.08.007>

- Loncarevic, S., Økland, M., Sehic, E., Norli, H., & Johansson, T. (2008). Validation of NMKL method No. 136 — *Listeria monocytogenes*, detection and enumeration in foods and feed. Στο *International Journal of Food Microbiology*, Vol.: (124 (2) (σ. 154-163). doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.032>
- Lyon, S. A., Berrang, M. E., Fedorka-Cray, P. J., Fletcher, D. L., & Meinersmann, R. J. (2008). *Antimicrobial Resistance of Listeria monocytogenes Isolated from a Poultry Further Processing Plant*. *Foodborne Pathogens and Disease*, Vol.: 5 (3). doi:<https://doi.org/10.1089/fpd.2007.0070>
- Manijeh, M., Mohammad, J., Hjeh Ghasemian, S., & Ehsan, S. (2012). Microbial quality and prevalence of Salmonella and Listeria in eggs. Στο *International Journal of Environmental Health Engineering*, Vol.: 1 (1) (σ. 48).
- Mata, M., Baquero, F., & Pérez-Díaz, J. (2000). A multidrug efflux transporter in *Listeria monocytogenes*. Στο *FEMS Microbiol Letters*, Vol.: 187 (2) (Τόμ. 187 (2), σ. 185-188). doi:10.1111/j.1574-6968.2000.tb09158.x.
- MMWR. (2011). Vital Signs: *Listeria* Illnesses, Deaths, and Outbreaks. Στο *Morbidity and Mortality Weekly Report*, Vol.: 62 (22) (σ. 448-452). Ανάκτηση 2023
- Morrissey, J. (2018, August 2). *The New York Times*. How to Write a Good College Application Essay
- Olaimat, A. N., Al-Holy, M. A., Shahbaz, H. M., Al-Nabulsi, A. A., Abu Ghoush, M. H., Osaili, T. M.,... Holley, R. A. (2018). Emergence of Antibiotic Resistance in *Listeria monocytogenes* Isolated from Food Products: A Comprehensive Review. Στο *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol.: 17 (5), pp: 1277-1292. doi:<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12387>
- Panosian Dunavan, C. (2023). *Listeria Is Everywhere*. (MedpageToday
- Parte, A., Whitman, W. B., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M. E.,... Suzuki, K.-i. (2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 5: The Actinobacteria*. Springer Science & Business Media.
- Rabiey, S., Hosseini, H., & Rezaei, M. (2014). Use *Carum copticum* essential oil for controlling the *Listeria monocytogenes* growth in fish model system. Στο *Food Microbiology*, Vol.: 45 (1).
- Sauders, B. D., Fortes, E. D., Dale L. Morse, D. L., Dumas, N., Kiehlbauch, J. A., Schukken, Y.,... Wiedmann, M. (2003). Molecular Subtyping to Detect Human Listeriosis Clusters. Στο *Emerg Infect Dis*, Vol.: 9 (6) (σ. 672–680). doi:10.3201/eid0906.020702
- Shamloo, E., Hosseini, H., Moghadam, A. Z., Larsen, H., Haslberger, A., & Alebouyeh, M. (2019). Importance of *Listeria monocytogenes* in food safety: a review of its prevalence, detection, and antibiotic resistance. Στο *PubMed Central*, Vol.: 20 (4) (σ. 241–254).

- Silk, B. J., Mahon, B. E., Griffin, P. M., Gould, H. L., Tauxe, R. V., Crim, S. M.,... Henao, O. A. (2013). Vital Signs: Listeria Illnesses, Deaths, and Outbreaks. Στο *Morbidity and Mortality Weekly Report*, Vol.: 62 (22) (σσ. 448–452).
- Srinivasan, V., Nam, H., Nguyen, L., Tamilselvam, B., Murinda, S., & Oliver, S. (2005). Prevalence of antimicrobial resistance genes in *Listeria monocytogenes* isolated from dairy farms. Στο *Foodborne Pathogens & Disease*, Vol.: 2 (3) (σσ. 201-211). doi:10.1089/fpd.2005.2.201.
- Srinivasan, V., Nam, H., Nguyen, L., Tamilselvam, B., Murinda, S., & Oliver, S. (2005). *Prevalence of Antimicrobial Resistance Genes in Listeria monocytogenes Isolated from Dairy Farms*. doi:https://doi.org/10.1089/fpd.2005.2.201
- Swaminathan, B., & Gerner-Smidt, P. (2007). The epidemiology of human listeriosis. Στο *Microbes Infection*, Vol.: 9 (10) (σσ. 1236-1243). doi:10.1016/j.micinf.2007.05.011
- Tabit, F. (2017). Contamination, Prevention and Control of *Listeria monocytogenes* in Food Processing and Food Service Environments. Στο *CHAPTER METRICS OVERVIEW*. doi:DOI: 10.5772/intechopen.76132
- Thomas, K. M., Vriezen, R., Farber, J. M., Currie, A., Schlech, W., & Fazil, A. (2008). Economic Cost of a *Listeria monocytogenes* Outbreak in Canada. Στο *Foodborne Pathogens and Disease*, Vol.:12 (12). doi:https://doi.org/10.1089/fpd.2015.1965
- Troxler, R., von Graevenitz, A., Funke, G., Wiedemann, B., & Stock, I. (2000). Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* and *L. welshimeri* strains. Στο *Clinical Microbiology and Infection*, Vol.: (6 (10) (σσ. 525-535). doi:https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2000.00168.x
- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A.,... Whitman, W. B. (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes*.
- Walsh, D., Duffy, G., Sheridan, J. J., Blair, I. S., & McDowell, D. A. (2001). Antibiotic resistance among *Listeria*, including *Listeria monocytogenes*, in retail foods. Στο *Journal of Applied Microbiology* (Τόμ. 90 (4), σσ. 517–522). doi:https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01273.x
- Wu, S., Wu, Q., Zhang, J., Chen, M., Yan, Z., & Hu, H. (2015). *Listeria monocytogenes* Prevalence and Characteristics in Retail Raw Foods in China. doi:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136682
- Zhu, Q., Gooneratne, R., & Hussain, M. (2017). *Listeria monocytogenes* in Fresh Produce: Outbreaks, Prevalence and Contamination Levels. Στο *Department of Wine, Food and Molecular Biosciences, Lincoln University, Lincoln 7647, Canterbury, New Zealand*. doi:https://doi.org/10.3390/foods6030021

Zoellner, C., Jennings, R., Wiedmann, M., & Ivanek, R. (2019). EnABLE: An agent-based model to understand *Listeria* dynamics in food processing facilities. Στο *Scientific reports*. doi:10.1038/s41598-018-36654-z

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ.2073. (2005). *Περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα, (Κείμενο που παρουσιάζει ενδιαφέρον για τον ΕΟΧ)*. doi:<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/PDF/?uri=CELEX:02005R2073-20071227&from=ET>

Τυμπής, Δ., Πετράκης, Ε., & Κοντελής, Σ. (2016). *Μικροβιολογία Τροφίμων. Μεθοδολογία και Τεχνικές Αναλύσεων*. ΔΙΣΙΓΜΑ.