



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ**

ΤΜΗΜΑ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ: ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ:

ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ , ΛΟΙΜΩΔΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ-ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΟ ΕΤΟΣ: 2022-2023

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Listeria monocytogenes στα έτοιμα-προς-κατανάλωση τρόφιμα- ψάρια- Η αξία του challenge test για τη μελέτη της δυνατότητας ανάπτυξης *Listeria monocytogenes*

Γραμματινή-Μυρτώ Κακούρη , MDY 21060

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Γεωργία Μανδηλαρά Επίκουρη καθηγήτρια

Αθήνα, 2024



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ

DEPARTMENT OF PUBLIC HEALTH POLICY

**POASTGRADUATE PROGRAM IN PUBLIC HEALTH (MSc), INFECTIOUS DISEASES-
PUBLIC HEALTH LABORATORIES**

ACADEMIC YEAR: 2022-2023

Master Thesis

Listeria monocytogenes in Ready-to-eat food/fish- The value of Challenge tests for
assessing the growth potential of *Listeria monocytogenes*

Grammatini-Myrto Kakouri , MDY 21060

Supervisor

Georgia Mandilara Assistant Professor

Athens, 2024



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ

ΥΓΕΙΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ:

ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΟ ΕΤΟΣ: 2021-2023

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Listeria monocytogenes στα έτοιμα-προς-κατανάλωση τρόφιμα- ψάρια- Η αξία του challenge test για τη μελέτη της δυνατότητας ανάπτυξης *Listeria monocytogenes*

Η μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

Α/α	ΟΝΟΜΑ ΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ	ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ
1	Γεωργία Μανδηλαρά	Επίκουρη Καθηγήτρια	
2	Εμμανουήλ Παπαδογιαννάκης	Καθηγητής	
3	Μαριέττα Κονταρίνη	ΕΔΙΠ	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη *Κακούρη Γραμματινή-Μυρτώ*, με αριθμό μητρώου mdy 21060 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών στη Δημόσια Υγεία του Τμήματος Πολιτικών Δημόσιας Υγείας της Σχολής Δημόσιας Υγείας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

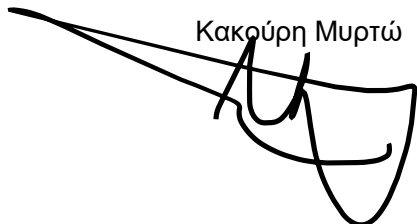
«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό 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

Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα


Κακούρη Μυρτώ



Copyright © , «ονοματεπώνυμο», «έτος ολοκλήρωσης» Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο των απαιτήσεων του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών στη Δημόσια Υγεία του Τμήματος Πολιτικών Δημόσιας Υγείας της Σχολής Δημόσιας Υγείας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής. Η έγκρισή της δεν υποδηλώνει απαραίτητως και την αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Τμήματος Πολιτικών Δημόσιας Υγείας

Βεβαιώνω ότι η παρούσα Διπλωματική Εργασία είναι αποτέλεσμα προσωπικής μου εργασίας και δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής. Στις δημοσιευμένες ή μη δημοσιευμένες πηγές που αναφέρω έχω χρησιμοποιήσει εισαγωγικά όπου απαιτείται και έχω παραθέσει τις πηγές τους στο σχετικό τμήμα της βιβλιογραφίας.

Υπογραφή:.....

ΠΡΟΛΟΓΟΣ – ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών “Δημόσια Υγεία” με ειδίκευση στα Λοιμώδη Νοσήματα και Εργαστηριακή Δημόσια Υγεία, του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής. Η εργασία ολοκληρώθηκε υπό τη εποπτεία της επίκουρης καθηγήτριας του τμήματος Πολιτικών Δημόσιας Υγείας της σχολής Δημόσιας Υγείας του Π.Α.Δ.Α, Κας. Γεωργίας Μανδηλαρά την οποία ευχαριστώ ιδιαίτερα για την συμβολή και καθοδήγηση της καθόλα την διάρκεια της εργασίας. Ιδιαίτερες ευχαριστίες και στα μέλη της συντονιστικής μου επιτροπής τον καθηγητή κο Εμανουήλ Παππαδογιαννάκη, την κα Μαριέττα Κονταρίνη, ΕΔΙΠ

Αρχικά θα ήθελα να εκφράσω την πιο βαθιά ευγνωμοσύνη μου στους παππούδες μου, Θανάση και Μαίρη, που με το παράδειγμά τους και την αγάπη τους, μου έδωσαν δύναμη και έμπνευση να συνεχίσω να προσπαθώ και να εξελίσσομαι. Ιδιαίτερα στην γιαγιά μου που σε όλη την διάρκεια της διπλωματικής με φρόντισε με περίσσια αγάπη.

Στους γονείς μου, Νίκο και Ελένη που ήταν πάντα δίπλα μου, σε κάθε βήμα αυτής της διαδρομής. Σας ευχαριστώ για την ανιδιοτελή αγάπη σας, τις θυσίες σας και τη στήριξή σας, τόσο υλικά όσο και ψυχικά. Η εμπιστοσύνη σας και η πίστη στις δυνατότητές μου είναι αυτό που με ώθησε να συνεχίσω ακόμα και στις πιο δύσκολες στιγμές.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στα αδέρφια μου, Μαρία, Θεοδώρα, Φοίβη, Θανάση και Συμεών που ήταν οι καλύτεροι σύμμαχοι σε αυτή την πορεία. Η συντροφιά σας, η κατανόηση και η ενθάρρυνσή σας ήταν για μένα ανεκτίμητες. Ιδιαίτερες ευχαριστίες στις αδερφές μου Μαρία και Θεοδώρα που βοήθησαν με την διόρθωση και μορφοποίηση του κειμένου και στη Φοίβη που βοήθησε και στήριξε ψυχολογικά.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συναδέλφους μου με υποστήριξαν ώστε να έχω χρόνο να εκπονήσω την εργασία μου ενώ δούλευα παράλληλα. Ιδιαίτερες ευχαριστίες στις εργαστηριακές συναδέλφους, Νεφέλη και Άννα. Τον Πετρόπουλο Ιωάννη και τον Dr. Κολύγα Μάρκο για την επιστημονική τους συμβολή και για την συνδρομή τους στην επαγγελματική μου εξέλιξη.

Χάρη σε όλους σας κατάφερα να φτάσω εδώ που είμαι σήμερα, και για αυτό σας είμαι απεριόριστα ευγνώμων. Σας ευχαριστώ που πιστέψατε σε εμένα και με στηρίξατε σε κάθε μου βήμα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι τροφιμογενείς λοιμώξεις είναι ασθένειες που προκαλούνται από παθογόνους μικροοργανισμούς που μεταδίδονται μέσω των τροφίμων. Η δημόσια υγεία επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό, καθώς αυτές μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές ασθένειες και επιπλοκές στην υγεία, ενώ παράλληλα αυξάνουν το κόστος για το σύστημα υγείας. Υπάρχουν αρκετά αίτια που μπορούν να προκαλέσουν μια τροφιμογενή λοίμωξη, με την *Listeria monocytogenes* να αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά/σοβαρά που απασχολούν τη δημόσια υγεία. Ειδικότερα τα έτοιμα προς κατανάλωση (Ready-to-Eat) τρόφιμα φαίνεται να αποτελούν ιδιαίτερα ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη της. Τα παραπάνω τρόφιμα διαφοροποιούνται ανάλογα με την δυνατότητά τους να υποστηρίξουν ή όχι την ανάπτυξη του συγκεκριμένου μικροβίου. Οι υπεύθυνοι των επιχειρήσεων τροφίμων, πρέπει να μπορούν να αποδείξουν στις αρμόδιες αρχές σε ποια κατηγορία τροφίμων ανήκουν τα τρόφιμα που διακινούν, ως προς την συμπεριφορά της *L.m.*, καθώς και ποια όρια έχουν ορίσει για τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό καθ' όλη την διάρκεια ζωής του προϊόντος τους.

Με τις δοκιμές Challenge Test πραγματοποιείται τεχνητά η επιμόλυνση ενός τρόφιμου με *L.m.* και μελετάται η συμπεριφορά του μικροοργανισμού σε συνθήκες αποθήκευσης κατά τη διάρκεια ζωής του τρόφιμου

Η κατανάλωση μη θερμικώς επεξεργασμένων και έτοιμων προς κατανάλωση προϊόντων ψαριού, έχει αρχίσει να απασχολεί αρκετά τις υγειονομικές αρχές την τελευταία πενταετία. Αυτό οφείλεται στην όλο και αυξανόμενη προτίμηση που δείχνουν οι καταναλωτές σε αυτά τα προϊόντα. Τα ψάρια έχουν αναφερθεί αρκετές φορές ως τρόφιμα υπαίτια για τροφιμογενείς λοιμώξεις και ειδικότερα η πιθανότητα ανάπτυξης *L.m.*, στα μη θερμικώς επεξεργασμένα και στα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η συστηματική ανασκόπηση της ελληνικής και διεθνούς βιβλιογραφίας σχετικά με την *Listeria monocytogenes* στα έτοιμα προς κατανάλωση ψάρια καθώς και την αξία του challenge test για τη μελέτη της δυνατότητας ανάπτυξης *Listeria monocytogenes*.

Λέξεις-κλειδιά: *Listeria monocytogenes*, Foodborne diseases, Ready-to eat, Challenge test, Raw fish

ABSTRACT

Foodborne illnesses are diseases caused by pathogenic microorganisms transmitted through food. Public health is significantly impacted as these can lead to severe illnesses and health complications, while also increasing healthcare costs. Several factors can cause a foodborne illness, with *Listeria monocytogenes* being one of the most significant public health concerns. Ready-to-eat foods, in particular, seem to provide a favorable environment for its growth. These foods vary in their ability to support the growth of this specific microorganism. Food business operators must be able to demonstrate to the competent authorities the category to which their products belong, regarding the behavior of *L. monocytogenes*, as well as the limits they have set for this microorganism throughout the product's shelf life.

Through Challenge tests a food product is artificially contaminate with *L. monocytogenes* and study the behavior of the microorganism under storage conditions during the food's shelf life.

The consumption of non-heat-treated and ready-to-eat fish products has become a significant concern for health authorities in the last five years. This is due to the increasing consumer preference for these products. Fish have been frequently reported as foods responsible for foodborne illnesses, and the possibility of *L. monocytogenes* growth in non-heat-treated and ready-to-eat foods has been of particular concern.

The aim of this study is to systematically review the Greek and international literature on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat fish and the value of challenge tests for studying the potential growth of *Listeria monocytogenes*.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	8
ABSTRACT	9
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	10
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	12
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ/ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΩΝ	13
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	14
ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ.....	17
ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	18
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ.....	19
ΒΑΣΙΚΟΙ ΟΡΙΣΜΟΙ	20
ΜΕΡΟΣ Α: Η <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> ΚΑΙ Η ΛΙΣΤΕΡΙΩΣΗ.....	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Η <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i>	23
1.1.Βιολογικά χαρακτηριστικά	24
1.2. Παθογονικότητα και λοιμογονικότητα της <i>L.m.</i>	25
1.3.Εργαστηριακή ανίχνευση της <i>L.m.</i> σε τρόφιμα	28
1.3.1. Οροτυποποίηση	29
1.3.2. Μοριακές τεχνικές τυποποίησης	30
1.4. Μολυσματική οδός <i>L.monocytogenes</i>	31
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Η ΛΙΣΤΕΡΙΩΣΗ.....	34
2.1.1. Θεραπεία της λιστερίωσης	38
2.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΗΣ ΛΙΣΤΕΡΙΩΣΗΣ	39
2.2.1. Σε επίπεδο Ευρώπης	39
2.2.2. Στοιχεία Μικροβιολογικής επιτήρησης	41
2.2.3. Επιδημιολογικά δεδομένα σε επίπεδο χώρας- Ελλάδα	42
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΚΑΝΟΝΙΣΤΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ....	44
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Η <i>L.m.</i> ΣΤΑ ΕΤΟΙΜΑ ΠΡΟΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΤΡΟΦΙΜΑ	46
4.1. Η <i>L.m.</i> στα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα.....	46
4.2. Η <i>l.m.</i> ετοιμα προς καταναλωση – φρεσκα ψάρια και προϊόντα ψαριου.....	49
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΤΑ ΦΡΕΣΚΑ ΨΑΡΙΑ ΚΑΙ ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΨΑΡΙΟΥ	57
6.1. Στοιχεία παραγωγής και κατανάλωσης ιχθύων	57
6.1.1. Στοιχεία παραγωγής και διάθεσης Ιχθύων	58
6.1.2 Στοιχεία Κατανάλωσης Ιχθύων.....	60

6.2. Μορφολογία, σύσταση και αλλοιώσεις των ιχθύων.....	61
6.2.1. Χημική σύσταση ιχθύων.....	62
6.2.2. Αλλοίωση ιχθύων.....	63
6.2.3.Μικροβιακή γλωρίδα των ιχθύων και μικροβιακή αλλοίωση	64
6.3. Η επεξεργασία των ιχθύων- τεχνικές συντήρησης και μεταποίησης.....	65
6.3.1. Συντήρηση ιχθύων	66
6.3.2 Μέθοδοι επεξεργασίας και συσκευασίας ιχθύων.....	67
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΗΣ L.m. ΣΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΝΩΠΩΝ ΙΧΘΥΩΝ.....	71
7.1. ΤΑ ΨΑΡΙΑ ΩΣ ΕΤΟΙΜΑ ΠΡΟΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΤΡΟΦΙΜΑ.....	71
7.1.1. Πιθανότητα ανάπτυξης L.m.στα RTE-ψάρια.....	74
7.2. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΣΤΑ RTE ΨΑΡΙΑ ΚΑΙ ΚΑΝΟΝΙΣΤΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ.....	76
7.2.1. Κανονιστικό πλαίσιο σε επίπεδο βιομηχανίας	77
7.3. ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΗΣ L.m. ΣΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	82
7.3.1. Η L.m. στην αλυσίδα επεξεργασίας	83
7.4. ΤΡΟΠΟΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ -ΟΡΘΕΣ ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ.....	87
7.4.1. Μέτρα ελέγχου σε περιβάλλοντα επεξεργασίας	87
7.4.2. Τρόποι περιορισμού στο Λιανικό εμπόριο.....	89
7.4.3. Τρόποι περιορισμού στις επιχειρήσεις εστίασης.....	91
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. ΤΟ CHALLENGE TEST	92
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	95
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	99

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1.: Χαρακτηριστικά ανάπτυξης/επιβίωσης του <i>L. Monocytogenes</i> σε υγρό θρεπτικό μέσο	25
Πίνακας 2.1., Κατανομή επιβεβαιωμένων κρουσμάτων μόλυνσης από <i>L.m.</i> και ποσοστά /100.000 πληθυσμού/ χώρα και έτος ,ΕΕ/ΕΟΧ, 2018–2022	40
Πίνακας 2.2. Ετήσιος αριθμός δηλωμένων κρουσμάτων και ποσοστό δήλωσης της λιστερίωσης στην Ελλάδα.....	43
Πίνακας 5.1 Κατανομή κρουσμάτων ανά χώρα την περίοδο 2014-2018	51
Πίνακας 5.2. Κατανομή κρουσμάτων ανά χώρα την περίοδο στην 2019	53
Πίνακας 5.3. Κατανομή κρουσμάτων ανά χώρα την περίοδο στην 2019-2024.....	55
Πίνακας 5.4. Δημογραφικά δεδομένα για την περίοδο στην 2012-2024.....	56
Πίνακας 7.1. Κριτήρια ασφάλειας τροφίμων	78
Πίνακας 7.2. Θερμοκρασία προϊόντων και μέγιστος χρόνος έκθεσης για την ανάπτυξη της <i>L.m.</i>	90

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ/ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΩΝ

Εικόνα 1.1. Μολυσματική οδός της <i>L.m.</i>	31
Εικόνα 1.2. Η εισβολή και πολλαπλασιασμός της <i>L.m.</i> στο κύτταρο	33
Εικόνα 2.1., Δελτίο Υποχρεωτικής δήλωσης Λοιμώδους νοσήματος <i>L.m.</i>	36
Εικόνα 2.2. Επικρατέστεροι ορότυποι επιβεβαιωμένων κρούσματα ΕΕ/ΕΟΧ 2007-2023	42
Εικόνα 4.1.	47
Εικόνα 4.2. Βασικότερα τρόφιμα που εμπλέκονται σε επιδημίες λιστερίωσης.....	49
Εικόνα 5.1.: Κατανομή επιδημιών σε προϊόντα ψαριού κατά την περίοδο 2018-2022	50
Εικόνα 6.1.: Βασικά στοιχεία ανατομίας του ψαριού	61
Εικόνα 7.1. Διάγραμμα ροής επεξεργασίας καπνιστού σολομού.....	84
Εικόνα 7.2. Πιθανότητες ανάπτυξης <i>L.m.</i> κατά την γραμμή παραγωγής	85
Εικόνα 7.3. Πλάνο δειγματοληψιών κατά την εκτροφή και την επεξεργασία των ψαριών	88

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ήδη από τις αρχές του 19^{ου} αιώνα, ταυτόχρονα με την αύξηση της μαζικής παραγωγής και τυποποίησης των τροφίμων, άρχισαν να θέτονται τα πρώτα θεμέλια για την δημιουργία πολιτικών που διασφαλίζουν την ασφάλεια και την ποιότητα των τροφίμων. Σήμερα αυτό ορίζεται από την έννοια της ενιαίας υγείας στον τομέα των τροφίμων που δημιουργεί ένα πεδίο ερευνών, στο οποίο μελετάται ο συνδυασμός της δημόσιας υγείας και της υγιεινής των τροφίμων. Ο τομέας αυτός περιλαμβάνει τη διασφάλιση της ασφάλειας και της ποιότητας των τροφίμων, καθώς και τη διατήρηση της υγιεινής στην παραγωγή, επεξεργασία, διανομή και πώληση των τροφίμων (Coveney, 2003).

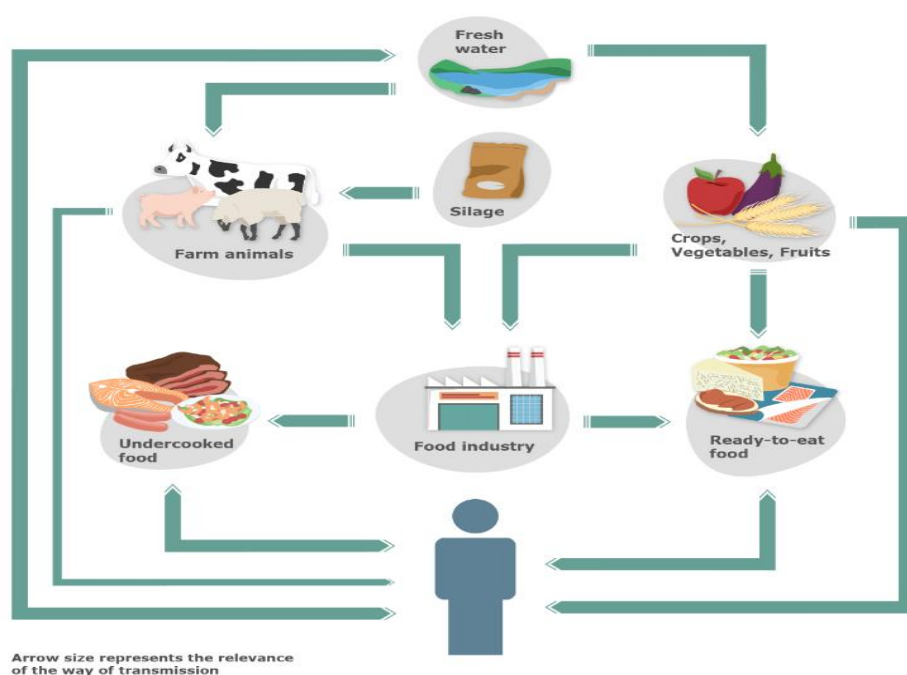
Οι τροφιμογενείς λοιμώξεις είναι ασθένειες που προκαλούνται από παθογόνους μικροοργανισμούς που μεταδίδονται μέσω των τροφίμων. Μπορούν να προκαλέσουν ασθένειες από ελαφριά διάρροια έως σοβαρές επιπλοκές. Αυτά αποτελούν σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας σε παγκόσμιο επίπεδο. Σύμφωνα με τα στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ), κάθε χρόνο προκαλούνται περίπου 600 εκατομμύρια κρούσματα τροφιμογενών νοσημάτων σε παγκόσμιο επίπεδο, με περίπου 420.000 θανάτους ετησίως. Το ECDC, επίσης ανέφερε για το 2021, 4.005 επιδημίες από τροφιμογενείς λοιμώξεις από ζωνοσογόνους μικροβιακούς παράγοντες. Η δημόσια υγεία επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό, καθώς αυτά μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές ασθένειες και επιπλοκές και να οδηγήσουν σε αυξημένο κόστος για την υγεία και το σύστημα υγείας. Επιπλέον, τα τροφιμογενή νοσήματα μπορούν να επηρεάσουν τη δημόσια υγεία και την ασφάλεια τροφίμων, καθώς οι επιδημίες μπορούν να οδηγήσουν σε ανάκληση τροφίμων και απώλεια εμπιστοσύνης του κοινού στα προϊόντα τροφίμων (ECDC, 2022).

Μερικές από τις πιο σημαντικές για τη δημόσια υγεία τροφιμογενείς λοιμώξεις προκαλούνται από *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Vibrio* και *Listeria*, σε αυτά περιλαμβάνονται και κάποιες λοιμώξεις από ιούς όπως ο ιός της ηπατίτιδας Α (ECDC, 2022). Στην παρούσα εργασία θα γίνει αναφορά αποκλειστικά στην *Listeria monocytogenes*.

Η *Listeria monocytogenes* είναι ένα είδος βακτηρίου που μπορεί να προκαλέσει

σοβαρές ασθένειες στον άνθρωπο, όπως εγκεφαλίτιδα, μηνιγγίτιδα και σημαντικές λοιμώξεις του αίματος. Είναι ένα από τα πλέον κατανοητά παθογόνα βακτήρια από άποψη βιολογίας και γενετικής. Η *Listeria monocytogenes* είναι σημαντική από άποψη δημόσιας υγείας, καθώς μπορεί να επηρεάσει τους ανθρώπους μέσω τροφίμων που έχουν μολυνθεί από το βακτήριο. Τα αλλαντικά, τα μαλακά τυριά, τα φρέσκα φρούτα και λαχανικά, οι έτοιμες σαλάτες και σάντουιτς αποτελούν τα κύρια προϊόντα τα οποία σε αρκετές περιπτώσεις είναι υπεύθυνα για την πρόκληση επιδημικών συρροών. (ECDC, 2022). Φαίνεται ότι τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα είναι πιο επιρρεπή στην ανάπτυξη και την μετάδοση της *L.m.* (EFSA, 2022).

Εικόνα 1.1.: Τρόπος μετάδοσης της *L.m.* από την παραγωγή τροφίμων στον άνθρωπο.



Πηγή: <https://storymaps.arcgis.com/stories/629e6627e6c64111bfd5b9257473c74a>

Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θεσπίσει μικροβιολογικά κριτήρια (Κανονισμός (ΕΚ) 2073/2005) για την *L. monocytogenes*, στα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα. Τα παραπάνω τρόφιμα διαφοροποιούνται ανάλογα με την δυνατότητά τους να υποστηρίξουν ή όχι την ανάπτυξη του συγκεκριμένου μικροβίου. Σύμφωνα με τον παραπάνω κανονισμό οι υπεύθυνοι των επιχειρήσεων τροφίμων, πρέπει να μπορούν να αποδείξουν στις αρμόδιες αρχές σε ποια κατηγορία τροφίμων, ως προς την συμπεριφορά της *L. monocytogenes*, ανήκουν τα τρόφιμα που διακινούν, καθώς και ποια όρια έχουν ορίσει για τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό καθ' όλη την διάρκεια

ζωής του προϊόντος τους.

Με τις δοκιμές Challenge Test πραγματοποιείται τεχνητά η επιμόλυνση ενός τροφίμου με *L.m.* και μελετάται η συμπεριφορά του μικροοργανισμού σε συνθήκες αποθήκευσης κατά τη διάρκεια ζωής του τροφίμου. Τα αποτελέσματα του challenge test χρησιμοποιούνται συνήθως για να καθοριστούν οι συνθήκες αποθήκευσης και συσκευασίας του τροφίμου και να διασφαλίσει την υγιεινή και την ποιότητα του (Russell, 2003).

Η κατανάλωση μη θερμικώς επεξεργασμένων και έτοιμων προς κατανάλωση προϊόντων ψαριού έχει αρχίσει να απασχολεί αρκετά τις υγειονομικές αρχές την τελευταία πενταετία. Αυτό οφείλεται στην όλο και αυξανόμενη προτίμηση που δείχνουν οι καταναλωτές σε αυτά τα προϊόντα. Τα ιχθυηρά έχουν αναφερθεί αρκετές φορές ως τρόφιμα υπαίτια για τροφιμογενείς λοιμώξεις (Barret *et al.* 2017), ειδικότερα στην πιθανότητα ανάπτυξης *L.m.* στα μη θερμικώς επεξεργασμένα και στα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα (Miya, S. *et al.* 2010; Tocco *et al.* 2014).

Τα κρούσματα λιστερίωσης από κατανάλωση ιχθύων δεν είναι ακόμα τόσο συχνά. Τα νεοφανή περιστατικά όμως που αναφέρθηκαν από τους Gillesberg Lassen, *et al.* (2016) εγείρουν την ανησυχία για το αντίκτυπο που μπορεί να έχει στη δημόσια υγεία.

Όσον αφορά το challenge test για *Listeria monocytogenes* έχουν γίνει έρευνες σε διάφορα τρόφιμα, όπως ενδεικτικά αναφέρονται τα αλλαντικά (Grassi *et al.*, 2013), τα μαλακά τυριά (Vasileiadi *et al.*, 2022) και τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα (Kleiner *et al.*, 2013; Gupta, & Adhikari, 2022; Spanu *et al.* 2014). Η αξία του *L.m.* challenge test έχει μελετηθεί από τους Lani *et al.* 2021 αλλά η βιβλιογραφία είναι περιορισμένη.

Γίνεται αντιληπτό ότι η διερεύνηση και η εξακρίβωση της ύπαρξης *L.m.* και η αξιολόγηση του *L.m.* challenge test είναι επιτακτική ανάγκη για την κατανόηση του αντικτύπου που έχει στη δημόσια υγεία. Στην παρούσα εργασία γίνεται προσπάθεια συγκέντρωσης και ανάλυσης και αξιολόγησης των ως τώρα δεδομένων ώστε να μπορέσουν να τεθούν στόχοι για μελλοντικές έρευνες στο πεδίο.

ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η συστηματική ανασκόπηση της ελληνικής και διεθνούς βιβλιογραφίας σχετικά με την *Listeria monocytogenes* στα έτοιμα προς κατανάλωση ψάρια καθώς και την αξία του challenge test για τη μελέτη της δυνατότητας ανάπτυξης *Listeria monocytogenes*. Ως εκ τούτου συγκεντρωτικά θα παρουσιαστούν τα επιδημιολογικά δεδομένα για την *Listeria monocytogenes*, μέσω της παρουσίας των πρόσφατων κρουσμάτων λιστερίωσης από έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα, αλλά και η σημασία της έννοιας “ενιαία υγεία” στον τομέα παραγωγής τροφίμων.

Μέσω της πρόσφατης βιβλιογραφίας θα γίνει διερεύνηση των παραγόντων που συμβάλλουν στην ανάπτυξη της *L.m.* στα ψάρια κατά την επεξεργασία και τυποποίηση των φρέσκων ιχθύων .

Τέλος, για την καλύτερή κατανόηση της δοκιμασίας challenge test, θα γίνει αναλυτική αναφορά και περιγραφή των σταδίων του *L.m.* challenge test. Θα ακολουθήσει η αξιολόγηση της εφαρμογής του *L.m.* challenge test στα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα από την υπάρχουσα βιβλιογραφία. Επιπλέον, θα αξιολογηθούν οι μελλοντικές προοπτικές για την εφαρμογή του *L.m.* challenge test στη βιομηχανία των τροφίμων και ειδικότερα στα ψάρια.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΛΟΓΙΑ

Το υλικό θα συγκεντρωθεί από σχετικές διαδικτυακές πηγές και δημοσιεύσεις από ερευνητικά περιοδικά και ηλεκτρονικά αποθετήρια και από βάσεις δεδομένων όπως: PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), Google Scholar (<https://scholar.google.com/>), Scopus(<https://www.scopus.com/search/form.uri?display=basic#basic>), Science Direct (<https://www.sciencedirect.com/>).

Αρχικά θα γίνει αναζήτηση της βιβλιογραφίας με την εξής στρατηγική αναζήτησης: - Θα χρησιμοποιηθούν οι εξής όροι στις βάσεις δεδομένων ("*Listeria monocytogenes*" OR

"

L

.

m

.

Η μελέτη θα αναπτυχθεί σε δύο μέρη. Στο πρώτο μέρος θα συλλεχθούν στοιχεία και θα παρουσιαστούν τα επιδημιολογικά δεδομένα της *L.m.*, με την συγκέντρωση και περιγραφή των τελευταίων στοιχείων που αφορούν την *L.m.* στα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα. Επιπροσθέτως, θα γίνει αναφορά των τρόπων παρασκευής και συσκευασίας των έτοιμων προς κατανάλωση προϊόντων-ιχθύων, καθώς και οι διαδικασίες στην βιομηχανία που μπορούν να συμβάλουν στην ανάπτυξη της στο προϊόν. Στο δεύτερο μέρος, θα γίνει μία λεπτομερής περιγραφή της διαδικασίας του *L.m.* challenge test και των βιβλιογραφικών δεδομένων από την ως τώρα εφαρμογή του, ενώ θα ακολουθήσει η παράθεση και ανάλυση των κυριότερων προοπτικών εφαρμογής του για την μελέτη της δυνατότητας ανάπτυξης *L.m.*

t

e

s

t

”

”

)

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

CDC: Centers for Disease Control and Prevention (Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Ασθενειών)

ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control (Ευρωπαϊκό Κέντρο Πρόληψης και Ελέγχου Ασθενειών)

EFSA: European Food Safety Authority (Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων)

MLST: Multilocus Sequence Typing

PulseNet: σύστημα επιτήρησης, το οποίο χρησιμοποιεί τυποποιημένες μεθόδους μοριακής υποτυποποίησης για την παρακολούθηση και τη σύγκριση στελεχών STEC σε διαφορετικές περιοχές

RASFF : Rapid Alert System for Food and Fee

RTE: Ready to eat Έτοιμα προς κατανάλωση (ready-to-eat) προϊόντα είναι τα τρόφιμα που προορίζονται από τον παραγωγό για άμεση κατανάλωση χωρίς να είναι αναγκαίο να μαγειρευτούν ή να τύχουν άλλης επεξεργασίας (Κανονισμός (ΕΚ) 852/2004).

ST: Sequence Type

Tessy: σύστημα συλλογής, ανάλυσης και διάδοσης δεδομένων για μεταδοτικές ασθένειες

WGS: Whole Genome Sequence (αλληλουχία ολόκληρου του γονιδιώματος)

WHO (ΠΟΥ): Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

ΒΑΣΙΚΟΙ ΟΡΙΣΜΟΙ

Για την παρακάτω εργασία είναι σημαντικό να αναφερθούν ορισμοί.

Οι Κανονισμοί (ΕΚ) αριθ. 853/2004 (Παράρτημα Ι), (ΕΚ) αριθ. 852/2004 και (ΕΚ) 2073/2005 παραθέτουν τους ακόλουθους σχετικούς ορισμούς

Ιχθυηρά χαρακτηρίζονται γενικά τα θαλάσσια, λιμναία ή ποταμίσια ζώα που δεν είναι θερμόαιμα. Ως κρέας δε αυτών χαρακτηρίζεται κάθε εδώδιμο μέρος τους.

Διακρίνονται σε νωπά και διατηρημένα ιχθυηρά ειδικότερα στις εξής κατηγορίες α) Νωπά ιχθυηρά β) κατεψυγμένα ιχθυηρά γ) αποξηραμένα ψάρια δ) Αλίπαστα ψάρια ε) Καπνιστά ψάρια στ) ιχθυηρά σε ξύδι, άλμη, ελαιό, ζ) διατηρημένα αυγά ιχθύων η) Διάφορα σκευάσματα ιχθυηρών (Άρθρο 92, Κώδικας τροφίμων και ποτών).

Με τον όρο «αλιεύματα» χαρακτηρίζονται οι ζωντανοί οργανισμοί που ζουν στη θάλασσα, τις λίμνες, τους ποταμούς ή τα ιχθυοτροφεία και αποτελούν τροφή για τον άνθρωπο. Τα είδη των αλιευμάτων που προσφέρονται προς κατανάλωση είναι περισσότερα από εκατό (Κέντρο Ελέγχου Τροφίμων Διεύθυνσης Κτηνιατρικής Θεσσαλονίκης, 2006).

Αλιευτικά προϊόντα» (Fishery products): όλα τα ζώα αλμυρών ή γλυκών υδάτων (πλην των ζώντων δίθυρων μαλακίων, των ζώντων εχινοδέρμων, των ζώντων χιτωνοζώων και των ζώντων θαλάσσιων γαστερόποδων, και όλων των θηλαστικών, των ερπετών και των βατράχων), άγρια ή εκτρεφόμενα, συμπεριλαμβανομένων όλων των εδωδιμων μορφών, μερών και προϊόντων των ζώων αυτών.

«Νωπά αλιευτικά προϊόντα» (Prepared fishery products): όλα τα αμεταποίητα αλιευτικά προϊόντα, ολόκληρα ή παρασκευασμένα, συμπεριλαμβανομένων των προϊόντων που συσκευάζονται σε κενό ή σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και δεν έχουν υποστεί καμία επεξεργασία για να εξασφαλιστεί η συντήρησή τους, εκτός από τη διαδικασία ψύξης.

«Παρασκευασμένα αλιευτικά προϊόντα» (Fishery products): όλα τα αμεταποίητα αλιευτικά προϊόντα που έχουν υποστεί μεταβολή της ανατομικής τους ακεραιότητας, όπως εκσπλαχνισμό, αποκεφαλισμό, τεμαχισμό σε φέτες, τεμαχισμό σε φιλέτα ή άλεση.

(Processed products): τρόφιμα που προέρχονται από τη μεταποίηση μη-μεταποιημένων προϊόντων. Τα προϊόντα αυτά είναι δυνατό να περιέχουν συστατικά τα οποία είναι αναγκαία για την παρασκευή τους ή τα οποία τους προσδίδουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά.

«Μη-μεταποιημένα προϊόντα» (Unprocessed products): τρόφιμα τα οποία δεν έχουν υποστεί μεταποίηση και τα οποία περιλαμβάνουν τα προϊόντα που έχουν υποστεί διαίρεση, χωρισμό, αποκοπή, κοπή, αφαίρεση οστών, πολτοποίηση, αποφλοιώση, εκδορά, κονιοποίηση, τεμαχισμό, καθαρισμό, καλλωπισμό, άλεση, αφαίρεση του κελύφους, ψύξη, κατάψυξη, βαθιά κατάψυξη, ή απόψυξη.

«Μικροβιολογικό κριτήριο» (Microbiological criterion): 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.

«Κριτήριο ασφάλειας των τροφίμων» (Food safety criterion): είναι ένα κριτήριο που καθορίζει το αποδεκτό ενός προϊόντος ή μιας παρτίδας τροφίμων και το οποίο εφαρμόζεται στα προϊόντα που διατίθενται στην αγορά.

«Κριτήριο υγιεινής της παραγωγικής διαδικασίας» (Process hygiene criterion): είναι ένα κριτήριο που καθορίζει την αποδεκτή λειτουργία της διαδικασίας παραγωγής· ένα τέτοιο κριτήριο δεν εφαρμόζεται στα προϊόντα που διατίθενται στην αγορά· ορίζει μια ενδεικτική τιμή μόλυνσης πάνω από την οποία απαιτούνται διορθωτικές ενέργειες προκειμένου να διατηρηθεί η υγιεινή της παραγωγικής διαδικασίας σύμφωνα με τη νομοθεσία για τα τρόφιμα «Διάρκεια διατήρησης».

(Shelf-life): σημαίνει είτε το διάστημα που αντιστοιχεί στην περίοδο έως την ημερομηνία «ανάλωση μέχρι» ή την ημερομηνία ελάχιστης διατηρησιμότητας, όπως ορίζονται αντίστοιχα στα άρθρα 9 και 10 της οδηγίας 2000/13/EK και «εμπορική διάρκεια ζωής» αναφέρεται στην περίοδο κατά την οποία ένα συγκεκριμένο είδος τρόφιμου διατηρεί την καταλληλότητά του για ανθρώπινη κατανάλωση. Όταν πρόκειται για ιχθυηρά, η διάρκεια ζωής τους καθορίζεται από τη διάρκεια μεταξύ του χρόνου που αλιεύονται από το νερό και του χρόνου που γίνεται ακατάλληλο για κατανάλωση.

«Τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση» (Ready-to-eat-food): σημαίνει τρόφιμα που προορίζονται από τον παραγωγό ή τον παρασκευαστή για ανθρώπινη κατανάλωση χωρίς να χρειάζονται μαγείρεμα ή άλλη επεξεργασία, αποτελεσματική για να εξαλείψει ή να μειώσει σε αποδεκτό επίπεδο τους ανησυχητικούς μικροοργανισμούς.

Από τον «Οδηγός Υγιεινής» που απευθύνεται στις επιχειρήσεις που προσφέρουν υπηρεσίες αποθήκευσης και διανομής τροφίμων σε συνθήκες περιβάλλοντος, ψύξης ή κατάψυξης, για να χρησιμοποιείται ως βάση για τις ενέργειές τους, με σκοπό τη συμμόρφωση τους με την ΚΥΑ 487/ ΦΕΚ 1219Β' 4.10.2000.

Ανάλυση Κινδύνων και Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου (HACCP): Ένα σύστημα διασφάλισης ποιότητας που θα πρέπει να εφαρμόζεται σε κάθε επιχείρηση τροφίμων και το οποίο προάγει την αναγνώριση των πιθανών κινδύνων των τροφίμων και συνιστά τους ελέγχους που απαιτούνται για την πρόληψη και την μείωση των κινδύνων αυτών

ΜΕΡΟΣ Α: Η *LISTERIA MONOCYTOGENES* ΚΑΙ Η ΛΙΣΤΕΡΙΩΣΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Η *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Το γένος *Listeria* sp. περιλαμβάνει βακτήρια κατά Gram- Θετικοί κοκκοβάκιλοι που τείνουν να σχηματίζουν αλυσίδες τριών ως πέντε κυττάρων. Δρουν ως υποχρεωτικά ενδοκυτταρικά παράσιτα και είναι προαιρετικά αναερόβια, μη-σπορογόνα βακτήρια. Κύριο χαρακτηριστικό γνώρισμα του γένους είναι η χαμηλή περιεκτικότητα σε C+G (Hoff, 2023). Έχουν περιγράψει 17 βακτηριακά είδη τα: *Listeria monocytogenes*, *Listeria seeligeri*, *Listeria ivanovii*, *Listeria welshimeri*, *Listeria marthii*, *Listeria innocua*, *Listeria grayi*, *Listeria fleischmannii*, *Listeria floridensis*, *Listeria aquatica*, *Listeria newyorkensis*, *Listeria cornellensis*, *Listeria rocourtiae*, *Listeria weihenstephanensis*, *Listeria grandensis*, *Listeria riparia*, and *Listeria booriae* (Bell and Kyriakides, 2009).

Η πρώτη επίσημη αναφορά της *Listeria* έγινε από τους E. G. D. Murray, R. A. Webb and M. B. R. Swann, (EGD Murray, 1924; Hoff, 2023). Στην εργασία τους ανέφεραν ένα νέο βακτήριο σε σχήμα ραβδίου, το οποίο προκαλούσε, στα κουνέλια και στα ινδικά χοιρίδια, μια μεγάλης κλίμακας αντίδραση που είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μονοπύρηνων λευκοκυττάρων. Το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό έδωσε και το όνομα του στο είδος που αρχικά ονομάστηκε *Bacterium monocytogenes*. Αργότερα το γένος ονομάστηκε *Listeria* προς τιμή του Άγγλου χειρουργού και πατέρα της στείρας χειρουργικής Sir Joseph Lister (Majumder, 2022).

Τα βακτήρια του γένους *Listeria* φαίνεται να βρίσκονται παντού στο περιβάλλον. Μπορούν να είναι παθογόνα για διάφορα είδη ζώων ενώ πολλά από αυτά μεταφέρουν τα βακτήρια με τα κόπρανα τους επιμολύνοντας τα τρόφιμα και το περιβάλλον. Ως εκ τούτου το γένος *Listeria* παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον για την ενιαία υγεία. Ειδικότερα το *L. monocytogenes* είναι από τα πιο σημαντικά τροφιμογενή βακτήρια που απειλούν την Δημόσια υγεία καθώς προκαλεί την λιστερίωση.

1.1.Βιολογικά χαρακτηριστικά

Η *L.m.* στο μικροσκόπιο φαίνεται ως κύλινδρος μικρού μήκους διαστάσεων 1.0-2.0 μm ×0.5 μm . και μπορεί να εμφανίζονται ως διπλόκοκκοι ή κόκκοι. Το βακτήριο δεν παράγει σπόρια και δεν σχηματίζει κάψουλες. Μπορεί να έχει μια τρομώδη κήνιση με την βοήθεια των λίγων (1-5) βλεφαρίδων.

Γενικότερα τα είδη του γένους *Listeria* απαιτούν μικροαερόβιες συνθήκες ανάπτυξης. Παράγουν θετική αντίδραση καταλάσης και αρνητική αντίδραση οξειδάσης. Έχει την ικανότητα να επιβιώνει σε αντίξοες συνθήκες, όπως ευρύ φάσμα θερμοκρασιών, χαμηλό pH, χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου. Είναι αρκετά ανθεκτική στην ακτινοβολία καθιστώντας έτσι δύσκολο τον περιορισμό της. Ειδικότερα, λόγω της εμφάνισης αυξημένης ανοχής μετά την προσαρμογή σε περιβάλλον με ακραίο stress, ο οργανισμός μπορεί να γίνει εξαιρετικά ανθεκτικός ακόμη και σε εξαιρετικά ακραίες συνθήκες (Koutsoumanis *et. al.*, 2003). Η δυνατότητα του παθογόνου να αλλάξει την κυτταρική του φυσιολογία κατά την έκθεση σε συνθήκες stress και να γίνεται πιο ανθεκτικός σε περαιτέρω καταπονήσεις, μπορεί να εξουδετερώσει την αποτελεσματικότητα της συντήρησης τροφίμων και να θέσει σε κίνδυνο την ασφάλεια των τροφίμων (Taormina *et al.*, 2002). Ως εκ τούτου αποτελεί μεγάλη απειλή για την βιομηχανία τροφίμων.

Το θερμοκρασιακό εύρος ανάπτυξης της *L.m.* είναι οι 0-45°C και η ιδανική θερμοκρασία ανάπτυξης φαίνεται να είναι μεταξύ 30-37°C. Εκτός όμως του μεγάλου θερμοκρασιακού εύρους που η *Listeria* μπορεί να αναπτυχθεί η *L.m.* έχει και την ικανότητα να επιβιώνει σε συνθήκες ψύξης και σε θερμοκρασίες παστερίωσης (72°C), (Lungu *et al.*, 2009). Η *L.m.* έχει επίσης την ικανότητα να προσαρμόζεται και να αναπτύσσεται, αν και πιο αργά, σε χαμηλές θερμοκρασίες, αποτελεί μεγάλο κίνδυνο και για τα τρόφιμα που κατά την επεξεργασία τους έχουν υποστεί κάποια μορφή έκθεσης σε χαμηλή θερμοκρασία (Barria *et al.*, 2013; Cordero *et al.*, 2016).

Όσον αφορά το pH το εύρος ανάπτυξης είναι μεταξύ 4,4-9,4 (Γαϊτης, 2010). Είναι γνωστό ότι ο οργανισμός δεν μπορεί να αναπτυχθεί σε pH κάτω από 4,5 έως 4,6. Τα τελευταία χρόνια όμως, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η ικανότητα της *L.m.* να προσαρμόζεται σε συνθήκες stress έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη επιβίωση υπό όξινες συνθήκες (Phan Tanh *et al.* 2000, Koutsoumanis *et. al.*, 2003).

Ένας ακόμα παράγοντας που αξίζει να σημειωθεί είναι η ικανότητα επιβίωσης σε υψηλή αλατότητα. Ειδικότερα για την επεξεργασία και διατήρηση των προϊόντων ιχθυηρών, η αλατότητα είναι τόσο σημαντική όσο και η θερμοκρασία. Η *L.m.* φαίνεται να είναι αρκετά ανθεκτική σε διαλύματα άλατος και επιβιώνει σε συγκεντρώσεις ως 30,5% για 100 ημέρες (Γαϊτης, 2010), υπό συνθήκες το όριο αυτό μπορεί να μεταβάλλεται (Sabala et al., 2008).

Πίνακας 1.1.: Χαρακτηριστικά ανάπτυξης/επιβίωσης του *L. Monocytogenes* σε υγρό θρεπτικό μέσο

	Min. (lower growth limit)	Growth Optimum (fastest growth)	Max. (upper growth limit)	Survival (but no growth)
Temperature (°C)	-2	30 - 37	45	-18
pH	4.0 - 4.3	7.0	9.6	3.3 – 4.2
a_w	0.92 (0.90 with glycerol)	0.99	/	<0.90
NaCl content			12	≥20
Gas atmosphere	Facultative anaerobic and microaerophilic (able to grow in presence / absence of O ₂ . (e.g. under vacuum or modified gas atmosphere)			

Πηγή: Anses datasheet on biological hazards “*Listeria monocytogenes*”, 2020

1.2. Παθογονικότητα και λοιμογονικότητα της *Lm.*

Η ικανότητας της *L.m.* να προκαλεί λιστερίωση είναι γνωστή εδώ και δεκαετίες. Για να γίνει σαφής ο βαθμός της παθογονικότητας πρέπει να γίνει διερεύνηση της λοιμογονικότητας. Η κατανόηση του δυναμικού της λοιμογόνου δράσης της *L. monocytogenes* είναι σημαντική και στοιχείο προστασίας της δημόσιας υγείας, καθώς μπορεί να υπάρχουν παθογόνα στελέχη με υψηλή παθογονικότητα που σχετίζονται με τα κρούσματα προκαλώντας έτσι σοβαρή εκδήλωση της νόσου.

Η *L. monocytogenes* διαθέτει έναν αριθμό γονιδίων που καθορίζουν το υψηλό δυναμικό της λοιμογόνου δράσης της, δηλαδή γονίδια που εμπλέκονται στον ενδοκυτταρικό κύκλο (π.χ. *prfA*, *hly*, *plcA*, *plcB*, *inlA*, *inlB*), στην προσαρμογή σε συνθήκες stress (π.χ. *sigB*, *gadA*, *caspD*, *clpB*, *lmo1138*), στον σχηματισμό biofilm (π.χ. *agr*, *luxS*), ή αντοχή σε απολυμαντικά (π.χ. *emrELm*, *bcrABC*, *mdrL*), (Wiktorczyk-Kapischke et al., 2021).

Η *L. monocytogenes* είναι γενετικά ποικιλόμορφο, που περιλαμβάνει 14 ορότυπους, τέσσερις κύριες εξελικτικές γενετικές σειρές και πολυάριθμους τύπους αλληλουχίας πολλαπλών τόπων (MLSTs). Πολυάριθμες τεχνικές μοριακής υποτυποποίησης έχουν εντοπίσει δύο κύριες φυλογενετικές διαιρέσεις εντός του είδους. Η διαίρεση I αποτελείται από τους ορότυπους 1/2b, 3b, 4b, 4d και 4e και η διαίρεση II αποτελείται από τους ορότυπους 1/2a, 1/2c, 3a και 3c. Έχει επίσης εντοπιστεί ένα τρίτο τμήμα που αποτελείται από λιγότερο συνηθισμένους ορότυπους 4a και 4c (Rasmussen *et al.*, 1995). Επίσης περιλαμβάνει πολυάριθμα κλωνικά σύμπλοκα (CCs) και τύπους αλληλουχίας (STs). Ορισμένοι ορότυποι ειδικά 1/2a, 1/2b και 4b, καθώς και ορισμένοι CC, συμπεριλαμβάνουν τα υπερμολυσματικά στελέχη ειδικότερα τα CC1, CC4 και CC6, απαντώνται συχνά σε κλινικές περιπτώσεις (Liu *et al.*, 2020). Πρόσφατα αναφέρθηκε ένας ορότυπος *L. monocytogenes* υβριδικής υποκατηγορίας ορότυπων II-4, που αποτελείται από υπερμολυσματικά στελέχη (Yin *et al.* 2019).

Η *L. monocytogenes* σχηματίζει ισχυρή δομή κλωνικών κυττάρων και η εξέλιξη των γονιδίων που οφείλονται για την λοιμογόνο δράση της, είναι παράλληλη με εκείνη των σωματικών αντιγόνων (O) και των αντιγόνων επιφάνειας (H). Αυτά βοηθούν και στην οροτυποποίηση της (Bogucki & Call, 2003). Οι ορότυποι 4b, 1/2b και 1/2c (98% των τεκμηριωμένων περιπτώσεων), φαίνεται να είναι οι πιο συχνά υπεύθυνοι για τη λιστερίωση (Liu *et al.*, 2020).

Οι σημαντικότερες γενετικές δομές της *Listeria* είναι τα Pathogenicity Islands (LIPIs). Τα συγκεκριμένα είναι γενετικά στοιχεία που βρίσκονται στο γονιδίωμα της *Listeria monocytogenes* και συμβάλλουν στην παθογένειά της, επιτρέποντας στο βακτήριο να προκαλέσει μόλυνση στον άνθρωπο και σε άλλους ξενιστές. Τα νησίδια περιέχουν συστάδες γονιδίων που κωδικοποιούν παράγοντες λοιμογόνου δράσης, μόρια πρωτεΐνες που επιτρέπουν στο βακτήριο να αλληλοεπιδρά με τον ξενιστή και να αποφεύγει τους αμυντικούς μηχανισμούς του ξενιστή. Υπάρχουν τέσσερα ταυτοποιημένα νησίδια παθογονικότητας. Τα LIPI-1 και LIPI3 περιέχουν γονίδια που σχετίζονται με τον μολυσματικό κύκλο ζωής και την επιβίωση της στο περιβάλλον επεξεργασίας τροφίμων (Wiktorczyk-Kapischke *et al.*, 2021).

Το LIPI-1 περιέχει γονίδια λοιμογόνου δράσης που εμπλέκονται στον κύκλο ενδοκυτταρικής μόλυνσης του *L. monocytogenes*, αλλά και στο σχηματισμό της τοξίνης λιστεριολυσίνης O (LLO). Τα γονίδια που βρίσκονται στο LIPI-1, δηλαδή τα

prfA και hly, χρησιμοποιούνται συνήθως για την ανίχνευση του *L. monocytogenes*, ειδικά σε προϊόντα διατροφής (με χρήση αντίδρασης PCR) (Wiktorczyk-Kapischke *et al.*, 2021).

Το LIPI-3 σχετίζεται με τη βιοσύνθεση της λιστεριολυσίνης- S, ένα μετα-μεταφραστικό τροποποιημένο πεπτίδιο που παρουσιάζει ιδιότητες τόσο της βακτηριοσίνης όσο και του αιμολυτικού κυτταροτοξικού παράγοντα. Ως βακτηριοσίνη το πεπτίδιο LLS δεν επιτρέπει την ανάπτυξη άλλων βακτηρίων και προκαλεί στον ασθενή αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων (Wiktorczyk-Kapischke *et al.*, 2021).

Το LIPI-4 είναι ένα σχετικά πρόσφατα αναγνωρισμένο νησίδιο και οι λειτουργίες του βρίσκονται ακόμη υπό διερεύνηση. Φαίνεται όμως να συμβάλλει στη λοιμογόνο δύναμη. Το LIPI-4 κωδικοποιεί το σύστημα γονιδίων που καθορίζει τον τροπισμό της *L. monocytogenes* προς το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) και τα κύτταρα του πλακούντα (Maury *et al.*, 2016). Η παρουσία LIPI-4 συνδέεται με υπερμολυσματικό χαρακτήρα των στελεχών *L. monocytogenes* (Liu *et al.*, 2020).

Τα Genomic islands LGI-1 και LGI-2 φέρουν γονίδια που δυνητικά διασφαλίζουν την επιβίωση και ανθεκτικότητα της *L.m.* στο περιβάλλον παραγωγής (Wiktorczyk-Kapischke *et al.*, 2021). Αυτά μπορεί να περιέχουν γονίδια που δυνητικά επηρεάζουν την υψηλότερη προσαρμογή σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες. Το LGI-1 κωδικοποιεί γονίδια υπεύθυνα για τη λοιμογόνο δράση, την αντοχή σε αντιμικροβιακές ουσίες και τους παράγοντες stress. Τα LGI-2 και LGI-3 φαίνεται να προσφέρουν αντοχή στο κάδμιο και σε άλλα μεταλλικά στοιχεία (Liu *et al.*, 2020).

Τέλος, άλλη μια σημαντική ομάδα γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την λοιμογονικότητα της *L.m.* είναι τα Stress survival islet (SSI). Τα πιο σημαντικά για την *L.m.* είναι δύο. Το SSI-1 περιέχει γονίδια που προσδίδουν ανοχή στο όξινο και στο οσμωτικό περιβάλλον, στην οξύτητα της χολής στον στόμαχο και γονίδια που είναι υπεύθυνα για την προσαρμογή και επιβίωση στο περιβάλλον επεξεργασίας τροφίμων. Όσον αφορά το SSI-2, η παρουσία του στα διάφορα στελέχη φαίνεται να συνδέεται με περιπτώσεις προσαρμογής και επιμονής των στελεχών *L. monocytogenes*, στο περιβάλλον επεξεργασίας τροφίμων. Ωστόσο, ο ρόλος τους για την επιβίωση των παθογόνων μικροοργανισμών αξίζει περαιτέρω διερεύνηση.

1.3.Εργαστηριακή ανίχνευση της *L.m.* σε τρόφιμα

Οι παραδοσιακές μέθοδοι για την ανίχνευση της *Listeria monocytogenes* στα τρόφιμα, περιγράφονται στα πρότυπα, ISO 11290-1:1996 (πλέον ISO 11290-1:2017), για την απομόνωση και την ISO 11290-2:1998 για την καταμέτρησης. Αυτές οι μέθοδοι βασίζονται σε μεγάλο βαθμό στην καλλιέργεια του μικροοργανισμού. Μέσω αυτής της διαδικασίας μπορούν να απομονωθούν καθαρές αποικίες για περαιτέρω μελέτη. Η διαδικασία για την απομόνωση της *L.m.* περιλαμβάνει πολλαπλά στάδια (FAO & WHO, 2022).

Η διαδικασία ξεκινά με τον προ-εμπλουτισμό του δείγματος σε υγρό μέσο συνήθως σε Buffered *Listeria* Enrichment Broth. Γίνεται επώαση στους 30°C για 24 ώρες. Η διαδικασία αυτή παρέχει την δυνατότητα ανάπτυξης των μικροοργανισμών ακόμα και αν βρίσκονται σε μικρό βαθμό ή σε συνθήκες υπανάπτυξης. Υποστηρίζει την ανάπτυξή τους σε ένα μη εκλεκτικό περιβάλλον.

Μετά τον προ-εμπλουτισμό, η καλλιέργεια μεταφέρεται σε εκλεκτικά μέσα εμπλουτισμού όπως Fraser Broth ή Oxoid Novel Enrichment (ONE). Η επώαση γίνεται στους 35-37°C για άλλες 24 ώρες. Η διαδικασία αυτή προάγει επιλεκτικά την ανάπτυξη της *Listeria* ενώ καταστέλλει άλλα βακτήρια, αυξάνοντας τις πιθανότητες ανίχνευσης του παθογόνου-στόχου.

Σε επόμενο βήμα γίνεται ανακαλλιέργεια, σε εκλεκτικά μέσα ανάπτυξης όπως άγαρ *Listeria* σύμφωνα με τους Ottaviani and Agosti (ALOA), Τροποποιημένο άγαρ Oxford ή άγαρ Palcam. Αυτά τα άγαρ είναι εμπλουτισμένα με παράγοντες και δείκτες όπως η ασκουλίνη, την οποία η *Listeria* υδρολύει, με αποτέλεσμα να εμφανίζονται διακριτές μαύρες ή πράσινες αποικίες που είναι εύκολα αναγνωρίσιμες. Η επώαση γίνεται 24-48 ώρες επώασης στους 37°C.

Η εμφάνιση χαρακτηριστικών αποικιών στο εκλεκτικό άγαρ είναι ο πρωταρχικός δείκτης παρουσίας *Listeria*. Αυτές οι αποικίες μπορεί να υποβληθούν σε περαιτέρω βιοχημικές ή μοριακές δοκιμές για επιβεβαίωση, διασφαλίζοντας ότι τα βακτήρια που ανιχνεύονται είναι όντως *Listeria monocytogenes* ή άλλο σχετικό είδος.

Για την καταμέτρηση γίνεται η εξής διαδικασία:

Το δείγμα του τροφίμου πρώτα ομογενοποιείται και στη συνέχεια αραιώνεται σε στειρό αραιωτικό, buffered peptone water. Αφού γίνει η ομογενοποίηση γίνεται εμβολιασμός σε κύλινδρο που περιέχει Frasher Broth και γίνεται επώαση στους 35°C για 24 ώρες.

Στη συνέχεια λαμβάνεται ένας όγκος του εναιωρήματος διασπείρεται σε εκλεκτικά σε τρυβλία που περιέχουν άγαρ. Το μέσο άγαρ που χρησιμοποιείται είναι τυπικά Agar Listeria σύμφωνα με τους Ottaviani and Agosti (ALOA) ή άλλο κατάλληλο εκλεκτικό μέσο που επιτρέπει την ειδική ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes*. Γίνεται επώαση 37°C, για 24 έως 48 ώρες. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, η *Listeria monocytogenes* θα αναπτυχθεί σχηματίζοντας διακριτές αποικίες στην επιφάνεια του άγαρ (FAO & WHO, 2022).

Οι αποικίες καταμετρώνται. Κάθε αποικία αντιστοιχεί σε μια μονάδα σχηματισμού αποικίας (CFU). Στη συνέχεια, ο αριθμός των CFU χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης της *Listeria monocytogenes* στο αρχικό δείγμα. Τα αποτελέσματα τυπικά εκφράζονται ως CFU ανά γραμμάριο (CFU/g) ή ανά χιλιοστόλιτρο (CFU/ml) του δείγματος, ανάλογα με τον τύπο του δείγματος που αναλύθηκε (FAO & WHO, 2022).

1.3.1. Οροτυποποίηση

Η μέθοδος που είναι σημαντική για την αναγνώριση διαφορετικών στελεχών της *Listeria*, είναι η οροτυποποίηση. Εργαστηρικά εφαρμόζεται η Slide Agglutination Test. Σε αυτή τη δοκιμή, το εναιώρημα αναμιγνύεται με συγκεκριμένους αντιορούς (αντισώματα) σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στο ότι τα αντισώματα αναγνωρίζουν και δεσμεύουν τα αντιγόνα στην επιφάνεια των βακτηριακών κυττάρων. Αυτό οδηγεί στην εμφάνιση μιας ορατής στρώσης (συγκόλληση). Με βάση το πρότυπο της συγκόλλησης με διαφορετικούς αντιορούς, το στέλεχος *Listeria* μπορεί να ενταχθεί σε μια συγκεκριμένη οροομάδα και να προσδιοριστεί ο ορότυπος του.

Υπάρχουν εμπορικά κιτ οροτυποποίησης που περιέχουν ένα σύνολο ειδικών αντιορών για τις πιο κοινές οροομάδες της *Listeria monocytogenes*. Αυτά τα κιτ απλοποιούν τη διαδικασία, παρέχοντας έτοιμα προς χρήση αντιδραστήρια.

1.3.2. Μοριακές τεχνικές τυποποίησης

Πιο γρήγορες και με μεγαλύτερη ακρίβεια είναι οι μέθοδοι που βασίζονται στην PCR: Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση και την τυποποίηση της *Listeria*. Εκτός από την ταυτοποίηση σε επίπεδο είδους μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την εύρεση των οροομάδων. Η αρχή της μεθόδου στηρίζεται στην ενίσχυση γονιδίων με χρήση συγκεκριμένων εκκινητών - που σχετίζονται με συγκεκριμένα αντιγόνα οροομάδας (Borucki & Call, 2023).

Η Multiplex PCR, πρόκειται για μια προηγμένη μέθοδο PCR όπου πολλαπλοί γενετικοί στόχοι ενισχύονται ταυτόχρονα σε μία μόνο αντίδραση. Αυτό επιτρέπει την ταυτοποίηση πολλών οροομάδων ταυτόχρονα, καθιστώντας την πιο αποτελεσματική μέθοδο για την οροτυποποίηση.

Τέλος τα τελευταία χρόνια εφαρμόζεται η αλληλούχιση ολόκληρου του γονιδιώματος Whole Genome Sequencing (WGS). Το WGS χρησιμοποιείται για την αναγνώριση και την ταξινόμηση μικροοργανισμών, μέχρι το επίπεδο του στελέχους. Αυτό είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση της εξάπλωσης μολυσματικών ασθενειών, ιδιαίτερα σε σενάρια επιδημίας. Αναλύοντας ολόκληρο το γονιδίωμα ενός παθογόνου, το WGS μπορεί να εντοπίσει γενετικούς δείκτες που σχετίζονται με την αντοχή στα αντιβιοτικά, βοηθώντας στην ανάπτυξη αποτελεσματικών θεραπευτικών στρατηγικών.

Το WGS χρησιμοποιείται στη δημόσια υγεία για την παρακολούθηση της εμφάνισης και της εξάπλωσης παθογόνων παραγόντων, επιτρέποντας την παρακολούθηση μολυσματικών ασθενειών σε πραγματικό χρόνο. Μπορεί να εντοπίσει την πηγή μόλυνσης συγκρίνοντας τα γονιδιώματα διαφορετικών απομονώσεων. Αυτό βοηθά στον εντοπισμό της προέλευσης και των οδών μετάδοσης του παθογόνου.

Χρησιμοποιείται ολοένα και περισσότερο στην επιτήρηση των τροφιμογενών παθογόνων. Με τον προσδιορισμό της αλληλουχίας των γονιδιωμάτων των παθογόνων που βρίσκονται στα τρόφιμα, είναι δυνατό να συνδεθούν διαφορετικές περιπτώσεις με συγκεκριμένα τρόφιμα ή εγκαταστάσεις παραγωγής που μπορεί να έχουν προκαλέσει επιδημίες (WHO, 2018).

Εν κατακλείδι οι εργαστηριακές μέθοδοι παρέχουν μια ισχυρή βάση για την ανίχνευση παθογόνων, οι μοριακοί μέθοδοι προσφέρουν την αποτελεσματικότητα που απαιτείται

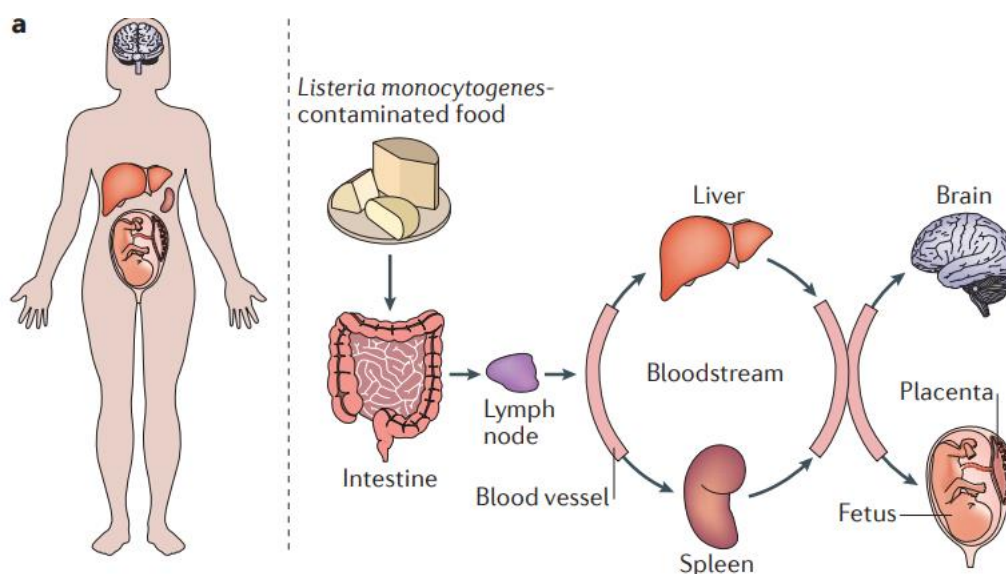
στις σύγχρονες πρακτικές ασφάλειας τροφίμων. Ωστόσο, η επιλογή της μεθόδου εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των ειδικών αναγκών της βιομηχανίας τροφίμων, του τύπου του δείγματος και των κανονιστικών απαιτήσεων. Ο συνδυασμός των εργαστηριακών και των μοριακών μεθόδων μπορεί να δώσει ένα πιο ολοκληρωμένο αποτέλεσμα διάγνωσης.

1.4. Μολυσματική οδός *L.monocytogenes*

Η μόλυνση από *Listeria monocytogenes* γίνεται μέσω της κατανάλωσης μολυσμένης τροφής. Η *L. monocytogenes* καθώς εισέρχεται στον οργανισμό και αποικίζει στην περιοχή του εντερικού επιθηλίου, έχει την ικανότητα να διασχίζει τον εντερικό επιθηλιακό φραγμό, τους αιματοεγκεφαλικούς φραγμούς και τον πλακούντα (lamina propria) και στη συνέχεια διαχέεται μέσω της λέμφου και αίμα προς τα όργανα-στόχους του, το ήπαρ και σπλήνα.

Η μολυσματική δόση 10^4 – 10^6 οργανισμών/γραμμάριο λαμβανόμενου προϊόντος προκαλεί τη νόσο. Η περίοδος επώασης είναι από 24 ώρες έως 70 ημέρες (Serventi *et. al.*, 2022).

Εικόνα 1.2. Μολυσματική οδός της L.m.



Πηγή: Radoshevich & Cossart, 2018

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, γονίδια που εντοπίζονται στο LIPI-1 φαίνεται να εμπλέκονται στον μολυσματικό κύκλο της *L. monocytogenes*. Η μετάδοση του μικροοργανισμού στα νεογνά μπορεί να συμβεί στη μήτρα ή μέσω της γενετικής οδού κατά τη διάρκεια του τοκετού (Allerberger and Wagner, 2010). Σε περίπτωση λοίμωξης του κεντρικού νευρικού συστήματος, κατά 50,0% των περιπτώσεων οι ασθενείς καταλήγουν (Godziszewska *et al.*, 2015).

Η *L. monocytogenes* ως ενδοκυτταρικό παθογόνο έχει διάφορους τρόπους με τους οποίους διεισδύει και στη συνέχεια πολλαπλασιάζεται στα κύτταρα-ξενιστές.

Το πρώτο στάδιο της μόλυνσης είναι η προσκόλληση στην επιφάνεια των κυττάρων και η σύνδεση του στην επιφάνεια. Μετά τη σύνδεση, το βακτήριο προκαλεί την αποδιοργάνωση του κυτταροσκελετού του κυττάρου-ξενιστή, οδηγώντας σε ενδοκύτωση, δηλαδή στην είσοδο του βακτηρίου μέσα στο κύτταρο μέσω του φαγοκυτταρικού μηχανισμού (Camejo *et al.*, 2011).

Η *Listeria monocytogenes* τυπικά εισβάλλει σε μη φαγοκυτταρικά κύτταρα, όπως τα επιθηλιακά κύτταρα. Αυτό το κάνει εκφράζοντας επιφανειακές πρωτεΐνες όπως η Internalin A (InlA) και η Internalin B (InlB). Αυτές οι πρωτεΐνες αλληλοεπιδρούν με υποδοχείς στην επιφάνεια του κυττάρου ξενιστή, όπως η E-cadherin για το InlA και το Met για το InlB, πυροδοτώντας την αναδιάταξη του κυτταροσκελετού του κυττάρου του ξενιστή (Camejo *et al.*, 2011).

Μετά την διείσδυση στο κύτταρο, συνδέεται στο φαγόσωμα. Για να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί, πρέπει να αποφύγει τον μηχανισμό άμυνας δημιουργώντας κύστες - SLAP. Για την αποφυγή του φαγοσώματος η *L.m.* εκκρίνει ένζυμα όπως η λιστεριολυσίνη-Ο (LLO) και οι φωσφολιπάσες (PlcA και PlcB). Η LLO σχηματίζει πόρους στη φαγοσωμική μεμβράνη, ενώ οι φωσφολιπάσες αποικοδομούν τα λιπίδια της μεμβράνης, επιτρέποντας στο βακτήριο να διαφύγει στο κυτταρόπλασμα (Kryotou *et al.*, 2019)

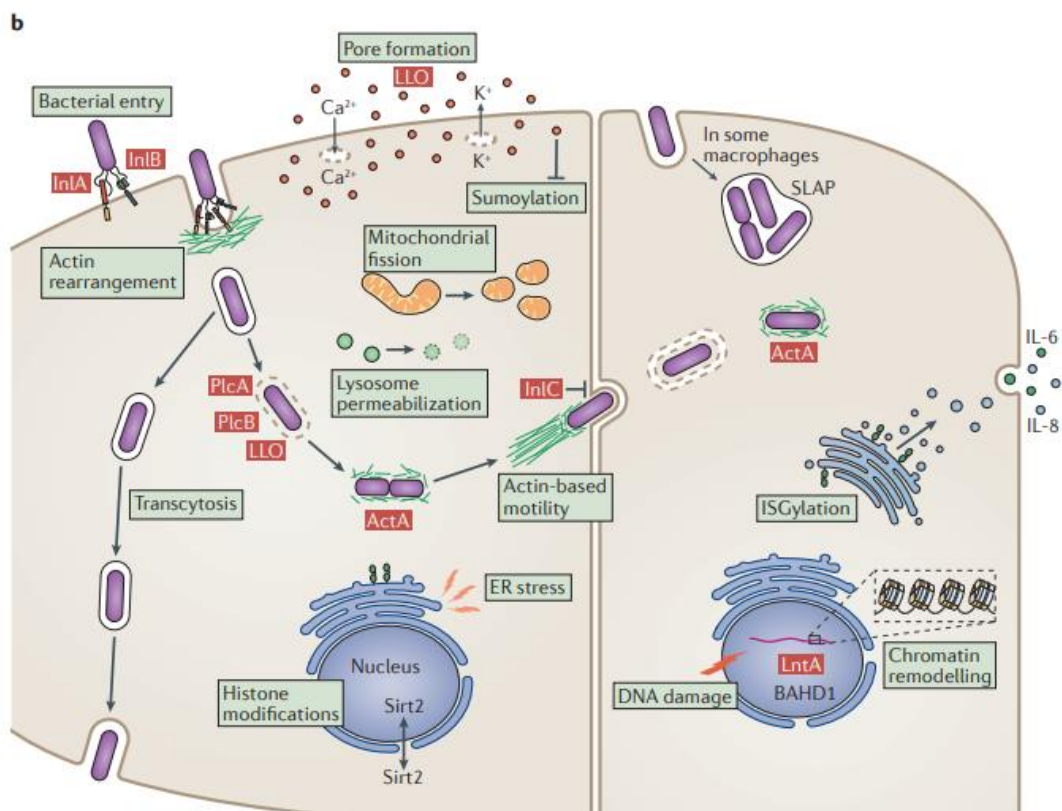
Ακολουθεί η αντιγραφή στο κυτταρόπλασμα ώστε να καταφέρει να εξαπλωθεί από το ένα κύτταρο στο άλλο. Για να πραγματοποιηθεί η εξάπλωση, παρεμβαίνει στον μηχανισμό της ακτίνης του κυττάρου - ξενιστή. Εκφράζει μια πρωτεΐνη την πρωτεΐνη ActA στην επιφάνειά του κυττάρου, η οποία συμβάλει στον πολυμερισμό της ακτίνης

και δίνει την ικανότητα κίνησης της *Listeria* στο ενδοκυτταρικό περιβάλλον (Camejo *et al.*, 2011).

Επίσης, ο ενδοκυτταρικός τρόπος ζωής τη βοηθά να αποφύγει πολλές πτυχές του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή, όπως τα αντισώματα και οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος. Επιπλέον, το βακτήριο μπορεί να ρυθμίσει την απόπτωση του κυττάρου-ξενιστή και άλλες ανοσολογικές αποκρίσεις για να ενισχύσει την επιβίωση και την εξάπλωσή του (Radoshevich & Cossart, 2018).

Αυτή η ικανότητα εισβολής, αναπαραγωγής και κίνησης μεταξύ των κυττάρων αποφεύγοντας την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή είναι αυτό που κάνει τη *Listeria* ένα ιδιαίτερα επιτυχημένο και επικίνδυνο παθογόνο, ικανό να προκαλέσει σοβαρές λοιμώξεις όπως η λιστερίωση.

Εικόνα 1.3. Η εισβολή και πολλαπλασιασμός της *L.m.* στο κύτταρο



Πηγή: Radoshevich & Cossart, 2018

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Η ΛΙΣΤΕΡΙΩΣΗ

Κατά έναν στενό ορισμό, η λιστερίωση είναι μία βακτηριακή λοίμωξη που προκαλείται από το θετικό κατά Gram βακτήριο, *Listeria monocytogenes*, το οποίο ανήκει στην οικογένεια των Listeriaceae (ΕΟΔΥ,). Η λιστερίωση είναι μια σοβαρή τροφιμογενής λοίμωξη που επηρεάζει κυρίως ευάλωτες ομάδες όπως ανοσοκατασταλμένους, έγκυες και νεογνά.

Είναι νόσημα υποχρεωτικής δήλωσης από τον ΠΟΥ και το ECDC, υπογραμμίζοντας έτσι την σημαντικότητα της νόσου. Η επιτήρηση της λιστερίωσης μέσω του συστήματος υποχρεωτικής δήλωσης νοσημάτων ξεκίνησε στην Ελλάδα το 2004 (ΕΟΔΥ, 2022). Τα κρούσματα μπορούν να δηλωθούν ως και μια βδομάδα μετά από την επιβεβαίωση της νόσου.

Κλινικά κριτήρια όπως αναφέρονται από τον ΕΟΔΥ

Κάθε άτομο με ένα τουλάχιστον από τα ακόλουθα πέντε: – 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: Α) θνησιγένεια (θάνατος εμβρύου μετά την 20η εβδομάδα της κύησης) Β) πρόωρος τοκετός (πριν την 37η εβδομάδα της κύησης) Ή

Γ) 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 Τουλάχιστον ένα από τα ακόλουθα δύο: – Απομόνωση *Listeria monocytogenes* ή ανίχνευση του νουκλεϊκού οξέος του παθογόνου από φυσιολογικά άσηπτο κλινικό δείγμα – Σε κρούσμα που σχετίζεται με εγκυμοσύνη επίσης:

Απομόνωση της *Listeria monocytogenes* ή ανίχνευση του νουκλεϊκού οξέος του παθογόνου σε φυσιολογικά μη άσηπτο κλινικό δείγμα (π.χ. σε ιστό του πλακούντα, αμνιακό υγρό, μηκόνιο, κοιλικό δείγμα) ή σε έμβρυο, θνησιγενές νεογνό, νεογέννητο ή τη μητέρα. Επιδημιολογικά κριτήρια Τουλάχιστον ένα από τα ακόλουθα τέσσερα: – Έκθεση σε κοινή πηγή – Μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο (κάθετη μετάδοση) – Έκθεση σε μολυσμένο τρόφιμο – Μετάδοση από ζώο στον άνθρωπο

Ως λιστερίωση των νεογνών ορίζεται μία από της παρακάτω περιπτώσεις. Η θνησιγένεια, δηλαδή ο θάνατος εμβρύου μετά την 20η εβδομάδα της κύησης, αποτελεί μια περίπτωση αλλά και πρόωρος τοκετός πριν την 37η εβδομάδα της κύησης. Επιπροσθέτως, 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


Κατάταξη κρούσματος

A. Ενδεχόμενο κρούσμα: ΔΕΝ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΑΙ

B. Πιθανό κρούσμα: Κάθε άτομο που πληροί τα κλινικά κριτήρια και έχει επιδημιολογική σύνδεση

Γ. Επιβεβαιωμένο κρούσμα: Κάθε άτομο που πληροί τα εργαστηριακά κριτήρια από φυσιολογικά άσηπτο κλινικό δείγμα. Για κρούσμα που σχετίζεται με εγκυμοσύνη (μητέρα ή νεογέννητο τον πρώτο μήνα ζωής, νεογνό) που πληροί τα εργαστηριακά κριτήρια, μόνο η μητέρα πρέπει να δηλώνεται σαν κρούσμα.

Εικόνα 2.1., Δελτίο Υποχρεωτικής δήλωσης Λοιμώδους νοσήματος L.m.

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΥΓΕΙΑΣ ΕΘΝΙΚΟΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ Διεύθυνση Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης για Λοιμώδη Νοσήματα Αγγράφων 3-5, Μαρούσι - τ.κ. 151 23 (Αττική)				Τηλ.: 210 8212 000 Τηλ.: 210 8899 000 e-mail: epi@eody.gov.gr	
ΔΕΛΤΙΟ ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΗΣ ΔΗΛΩΣΗΣ ΛΟΙΜΩΔΟΥΣ ΝΟΣΗΜΑΤΟΣ ΛΙΣΤΕΡΙΩΣΗ					
▶ Ημερομηνία δήλωσης: ____/____/____					
▶ Μονάδα υγείας / ιδιώτης που δηλώνει το κρούσμα: _____					
Α Σ Θ Ε Ν Η Σ					
1.1 ΑΜΚΑ:		▶ Επώνυμο:		▶ Όνομα:	
1.2 Ημ/νία γέννησης: ____/____/____		ΕΑΝ ΑΓΝ → Ηλικία: ____		1.3 Φύλο: <input type="checkbox"/> Άρρεν <input type="checkbox"/> Θήλυ	
1.4 Τόπος διαμονής: ▶ Περιφ. Ενότητα (Νομός):				▶ Δήμος:	
▶ Πόλη/χωριό:		▶ Οδός/Αριθμός:		▶ Τ.Κ.:	
▶ Τηλ.:					
1.5 Έχει αλλοδαπή εθνικότητα; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Χώρα: _____					
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ					
2.1 Υπάρχει σύνδεση με άλλο κρούσμα; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Σχέση: _____					
2.2 Πηγαίνει παιδ. σταθμό/σχολείο/ισχολή; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Παιδιά: _____					
2.3 Διαμονή σε ομαδική διαβίωση; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Ποιά: _____					
2.4 Είναι: ▶ Ταξιδιώτης από το εξωτερικό; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Ήρθε από: _____ → Αρμότ. _____					
▶ Μετανάστης/Πρόσφυγας; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Από ποιά χώρα: _____ → Από πότε: _____					
2.5 Ειδική πληθυσμιακή ομάδα; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Ποιά: _____					
2.6 Ήταν πρόσφατα στο εξωτερικό; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Χώρα: _____ → Αρμότ. στην Ελλάδα: _____					
2.7 Επάγγελμα υψηλού κινδύνου; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> Κτηνοτρόφος <input type="checkbox"/> Κρεοπάλης/σφαγείο <input type="checkbox"/> Κτηνίατρος <input type="checkbox"/> Αγρότης <input type="checkbox"/> Άλλο → _____					
2.8 Έπαση με χώματα, κοπριά κτλ; (κατά τους 2 μήνες πριν από έναρξη νόσου) <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Ποιά-πότε: _____					
2.9 Κατανάλωση ύπαιθρου 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"/> Αλλαντικό/Επιξερισμένο κρέας <input type="checkbox"/> Μη παστεριωμένα γαλακτοκομικά <input type="checkbox"/> Άλλο					
Διευκρινίστε (π, ποιά, πότε): _____					
2.10 Εάν νεογνό, είχε η μητέρα ▶ Εμπόρετο νόσημα; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Πότε: ____/____/____					
στην εγκυμοσύνη: ▶ Λιστερίωση; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Πότε: ____/____/____					
ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ					
3.1 Ημ/νία έναρξης συμπτωμάτων: ____/____/____				ΣΥΜΠΛΗΡΩΝΕΤΑΙ ΑΠΟ ΔΙΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ Η ΕΟΔΥ ΔΗΛΩΣΗ ΚΛΙΝΙΚΗΣ Κατάσταξη <input type="checkbox"/> Επιβεβαιωμένο κρούσματος: <input type="checkbox"/> Πιθανό → Ημ/νία εισαγωγής: ____/____/____ → Τι: _____	
3.2 Νοσηλεία σε Νοσοκομείο; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ ΕΑΝ ΝΟΣΗΛΕΙΑ: ▶ Νοσοκομείο: _____					
3.3 Ειδική κατάσταση: <input type="checkbox"/> Αισοκατασταλή <input type="checkbox"/> Υποκείμενο νόσημα					
<input type="checkbox"/> Εγκυμοσύνη → <input type="checkbox"/> Αποβολή/θνητογένεια <input type="checkbox"/> Προαιρότητα → Ηλικία κύησης: ____ εβδ. <input type="checkbox"/> Μητέρα μετά τον τοκετό(σβ εβδ)					
3.4 Εκδηλώσεις: <input type="checkbox"/> Πυρετός <input type="checkbox"/> Μηνιγγίτιδα <input type="checkbox"/> Άλλες εκδηλώσεις από ΚΝΣ				→ Τι: _____	
<input type="checkbox"/> Γρεπώδης συνδρομή <input type="checkbox"/> Σηψαιμία <input type="checkbox"/> Άλλες				→ Τι: _____	
3.5 Έκβαση: <input type="checkbox"/> Ιαση <input type="checkbox"/> Ακόμη ασθενής <input type="checkbox"/> Θάνατος → Ημ/νία θανάτου: ____/____/____					
▶ Ο/η θεράπων ιατρός: _____				Υπογραφή (δ. σφραγίδα): _____	
▶ Τηλέφωνα 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 (δ. σφραγίδα): _____	
4.4 Στάλθηκε το στέλεχος σε Κέντρο Αναφοράς; <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ → Ποιο: _____					
▶ Ο/η εργαστηριακός ιατρός: _____					

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

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

ΠΗΓΗ ΕΟΔΥ, 2022 ΟΡΙΣΜΟΙ ΚΡΟΥΣΜΑΤΟΣ ΓΙΑ ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΗ ΔΗΛΩΣΗ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ.

2.1. Κλινική Εικόνα της λιστερίωσης

Η κλινική εικόνα μπορεί να χωριστεί σε δύο κατηγορίες, την διηθητική και την γαστρεντερική λιστερίωση.

Η διηθητική λιστερίωση μπορεί να εκδηλωθεί τόσο στις εγκύους, όσο και σε ανασοκατεσταλμένα άτομα, βρέφη και ηλικιωμένους.

Οι έγκυες γυναίκες διατρέχουν υψηλό κίνδυνο μόλυνσης, μπορούν να εμφανίσουν υποκλινική ή η κλινική βακτηριαμία η οποία μπορεί να οδηγήσει σε χοριοαμνιονίτιδα που προκαλεί πρόωμη νεογνική λιστερίωση. Ο κίνδυνος προσβολής στην εγκυμοσύνη είναι 18 φορές υψηλότερος από ό,τι στον γενικό πληθυσμό (Madjunkon & Chaudhry, 2017)

Οι έγκυες γυναίκες νοσούν ως επί το πλείστον στο δεύτερο ή τρίτο τρίμηνο, αλλά μπορεί να διαγνωστεί και στο πρώτο τρίμηνο. Η μόλυνση σημαίνει υψηλό κίνδυνο για το έμβρυο και μπορεί να οδηγήσει σε αποβολή, θνησιγένεια ή γέννηση άρρωστου βρέφους με βλάβη του κεντρικού νευρικού συστήματος. Η περιγεννητική έκβαση εξαρτάται από το στάδιο της εγκυμοσύνης που εμφανίζεται η μόλυνση. Το ποσοστό περιγεννητικής θνητότητας είναι περίπου 20-30% (CDC). Τα πιο κοινά συμπτώματα στις έγκυες είναι ο πυρετός, ο βήχας, ο πόνος στην κοιλιά ή την περιοχή της πυέλου, οι μυαλγίες και οι αρθραλγίες (Rovas *et al.*, 2023).

Η μητέρα, μέσω του πλακούντα ή της γενετικής οδού, μπορεί να μεταδώσει την νόσο στο έμβρυο. Στην νεογνική λιστερίωση η χαρακτηριστική κλινική εικόνα είναι ο πρόωρος τοκετός, η σηψαιμία, ο πυρετός, η σηπτική κοκκιωμάτωση, οι αλλοιώσεις του δέρματος και οι ενδείξεις σημαντικής ηπατικής ανεπάρκειας συνοδευόμενη από ίκτερο. Το ποσοστό θνησιμότητας είναι πολύ υψηλό, σύμφωνα με τον CDC, η λιστερίωση στην διάρκεια της εγκυμοσύνης έχει ως αποτέλεσμα τον νεογνικό θάνατο κατά το 20% των περιπτώσεων (fetal death).

Η νεογνική λιστερίωση ταξινομείται ως πρόωμη (εντός 6 ημερών από τη γέννηση) ή όψιμη έναρξη (7–28 ημέρες μετά τη γέννηση). Η πρόωμη νεογνική λιστερίωση συνήθως αποκτάται μέσω διαπλακουντιακής μετάδοσης.

Οι λόγοι της όψιμης λιστερίωσης των νεογνών είναι λιγότερο σαφείς, μπορεί να οφείλεται σε έκθεση κατά τον τοκετό ή σε νοσοκομειακή έκθεση (Madjunkon & Chaudhry, 2017).

Η συμπτωματολογία που εμφανίζει η διηθητική λιστερίωση στα ανοσοκατασταλεμένα άτομα περιλαμβάνει πυρετό, συμπτώματα που μοιάζουν με γρίπη (όπως μυϊκοί πόνοι και κόπωση), πονοκέφαλο, σύγχυση, απώλεια ισορροπίας και επιληπτικές κρίσεις.

Η οξεία γαστρεντερίτιδα εμφανίζεται σε υγιή άτομα, με την εκδήλωση της νόσου να συμβαίνει λίγες ώρες έως 2 ημέρες μετά την κατανάλωση μολυσμένου τροφίμου. Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν πυρετό, έμετο και διάρροια, μερικές φορές προχωρά σε σηψαιμία. Η διάγνωσή γίνεται με απομόνωση της *L. monocytogenes* από αίμα και τα ύποπτα τρόφιμα. Η εκδήλωση της σε υγιή άτομα, και η κοινή συμπτωματολογία με άλλα νοσήματα πολλές φορές οδηγεί στην μη διάγνωση της (Schlech, 2019).

2.1.1. Θεραπεία της λιστερίωσης

Όσον αφορά τη θεραπεία με αντιβιοτικά, η *L. monocytogenes* είναι ευαίσθητη στα περισσότερα αντιβιοτικά που προτείνονται για θετικά κατά Gram βακτήρια

Η πιο κοινή θεραπεία που περιλαμβάνει αντιβιοτικά β-λακτάμης (πενικιλίνη ή αμπικιλίνη), ενδεχομένως σε συνδυασμό μεγενταμυκίνη, βανκομυκίνη και τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη, που προτείνεται ως εναλλακτική θεραπεία για ασθενείς αλλεργικούς στην πενικιλίνη. Επιπλέον, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ερυθρομυκίνη, τετρακυκλίνη, χλωραμφενικόλη, ριφαμπικίνη και λινεζολίδη. Η επιλογή του αντιβιοτικού ποικίλλει ανάλογα με τα συμπτώματα μόλυνσης και την ομάδα κινδύνου του ασθενούς. Παρόλα αυτά η ανταπόκριση στην θεραπεία φαίνεται να μην έχει συχνά θετική έκβαση (EFSA)

2.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΗΣ ΛΙΣΤΕΡΙΩΣΗΣ

2.2.1. Σε επίπεδο Ευρώπης

Σε σύγκριση με άλλα τροφιμογενή νοσήματα, η λιστερίωση είναι σπάνια αλλά σοβαρή, καθώς παρουσιάζει υψηλή θνητότητα (20-30% ακόμα και με αντιβιοτική αγωγή). Σύμφωνα με στοιχεία του CDC για της ΗΠΑ, εκτιμάται ότι περίπου 1.600 άνθρωποι εμφανίζουν λιστερίωση ετησίως

Σύμφωνα με τα επιδημιολογικά στοιχεία που αφορούν την Ευρωπαϊκή Ένωση για το έτος 2022, τα επιβεβαιωμένα κρούσματα ήταν συνολικά 2.770, ο αριθμός αφορά 30 κράτη μέλη της ΕΕ/ΕΟΧ. Η διαχρονική τάση των επιβεβαιωμένων περιπτώσεων λιστερίωσης που αναφέρονται ανά έτος παραμένει σταθερή. Η μέση δηλούμενη επίπτωση ανέρχεται 0.52 κρούσματα/ 100.000 πληθυσμού . Όσον αφορά την ηλικιακή κατανομή των κρουσμάτων, φαίνεται το υψηλότερο ποσοστό επιβεβαιωμένων κρουσμάτων να εντοπίστηκε στους ηλικιωμένους άνω των 64 ετών, με 2,1 κρούσματα/100.000 πληθυσμού.

Η Γερμανία, η Γαλλία και η Ισπανία είχαν τις περισσότερες περιπτώσεις επιβεβαιωμένων κρουσμάτων (548, 451, and 437 αντίστοιχα), που αντιστοιχούν στο 51,8% όλων των περιπτώσεων που αναφέρθηκαν στην ΕΕ/ΕΟΧ (ECDC, 2024).

Πίνακας 2.1., Κατανομή επιβεβαιωμένων κρουσμάτων μόλυνσης από L.m. και ποσοστά /100.000 πληθυσμού/ χώρα και έτος ,EE/EOX, 2018–2022

Country	2018		2019		2020		2021		2022	
	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate
Austria	27	0.31	38	0.43	41	0.46	38	0.43	47	0.52
Belgium	74	0.81	66	0.72	54	0.59	68	0.74	87	0.94
Bulgaria	9	0.13	13	0.19	4	0.06	3	0.04	5	0.07
Croatia	4	0.10	6	0.15	5	0.12	8	0.20	5	0.13
Cyprus	1	0.12	1	0.11	2	0.23	1	0.11	1	0.11
Czechia	31	0.29	27	0.25	16	0.15	24	0.22	48	0.46
Denmark	49	0.85	61	1.05	43	0.74	62	1.06	86	1.46
Estonia	27	2.05	21	1.59	3	0.23	5	0.38	11	0.83
Finland	80	1.45	50	0.91	94	1.70	70	1.26	70	1.26
France	338	0.50	373	0.56	334	0.50	435	0.64	451	0.66
Germany	678	0.82	571	0.69	546	0.66	562	0.68	548	0.66
Greece	19	0.18	10	0.09	20	0.19	21	0.20	7	0.07
Hungary	24	0.25	39	0.40	32	0.33	35	0.36	64	0.66
Iceland	2	0.57	4	1.12	4	1.10	5	1.36	2	0.53
Ireland	21	0.43	17	0.35	6	0.12	14	0.28	17	0.34
Italy	178	0.29	202	0.34	155	0.26	230	0.39	345	0.58
Latvia	15	0.78	6	0.31	8	0.42	10	0.53	8	0.43
Liechtenstein	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC	0	0.00	0	0.00
Lithuania	20	0.71	6	0.21	7	0.25	7	0.25	13	0.46
Luxembourg	5	0.83	3	0.49	4	0.64	4	0.63	4	0.62
Malta	1	0.21	5	1.01	5	0.97	0	0.00	1	0.19
Netherlands	69	0.40	103	0.60	90	0.52	86	0.49	94	0.53
Norway	24	0.45	27	0.51	37	0.69	20	0.37	30	0.55
Poland	128	0.34	121	0.32	57	0.15	120	0.32	142	0.38
Portugal	64	0.62	56	0.54	47	0.46	57	0.55	63	0.61
Romania	28	0.14	17	0.09	2	0.01	11	0.06	14	0.07
Slovakia	17	0.31	18	0.33	7	0.13	13	0.24	25	0.46
Slovenia	10	0.48	20	0.96	26	1.24	19	0.90	20	0.95
Spain	370	NRC	504	NRC	191	NRC	355	0.77	437	0.95
Sweden	89	0.88	113	1.10	88	0.85	107	1.03	125	1.20
EU/EEA (30 countries)	2 402	0.51	2 498	0.50	1 928	0.43	2 390	0.53	2 770	0.62
United Kingdom	168	0.25	154	0.23	NDR	NRC	NA	NA	NA	NA
EU/EEA (31 countries)	2 570	0.47	2 652	0.46	1 928	0.43	NA	NA	NA	NA

Source: Country reports.

NDR: No data reported.

NRC: No rate calculated.

NA: Not applicable.

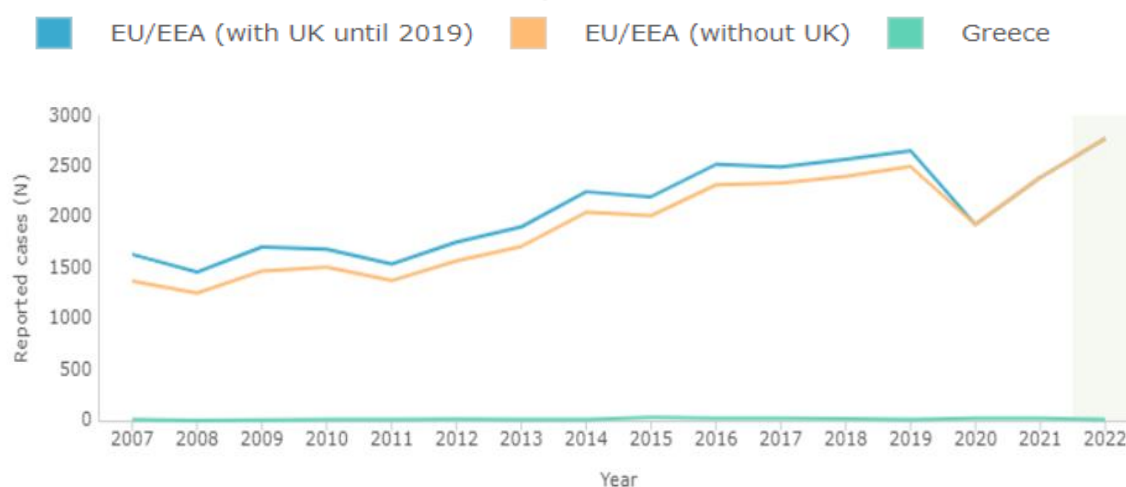
No data for 2020 and 2021 were reported by the United Kingdom, due to its withdrawal from the EU on 31 January 2020.

Πηγή: ECDC, 2024

Η συνολική τάση για την λιστερίωση δεν παρουσιάζει σημαντική αύξηση ή μείωση, την περίοδο 2018–2022. Παρόλα αυτά το συνολικό ποσοστό θνητότητας από κρούσματα στην Ευρωπαϊκή Ένωση είναι υψηλό για το 2022 (18,1%), και φαίνεται

υψηλότερο έναντι του ποσοστού για το 2021 και το 2020 (13,7% και 13,0%, αντίστοιχα).

Εικόνα 2.1. Διαχρονική τάση των περιπτώσεων της L.m. (2007-2022)



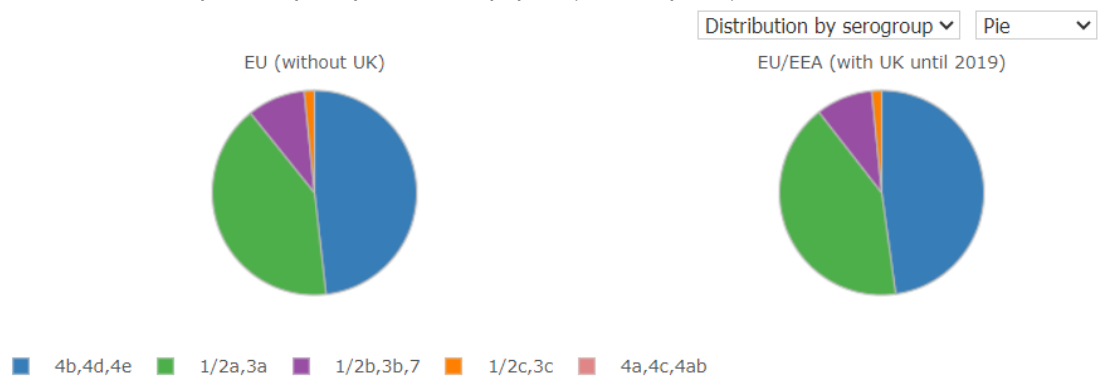
Πηγή: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>

2.2.2. Στοιχεία Μικροβιολογικής επιτήρησης

Οι ορότυποι που είναι πιο συχνά συνδεδεμένοι με τα κρούσματα λιστερίωσης μέχρι και το 2019 είναι οι 1/2a και 3a. Εικόνα ακολουθούν οι ορότυποι 4b, 4d, 4e. Οι ορότυποι που φαίνεται να είναι υπεύθυνοι για περιπτώσεις που κατέληξαν σε θάνατο (Εικόνα, Atlas Europe ECDC). Για το 2022 στην ετήσια αναφορά του ECDC για το 2022 αναφέρεται ότι η πιο συνηθισμένη οροομάδα ήταν η IIa (45,5%), ακολουθούμενη από IVb (44,4%), IIb (7,7%) και IIc (2,3%), (EFSA, 2022).

Το 2022, επτά χώρες της ΕΕ/ΕΟΧ, ανέφεραν δεδομένα για τύπους αλληλουχίας για 440 απομονωμένα στελέχη στην βάση TESSy. Συνολικά, 20,8% (577 απομονώσεις) από τα επιβεβαιωμένα κρούσματα είχαν παρείχαν πληροφορίες. Το πιο κοινό ST ήταν το ST1 (n=66), ακολουθούμενο από ST4 (n=37) και ST37 ή ST451 (και τα δύο με n=29) (EFSA, 2022).

Εικόνα 2.2. Επικρατέστεροι ορότυποι επιβεβαιωμένων κρούσματα ΕΕ/ΕΟΧ 2007-2023



Πηγή: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>

2.2.3. Επιδημιολογικά δεδομένα σε επίπεδο χώρας- Ελλάδα

Στην Ελλάδα σύμφωνα με τον ΕΟΔΥ, καθώς και σε στοιχεία που αναφέρονται στο διάστημα 2004-2023, φαίνεται ότι η δηλούμενη επίπτωση της λιστερίωσης στην Ελλάδα είναι χαμηλή. Η θνητότητα για το νόσημα υπολογίζεται σε ποσοστό 24.0%. Στο διάστημα 2004-2023, δηλώθηκαν 266 κρούσματα λιστερίωσης. Ο μέσος ετήσιος αριθμός των κρουσμάτων ήταν 13.3 (τυπική απόκλιση: 8,0). Η μέση δηλούμενη επίπτωση ήταν 1,23 κρούσματα ανά 1.000.000 πληθυσμού, ενώ για το 2022 η λιστερίωση παρουσιάζει χαμηλή δηλούμενη επίπτωση στην 0,7 κρούσματα/1.000.000 πληθυσμού. Η δηλούμενη συχνότητα του νοσήματος το 2022 ήταν η χαμηλότερη στη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας. Όσον αφορά την ηλικιακή κατανομή των κρουσμάτων, το νόσημα παρουσίασε υψηλότερη συχνότητα δήλωσης στην ηλικιακή ομάδα των άνω 65 ετών όμοια με αυτή της αναφερόμενης από την ΕΕ.

Για το σύνολο των δηλωθέντων κρουσμάτων, το προφίλ των κρουσμάτων μοιράζεται ως εξής: Τα 141/266 (53,0%) ανήκαν στα ανοσοκατεσταλμένα άτομα, τα 10/266 (3,8%) ήταν εγκυμονούσες και τα 11/266 (4,1%) ήταν νεογνά. Σε 4/11 (1,5%) περιπτώσεις, επήλθε αυτόματη αποβολή και σε 8/11 (3,0%) πρόωρος τοκετός. Κατά το ίδιο χρονικό διάστημα, στο σύνολο των κρουσμάτων με γνωστή έκβαση (n=246), καταγράφηκαν 59 θάνατοι (24,0%), (ΕΟΔΥ, 2023).

Πίνακας 2.2. Ετήσιος αριθμός δηλωμένων κρουσμάτων και ποσοστό δήλωσης της λιστερίωσης στην Ελλάδα

Year	Number of cases	Annual notification rate (per 1,000,000 population)
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
2023	31	3.0
Total	266	1.2*

*Mean annual notification rate for the period 2004-2023

Πηγή: ΕΟΔΥ, 2004-2023

Είναι πολύ σημαντικό για την δημόσια υγεία να αναφερθεί και να ερευνηθεί το ποσοστό υποδήλωσης της λιστερίωσης. Το ποσοστό υποδήλωσης των κρουσμάτων λιστερίωσης αυξήθηκε σε σύγκριση με το 2021 (53,3%). Αυτό φαίνεται να οφείλεται στο ότι η λιστερίωση μπορεί να εκδηλωθεί σε πιο ήπιες μορφές προκαλώντας γαστρεντερικά συμπτώματα. Αυτές οι περιπτώσεις συνήθως δεν δηλώνονται και δεν ελέγχονται, εφόσον δεν εμπίπτουν στο πεδίο εφαρμογής της επιτήρησης σε επίπεδο ΕΕ/ΕΟΧ.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΚΑΝΟΝΙΣΤΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ

Η λιστερίωση είναι νόσημα υποχρεωτικής δήλωσης σε όλα τα κράτη μέλη της ΕΟΧ/ΕΕ

Η απόφαση (ΕΕ) 1082/2013 θεσπίζει κανόνες για τις σχετικές διασυνοριακές απειλές για την υγεία, που περιλαμβάνουν επιδημιολογική επιτήρηση, παρακολούθηση, έγκαιρη προειδοποίηση και ενέργειες. Η απόφαση (ΕΕ) 2018/945 απαριθμεί τις μεταδοτικές ασθένειες

Το ECDC συλλέγει και αναλύει τα δεδομένα μέσω (**ECDC's Surveillance Atlas of Infectious Diseases**), και δομεί και απρουσιάζει τα ετήσια **ECDC's Annual Epidemiological Reports**.

Η επιτήρηση και η παρακολούθηση της *Listeria monocytogenes*, ενός παθογόνου παράγοντα που ευθύνεται για τη λιστερίωση, περιλαμβάνει πολλά από τα εργαλεία και τα συστήματα επιτήρησης του ECDC

Το TESSy (europaean-surveillance-system-tessy) χρησιμοποιείται ενεργά για τη συλλογή και ανάλυση δεδομένων για περιπτώσεις λιστερίωσης σε χώρες της ΕΕ/ΕΟΧ. Μέσω του TESSy, οι αρχές δημόσιας υγείας αναφέρουν περιπτώσεις λοιμώξεων από *Listeria monocytogenes*, συμπεριλαμβανομένων λεπτομερών επιδημιολογικών δεδομένων όπως δημογραφικά στοιχεία, κλινικά αποτελέσματα και πιθανές πηγές μόλυνσης.

Το σύστημα επιτρέπει την παρακολούθηση των τάσεων της λιστερίωσης, συμπεριλαμβανομένων των σποραδικών κρουσμάτων και των επιδημιών, κάτι που είναι απαραίτητο για την κατανόηση της επιβάρυνσης της νόσου και την εφαρμογή προληπτικών μέτρων.

Το σύστημα EPIS (epidemic-intelligence-information-system-epis) χρησιμοποιείται για την ανταλλαγή και συζήτηση πληροφοριών σχετικά με κρούσματα λιστερίωσης μεταξύ των χωρών της ΕΕ/ΕΟΧ. Όταν εντοπίζεται μια πιθανή διασυνοριακή εστία *Listeria monocytogenes*, το EPIS επιτρέπει την ταχεία επικοινωνία και συντονισμό μεταξύ των χωρών για την αποτελεσματική διαχείριση της επιδημίας.

Μέσω του EPIS, οι χώρες μπορούν να μοιραστούν λεπτομέρειες των ερευνών τους, τα εργαστηριακά ευρήματα και πιθανές πηγές τροφίμων που συνδέονται με τη *Listeria monocytogenes*.

Το σύστημα RASFF-Rapid Alert System for Food and Feed ([rasff-window/screen/list](https://www.rasff.eu/rasff-window/screen/list)) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο πλαίσιο της *Listeria monocytogenes*. Όταν ανιχνεύεται μόλυνση με λιστέρια σε προϊόντα διατροφής, το RASFF διευκολύνει την ταχεία ανταλλαγή πληροφοριών μεταξύ των αρχών ασφάλειας τροφίμων σε διάφορες χώρες

Τέλος μέσω των εθνικών εργαστηρίων αναφοράς γίνεται ο προσδιορισμός αλληλουχίας ολόκληρου του γονιδιώματος (WGS), που μαζί με άλλες μέθοδοι μοριακής επιτήρησης είναι ζωτικής σημασίας για την ανίχνευση και τον χαρακτηρισμό των στελεχών *Listeria monocytogenes*. Το ECDC συνεργάζεται με εθνικά εργαστήρια αναφοράς για την εναρμόνιση της χρήσης του WGS για τη *Listeria monocytogenes* και υποστηρίζει την ενσωμάτωση μοριακών δεδομένων στο TESSy για ολοκληρωμένη επιτήρηση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Η *Listeria monocytogenes* ΣΤΑ ΕΤΟΙΜΑ ΠΡΟΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΤΡΟΦΙΜΑ

4.1. Η *L.m.* στα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα

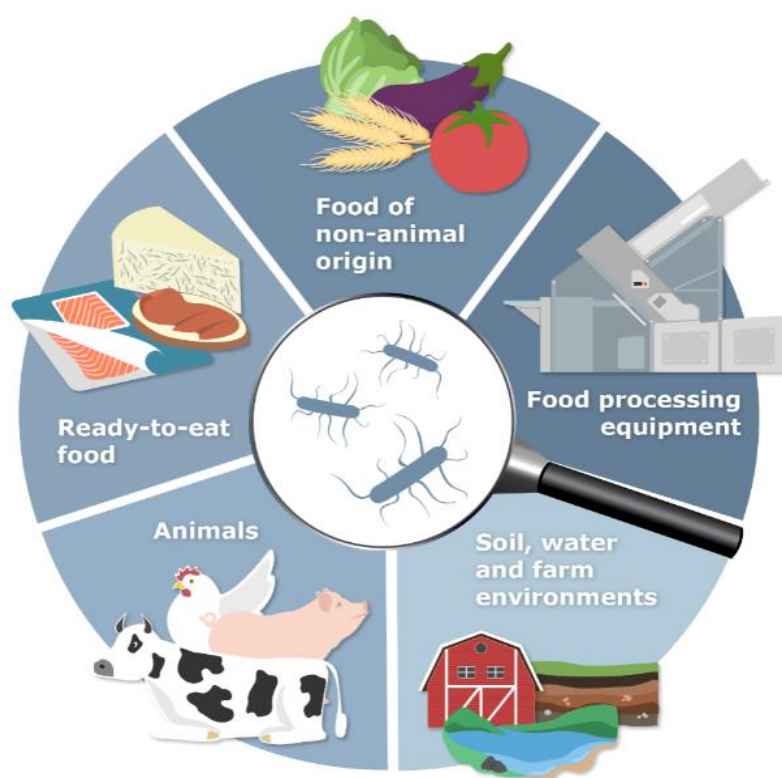
Ως παράδειγμα έτοιμων προς κατανάλωση τροφίμων, **ready-to-eat (RTE)** μπορούμε να αναφέρουμε τα κρύα προμαγειρεμένα κρέατα-όπως κοτόπουλο, αλλαντικά – όπως σαλάμι, καπνιστά και παστά ψάρια – συμπεριλαμβανομένου του σούσι, μαγειρεμένα οστρακοειδή, μαλακά τυριά που έχουν ωριμάσει με μούχλα – όπως τυριά camembert, brie κ.α. πατέ, μη παστεριωμένο γάλα ή προϊόντα που παρασκευάζονται από μη παστεριωμένο γάλα, προπαρασκευασμένα σάντουιτς και σαλάτες, κομμένα φρούτα.

Παρόλου που η *L.m.* φαίνεται να μπορεί να μολύνει πολλούς τύπους τροφίμων, τα έτοιμα προς κατανάλωση φαίνεται να είναι αρκετές φορές υπεύθυνα. Την περίοδο 2020-2024 έχουν αναφερθεί 417 απομονώσεις *L.m.* από τρόφιμα (χωρίς την υποκατηγορία ψάρια και προϊόντα ψαριού).

Οι κατηγορίες τροφίμων RTE που συνήθως συνδέονται με την ανθρώπινη λιστερίωση, είναι συνήθως «κρέας και προϊόντα κρέατος», «ψάρια και προϊόντα ψαριού» και «γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα». Επιπλέον, τρόφιμα φυτικής προέλευσης και κατεψυγμένα τρόφιμα έχουν ενοχοποιηθεί για επιδημίες (EFSA BIOHAZ Panel, 2028).

Η *L.m.* μπορεί να μολύνει το προϊόν είτε στο στάδιο παραγωγής του, αφού μπορεί να υπάρχει στο έδαφος χώμα, στις χορτονομές, στο ζωοτροφές, στο νερό, στις λάσπες και στα λύματα. Το μολυσμένο έδαφος ή νερό μπορεί να οδηγήσει σε μόλυνση των καλλιεργειών, οι οποίες στη συνέχεια μπορούν να εισέλθουν στην αλυσίδα τροφίμων.

Εικόνα 4.1. Κυριότερες πηγές *L.m.*



The image shows the main sources of Listeria

Πηγή:<https://storymaps.arcgis.com/stories/629e6627e6c64111bfd5b9257473c74a>

Κατά αυτόν τον τρόπο πολλές φορές τα φρέσκα λαχανικά και φρούτα έχουν αναφερθεί ως ύποπτα για την ύπαρξη *L.m.* Το 2024 συγκεκριμένα έχει αναφερθεί σε φύλλα σπανακιού, μαρούλι, φρέσκες συσκευασμένες, σαλάτες και βλαστάρια (RASFF). Ορισμένα οικόσιτα ζώα, πτηνά και άγρια θηλαστικά μπορεί να μεταφέρουν το βακτηρίδιο, χωρίς να νοσούν, και να μολύνουν τρόφιμα ζωικής προέλευσης, όπως το κρέας και τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Ειδικότερα στα μαλακά τυριά, όπως μπρι, καμαμπέρ, ρικόττα έχει γίνει αρκετές φορές αναφορά για την ύπαρξη *L.m.* και την πρόκληση επιδημιών. Σύμφωνα με τον CDC, τα μαλακά τυριά είναι πιο πιθανό από τα σκληρά τυριά να μολυνθούν με *Listeria* λόγω της υψηλής υγρασίας, της χαμηλής περιεκτικότητας σε αλάτι και της χαμηλής οξύτητάς τους. Τα μαλακά τυριά που

παρασκευάζονται με νωπό (μη παστεριωμένο) γάλα ή παρασκευάζονται σε εγκαταστάσεις που δεν τηρούν τα υγειονομικά πρότυπα είναι πιο πιθανό να μολυνθούν

Από τις πιο επικίνδυνες -κατηγορίες τροφίμων θεωρούνται τα προ-μαγειρεμένα προϊόντα κρέατος, τα οποία μπορεί να καταναλωθούν χωρίς επιπλέον μαγείρεμα ή ζέσταμα όπως τα πατέ, μαγειρεμένα κομμάτια κρέατος ή κοτόπουλου, αλλαντικά ωρίμανσης τύπου ντελικατέσεν, έχουν αναφερθεί πολλές φορές ως τρόφιμα υπαίτια για την εκδήλωση επιδημιών λιστερίωσης. Σύμφωνα με τον CDC, από το 2018 έχουν εκδηλωθεί πέντε διαπολιτειακές επιδημίες που υπεύθυνο τρόφιμο θεωρείται κάποιο ντελικατέσεν- αλλαντικό. Σε όλες τις περιπτώσεις περιλαμβάνεται τουλάχιστον ένας θάνατος. Η τελευταία περίπτωση που αναφέρθηκε, φαίνεται να οφείλεται σε αλλαντικά κομμένα σε φέτες έχουν συνδεθεί με μια επιδημία λιστερίωσης σε 13 πολιτείες, έχουν νοσήσει 54 άνθρωποι, και έχουν σημειωθεί 9 θάνατοι (Firm, 2024).

Το περιβάλλον επεξεργασίας και συσκευασίας των προϊόντων φαίνεται να εγκυμονεί τους μεγαλύτερους κινδύνους για την επιμόλυνση και ανάπτυξη της *L.m.* στα προϊόντα. Ειδικότερα σε εγκαταστάσεις που δεν τηρούνται τα υγειονομικά πρότυπα. Η επιβίωση και η ανάπτυξη της *L.m.* θα αναλυθεί περισσότερο σε επόμενο κεφάλαιο.

Σύμφωνα με στοιχεία του EFSA, 26 κράτη μέλη ανέφεραν συνολικά 312.849 μονάδες δειγματοληψίας από διαφορετικές κατηγορίες «έτοιμων προς κατανάλωση» τροφίμων, στα στάδια διανομής ή παραγωγής όπως αυτή επιβάλλεται από τον κανονισμό Νο 2073/2005. Για το στάδιο της διανομής, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ανίχνευσή της φαίνεται χαμηλή (<0,1%) έως πολύ χαμηλή (0,1% έως 1,0%) σε 9 από τις 10 εστιασμένες κατηγορίες τροφίμων «έτοιμων προς κατανάλωση». Το υψηλότερο ποσοστό- παρατηρήθηκε για τα «ψάρια» (2,3%), (EFSA, 2022).

Τα υψηλότερα ποσοστά στο επίπεδο της παραγωγής/ μεταποίησης των τροφίμων βρέθηκαν στα «ψάρια» (2,6%), στα «αλιευτικά προϊόντα» (2,5%) και στα «προϊόντα προέλευσης κρέατος εκτός από τα λουκάνικα που έχουν υποστεί ζύμωση» (2,5%), (EFSA, 2022).

Εικόνα 4.2. Βασικότερα τρόφιμα που εμπλέκονται σε επιδημίες λιστερίωσης

Implicated food vehicles (Strong-evidence outbreaks)



Πηγή: <https://storymaps.arcgis.com/stories/629e6627e6c64111bfd5b9257473c74a>

Οι τελευταίες διακρατικές επιδημικές συρροές που έχουν αναφερθεί από τον ECDC αφορούν την κατηγορία ψάρια και προϊόντα ψαριού.

4.2. Η *L.m.* ετοιμα προς καταναλωση – φρέσκα ψάρια και προϊόντα ψαριού

Τα ιχθυηρά τα τελευταία χρόνια φαίνεται να έχουν απασχολήσει τις υγειονομικές αρχές αρκετές φορές λόγω της παρουσίας *L.m.* Την περίοδο 2020-2024 φαίνεται να έχουν αναφερθεί στο RASFF 132 περιπτώσεις ανάκλησης σε προϊόντα ψαριού. Το 2024 ήδη έχουν αναφερθεί 21 περιπτώσεις με σχεδόν όλες, να χαρακτηρίζονται αρκετά σοβαρές ή σοβαρές. Σύμφωνα με τα στοιχεία του EFSA τα φρέσκα ψάρια και προϊόντα ψαριού για το 2022 ήταν η δεύτερη σε κατηγορία τρόφιμο υπεύθυνα για πρόκληση *L.m.*

Η ανίχνευση *Listeria monocytogenes* σε ψάρια και προϊόντα ιχθύων που παράγονται σε χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ) και εκτός αυτής, όπως αναφέρθηκαν από τα κράτη μέλη της ΕΕ και χώρες εκτός ΕΕ στην Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) για την περίοδο 2018-2022, σύμφωνα με την Οδηγία για τις ζωνοσόσους 2003/99/EC και σύμφωνα με έρευνα του. Συνοψίζονται ως εξής

Για τα κράτη μέλη της Ε.Ε/ ΕΟΧ έγινε έλεγχος σε 114.975 δείγματα ιχθύων και προϊόντων ιχθύων από 25 κράτη μέλη της ΕΕ (Αυστρία, Βέλγιο, Βουλγαρία, Κροατία, Κύπρος, Τσεχία, Δανία, Εσθονία, Γαλλία, Γερμανία, Ελλάδα, Ουγγαρία, Ιρλανδία, Ιταλία, Λετονία, Λιθουανία, Λουξεμβούργο, Ολλανδία, Πολωνία, Πορτογαλία, Ρουμανία, Σλοβενία, Σλοβακία, Ισπανία και Σουηδία) (EFSA, zoonoses report, 2023).

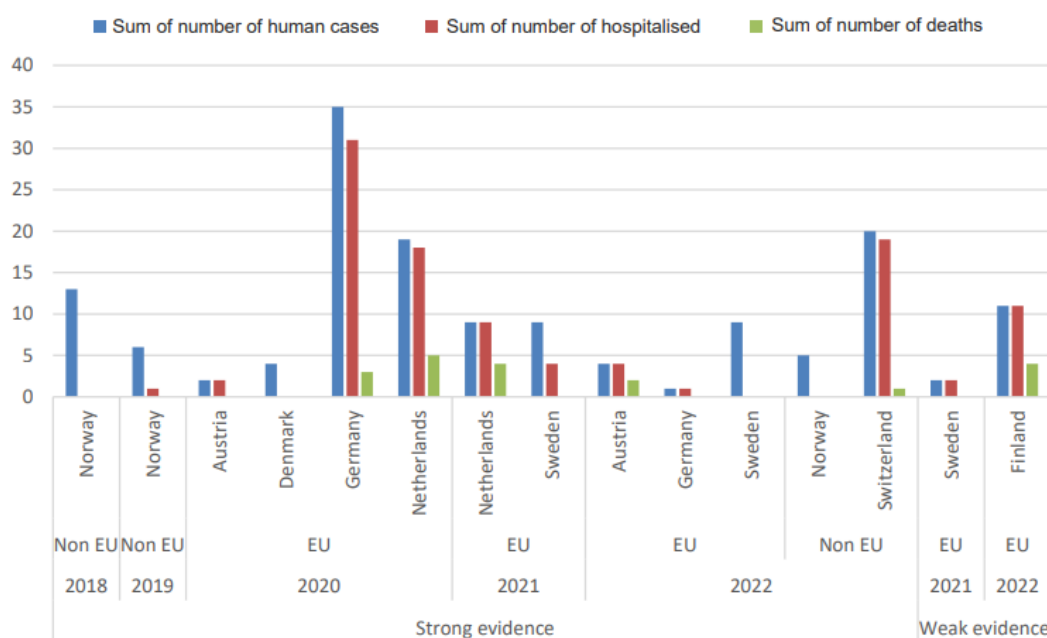
Με την μέθοδο της ανίχνευσης εξετάστηκαν 76.570 δείγματα εκ των οποίων τα 2.923 βρέθηκαν θετικά ως προς το παθογόνο (3,82%).

Με την μέθοδο της καταμέτρησης εξετάστηκαν 47.153 δείγματα εξετάστηκαν με τη εκ των οποίων 297 βρέθηκαν θετικά (0,63%) σε επίπεδα *L. monocytogenes* ≤100 CFU/g και 121, (0,26%) σε επίπεδα >100 CFU/g.

Από χώρες εκτός ΕΕ (Αλβανία, Ισλανδία, Μαυροβούνιο, Δημοκρατία της Βόρειας Μακεδονίας και Σερβία), έγινε έλεγχος συνολικά σε 234 δείγματα ιχθύων και προϊόντων ιχθύων. Με την μέθοδο της ανίχνευσης ελέγχθηκαν 201 δείγματα εκ των οποίων τα 12 δείγματα (5,97%) ήταν θετικά. Με την μέθοδο της καταμέτρησης εξετάστηκαν 34 δείγματα στα οποία κανένα δεν βρέθηκε θετικό ως προς την παρουσία του παθογόνου.

Στην Ελλάδα ο Ε.Φ.Ε.Τ. το 2024 έχει ανακαλέσει δύο προϊόντα ψαριών (καπνιστό χέλι και καπνιστή πέστροφα) από δύο Ελληνικές βιοτεχνίες.

Εικόνα 5.1.: Κατανομή επιδημιών σε προϊόντα ψαριού κατά την περίοδο 2018-2022



Πηγή EFSA, zoonoses report,2023

Ως προς την επιδημιολογική επιτήρηση αξίζει να αναφερθούν οι εξής πρόσφατες περιπτώσεις από τις εκθέσεις του EFSA και το ECDC.

Διακρατική επιδημία οφειλόμενη στην *Listeria monocytogenes* Sequence Type 8 (ST8), λόγω κατανάλωσης προϊόντων που περιέχουν σολομό. (ECDC, 2018)

Τα βασικά σημεία της διακρατικής αυτής επιδημίας τα εξής. Η Δανία ανέφερε έξι περιστατικά, η Γερμανία πέντε και η Γαλλία ένα. Τέσσερα από αυτά τα περιστατικά

κατέληξαν είτε εξαιτίας της νόσου είτε λόγω της νόσου. Το πρώτο αναφέρθηκε στην Δανία τον Οκτώβριο του 2015 στη Δανία και το πιο τελευταίο κρούσμα αναφέρθηκε τον Μάιο του 2018 στην Γερμανία. Στην Δανία η επιδημιολογική διερεύνηση από τις αρχές συνέδεσε τα περιστατικά με κατανάλωση RTE-προϊόντος σολομού ψυχρής κάπνισης που παράγεται στην Πολωνία. Το στέλεχος που απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε με WGS ήταν το ST8. Η Γαλλία ανέφερε την ταυτοποίηση ενός αντίστοιχου στελέχους σε απομονώσεις τροφίμων από μαριναρισμένο σολομό που παρασκευαζόταν από την ίδια πολωνική εταιρεία μεταποίησης. Αυτό υποστήριξε την υπόθεση ότι η μόλυνση προέρχεται από το περιβάλλον επεξεργασίας στην Πολωνία. Ωστόσο, λόγω έλλειψης δεδομένων WGS, σχετικά με τις απομονώσεις που βρέθηκαν στα περιβαλλοντικά δείγματα και τα δείγματα τροφίμων που ελήφθησαν στο εργοστάσιο επεξεργασίας, δεν έγινε δυνατή η επιβεβαίωση ότι η μόλυνση με το στέλεχος εστίας *L. monocytogenes* ST8 προήλθε από το περιβάλλον επεξεργασίας.

Το αξιοσημείωτο με την παραπάνω επιδημία είναι ότι ο έλεγχος στο επίπεδο της διάθεσης του προϊόντος οδήγησε ουσιαστικά στην σύνδεση με προηγούμενη επιδημική συρροή. Υπογραμμίζοντας την ανάγκη συχνών ελέγχων στο επίπεδο της διάθεσης των προϊόντων.

Πίνακας 5.1 Κατανομή κρουσμάτων ανά χώρα την περίοδο 2014-2018

Reporting country	Confirmed cases (reported on or after 1 January 2017)		Historical confirmed cases (reported before 1 January 2017)		Total number of cases
	2018	2017	2016	2015	
Denmark	0	5	0	1	6
France	0	0	1	0	1
Germany	1	4	0	0	5
Total	1	9	1	1	12

Πηγή: ECDC, 2018

Δημογραφικά στοιχεία ασθενών

Στην Δανία οι ασθενείς, ήταν μεταξύ 59 και 96 ετών. Οι τρεις ήταν γυναίκες και δυο ήταν άνδρες. Ο ένας απεβίωσε 30 ημέρες μετά από τη διάγνωση.

Τα επιβεβαιωμένα κρούσματα στη Γερμανία εντοπίστηκαν μεταξύ Αυγούστου 2017 και Μαΐου 2018. Οι πέντε ασθενείς ήταν από τέσσερις διαφορετικές πολιτείες και εμφανίστηκαν συμπτώματα τον Αύγουστο του 2017 (3 περιπτώσεις), τον Δεκέμβριο

του 2017 (1) και τον Μάιο του 2018 (1). Οι ηλικίες των ασθενών κυμαίνονταν από 22 έως 82 έτη, με διάμεση ηλικία τα 78 έτη. Οι 3 ασθενείς ήταν άνδρες και οι 2 γυναίκες. Τρεις ασθενείς, συμπεριλαμβανομένου του ασθενούς που είχε έναρξη της νόσου τον Μάιο του 2018, απεβίωσαν από τη λιστερίωση.

Η Γαλλίδα ασθενής ήταν γυναίκα άνω των 80 ετών που παρουσιάστηκε με μηνιγγίτιδα τον Ιούνιο του 2016.

Οι πληροφορίες που συλλέχθηκαν από τους ασθενείς οι Δανοί ασθενείς με εμφάνιση συμπτωμάτων το 2017 επιβεβαίωσαν την κατανάλωση καπνιστού σολομού ενώ ο πέμπτος είχε καταναλώσει μαριναρισμένο σολομό. Οι τέσσερις περιπτώσεις είχαν αγοράσει προϊόντα σολομού. Από τους υπόλοιπους ασθενείς δεν ήταν δυνατή η λήψη πληροφοριών.

Διακρατική επιδημία από *Listeria monocytogenes* συμπλέγματος Clonal Complex 8- (CC8), που συνδέεται με την κατανάλωση προϊόντων- ιχθύων ψυχρής κάπνισης (ECDC, 2019)

Ο αριθμός των περιστατικών κατά την διάρκεια της διακρατικής επιδημίας ανήλθε στα 22 κρούσματα. Η *Listeria monocytogenes* που απομονώθηκε ανήκε στο ST-1247 και το κλωνικό σύμπλεγμα CC8 η οποία είχε ταυτοποιηθεί μέσω WGS από πέντε χώρες της ΕΕ. Η Δανία ανέφερε εννιά περιστατικά, η Εσθονία έξι, η Φινλανδία δυο, η Γαλλία ένα και η Σουηδία τέσσερα. Πέντε κρούσματα κατέληξαν.

Το πρώτο κρούσμα εμφάνισε τα συμπτώματα τον Ιούλιο του 2014 στην Εσθονία και το πιο πρόσφατο κρούσμα εμφανίστηκε στη Δανία τον Φεβρουάριο του 2019. Για τους 8 ασθενείς, στους 12 υπήρχε διαθέσιμο ιστορικό κατανάλωσης τροφής το οποίο επιβεβαίωσε την κατανάλωση προϊόντων ψαριού ψυχρής κάπνισης.

Οι απομονώσεις της *Listeria monocytogenes*, ταυτίστηκαν με το στέλεχος της επιδημίας WGS, εντοπίστηκαν σε επίπεδο χονδρικής και λιανικής σε τέσσερις χώρες (Γαλλία, Δανία, Ιταλία και Σουηδία). Αυτές προήλθαν από 13 παρτίδες σολομού ψυχρής κάπνισης ή gravad σολομού και από έξι παρτίδες πέστροφας ψυχρής κάπνισης.

Η ιχνηλασιμότητα των μολυσμένων παρτίδων έδειξε ως κοινό κατασκευαστή μια εταιρεία μεταποίησης που είχε έδρα στην Εσθονία. Το ωμό ψάρι που χρησιμοποιήθηκε

για την παραγωγή αυτών των προϊόντων προερχόταν από προμηθευτές στη Νορβηγία και τη Φινλανδία.

Οι περιβαλλοντικές έρευνες στην μονάδα επεξεργασίας ιχθύων έδειξαν την παρουσία του *L. monocytogenes*, η οποία ταυτίστηκε με το στέλεχος της επιδημίας σε δύο δείγματα της γραμμής επεξεργασίας και σε τέσσερις παρτίδες τελικών προϊόντων.

Πίνακας 5.2. Κατανομή κρουσμάτων ανά χώρα την περίοδο στην 2019

Reporting country	Outbreak-confirmed cases (reported on or after 1 January 2016)	Historical outbreak-confirmed cases (reported before 1 January 2016)	Total number of cases
Denmark	9	0	9
Estonia	5	1	6
Finland	2	0	2
France	1	0	1
Sweden	2	2	4
Total	19	3	22

Πηγή: ECDC, 2019

Δημογραφικά στοιχεία ασθενών

Πληροφορίες σχετικά με την ηλικία και το φύλο είναι διαθέσιμες στο ECDC για 20 από τους 22 ασθενείς. Η μέση ηλικία είναι 76. Όλοι οι ασθενείς είναι ηλικίας άνω των 50 ετών, εκτός από ένα νεογνικό περιστατικό που αναφέρθηκε το 2014.

Διακρατική επιδημία από *Listeria monocytogenes* Sequence Type 155 –(ST155), που συνδέεται με την κατανάλωση έτοιμων προς κατανάλωση προϊόντων ιχθύων (ECDC, 2023)

Από τις σοβαρότερες περιπτώσεις διακρατικής επιδημίας φαίνεται να είναι οι λοιμώξεις που προήλθαν από *Listeria monocytogenes* τύπου ST -155, οροομάδα Πα. Το συγκεκριμένο στέλεχος έχει προσδιοριστεί στην ΕΕ/ΕΟΧ και στο Ηνωμένο Βασίλειο. Με βάση γονιδιωματική ομοιότητα, το σύμπλεγμα μπορεί να χωριστεί σε τρεις υπο ομάδες (sub clusters), από τις οποίες εξετάστηκαν μόνο οι περιπτώσεις που ανήκαν στην υποομάδα 1. Η υποομάδα έχει βρεθεί σε 64 περιστατικά λιστερίωσης που έχουν αναφερθεί από πέντε χώρες μεταξύ 2016 και 2023. Τα 17 κρούσματα αναφέρθηκαν την χρονολογική περίοδο 2022- 2023. Μία περίπτωση στην Αυστρία, μία στο Βέλγιο, οκτώ στην Ιταλία, έξι στη Γερμανία και μία στην Ολλανδία. Μεταξύ της περιόδου 2019-2023, 10 περιστατικά ήταν θανατηφόρα

Οι πληροφορίες για το τρόφιμο στο οποίο είχαν εκτεθεί ήταν περιορισμένες, 8 από τα 11 κρούσματα που ερωτήθηκαν το 2022-2023 επιβεβαιώνουν την κατανάλωση προϊόντων ιχθύων RTE- σολομός, 14-30 ημέρες πριν την εκδήλωση της ασθένειας.

Οι έρευνες τροφίμων που πραγματοποιήθηκαν από κάθε χώρα, η ιχνηλασιμότητα σε συνδυασμό με τα γονιδιωματικά δεδομένα ταυτοποίησαν 34 απομονώσεις *L. monocytogenes* από 12 προϊόντα ιχθύων και μια περιβαλλοντική απομόνωση από τον χώρο επεξεργασίας ιχθύων. Με την βοήθεια του WGS διαπιστώθηκε σύνδεση με δύο εργοστάσια επεξεργασίας στη Λιθουανία. Την περίοδο 2022–2023, είχαν βρεθεί μολυσμένα προϊόντα από αυτά τα εργοστάσια σε αγορές στην Γερμανία και την Ιταλία. Στις άλλες τρεις χώρες δεν υπήρχε πληροφορία για το προϊόν. Η επαναλαμβανόμενη ανίχνευση του στελέχους υποομάδας -1 από σφραγισμένα προϊόντα ιχθύων οδήγησαν στην διαπίστωση της ανθεκτικότητας του στελέχους. Από την απομόνωση του στελέχους σε χρονικό διάστημα από το 2016 μέχρι το 2023 συμπεραίνεται ότι το συγκεκριμένο στέλεχος μπορούσε και επιβίωνε στις μονάδες επεξεργασίας για οχτώ χρόνια.

Διακρατική επιδημία από *Listeria monocytogenes* Sequence Type 1607- (ST1607), που συνδέεται με την κατανάλωση έτυμων προς κατανάλωση προϊόντων καπνιστού σολομού (ECDC,2024).

Από το 2019-2024 έχουν αναφερθεί 20 κρούσματα λιστερίωσης από *Listeria monocytogenes* ST1607 : εντοπίστηκαν 17 κρούσματα στη Δανία, 1 στη Γερμανία και 2 στην Ιταλία. Ο αριθμός των κρουσμάτων αυξήθηκε απότομα μετά το 2021. Το πιο πρόσφατο κρούσμα αναφέρθηκε τον Μάρτιο του 2024 στη Δανία, υποδεικνύοντας συνεχιζόμενο κίνδυνο περαιτέρω μολύνσεων. Πέντε από τα είκοσι κρούσματα κατέληξαν σε θάνατο.

Οι έρευνες τροφίμων που πραγματοποιήθηκαν από την κάθε χώρα, η ιχνηλασιμότητα σε συνδυασμό με τα γονιδιωματικά δεδομένα ταυτοποίησαν την *L.m.* -ST1607 από τέσσερα προϊόντα καπνιστού σολομού κομμένα σε φέτες (τέσσερις παρτίδες). Και τα τέσσερα αυτά προϊόντα παρασκευάζονται στην Δανία. Αυτά τα μολυσμένα προϊόντα διανεμήθηκαν στις τρεις χώρες (Δανία, Γερμανία και Ιταλία) που αναφέρουν ανθρώπινα κρούσματα στο ECDC. Η απομόνωση του ίδιου στελέχους από το περιβάλλον της επεξεργασίας στην Δανία το 2023 και η σύνδεση της με την απομόνωση από τα προϊόντα το 2021 υποδηλώνει την επιμονή του *L. monocytogenes*

ST1607 εντός της εγκατάστασης. Επίσης υποδηλώνει ότι τα σημεία που είναι εγκατεστημένο το βακτήριο δεν έχουν εντοπιστεί και τα μέτρα ελέγχου που είχαν ληφθεί δεν φαίνεται να είναι αποτελεσματικά. Υπογραμμίζεται η ανάγκη εκρίζωσης του παθογόνου από το εργοστάσιο παραγωγής.

Πίνακας 5.3. Κατανομή κρουσμάτων ανά χώρα την περίοδο στην 2019-2024

Country	2019	2020	2021	2022	2023	2024	Total
Denmark	2	1	1	4	7	2	17
Germany	0	0	0	1	0	0	1
Italy	0	0	0	0	2	0	2
Total	2	1	1	5	9	2	20

Πηγή: ECDC, 2024

Δημογραφικά στοιχεία ασθενών

Από τα 20 κρούσματα, 13 είναι γυναίκες και οι 7 άνδρες, με ηλικίες από 20 έως 90 ετών. Πέντε κρούσματα έχουν πεθάνει, δίνοντας ποσοστό θνησιμότητας 25%.

Διακρατική επιδημία από *Listeria monocytogenes* Sequence Type 173-(ST173), που συνδέεται με την κατανάλωση έτοιμων προς κατανάλωση προϊόντων ψαριού (ECDC, 2024a)

Την χρονική περίοδο 2012 και 2024, αναφέρθηκαν 73 περιστατικά που οφείλονταν στο στέλεχος ST173 («My2» -cluster). Οι χώρες που έχουν αναφέρει περιστατικά είναι πέντε στο Βέλγιο, ένα στη Τσεχία, τριανταένα στη Γερμανία, δύο στη Φινλανδία, η ένα στην Ιταλία, είκοσι στην Ολλανδία και πέντε στο Ηνωμένο Βασίλειο. Δεκατέσσερις θάνατοι έχουν καταγραφεί σε αυτό το περιστατικό.

Από τα στοιχεία της επιδημιολογικής επιτήρησης και της ιχνηλασιμότητας προκύπτει ότι το στέλεχος «My2» εντοπίζεται σε 38 κρούσματα που αναφέρθηκαν σε έξι χώρες της ΕΕ και στο Ηνωμένο Βασίλειο. Εντοπίστηκε σε 48 δείγματα τροφίμων 37 εκ των οποίων ήταν προϊόντα τροφίμων ψαριού διαφορετικού τύπου. Επίσης απομονώθηκε από 6 περιβαλλοντικά δείγματα και από 12 εγκαταστάσεις επεξεργασίας ιχθύων.

Οι πληροφορίες δεν έδειξαν ενός ενιαίου κοινού σημείου ή υπεύθυνης επιχείρησης τροφίμων για την συγκεκριμένη υπόθεση.

Το WGS για τα στοιχεία εντοπισμού και η ανίχνευση σε προϊόντα ιχθύων μεταξύ του 2017 και το 2024 υποδηλώνουν ότι το στέλεχος έχει εξαπλωθεί γεωγραφικά στην Ευρώπη εδώ και αρκετά χρόνια, πιθανότατα προέρχεται από μια προηγούμενη πηγή στην αρχή της αλυσίδας παραγωγής και πλέον έχει εγκατασταθεί σε διαφορετικά εργοστάσια παραγωγής.

Συμπερασματικά τα στοιχεία υποστηρίζουν την υπόθεση ότι φορείς των μολύνσεων είναι τα προϊόντα ιχθύων. Δεδομένης της ανίχνευσης του στελέχους της εστίας σε πολλαπλούς τύπους προϊόντων ιχθύων και της ευρείας απομόνωσης του στην αλυσίδα παραγωγής ιχθύων σε εργοστάσια που έχουν έδρα στην ΕΕ/ΕΟΧ, είναι πιθανό να αναφερθούν νέα κρούσματα. Σε αυτή την περίπτωση πρέπει να εφαρμοστούν διορθωτικά μέτρα στις εγκαταστάσεις που ανιχνευτικέ το στέλεχος.

Πίνακας 5.4. Δημογραφικά δεδομένα για την περίοδο στην 2012-2024

Country	No of cases	No of deaths	Male	Female	Age range (median)/years	Comments
Belgium	5	0	3	2	53-80 (68)	Two cases in Flanders, two in Brussels, one in Wallonia.
Czechia	1	0	1	0	> 60	
Germany	39	10	26	13	24-91 (78)	One pregnancy-associated case.
Finland	2	2	0	2	> 80	
Italy	1	0	1	0	> 75	Strain isolated from pleural fluid.
Netherlands	20	2	16	4	54-87 (72)	Five years between the first and the second case (2012-2017).
United Kingdom	5	0	0	5	21 - 70 (35)	
Total	73	14	47	26		

Πηγή: ECDC, 2024a

Δημογραφικά δεδομένα

Μεταξύ 73 κρουσμάτων, έχουν αναφερθεί 14 θάνατοι (19,2%). Το πρώτο σποραδικό κρούσμα αναφέρθηκε στην Ολλανδία το 2012 και ακολούθησαν δύο περιπτώσεις στο Ηνωμένο Βασίλειο το 2015. Μεταξύ 2019 και 2023, ο ετήσιος αριθμός κρουσμάτων ήταν ≥ 5 , σε έξι χώρες της Ε.Ε. και το ΗΒ. Η ηλικία κυμαίνεται μεταξύ 24 και 91 ετών, με τις περισσότερες λοιμώξεις να αναφέρονται στους ασθενείς ηλικίας 60 ετών και άνω. Οι άνδρες ηλικίας άνω των 60 ετών αντιπροσωπεύουν την πιο πληγείσα ομάδα πληθυσμού.

ΕΝΟΤΗΤΑ Β ΤΑ ΨΑΡΙΑ ΩΣ ΕΤΟΙΜΑ ΠΡΟΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΤΡΟΦΙΜΑ ΚΑΙ Η ΑΞΙΑ ΤΟΥ CHALLENGE TEST

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΤΑ ΦΡΕΣΚΑ ΨΑΡΙΑ ΚΑΙ ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΨΑΡΙΟΥ

6.1. Στοιχεία παραγωγής και κατανάλωσης ιχθύων

Η διατροφική σχέση του ανθρώπου με τα θαλασσινά χρονολογείται από την προϊστορική εποχή. Τα αρχαιολογικά στοιχεία δείχνουν ότι οι πρώτοι άνθρωποι καταλάωναν θαλασσινά, ιδιαίτερα οστρακοειδή, ως κύρια πηγή τροφής. Ειδικότερα οι λαοί που αναπτύχθηκαν γύρω από θαλάσσιες περιοχές ενσωμάτωσαν τα θαλασσινά στην διατροφή τους.

Οι βραχογραφίες στη Βόρεια Νορβηγία, ηλικίας άνω των 7.000 ετών, απεικονίζουν σκηνές ψαρέματος και στην Ελλάδα από τον κυκλαδικό πολιτισμό, τοποθετείται χρονικά στο 1650 π.Χ. (Pérez-Loréns *et. al.*, 2021). Στην αρχαία Ελλάδα το ψάρι θεωρούνταν είδος που καταναλωνόταν από τα χαμηλότερα οικονομικά στρώματα. Παρόλα αυτά ήταν αρκετά διαδεδομένο και υπήρχαν αρκετοί τρόποι διατήρησης το (Perez-Lorens *et. al.*, 2021)

Στην Ασία, παράκτιες περιοχές όπως η Ιαπωνία έκαναν τα θαλασσινά επίκεντρο της διατροφής τους. Δημιουργώντας μια μεγάλη παράδοση τόσο στην αλιεία όσο και στην δημιουργία μεγάλης γαστρονομικής κουλτούρας.

Καθώς εξελίχθηκαν οι κοινωνίες, εξελίχθηκαν και οι μέθοδοι παρασκευής και κατανάλωσης θαλασσινών. Κατά τον Μεσαίωνα, η διατήρηση έγινε ζωτικής σημασίας, ειδικά για κοινότητες μακριά από τις ακτές. Η επεξεργασία με αλάτι, το κάπνισμα και το τουρσί έγιναν δημοφιλείς τεχνικές, επιτρέποντας στα θαλασσινά να μεταφέρονται σε μεγάλες αποστάσεις χωρίς να αλλοιώνονται (Hoffmann, 2004). Κατά τον 20ο οι τεχνολογικές εξελίξεις στον αγροδιατροφικό τομέα που αναμόρφωσαν για άλλη μια φορά τη διατροφική σχέση με τα θαλασσινά. Η κονσερβοποίηση, η οποία έγινε δημοφιλής στη δεκαετία του 1900, έκανε τα θαλασσινά, όπως ο τόνος, να είναι

προσβάσιμα σε όλο τον κόσμο καθώς βελτιώθηκε η μεταφορά τους και αυξήθηκε η ικανότητα συντήρησής τους (Charin, 2023).

Στην Ευρώπη ειδικότερα, οι χώρες της Μεσογείου και στην Ελλάδα τα θαλασσινά λαμβάνουν σημαντικό ρόλο στην γαστρονομική κουλτούρα και στην διατροφή. Τα θαλασσινά μέχρι και σήμερα έχουν σημαντική θέση στην Μεσογειακή διατροφή (Pérez-Lloréns *et. al.*, 2021), οποία είναι πλέον αναγνωρισμένη και ως πολιτιστική κληρονομιά από την UNESCO (UNESCO,2010).

Τα τελευταία χρόνια άρχισε να εξαπλώνεται ολοένα και περισσότερο στην Ευρώπη η κατανάλωση ωμών ιχθύων. Στα καθαρά ανατολικής προέλευσης σούσι και σασίμι προστέθηκαν άλλα δυτικά εδέσματα, όπως ωμά φιλέτα ψαριού, καρπάτσιο θαλασσινών, καπνιστό και μαριναρισμένο ψάρι. Στην εστίαση και ειδικότερα στο επίσημο στυλ φαγητού- Fine dining το ψάρι έχει ιδιαίτερη τιμητική. Τα θαλασσινά πλέον δεν είναι μόνο βασική πηγή φαγητού αλλά εξελίσσονται σε μια γαστρονομική εμπειρία. Τεχνικές όπως το *ceviche*, που περιλαμβάνει το μαρινάρισμα των ιχθύων σε χυμούς εσπεριδοειδών, πιάτα που τονίζουν τη φρεσκάδα του αλιεύματος, και το σούσι, το οποίο ξεκίνησε ως μέθοδος συντήρησης ιχθύων σε ζυμωμένο ρύζι, εξελίσσονται σε μια μορφή τέχνης (Charin, 2023).

Η κατανάλωση των παραπάνω έχει απασχολήσει αρκετές φορές τις υγειονομικές αρχές έχοντας, υποκινήσει ανησυχίες από την πλευρά της δημόσιας υγείας.

6.1.1. Στοιχεία παραγωγής και διάθεσης Ιχθύων

Το ψάρι είναι ένα από τα τρόφιμα με τη μεγαλύτερη κατανάλωση στον κόσμο και γίνεται όλο και πιο δημοφιλή με την πάροδο του χρόνου. Η διάθεση των ιχθύων στην αγορά, για κατανάλωση και επεξεργασία γίνεται με δύο τρόπους. Είτε μέσω της αλίευσης από την ανοιχτή θάλασσα είτε μέσω της εκτροφής. Για να καλυφθούν οι όλο και αυξανόμενες ανάγκες του καταναλωτικού κοινού, υπάρχει αύξηση της προσφοράς των ιχθύων που προέρχονται από την εντατική εκτροφή, τις ιχθυοκαλλιέργειες.

Σύμφωνα με τα στοιχεία τη ΗΑΡΟ η συνολική προσφορά αλιευτικών προϊόντων για ανθρώπινη κατανάλωση (παραγωγή ΕΕ-27 + εισαγωγές αλιείας/υδατοκαλλιέργειας) διαμορφώθηκε στα 10.947 εκατ. τόνους.

Ο όγκος της παγκόσμιας παραγωγής ιχθύων ανήλθε σε 186,6 εκατομμύρια τόνους το 2023, από 184,6 εκατομμύρια τόνους το 2022. Η χώρα που αλιεύει τον μεγαλύτερο όγκο ιχθύων είναι η Κίνα, ακολουθούμενη από την Ινδονησία και την Ινδία. Η Κίνα φιλοξενεί επίσης τη μεγαλύτερη βιομηχανία επεξεργασίας ιχθύων και θαλασσινών στον κόσμο, δημιουργώντας έσοδα 31,6 δισεκατομμυρίων δολαρίων (στοιχεία του 2018, Shahbandeh, 2024). Η Κίνα ωστόσο αποτελεί μακράν το παγκόσμιο πρωταθλητή καθώς αντιπροσωπεύει σχεδόν το 58% του όγκου (72,8 εκ. τόνοι) και το 59% (140,25 δισ. ευρώ) της αξίας της παγκόσμιας παραγωγής υδατοκαλλιέργειας (ΗΑΡΟ).

Οι ιχθύες κατέχουν το 75% της παραγωγής των θαλάσσιων οργανισμών και μοιράζονται το υπόλοιπο μερίδιο της παραγωγής με τα μαλάκια και τα καρκινοειδή. Το 50% της παραγωγής των ιχθύων προέρχεται από θαλάσσια είδη ενώ το υπόλοιπο μερίδιο της παραγωγής προέρχεται από τα είδη του γλυκού νερού. Στα είδη με τον μεγαλύτερο όγκο παραγωγής παγκοσμίως συγκαταλέγονται τα φύκια, τα στρείδια και ο κυπρίνος. Ως προς την αξία, για άλλη μια φορά ξεχωρίζουν δυο καρκινοειδή όπως η (λευκή) γαρίδα (*Penaeus vannamei*) της οποίας οι πωλήσεις ανήλθαν σε 25,75 δισ. ευρώ (ΗΑΡΟ,2023) και όγκο παραγωγής 6,8 εκατομμύρια τόνους, (FAO, 2024), της караβίδας (14,7 δισ. Ευρώ) και του σολομού Ατλαντικού (*Salmo salar*) με 13,7 δισ. Ευρώ (ΗΑΡΟ,2023).

Σύμφωνα με τα στοιχεία του 2022, ο FAO (2024) αναφέρει ως προς το ύψος παραγωγής τα εξής είδη: Κυπρίνος χορτοφάγος, grass carp (=white amur; *Ctenopharyngodon idellus*, με παραγωγή 6.2 εκατομμύρια τόνους), η τιλάπια, Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, με παραγωγή 5.3 εκατομμύρια τόνους), ο ασημοκυπρίνος, silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*, με παραγωγή 5.1 εκατομμύρια τόνους) και τέλος ο γαύρος (=Peruvian anchovy; *Engraulis ringens*, 4.9 million tonnes).

Το 2022 ο όγκος παραγωγής ιχθύων μεσογειακής ιχθυοκαλλιέργειας ανήλθε σε 137.000 τόνους, αξίας 744 εκατ. ευρώ. Η τσιπούρα, seabream (*Sparus aurata*) και το λαβράκι, seabass (*Dicentrarchus labrax*) αποτελούν το 92% της παραγωγής και το υπόλοιπο 8% αποτελείται από άλλα μεσογειακά είδη όπως ο κρانيός (*Argyrosomus regius*) και το βραχύπτερο φαγκρί (*Pagrus major*), (ΗΑΡΟ, 2023). Τα σημαντικότερα είδη που εκτρέφονται στην ΕΕ-27 ως προς την ποσότητα είναι τα μύδια με 423.379 τόνους και η ιριδιζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) με 193.266 τόνους. Η τσιπούρα και το λαβράκι κατατάσσονται στην 3η και 5η θέση με 103.130 και 96.647

τόνους αντίστοιχα. Οι χώρες με τον μεγαλύτερο όγκο παραγωγής υδατοκαλλιέργειας στην ΕΕ-27 είναι η Ισπανία με 279.910 τόνους, η Γαλλία με 198.886 τόνους και η Ιταλία με 145.862 τόνους. Ως προς την αξία παραγωγής, στις τρεις πρώτες χώρες κατατάσσεται, η Γαλλία με 711.781 εκατ. ευρώ, η Ισπανία με 621.217 εκατ. ευρώ και η Ελλάδα 619.438 εκατ. ευρώ. Η Ελλάδα βρίσκεται στην 3η θέση ως προς τον όγκο και την αξία παραγωγής υδατοκαλλιέργειας την ΕΕ-27.

6.1.2 Στοιχεία Κατανάλωσης Ιχθύων

Οι ιχθύες προσφέρουν πρωτεΐνες υψηλής ποιότητας που συμβάλλουν σχεδόν στο ένα πέμπτο της παρέχουν παγκόσμιας πρόσληψης ζωικής πρωτεΐνης (FAO, 2020). Είναι επίσης υψηλής σημασίας πηγές βασικών, βιοδιαθέσιμων μικροθρεπτικών συστατικών. Είναι πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (EPA και DHA) που είναι σημαντικά για τη φυσιολογική νευροανάπτυξη και τις οπτικές λειτουργίες στα βρέφη και μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο για καρδιαγγειακές παθήσεις (Willett *et al.*, 2019).

Άλλα λιγότερο γνωστά οφέλη για την υγεία από την κατανάλωση θαλασσιών περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, τη μείωση της άνοιας, την μείωση της αρθρίτιδας, τον περιορισμό του καρκίνου του προστάτη (FAO, 2023). Επίσης είναι ένα ωφέλιμο τρόφιμο ειδικότερα για δίαιτες που έχουν ως σκοπό τον μετριασμό του υπερβολικού βάρους ή της παχυσαρκίας (FAO, 2023).

Σύμφωνα με στοιχεία του FAO (2022) το μεγαλύτερο ποσοστό ζωικής πρωτεΐνης προέρχεται από τα ψάρια. Το 2022 καταναλώθηκαν 161 εκατομμυρίων τόνοι ψαριά, 136 εκατομμύρια τόνοι πουλερικών, 121 εκατομμύρια τόνοι χοιρινού κρέατος και 72 εκατομμύρια τόνοι βόειο και μοσχαρίσιου κρέατος.

Στην Ευρώπη μέση ετήσια κατά κεφαλήν κατανάλωση το 2021, αν λάβουμε υπόψη την προσαρμογή λόγω Brexit εκτιμάται στα 22,6 κιλά (HAPO, 2023).

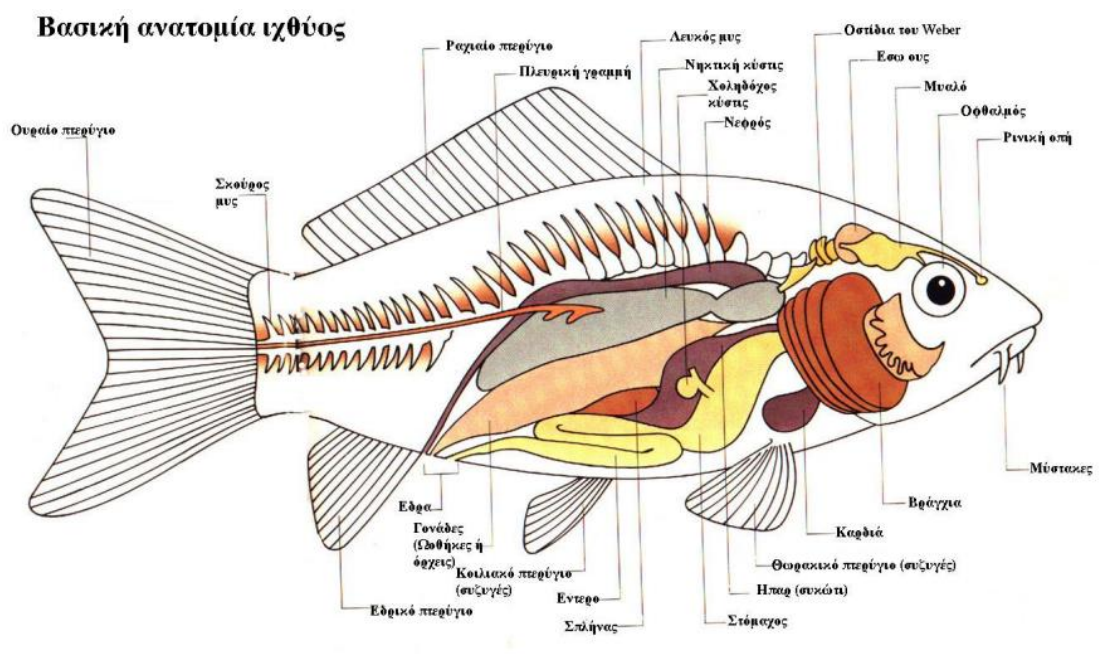
Παρόλα αυτά η κατανάλωση των θαλασσιών είναι συχνά ένα κομμάτι που λείπει και λαμβάνει ελάχιστη ή ανεπαρκή προσοχή στην διαμόρφωση πολιτικών που στοχεύουν στην απελευθέρωση του πλήρους δυναμικού των υδρόβιων τροφίμων και στην παγκόσμια ασφάλεια τροφίμων (Cai & Leung 2022).

6.2. Μορφολογία, σύσταση και αλλοιώσεις των ιχθύων

Οι ιχθύες, είτε πρόκειται για ψάρια εκτροφής, είτε για ψάρια ανοιχτής θαλάσσης, υπόκεινται συχνά σε κατάλληλη επεξεργασία. Μετά την εκτροφή και την αλίευση τους, είναι οι διεργασίες, μεταποίησης και συντήρησης τους. Η μεταποίηση έχει σκοπό να δημιουργήσει προϊόντα που θα καλύψουν τις ανάγκες και τις απαιτήσεις του σύγχρονου καταναλωτικού κοινού.

Το σώμα των ιχθύων αποτελείται από τα μαλακά τμήματα και από τα σκληρά τμήματα. Τα μαλακά τμήματα αποτελούνται από το δέρμα, τους μύες (ή σάρκα) και τα εσωτερικά όργανα. Η σάρκα αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος του σώματος. Τα σκληρά τμήματα αποτελούνται από τον σκελετό. Το εδώδιμο μέρος λόγω της μεγάλης θρεπτικότητας του είναι το σώμα-σάρκα των ιχθύων που αντιπροσωπεύει το 50-60% του ολικού βάρους. Για αυτό το ενδιαφέρον επεξεργασίας και μεταποίησης και συντήρησης στρέφετε γύρο από αυτό (Βαρελτζής, 2002).

Εικόνα 6.1.: Βασικά στοιχεία ανατομίας του ψαριού



Πηγή: Andrews, Exell & Carrington, τροποποιημένο από Χώτος, 2015

Η σάρκα αποτελείται από τους μυς, τον συνδετικό και τον λιπώδη ιστό, το αίμα, τα λεμφικά αγγεία και σε κάποια είδη υπάρχουν μικρά ενδομυϊκά οστά.

6.2.1. Χημική σύσταση ιχθύων

Η σάρκα του ψαριού, αποτελείται από μια ποικιλία χημικών ενώσεων που συμβάλλουν στην υφή, τη γεύση και τη θρεπτική του αξία. Κατά 70-80% αποτελείται από νερό. Επηρεάζει την υφή και στην τρυφερότητα του κρέατος. Η περιεκτικότητα σε νερό μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με το είδος, την ηλικία και το περιβάλλον του ψαριού. Η υψηλή περιεκτικότητα σε νερό κάνει τη σάρκα των ιχθύων πιο ευπαθή από άλλα κρέατα, καθώς προάγει τη μικροβιακή ανάπτυξη και τις ενζυμικές αντιδράσεις. Η ενεργότητα του ύδατος (aw) της σάρκας πρόσφατα αλιευμένων-νωπών ιχθύων προσεγγίζει τη μονάδα (εύρος 0,99–1,00), (Βαρελτζής, 2002, Τσιρώνη, 2010). Το νερό στον μυϊκό ιστό μπορεί να βρίσκεται ελεύθερο ή δεσμευμένο. Η συνεκτικότητα του κρέατος εξαρτάται από την αναλογία πρωτεϊνών και νερού.

Οι πρωτεΐνες αποτελούν το 15-20% της σύστασης ανάλογα το είδος του ψαριού, περιλαμβάνουν την ακτίνη, τη μυοσίνη, και την τροπομυοσίνη οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη συστολή των μυών και δίνουν στη σάρκα των ιχθύων τη δομή της (Βαρελτζής, 2002). Περιλαμβάνει επίσης διαλυτές πρωτεΐνες (σαρκοπλασματικές), συμπεριλαμβανομένων των ενζύμων και της μυοσφαιρίνης, που συμβάλλουν στο χρώμα και τη γεύση της σάρκας. Σε ένα μικρό ποσοστό υπάρχουν και πρωτεΐνες του συνδετικού ιστού, κυρίως κολλαγόνο.

Το λίπος αποτελεί το 1-20%, αλλά πικοίλει ανάλογα με το είδος και την εποχή του έτους (FAO,1995). Η κύρια μορφή λίπους που αποθηκεύεται στα ψάρια, η οποία παρέχει ενέργεια είναι τα τριγλυκερίδια. Η περιεκτικότητα τους σε ω-3 λιπαρά οξέα είναι ιδιαίτερα πλούσια.

Η περιεκτικότητα σε λίπος ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των ειδών, με τα λιπαρά ψάρια όπως ο σολομός, το σκουμπρί και το χέλι να έχουν πολύ υψηλότερη περιεκτικότητα σε λίπος, τα ημιλιπαρά ψάρια όπως ο κυπρίνος λιγότερη και τα ισχνά ψάρια όπως ο βακαλάος και ο λευκόσαρκος τόνος ακόμα πιο λίγο (FAO,1995, Τσιρώνη, 2010). Το λίπος συμβάλλει στη γεύση, το θερμιδικό περιεχόμενο και το διατροφικό προφίλ της σάρκας των ιχθύων .

Τα ανόργανα συστατικά αποτελούν το 1-2%, παρά την μικρή τους περιεκτικότητα είναι σημαντικά στην διατροφική αξία των ιχθύων. Περιλαμβάνουν νάτριο, κάλιο, ασβέστιο και φώσφορος. Επίσης υπάρχουν μέταλλα όπως ο σίδηρος και ιχνοστοιχεία όπως ο ψευδάργυρος, το μαγνήσιο, το ιώδιο

Από τις σημαντικότερες βιταμίνες είναι η βιταμίνη Α, είναι συμαντική για την όραση και τη λειτουργία του ανοσοποιητικού. Η βιταμίνη D που είναι απαραίτητη για την απορρόφηση του ασβεστίου και την υγεία των οστών, ιδιαίτερα πλούσια σε λιπαρά ψάρια. Επίσης οι βιταμίνες του συμπλέγματος Β, όπως η Β12, η νιασίνη (Βαρελτζής, 2002)

6.2.2. Αλλοίωση ιχθύων

Η αλλοίωση των ιχθύων αναφέρεται στις χημικές και μικροβιακές διαδικασίες που μεταβάλλουν τις αισθητηριακές ιδιότητες των ιχθύων (χρώμα, οσμή, γεύση, εμφάνιση) καθιστώντας τα μη αποδεκτά για κατανάλωση (Λουγκοβόης, 2021). Η αλλοίωση αποτελεί μια εξαιρετικά σύνθετη διαδικασία που εξελίσσεται σταδιακά, και είναι το αποτέλεσμα αυτολυτικών διεργασιών (δράση ενζύμων των ιστών και της πέψης), βακτηριακής δράσης (μέσω μικροβιακών ενζύμων), αυθόρμητων χημικών αντιδράσεων (οξειδωση λιπιδίων και χρωστικών) και απώλειας συστατικών λόγω απόπλυσης των ιχθύων στον πάγο (Lougonois & Kyraa, 2005). Εξωτερικοί παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, επηρεάζουν έντονα τις ενζυμικές αντιδράσεις και τη μικροβιακή ανάπτυξη, ενώ η σχετική υγρασία (RH) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ποιότητας των ιχθύων .

Οι μύες των ιχθύων περιέχουν τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP), η οποία παρέχει ενέργεια για τη σύσπαση των μυών. Μετά το θάνατο, οι μύες παραμένουν χαλαροί για λίγο, αλλά καθώς το ATP εξαντλείται, οι μύες συστέλλονται και γίνονται άκαμπτοι. Η ATP θεωρείται δείκτης νωπότητας για τους ιχθύες (Βαρελτζής, 2002).

Αμέσως μετά την αλίευση, ξεκινούν διάφορες αλλαγές λόγω ενζυμικής διάσπασης βασικών μορίων των ιχθύων (FAO, 2005). Η αυτολυτική και πρωτεολυτική δράση ενζύμων μπορεί να υποβαθμίσει τη σάρκα των ιχθύων , χωρίς να προκαλεί όμως τις χαρακτηριστικές δυσάρεστες οσμές της αλλοίωσης. Τα πρωτεολυτικά ένζυμα διασπούν τις πρωτεΐνες, κάνοντας τους μύες μαλακούς, ενώ τα λιπολυτικά ένζυμα διασπούν τα λίπη, επιταχύνοντας την οξειδωση, ειδικά σε ιχθύες με υψηλή

περιεκτικότητα σε λίπος. Τα γλυκολυτικά ένζυμα παράγουν γαλακτικό οξύ, με αποτέλεσμα τη μείωση του pH, κάνοντας πιο ευάλωτα στη μικροβιακή αλλοίωση (Λουγκοβόης, 2023).

Επιπλέον, μετά το θάνατο μπορεί να συμβεί μετουσίωση πρωτεϊνών λόγω αλλαγών στο pH, στη θερμοκρασία ή στη δράση ενζύμων, επηρεάζοντας την υφή του κρέατος. Το χρώμα της σάρκας μπορεί επίσης να αλλάξει λόγω διάσπασης χρωστικών και οξείδωσης. Μια σημαντική αλλαγή είναι η παραγωγή τριμεθυλαμίνης (TMA), η οποία προκύπτει από τη διάσπαση του N-οξειδίου της τριμεθυλαμίνης (TMAO), το οποίο υπάρχει σε πολλά θαλάσσια ψάρια. Το TMA ευθύνεται για την χαρακτηριστική - μυρωδιά και αποτελεί βασικό δείκτη αλλοίωσης (FAO, 1995α).

Συνεπώς, οι συνθήκες διατήρησης και επεξεργασίας είναι κρίσιμες για τη διασφάλιση της ποιότητας και της υγιεινής των ιχθύων.

6.2.3.Μικροβιακή χλωρίδα των ιχθύων και μικροβιακή αλλοίωση

Η μικροβιακή χλωρίδα των ιχθυρών που προέρχονται από γλυκά ύδατα αποτελείται κυρίως από μεσόφιλα θετικά κατά Gram βακτήρια, ενώ σε αυτά που προέρχονται από θαλάσσια ύδατα αποτελείται από αρνητικά κατά Gram βακτήρια (Γαϊτής, 2010). Η μικροβιακή χλωρίδα αποτελεί ένδειξη της ποιότητας των υδάτων. Απαντάται σε τρία σημεία στη βλέννα της σάρκας, στα βράγχια και στο πεπτικό σύστημα. Η φυσική μικροχλωρίδα των νωπών ιχθύων είναι πολύ υψηλή και αποτελείται από ποικιλία μικροοργανισμών. Ο μυϊκός ιστός θεωρείται πρακτικά στείρος. Ωστόσο ανάλογα της συνθήκης συντήρησης και επεξεργασίας, ένα μέρος από αυτούς του μικροοργανισμούς μπορεί να γίνει αίτιο αλλοίωσης (Τσιρώνη, 2010).

Οι ειδικοί αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί της τυπικής χλωρίδας των ιχθύων των εύκρατων νερών περιλαμβάνει κυρίως αρνητικά κατά Gram βακτήρια που ανήκουν στα γένη *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Psychrobacter*, *Alcaligenes*, *Shewanella* και *Flavobacterium* και από τα θετικά κατά Gram γένη βακτηρίων όπως *Micrococcus*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium* (Λουγκοβόης, 2021). Τα είδη του γένους *Aeromonas* θεωρούνται τυπικά της χλωρίδας των ιχθύων του γλυκού

νερού, ενώ συνήθως απουσιάζουν από τα θαλασσινά ψάρια. Αντίθετα, τα *Vibrio*, *Shewanella* θεωρούνται τυπικά της χλωρίδας των θαλασσινών ιχθύων .

Εκτός όμως από την φυσική μικροβιακή χλωρίδα κάθε προϊόν μπορεί να παρουσιάζει ιδιαιτερότητες προς την μικροβιακή ανάπτυξη. Για τα προϊόντα των ιχθύων οι τυχόν διαφοροποιήσεις μπορεί να οφείλονται στην επιμόλυνση του οργανισμού από το περιβάλλον ή κατά την επεξεργασία του.

Η μικροβιακή αλλοίωση συμβαίνει κυρίως λόγω της μεταβολής της ενεργού οξύτητας του τροφίμου (pH) και την μεταβολή της ενεργότητας του νερού (a_w), δημιουργώντας έτσι ένα άριστο περιβάλλον για την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Η σάρκα των ιχθύων μπορεί να γίνει πρόσφορο περιβάλλον της ανάπτυξης μικροοργανισμών έτσι τα ψάρια θεωρούνται τρόφιμα αρκετά επιρρεπή στην μικροβιακή αλλοίωση. Η μικροβιακή εκδήλωση φαίνεται άμεσα καθώς συμβαίνει μεγάλη αλλαγή στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Έτσι κατά την μικροβιακή αλλοίωση παρατηρείται αποχρωματισμός, παραγωγή γλοιώδους υγρού και παραγωγή οσμών και γεύσης αλλοίωσης (Tahiluddin *et al.* 2022).

Ειδικότερα τα ευρήματα για τη *Listeria monocytogenes* στο περιβάλλον εκτροφής στις υδατοκαλλιέργειες δείχνουν ότι τα βακτήρια βρίσκονται πιο συχνά στους ιστούς των ιχθύων, ιδιαίτερα στα βράγχια, σε σύγκριση με το περιβάλλον νερό (Hofman *et. al.*, 2003; Miettinen & Wirtanen, 2005). Οι Hoffman *et al.* (2003) παρατήρησαν η *Listeria* spp. μπορεί μερικές φορές να βρεθεί και στο δέρμα των ιχθύων.

Σε ότι αφορά το νερό της εκτροφής φαίνεται ότι η *L.m.* δεν ανιχνεύεται στο θαλασσινό νερό ενισχύοντας την ιδέα ότι το θαλάσσιο υδάτινο περιβάλλον στα ιχθυοτροφεία δεν αποτελεί σημαντική δεξαμενή μόλυνσης (Ben Embarek *et al.* 2002; Miettinen & Wirtanen 2005; Hansen *et.al.*, 2006). Εν αντίθεσή έρευνες που έγιναν σε γλυκά ή υφάλμυρα ύδατα έδειξαν την εποχιακή διακύμανση της *L.m.* (Hansen *et. al.*, 2005; Razavilar *et. al.*, 2013).

6.3. Η επεξεργασία των ιχθύων- τεχνικές συντήρησης και μεταποίησης

Η θανάτωση των ιχθύων εκτροφής, γίνεται σε νερό με πάγο. Ο πάγος πρέπει να προέρχεται από πόσιμο νερό ή τουλάχιστον από καθαρό θαλασσινό νερό και να

βρίσκεται σε αναλογία προς το μέγεθος του ψαριού 1/3. Κατά τη θανάτωση η εσωτερική θερμοκρασία των ιχθύων πρέπει να μειωθεί στους 0-4 °C. Παράλληλα, πρέπει να προστίθεται ικανή ποσότητα νερού ώστε να δημιουργείται ένα μίγμα το οποίο θα προστατεύει τα ψάρια από τη σύνθλιψη και θα συμβάλλει στη διατήρηση του φυσικού τους σχήματος (ΟΠΕΓΕΠ, AGROCERT 4-1). Αφού γίνει η αλίευση των ιχθύων πρέπει άμεσα να αρχίσει η επεξεργασία τους. Για πολλά είδη ως πρώτο στάδιο αποτελεί η αφαίμαξη. Στα ψάρια μικρότερα του ενός κιλού συνήθως δεν γίνεται η αφαίμαξη. Ο εκσπλαχνισμός ανάλογα το είδος του ιχθύος και τον τρόπο αλίευσης γίνεται είτε κατευθείαν μετά την αλίευση (τόνος, σολομός) πάνω στο αλιευτικό σκάφος, είτε στο συσκευαστήριο (τσιπούρα, λαβράκι, ιριδίζουσα πέστροφα). Η διαδικασία του εκσπλαχνισμού πρέπει να γίνει άμεσα και με προσοχή ώστε να αποφευχθεί επιμόλυνση της σάρκας από τα σπλάχνα που περιέχουν βακτηριακό φορτίο. Καθώς η εμφάνιση των βραγχίων είναι κριτήριο ποιότητας του ιχθύος, ειδικότερα αν είναι να πουληθεί ολόκληρο, δεν γίνεται απομάκρυνση τους. Αφού τα ψάρια μεταφερθούν στο συσκευαστήριο γίνεται η ποιοτική τους αξιολόγηση και η διαλογή κατά μέγεθος. Η διαλογή κατά μέγεθος είναι σημαντική ειδικότερα στις διαδικασίες που περιλαμβάνουν μηχανικά μέσα. Σε περίπτωση ιχθύων που δεν γίνεται αφαίρεση του δέρματος, πρέπει να πραγματοποιηθεί απολέπιση. Η απολέπιση γίνεται με την βοήθεια αιχμηρού αντικειμένου σε ρεύμα νερού ή με την βοήθεια ειδικού μηχανήματος. Αυτό είναι το τελευταίο στάδιο για τα ψάρια που προορίζονται να πουληθούν ολόκληρα ως νωπά. Οι πρακτικές διαχείρισης που χρησιμοποιούνται από τους χειριστές ιχθύων από την αρχή της αλίευσης έως την προετοιμασία είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της ακεραιότητας των ιχθύων. Διάφορες μέθοδοι έχουν εφαρμοστεί όλα αυτά τα χρόνια στον κόσμο για τη διατήρηση των ιχθύων για την παράταση της διάρκειας ζωής τους, όπως η ψύξη, το αλάτισμα και το κάπνισμα.

6.3.1. Συντήρηση ιχθύων

Τα αλιεύματα συντηρούνται στην ψύξη για αρκετά μεγάλο διάστημα χωρίς να υποβαθμίζεται η ποιότητα τους. Πρέπει να ψύχονται απευθείας μετά την αλίευση τους, καθώς αυτό βοηθάει στην διατήρηση καλής φυσικής κατάστασης και εν γέννη την πιο εύκολη επεξεργασία τους. Οι ψύξη πρέπει να γίνεται στους 0 °C και να συντηρούνται έως να διατεθούν στον καταναλωτή. Οι πιο διαδεδομένες μέθοδοι ψύξης είναι. Η ψύξη με βύθιση σε υγρό χαμηλής θερμοκρασίας σε άλμη ή θαλασσινό νερό στους, 1°C - 4°C.

Η ψύξη με ψεκασμό άλμης ή θαλασσινό νερό. Τα ψάρια τοποθετούνται σε ειδικό χώρο με την βοήθεια ψεκαστικού μηχανήματος εκτινάσσεται άλμη σε θερμοκρασία $-1,5^{\circ}\text{C}$ έως 0°C (Βαρελτζής, 2002).

Η ψύξη με πάγο είναι η πιο συνηθισμένη διαδικασία ψύξης. Κομμάτια πάγου διαμέτρου 2-3cm τοποθετούνται μαζί με τα ψάρια μέσα στα κιβώτια μεταφοράς τους. Η ποσότητα του πάγου που χρησιμοποιείται για την ψύξη των ιχθύων υπολογίζεται ως το 50-100% του βάρους τους.

Κατά την κατάψυξη συμβαίνει κρυστάλλωση (πήξη) του μυϊκού οπού. Αυτή επιτυγχάνεται, με την μείωση της θερμοκρασίας. Το σώμα γίνεται συμπαγές, σκληρό και άκαμπτο. Το σημείο πήξης του μυϊκού οπού των ιχθύων είναι μεταξύ $-0,6$ και -2°C (Βαρελτζής, 2002).

6.3.2 Μέθοδοι επεξεργασίας και συσκευασίας ιχθύων

6.3.2.1 Κάπνιση

Η κάπνιση είναι από τους πιο παλιούς τρόπους συντήρησης. Μπορεί να εφαρμοστεί με δύο τρόπους την θερμή και την ψυχρή κάπνιση. Η διαφορά των δύο αυτών μεθόδων, έγκειται στις μέγιστες θερμοκρασίες που εκτίθεται το προϊόν (Belichovska *et. al.*, 2019). Πριν από την κάπνιση προηγείται το πλύσιμο, ο εκσπλαχνισμός, η αλάτιση και η αποξήρανσή τους. Το ψάρι είτε τεμαχίζεται σε μικρά κομμάτια είτε καπνίζεται ολόκληρο ανάλογα το είδος. Η μέθοδος βασίζεται κυρίως στις πτητικές ουσίες που δημιουργείται από την καύση των ξύλων. Σήμερα εκτός από μέθοδο συντήρησης χρησιμοποιείται για την δημιουργία προϊόντων ευχάριστης οσμής και γεύσης.

Αρχικά το ψάρι, αλατίζεται με την χρήση άλμης $80-90^{\circ}\text{B}$ και μαρινάρεται με άλλα μπαχαρικά, η διαδικασία κρατάει 2-4 ώρες. Ακολουθεί η φάση ξήρανσης προκειμένου να αφαιρεθεί επιπλέον υγρασία από την επιφάνειά του, η οποία διαρκεί 1-2 ώρες, καθιστώντας το έτοιμο για την κάπνιση. Η υγρασία παίζει σημαντικό ρόλο στη διεύθυνση των καπνιστικών ουσιών και στην τελική ποιότητα του προϊόντος (Belichovska *et. al.*, 2019).

Κατά την θερμή κάπνιση γίνεται τοποθέτηση στον θάλαμο κάπνισης, όπου εκτίθεται σε καπνό για 4 ώρες. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης, τα ψάρια εκτίθενται σε θερμοκρασία 75-80°C για 3-4 ώρες αποκτώντας το χαρακτηριστικό καφέ χρώμα

Πριν από τη συσκευασία γίνεται ψύξη του προϊόντος. Η σωστή ψύξη είναι σημαντική για να διατηρηθεί η ποιότητα και η γεύση του καπνιστού προϊόντος

Η θερμή κάπνιση αποτελεί έναν παραδοσιακό αλλά και σύγχρονο τρόπο επεξεργασίας τροφίμων, με στόχο τη συντήρηση και τη βελτίωση της γεύσης. Χρησιμοποιώντας την κατάλληλη θερμοκρασία και ξύλο, η διαδικασία προσδίδει στα τρόφιμα μοναδικές αρωματικές και γευστικές ιδιότητες, ενώ παράλληλα τα προστατεύει από τη μικροβιακή αλλοίωση (Belichovska *et. al.*, 2019).

Στην ψυχρή κάπνιση η διαδικασία που ακολουθείτε είναι ίδια με την θερμή κάπνιση. Η κύρια διαφορά έγκειται στις θερμοκρασίες που εκτίθεται το προϊόν. Κατά την πρώτη φάση της κάπνισης η οποία διαρκεί 6-8 ώρες σε σταθερή θερμοκρασία 20° C-25°C. Σε αυτή την φάση οι δίοδοι του αέρα παραμένουν ανοιχτοί. Στην δεύτερη φάση αρχίζει η ροή καπνού στους 27°C και ανάλογα το είδος του ψαριού μπορεί να φτάνει και στους 40°C (Belichovska *et. al.*, 2019).

6.3.2.2. Αλάτιση

Τα ψάρια καθαρίζονται από τα εντόσθια τους και, ανάλογα με το μέγεθος και τον τύπο, κόβονται σε φέτες ή αφήνονται ολόκληρα. Τα ψάρια τοποθετούνται σε στρώσεις με χοντρό αλάτι, είτε σε βαρέλια, είτε σε άλλους κλειστούς χώρους. Το αλάτι δρα ως φυσικό συντηρητικό, αφαιρώντας την υγρασία και αποτρέποντας την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Η διάρκεια αλατίσματος μπορεί να ποικίλλει, από μερικές ημέρες έως και εβδομάδες, ανάλογα με το είδος του ψαριού και την επιθυμητή ένταση γεύσης.

Μπορεί να εφαρμοστεί είτε ξηρή είτε υγρή αλάτιση με εμβάπτιση σε άλμη. Η περιεκτικότητα σε αλάτι μπορεί να είναι 16%-20%, ανάλογα με το είδος και το παραγόμενο προϊόν (Βαρελτζής, 2002)..

Μετά το αρχικό αλάτισμα, τα ψάρια μπορεί να αποθηκευτούν για να ωριμάσουν περαιτέρω. Η ωρίμανση επιτρέπει στο αλάτι να διαπεράσει ομοιόμορφα τη σάρκα του ψαριού, ενισχύοντας τη γεύση και την υφή, μειώνοντας την περιεκτικότητα σε υγρασία. Με αυτόν τον τρόπο τα προϊόντα γίνονται πιο ανθεκτικά στην βακτηριακή

ανάπτυξη επιμηκώνοντας τον χρόνο ζωής τους. Σε ορισμένες περιπτώσεις, τα ψάρια κρεμιούνται για να στεγνώσουν σε αεριζόμενους χώρους. Η διαδικασία αυτή βοηθά να μειωθεί περαιτέρω η υγρασία, επιμηκώνοντας τον χρόνο συντήρησης.

6.3.2.3. Κονσερβοποίηση

Τα ψάρια καθαρίζονται από τα εντόσθια τους και, ανάλογα με το μέγεθος και τον τύπο, κόβονται σε φέτες ή αφήνονται ολόκληρα. Το παρασκευασμένο ψάρι συσκευάζεται σε αποστειρωμένα κουτιά, τα οποία μπορεί να περιέχουν πρόσθετα υγρά όπως νερό, λάδι, άλμη ή άλλες σάλτσες. Μπορούν να συμπεριληφθούν προαιρετικά συστατικά όπως μπαχαρικά ή λαχανικά.

Τα δοχεία σφραγίζονται αεροστεγώς και στη συνέχεια υποβάλλονται σε υψηλή θερμοκρασία 115°C -121° C, υπό πίεση (Βαρελτζής, 2002). Αυτή η θερμοκρασία σκοτώνει βακτήρια, ένζυμα και άλλους μικροοργανισμούς, αποτρέποντας την αλλοίωση. Πριν την κονσερβοποίηση μπορεί να έχουν υποστεί και οποιαδήποτε από τις παραπάνω τεχνικές (αλάτιση ή κάπνιση), ανάλογα με το τύπο του παραγομένου.

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι πριν την τοποθέτηση των προϊόντων στα δοχεία, τα δοχεία θα πρέπει να έχουν υποστεί αποστείρωση πριν.

Μετά τη θερμική επεξεργασία, τα δοχεία ψύχονται γρήγορα και επισημαίνονται προς πώληση. Η διαδικασία της κονσερβοποίησης συντηρεί το ψάρι και διασφαλίζει την ασφάλειά του για μακροχρόνια αποθήκευσή

6.3.2.4. Συσκευασία

Η συσκευασία έχει ως πρωταρχικό ρόλο να προστατέψει το προϊόν από την αλλοίωση. Έτσι μια κατάλληλη συσκευασία μπορεί περιορίσει την δημιουργία δυσμενών αλλαγών στην εμφάνιση, τη γεύση, την οσμή και την υφή τους. Η πιο συχνές επιλογές συσκευασίας συσκευασίας των φρέσκων ιχθύων είναι η αερόβια συσκευασία, και η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (Alam, 2017).

Η αερόβια συσκευασία προσφέρει ένα περιβάλλον πλούσιο σε οξυγόνο συμβάλλοντας στην διατήρηση της φρεσκάδας των ιχθύων. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της ελεγχόμενης ανταλλαγής οξυγόνου.

Η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας περιλαμβάνει την συσκευασία ενός τροφίμου σε μία ατμόσφαιρα που έχει διαφορετική σύσταση από αυτή του αέρα. Υπάρχουν δύο μορφές τροποποιημένης ατμόσφαιρας εκείνη της συσκευασίας υπό κενό (vacuum packaging) και αυτή της συσκευασίας όπου γίνεται εμφύσηση αέριου μίγματος (gas -flush packaging),(Alam, 2017).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΗΣ *Listeria monocytogenes* ΣΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΝΩΠΩΝ ΙΧΘΥΩΝ

7.1. ΤΑ ΨΑΡΙΑ ΩΣ ΕΤΟΙΜΑ ΠΡΟΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΤΡΟΦΙΜΑ

Οι καταναλωτές αναζητούν προϊόντα ιχθύων που ετοιμάζονται και σερβίρονται εύκολα, με προτίμηση στην πιο βολική συσκευασία. Τα ψάρια σε κονσέρβες τα έτοιμα για μαγείρεμα (RTC) και έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα, είναι επιλογές που λαμβάνουν ιδιαίτερης προτίμησης από το καταναλωτικό κοινό.

Σύμφωνα με τους ορισμούς που αναφέρθηκαν σε προηγούμενα κεφάλαια για τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα, ως προϊόντα ιχθύων έτοιμα προς κατανάλωση νοούνται τα προμαγειρεμένα, προεπεξεργασμένα ή παρασκευασμένα θαλασσινά που δεν χρειάζονται περαιτέρω μαγείρεμα ή θερμική κατεργασία πριν από την κατανάλωση τους. Τα προϊόντα θαλασσινών είναι διαθέσιμα σε διάφορες μορφές, στην αγορά.

Ως κατεξοχήν έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα ψαριού μπορούν να αναφερθούν τα προμαγειρεμένα ψάρια τα οποία περιλαμβάνουν φιλέτα ψαριού συνοδευόμενα από βραστά λαχανικά, που είναι ήδη μαγειρεμένα και απαιτούν μόνο ζέσταμα. Επίσης οι προ συσκευασμένες σαλάτες και σάντουιτς με θαλασσινά όπως τόνος, γαρίδες ή καβούρι, συχνά με μαγιονέζα ή άλλα ντρέσινγκ. Στο εμπόριο επίσης υπάρχουν προμαγειρεμένες σουπές θαλασσινών που πωλούνται ως έτοιμα γεύματα στο ψυγείο και είναι έτοιμες για θέρμανση και σερβίρισμα.

Εξ ορισμού όμως άλλα προϊόντα που μπορούν να αναφερθούν ως έτοιμα προς κατανάλωση είναι και τα εξής:

Το καπνιστό ψάρι είναι από τα πιο δημοφιλή προϊόντα στην αγορά. Τα είδη που συναντάμε ως καπνιστά ψάρια, περιλαμβάνουν τον σολομό, την ιριδίζουσα πέστροφα, το σκουμπρί και το μπακαλιάρο. Αυτά διατίθενται στην αγορά κυρίως συσκευασμένα και σε συνθήκες συντήρησης 0-4°C αλλά μπορεί να διατίθενται και ως προϊόντα κοπής στους πάγκους των αλλαντικών.

Τα κονσερβοποιημένα ψάρια είναι από τα πιο διαδεδομένα προϊόντα ψαριού. Ο τόνος, η σαρδέλα, ο γαύρος και το σκουμπρί είναι τα πιο κοινά κονσερβοποιημένα είδη. Αυτά τα προϊόντα διατηρούνται σε λάδι, νερό ή άλμη και μπορούν να διαρκέσουν για μήνες ή και χρόνια εάν αποθηκευτούν σωστά.

Επίσης προϊόντα διατηρημένα σε άλμη και ως τουρσί, είναι η ρέγγα, η λακέρδα η σαρδέλα, το σκουμπρί παρασκευάζονται με ψάρια που έχουν πολτοποιηθεί με ξύδι, χυμό εσπεριδοειδών ή άλλες μαρινάδες, καθιστώντας το ψάρι ασφαλές για κατανάλωση χωρίς περαιτέρω μαγείρεμα. Διατίθενται είτε συσκευασμένα είτε χύμα στους πάγκους κοπής αλλαντικών.

Τα τελευταία χρόνια η κατανάλωση του Ασιατικής καταγωγής sushi και sashimi έχει αρχίσει να έχει όλο και περισσότερο αποδοχή από το καταναλωτικό κοινό. Έτσι στην αγορά έχουν αρχίσει να υπάρχουν προϊόντα ψαριού που απευθύνονται κατεξοχήν για την παρασκευή sushi. Αυτά αναφέρονται ως sushi grade fish (or sashimi grade), είναι ένας όρος ποιότητας που δεν υπόκειται σε κάποια νομοθεσία. Η συχνότερη διαδικασία που ακολουθείται πριν την επεξεργασία αυτών των προϊόντων είναι η διατήρησή τους στην κατάψυξη. Συνήθως ολόκληρο το ψάρι ως νωπό προϊόν επεξεργάζεται στις κουζίνες των επιχειρήσεων εστίασης. Τα ψάρια που συνήθως χρησιμοποιούνται είναι ο τόνος, ο σολομός ενώ τα τελευταία χρόνια υπάρχει μια αυξανόμενη προτίμηση και στο λαβράκι.

Τα μαριναρισμένα ψάρια που σερβίρονται ως κρύα πιάτα στην εστίαση έχουν την παράδοση τους τόσο στην ευρωπαϊκή όσο και στην μεσογειακή κουζίνα. Αυτά τα πιάτα περιέχουν μαρινάδες που τους δίνουν ιδιαίτερη γεύση και προάγουν την συντήρησή τους. Το ψάρι συνήθως επεξεργάζεται ολόκληρο ως πρώτη ύλη στις κουζίνες των επιχειρήσεων εστίασης. Σε αυτά τα πιάτα στο παρασκεύασμα δεν περνάει από καμία θερμική επεξεργασία αλλά το ‘ ψήσιμο του ‘ προέρχεται από το μαρινάρισμα του με όξινα υλικά ή αλάτι.

Οι μαρινάδες με βάση τα οξέα είναι μαρινάδες που περιέχουν χυμούς λεμονιού και άλλων εσπεριδοειδών ή ξύδι, και μπορούν να μειώσουν το pH, δημιουργώντας ένα περιβάλλον λιγότερο ευνοϊκό για την ανάπτυξη βακτηρίων. Οι μαρινάδες μπορεί να αναστέλλουν ορισμένα παθογόνα, δεν είναι όμως πάντα επαρκείς για την εξάλειψη των βακτηρίων.

Οι μαρινάδες με βάση το αλάτι χρησιμοποιούνται συνήθως ως συντηρητικό. Το αλάτι τραβάει την υγρασία από τα ψάρια δημιουργώντας ένα περιβάλλον όπου τα βακτήρια δυσκολεύονται να ευδοκιμήσουν. Ωστόσο, μπορεί να μην αποτρέψουν πλήρως τη βακτηριακή μόλυνση στα ωμά ψάρια.

Το Ceviche έχει τις ρίζες του στην λατινική Αμερική. Το ψάρι κόβεται σε μικρούς πεπλατυσμένους κύβους. Στην συνέχεια γίνεται μαρινάρισμα με χυμούς εσπεριδοειδών και μπαχαρικών συνήθως chilly τα οποία μετουσιώνουν τις πρωτεΐνες της σάρκας του ψαριού. Για την παρασκευή αυτή χρησιμοποιούνται ψάρια, όπως το λαβράκι, η σφυρίδα, η συναγρίδα, το μαγιάτικο, ο βλάχος, η στήρα, κ.α.

Άλλες παραλλαγές που έχουν εμφανιστεί τα τελευταία χρόνια στην γαστρονομική κουλτούρα είναι το tartare και το carpaccio, παρασκευές που έχουν την ίδια βάση με το ceviche. Η διαφορά έγκειται στον τρόπο κοπής τους ψαριού.

Το κοινό σημείο σε όλες αυτές τις παρασκευές είναι ότι το ψάρι δεν περνάει από θερμική επεξεργασία και σερβίρεται ωμό. Έτσι είναι σημαντική η σωστή υγιεινή διαχείρισης, συντήρησης του καθώς και άμεση κατανάλωση του.

Εικόνα 7.1. Παραδείγματα RTE προϊόντων ψαριών



7.1.1. Πιθανότητα ανάπτυξης *L.m.* στα RTE-ψάρια

Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι τα τρόφιμα που ενέχουν τον μεγαλύτερο κίνδυνο τροφιμογενούς λιστερίωσης είναι εκείνα τα τρόφιμα που έχουν εγγενή χαρακτηριστικά (pH και ενεργότητα νερού) υποστηρίζουν την ανάπτυξη του *L. monocytogenes*. Η πιθανότητα ύπαρξης *L.m.* στα RTE τρόφιμα ψαριού έχει απασχολήσει τους ερευνητές από την αρχή της δεκαετίας του 90 (Farber, 1991). Ειδικότερα για την ανάπτυξη για τον καπνιστό σολομό και την καπνιστή πέστροφα (Rovick,2000, Hansen *et al.*, 2005, Mettinen & Wirtanen, 2005, Nadia *et. al.*, 2012, Ben Embarek and Huss, 1993, Buchanan *et. al.*, 2006). Σύμφωνα με τους Acciari *et. al.*, 2017, μεταξύ 778 συσκευασμένων καπνιστών ψαριών από 50 διαφορετικούς κατασκευαστές που βρίσκονται σε 12 χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, Τα 157 δείγματα (20,2%) απόμονώθηκε η *L. monocytogenes* και σε 26 δείγματα (3,3%) ανευρισκόταν σε υψηλότερα από 100 CFU/g.

Επίσης οι Pao *et al.*, 2008 έδειξαν ότι υπάρχει διαφορετική πιθανότητα ανάπτυξης ακόμα και μεταξύ των ειδών, για το σολομό υπολογίστηκε στα 25 γρ η πιθανότητα ανάπτυξης 9,4% , για την πέστροφα 2,8% για την τηλάπια, 2,8%. Ομοίως και οι Hansen *et. al.*, 2005 βρίσκουν διαφορά στην πιθανότητα ανάπτυξης μεταξύ του σολομού και της σολομονοπέστροφας.

Καθώς ο καπνιστός σολομός έχει μελετηθεί αρκετά αξίζει να αναφέρουμε και κάποια στοιχεία τη *Listeria monocytogenes* σε sushi και sashimi. Παρά το γεγονός ότι έχουν μικρή διάρκεια ζωής (συνήθως λιγότερο από πέντε ημέρες), υπάρχουν ανησυχίες για τον πιθανό κίνδυνο που προκαλεί η *L. monocytogenes*. Οι Atanassova, Reich και Klein (2008) βρήκαν *L. monocytogenes* στο 3,2% των φρέσκων δειγμάτων sashimi, ενώ στα κατεψυγμένα δείγματα shushi. Έρευνα του FSANZ στην Αυστραλία, ανέφερε ποσοστό παρουσίας *L. monocytogenes* στο 3,0% (26/850) των δειγμάτων sashimi, χαμηλότερο από μια προηγούμενη μελέτη που βρήκε ποσοστό μόλυνσης 12,7% (Millard & Rockliff, 2003). Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι ένας από τους κρίσιμους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της *L. monocytogenes* στο sushi είναι η χρήση του ρυζιού με ξύδι, το οποίο μειώνει το pH του προϊόντος. Για παράδειγμα, στο nigiri, στο sushi, το pH του ψαριού μειώνεται κατά περίπου 0,2–0,6 όταν έρχεται σε επαφή με το ρύζι με ξύδι. Αυτή η μείωση του pH μπορεί να περιορίσει περαιτέρω την ανάπτυξη της *L. monocytogenes*. Ο Skjerdal, Reitehaug και Eckner (2014)

παρατήρησαν ότι η ανάπτυξη της *L. monocytogenes* ήταν πιο αργή σε δείγματα nigiri σε σύγκριση με το sashimi, λόγω της οξύτητας του ρυζιού με ξύδι.

Για τα υπόλοιπα προϊόντα δεν υπάρχει βιβλιογραφία που να έχει μελετηθεί η πιθανότητα ύπαρξης ή ανάπτυξης της *L.m.*

7.2. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΣΤΑ RTE ΨΑΡΙΑ ΚΑΙ ΚΑΝΟΝΙΣΤΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ

Οι καθιερωμένες ενδογενείς συνθήκες των τροφίμων που αναστέλλουν την ανάπτυξη του *L. monocytogenes* περιλαμβάνουν pH κάτω από 4,4, ενεργότητα ύδατος (a_w) κάτω από 0,92, ή έναν συνδυασμό pH κάτω από 5,0 και a_w κάτω από 0,94, καθώς και επίπεδα χλωριούχου νατρίου (NaCl) που υπερβαίνουν το 16%. Επιπλέον, η κατάψυξη στους -18°C θεωρείται ένας αποτελεσματικός εξωγενής παράγοντας που αποτρέπει την ανάπτυξη του μικροοργανισμού (CAC, 2009; Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2013). Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας είναι αποδεκτό ότι ψαριών προϊόντα με τιμές $\text{pH} \leq 4.4$ ή με $a_w \leq 0.92$, προϊόντα με τιμές $\text{pH} \leq 5.0$ και $a_w \leq 0.94$ και προϊόντα με διάρκεια ζωής μικρότερη των 5 ημερών, δεν θεωρούνται ικανά να υποστηρίξουν την ανάπτυξη της *L. monocytogenes* (Atanasova *et. al.*, 2008, Hansen *et. al* 2005, Cambarin *et.al*, 2012).

Η παρακολούθηση και ο έλεγχος των τροφιμογενών ασθενειών καθώς και οι απαιτήσεις υγιεινής των τροφίμων και τα κριτήρια ασφάλειας των τροφίμων ρυθμίζονται από τη νομοθεσία της ΕΕ. Τα κριτήρια ασφάλειας των τροφίμων για τη *Listeria monocytogenes* σε έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα (RTE) εφαρμόζονται από το 2006.

Για την επιτήρηση της *L.m* στα RTE, ισχύουν δυο διαφορετικές προσεγγίσεις.

Πρώτον, η Ευρωπαϊκή Ένωση και πολλές άλλες χώρες έχουν υιοθετήσει ένα σύστημα κατάταξης κινδύνου με βάση τον τύπο του τελικού προϊόντος και την χρήση του. Δεύτερον, οι Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής και η Τουρκία έχουν υιοθετήσει τη φιλοσοφία της μη ύπαρξης της *L.monocytogenes* στα 25 γρ. , η οποία έχει οριστεί ως «μηδενική ανοχή» για τη *L. monocytogenes* στο περιβάλλον και στο τρόφιμο.

Προκειμένου να υποστηριχθεί η υπηρεσία της Επιτροπής και οι χώρες της ΕΕ στη διαχείριση μικροβιολογικών κινδύνων, δημιουργήθηκε ένα δίκτυο εργαστηρίων αναφοράς της ΕΕ για την *L. monocytogenes*.

7.2.1. Κανονιστικό πλαίσιο σε επίπεδο βιομηχανίας

Το έγγραφο συζήτησης σχετικά με τη στρατηγική για τον καθορισμό μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα στην κοινοτική νομοθεσία περιγράφει τη στρατηγική της ΕΕ για τον καθορισμό και την αναθεώρηση μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα στη νομοθεσία της ΕΕ. Η στρατηγική περιλαμβάνει τις αρχές για την ανάπτυξη και εφαρμογή των κριτηρίων και προτάσεις για μέτρα που πρέπει να ληφθούν.

Η Επιτροπή Codex Alimentarius (CAC, 2009) συνιστά στους φορείς τροφίμων να πραγματοποιούν μελέτες διάρκειας ζωής ή επικύρωσης όπου απαιτείται. Η Codex Alimentarius επιτρέπει πολλές προσεγγίσεις για να αποδειχθεί ότι το *L. monocytogenes* δεν θα αναπτυχθεί σε έτοιμα προς κατανάλωση (RTE) τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων της αξιολόγησης των χαρακτηριστικών των τροφίμων, της μελέτης φυσικά μολυσμένων τροφίμων, της διεξαγωγής δοκιμών πρόκλησης, της χρήσης προγνωστικής μοντελοποίησης, της ανασκόπησης επιστημονικής βιβλιογραφίας, της εκτέλεσης αξιολογήσεων κινδύνου ή της εξέτασης ιστορικών δεδομένων. Παρά το γεγονός ότι η Codex Alimentarius δίνει έμφαση στον σωστό σχεδιασμό των μελετών, αφήνει τις εθνικές κυβερνήσεις υπεύθυνες για την παροχή καθοδήγησης στα πρωτόκολλα μελετών διάρκειας ζωής.

- **Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 για τα μικροβιολογικά κριτήρια για τα τρόφιμα**

Είναι ο πρωταρχικός κανονισμός που θέτει μικροβιολογικά κριτήρια για διάφορα προϊόντα διατροφής, συμπεριλαμβανομένων των έτοιμων προς κατανάλωση (RTE) τροφίμων. Ορίζει αποδεκτά επίπεδα *Listeria monocytogenes* σε διάφορες κατηγορίες τροφίμων.

Σημαντικά σημεία για την *L.m.* είναι τα εξής :

Πίνακας 7.1. Κριτήρια ασφάλειας τροφίμων

MI

Κεφάλαιο 1. Κριτήρια ασφάλειας για τα τρόφιμα

Κατηγορία τροφίμων	Μικροοργανισμοί/οι τοξίνες και οι μεταβολίτες τους	Πλάνο δειγματοληψίας (*)		Όρια (°)		Αναλυτική μέθοδος αναφοράς (°)	Στάδιο στο οποίο εφαρμόζεται το κριτήριο
		n	c	m	M		
1.1 Τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση που προορίζονται για βρέφη και για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς (4)	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	Απουσία σε 25 g		EN/ISO 11290-1	Προϊόντα που διατίθενται στην αγορά κατά τη διάρκεια διατήρησής τους
1.2 Τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση ικανά να υποστηρίξουν την ανάπτυξη <i>L. monocytogenes</i> διαφορετικά από εκείνα που προορίζονται για βρέφη και για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 cfu/g (5)		EN/ISO 11290-2 (6)	Προϊόντα που διατίθενται στην αγορά κατά τη διάρκεια διατήρησής τους
		5	0	Απουσία σε 25 g (7)		EN/ISO 11290-1	Πριν το τρόφιμο αποδεσμευτεί από τον άμεσο έλεγχο του υπεύθυνου της επιχείρησης τροφίμων που το παρήγαγε
1.3 Τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση μη ικανά να υποστηρίξουν την ανάπτυξη της <i>L. monocytogenes</i> διαφορετικά από εκείνα που προορίζονται για βρέφη και για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς (4) (8)	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 cfu/g		EN/ISO 11290-2 (6)	Προϊόντα που διατίθενται στην αγορά κατά τη διάρκεια διατήρησής τους

Πηγή: Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2073/2005

Τα αποτελέσματα των δοκιμών αποδεικνύουν τη μικροβιολογική ποιότητα της ελεγχθείσας παρτίδας.

L. monocytogenes σε τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση που προορίζονται για βρέφη και για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς:

— ικανοποιητική, εάν όλες οι τιμές που παρατηρούνται υποδεικνύουν απουσία του βακτηρίου,

— μη ικανοποιητική, εάν η παρουσία του βακτηρίου ανιχνεύεται έστω και σε μία μονάδα του δείγματος.

L. monocytogenes σε τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση ικανά να υποστηρίξουν την ανάπτυξη *L. monocytogenes* πριν το τρόφιμο αποδεσμευτεί από τον άμεσο έλεγχο του υπεύθυνου της επιχείρησης τροφίμων που το παρήγαγε, όταν αυτός δεν μπορεί να αποδείξει ότι το προϊόν δεν θα υπερβαίνει το όριο των 100 cfu/g καθ' όλη τη διάρκεια διατήρησης:

— ικανοποιητική, εάν όλες οι τιμές που παρατηρούνται υποδεικνύουν απουσία του βακτηρίου,

— μη ικανοποιητική, εάν η παρουσία του βακτηρίου ανιχνεύεται έστω και σε μία μονάδα του δείγματος.

L. monocytogenes σε άλλα έτοιμα για κατανάλωση τρόφιμα και *E. coli* σε ζώντα δίθυρα μαλάκια:

— ικανοποιητική, εάν όλες οι τιμές που παρατηρούνται είναι \leq του ορίου,

— μη ικανοποιητική, εάν οποιαδήποτε από τις τιμές που παρατηρούνται είναι $>$ του ορίου

- **Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1441/2007**

Ο παρών κανονισμός αποτελεί τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 2073/2005, παρέχοντας περαιτέρω διευκρινίσεις και ενημερώσεις σχετικά με τα μικροβιολογικά κριτήρια. Ενημερώνει και αυστηροποιεί τα κριτήρια για τη *Listeria monocytogenes* στα τρόφιμα RTE, ιδιαίτερα εκείνα που μπορούν να υποστηρίξουν την ανάπτυξη της *Listeria*.

Τονίζει την ανάγκη για τους χειριστές τροφίμων να διεξάγονται Challenge test στα προϊόντα τους υπό τις συνθήκες στις οποίες θα φυλάσσονται και θα καταναλώνονται για να διασφαλίσουν ότι η *Listeria* δεν υπερβαίνει τα καθορισμένα όρια κατά τη διάρκεια ζωής.

Δεν υπάρχει αναφορά για ελέγχους *Listeria* στα νωπά ψάρια οπότε, οι έλεγχοι που γίνονται εμπίπτουν στην οδηγία -Τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση ικανά να υποστηρίξουν την ανάπτυξη *L. monocytogenes* διαφορετικά από εκείνα που προορίζονται για βρέφη και για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς ή Τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση μη ικανά να υποστηρίξουν την ανάπτυξη της *L. monocytogenes* διαφορετικά από εκείνα που προορίζονται για βρέφη και για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς. Επιπλέον για τα RTE ψάρια ισχύουν τα εξής απουσία στα 25 g πριν το τρόφιμο αποδεσμευτεί από τον άμεσο έλεγχο του υπευθύνου της επιχείρησης τροφίμων που το παρήγαγε, όταν αυτός δεν μπορεί να αποδείξει ότι το προϊόν δεν θα υπερβαίνει το όριο των 100 cfu/g καθ' όλη τη διάρκεια διατήρησης:

(Κεφάλαιο 1, Υποσημείωση 5, 2073/2005)

- **Κανονισμός (ΕΕ) 2017/625 για τους Επίσημους Ελέγχους**

Ο συγκεκριμένος κανονισμός παρέχει ένα ολοκληρωμένο πλαίσιο για τη διασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων στην Ευρωπαϊκή Ένωση, συμπεριλαμβανομένων των

μέτρων για την ανίχνευση, τον έλεγχο και την πρόληψη της *Listeria monocytogenes*. Μέσω συστηματικών και επίσημων ελέγχων, τυποποιημένων διαδικασιών δειγματοληψίας και ανάλυσης, καθώς και σαφών υποχρεώσεων. Τα κύρια σημεία περιγράφονται παρακάτω.

Οι αρμόδιες αρχές υποχρεούνται να διεξάγουν συστηματικούς και τακτικούς ελέγχους σε όλες τις φάσεις της παραγωγής, μεταποίησης και διανομής τροφίμων για να διασφαλίσουν τη συμμόρφωση με τα πρότυπα ασφάλειας, συμπεριλαμβανομένων των κριτηρίων για τη *Listeria monocytogenes*.

Οι έλεγχοι μπορούν να πραγματοποιούνται χωρίς προειδοποίηση, ιδιαίτερα όταν υπάρχει υποψία για μη συμμόρφωση ή όταν απαιτείται επαλήθευση διορθωτικών ενεργειών.

Η συχνότητα και η ένταση των ελέγχων καθορίζονται βάσει αξιολόγησης κινδύνου (Risk assessment), λαμβάνοντας υπόψη παράγοντες όπως το είδος των τροφίμων, τις διαδικασίες παραγωγής και το ιστορικό συμμόρφωσης της επιχείρησης.

Έμφαση δίνεται σε προϊόντα και εγκαταστάσεις που θεωρούνται υψηλού κινδύνου για την παρουσία της *Listeria*, όπως τα RTE τρόφιμα που δεν απαιτούν περαιτέρω θερμική επεξεργασία πριν την κατανάλωση.

Η δειγματοληψία και ανάλυση διεξάγονται μέσω τυποποιημένων διαδικασιών. Ο κανονισμός απαιτεί τη χρήση τυποποιημένων και επιστημονικά αποδεκτών μεθόδων δειγματοληψίας για την ανίχνευση της *Listeria* σε τρόφιμα και στο περιβάλλον παραγωγής. Οι διαδικασίες δειγματοληψίας πρέπει να είναι συμβατές με άλλα σχετικά πρότυπα και κανονισμούς, όπως ο Κανονισμός (ΕΚ) 2073/2005 που καθορίζει τα μικροβιολογικά κριτήρια για τα τρόφιμα.

Οι Εργαστηριακές Αναλύσεις αναλύσεις πρέπει να διεξάγονται σε διαπιστευμένα εργαστήρια που πληρούν τα πρότυπα του ISO/IEC 17025, διασφαλίζοντας την αξιοπιστία και την ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Να γίνεται χρήση διεθνώς αναγνωρισμένων και επικυρωμένων μεθόδων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της *Listeria*, εξασφαλίζοντας την εναρμόνιση και τη συγκρισιμότητα των αποτελεσμάτων.

Η νομοθεσία ορίζει και τις υποχρεώσεις και Ευθύνες των Επιχειρήσεων Τροφίμων

Σε συνεργασία με τις αρμόδιες αρχές. Οι επιχειρήσεις υποχρεούνται να παρέχουν πρόσβαση σε σχετικές πληροφορίες και αρχεία κατά τη διάρκεια των επίσημων ελέγχων. Επίσης πρέπει, να διευκολύνουν τη διεξαγωγή δειγματοληψιών και ελέγχων από τις αρμόδιες αρχές, εξασφαλίζοντας απρόσκοπτη πρόσβαση στους χώρους και τον εξοπλισμό.

Οι επιχειρήσεις πρέπει να έχουν προσαρμόσει στην παραγωγική διαδικασία συστήματα διαχείρισης ασφάλειας τροφίμων, βασισμένων στις αρχές HACCP, για τον έλεγχο κινδύνων όπως η *Listeria*. Υποχρεούνται να διεξάγουν τακτικούς εσωτερικούς ελέγχους και δειγματοληψίες για την παρακολούθηση της παρουσίας της *Listeria* και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των μέτρων ελέγχου.

Σε περίπτωση ανίχνευσης της *Listeria* πάνω από τα επιτρεπόμενα όρια, πρέπει να γίνεται άμεση παρέμβαση και να εφαρμόζονται διορθωτικές ενέργειες, συμπεριλαμβανομένης της απόσυρσης προϊόντων και της αναθεώρησης διαδικασιών.

Ο Κανονισμός υπογραμμίζει τη σημασία της κατάλληλης εκπαίδευσης και κατάρτισης του προσωπικού που εμπλέκεται στους επίσημους ελέγχους, εξασφαλίζοντας ότι διαθέτουν τις απαραίτητες γνώσεις και δεξιότητες για την αποτελεσματική ανίχνευση και διαχείριση της *Listeria*.

Τέλος προωθεί την ευαισθητοποίηση των επιχειρήσεων τροφίμων σχετικά με τους κινδύνους της *Listeria* και την ενημέρωση για τις μεθόδους πρόληψης και ελέγχου.

- **Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1441/2007**

Ο παρών κανονισμός αποτελεί τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 2073/2005, παρέχοντας περαιτέρω διευκρινίσεις και ενημερώσεις σχετικά με τα μικροβιολογικά κριτήρια. Ενημερώνει και αυστηροποιεί τα κριτήρια για τη *Listeria monocytogenes* στα τρόφιμα RTE, ιδιαίτερα εκείνα που μπορούν να υποστηρίξουν την ανάπτυξη της *Listeria*.

Challenge Test: Τονίζει την ανάγκη για τους παραγωγούς τροφίμων να δοκιμάζουν τα προϊόντα τους υπό τις συνθήκες στις οποίες θα φυλάσσονται και θα καταναλώνονται για να διασφαλίσουν ότι η *Listeria* δεν υπερβαίνει τα καθορισμένα όρια κατά τη διάρκεια ζωής.

7.3. ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΗΣ *L.m.* ΣΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η παρουσία της *L.m.* στο τελικό προϊόν και στις υπηρεσίες εστίασης φαίνεται να οφείλεται κατά κύριο λόγο στην επιμόλυνση του τροφίμου κατά την βιομηχανική επεξεργασία του (Ferreira *et. al.*, 2014, ECDC, 2014a).

Η *Listeria* μπορεί να εισαχθεί σε ένα περιβάλλον επεξεργασίας τροφίμων με ποικίλους τρόπους η μη συμμόρφωση με τις ορθές πρακτικές παραγωγής και υγιεινής επιτρέπουν στο βακτήριο να μεταφερθεί στη βιομηχανία από παπούτσια, ρούχα, εξοπλισμό μεταφοράς και τους ανθρώπους. Ειδικότερα στην βιομηχανία επεξεργασίας ψαριών αυτό μπορεί να γίνει με μολυσμένες δεξαμενές αλίευσης, φορτηγά, κιβώτια κ.α.

Έχει την ικανότητα να εγκαθίσταται και να επιβιώνει σε δυσπρόσιτα σημεία, όπως ρωγμές, αεραγωγούς και σε μηχανικά μέρη των μηχανημάτων επεξεργασίας. Επίσης η επαναλαμβανόμενη εισαγωγή των στελεχών από το εξωτερικό περιβάλλον έχει ως αποτέλεσμα το συγκεκριμένο βακτήριο να μπορεί να επιβιώνει για μεγάλα χρονικά διαστήματα, μέσα σε εργοστάσια τροφίμων (Buchanan, 2017)

Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο πολλά στελέχη της *L.m.* έχουν την ικανότητα να παράγουν πρωτεΐνες που της δίνουν την δυνατότητα να επιβιώνει κάτω από συνθήκες stress . Κάτω από αυτές τις συνθήκες φαίνεται να μπορεί να επιβιώσει σε συνθήκες θερμοκρασιακού stress, σε περιβάλλοντα υψηλής οξύτητας.

Η ικανότητα της να επιβιώνει σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών την καθιστά επικίνδυνη για διάφορα στάδια της παραγωγής. Μπορεί να επιβιώσει σε θερμοκρασίες ψύξης (μέχρι τους 0°C), επιτρέποντας την συντήρηση της στο περιβάλλον του ψυγείου επιμολύνοντας τα τρόφιμα. Αυτή η ικανότητα δίνει ένα σημαντικό πλεονέκτημα επιβίωσης σε περιβάλλοντα αποθήκευσης τροφίμων. Επίσης το ψυχρό και υγρό περιβάλλον των εγκαταστάσεων επεξεργασίας των ψαριών, ευνοεί την ανάπτυξη της. Ακόμα και στις υψηλές θερμοκρασίες φαίνεται να μπορεί να επιβιώσει και να επιμολύνει το τρόφιμο. Έτσι δεν είναι λίγες η φορές που ο θάλαμος του καπνιστηρίου έχει βρεθεί να είναι υπεύθυνος για επιμόλυνση του παραγόμενου τροφίμου (Rovick, 2000)

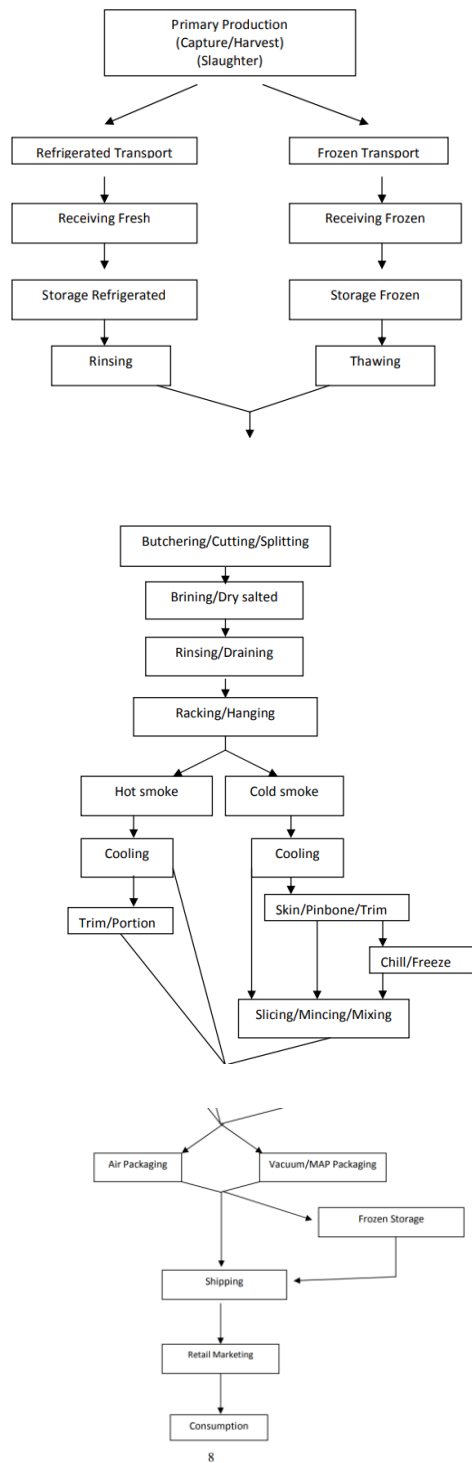
Μια ακόμα πτυχή που μελετάται τα τελευταία χρόνια είναι η ικανότητά της να σχηματίζει biofilm. Τα περισσότερα στελέχη της *L. monocytogenes* μπορούν να σχηματίσουν biofilm, αν και ο βαθμός εξαρτάται από παράγοντες όπως η σύσταση του μέσου, ο τύπος της επιφάνειας και η θερμοκρασία. Τα biofilm παρατηρούνται συχνά σε επιφάνειες από ανοξείδωτο ατσάλι και γυαλί, κοινά υλικά στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας τροφίμων (Ferreira et al., 2014). Ωστόσο, άμεσες αποδείξεις για τον σχηματισμό biofilm της *L. monocytogenes* σε περιβάλλοντα τροφίμων είναι περιορισμένες.

Η ικανότητα της *L. monocytogenes* να αντέχει στα απολυμαντικά έχει μελετηθεί ως ένας άλλος πιθανός παράγοντας επιμονής, με μικτά αποτελέσματα. Κάποια επίμονα στελέχη εμφανίζουν αντοχή στα απολυμαντικά (Carpentier & Cerf, 2011). Η ικανότητα της όμως να επιβιώνει σε όξινα και αλκαλικά περιβάλλοντα σίγουρα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη για τον τύπο του απολυμαντικού που θα χρησιμοποιηθεί

7.3.1. Η *L.m.* στην αλυσίδα επεξεργασίας

Οι Hansen et. al, 2005, έδειξαν ότι το ποσοστό των θετικών δειγμάτων για το *L. monocytogenes* αυξήθηκε καθώς τα ψάρια προχωρούσαν από τα αρχικά στάδια του εφοδιασμού προς τα στάδια επεξεργασίας. Προηγούμενες έρευνες έχουν δείξει ότι η μόλυνση τείνει να αυξάνεται όσο προχωρά η επεξεργασία. Κατά μήκος της γραμμής επεξεργασίας η *L.m.* είναι εύκολο να επιμολύνει το τρόφιμο και να διαδοθεί σε όλη την γραμμή παραγωγής. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι συγκεκριμένα σημεία στην αλυσίδα επεξεργασίας ψαριών, ιδίως μέσα στο καπνιστήριο, έχουν υψηλότερο κίνδυνο μόλυνσης από *Listeria*, και ότι απαιτείται στοχευμένη παρακολούθηση για την ταυτοποίηση και τον έλεγχο των σημείων μόλυνσης

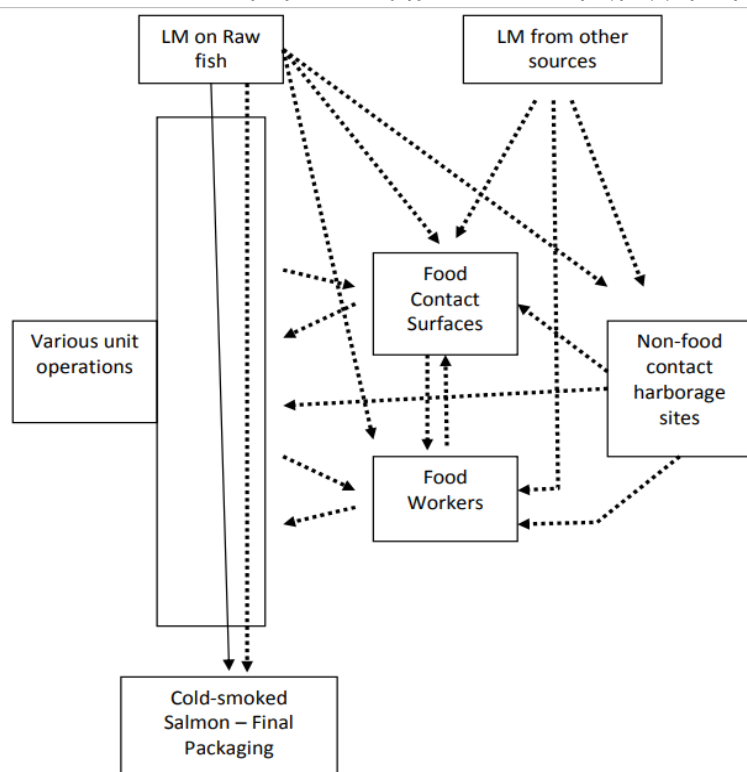
Εικόνα 7.2. Διάγραμμα ροής επεξεργασίας καπνιστού σολομού



Πηγή: Buchanan, R., Whiting, R. & Ross, T., 2006

Όπως επιβεβαιώνεται τα πιο συχνά εμπλεκόμενα τρόφιμα είναι τα προϊόντα καπνιστών ψαριών. Έτσι το στάδιο που είναι πιο συχνά μελετημένο για την *L.m.* είναι η διαδικασία της κάπνισης. Και οι περισσότερες μελέτες που έχουν γίνει για την παρουσία της *L.m.* στα εργοστάσια επεξεργασίας ψαριών είναι σε αυτά του καπνιστού σολομού.

Εικόνα 7.3. Πιθανότητες ανάπτυξης *L.m.* κατά την γραμμή παραγωγής



Πηγή: Buchanan, R., Whiting, R. & Ross, T., 2006

Συγκεκριμένα οι Buchanan *et. al.*, 2006. συμπέραναν ότι αν και η διαδικασία της ψυχρής κάπνισης μπορεί να μειώσει τα επίπεδα του παθογόνου κατά 90-99%, τυχόν βακτήρια που απομένουν μπορούν να αναπτυχθούν εκ νέου στα επόμενα βήματα (Ronick, 2000). Καθώς δεν υπάρχει επόμενη θερμική επεξεργασία τα τρόφιμα αυτά διαμοιράζονται στην εφοδιαστική αλυσίδα.

Σε αντίθεση με τα προϊόντα ψυχρής κάπνισης, η θερμή κάπνιση εκθέτει το ψάρι σε θερμοκρασίες, οι οποίες είναι γενικά επαρκής για την αδρανοποίηση του *L. monocytogenes*. Ωστόσο, παρόμοια επίπεδα μόλυνσης εντοπίζονται συχνά τόσο σε προϊόντα με ψυχρή όσο και σε θερμή κάπνιση, γεγονός που υποδηλώνει ότι η

επαναμόλυνση μετά την κάπνιση κατά την επεξεργασία και τη συσκευασία είναι σημαντικό ζήτημα.

Καταλήγοντας φαίνεται ο σημαντικός κίνδυνος επαναμόλυνσης κατά την κάπνιση λόγω περιβαλλοντικών παραγόντων στην εγκατάσταση παραγωγής. Το βακτήριο μπορεί να εισαχθεί από επιφάνειες, εξοπλισμό ή χειρισμό και η διασταυρούμενη μόλυνση είναι ένα κοινό πρόβλημα. Ο κίνδυνος μόλυνσης συνεχίζεται μετά την κάπνιση, καθώς δεν υπάρχουν περαιτέρω βήματα για τον μετριασμό του. Έτσι η διατήρηση της ψυκτικής αλυσίδας από την παραγωγή στον καταναλωτή είναι ζωτικής σημασίας για τον περιορισμό της ανάπτυξης του *L. monocytogenes*.

Έτσι τα κρίσιμα σημεία στην παραγωγή και στην διάθεση αναφέρονται τα

1. Μετά την διαδικασία της κάπνισης: Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της θερμικής επεξεργασίας για τη διασφάλιση της αποβολής του *L. monocytogenes* είναι ζωτικής σημασίας.
2. Μετά την συσκευασία: Η διασφάλιση αυστηρής υγιεινής και η ελαχιστοποίηση της διασταυρούμενης μόλυνσης σε αυτό το στάδιο είναι ζωτικής σημασίας τόσο για τα προϊόντα κρύου όσο και για τα προϊόντα ζεστού καπνίσματος.
3. Αποθήκευση λιανικής: Η διατήρηση μιας συνεπούς και επαρκούς αλυσίδας ψύξης κατά τη διανομή και στη λιανική είναι απαραίτητη για την πρόληψη της ανάπτυξης τυχόν επιζώντων ή επανεισαχθέντων *L. monocytogenes*.

Σε αυτά τα σημεία πρέπει τα μέτρα υγιεινής και οι έλεγχοι να είναι πιο εντατικοί. Οι επιχειρήσεις πρέπει να εντάξουν στα συστήματα επιτήρησης τους το έλεγχο για *L.m*.

7.4. ΤΡΟΠΟΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ -ΟΡΘΕΣ ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ

7.4.1. Μέτρα ελέγχου σε περιβάλλοντα επεξεργασίας

Ο τακτικός, ενδεδειγμένος καθαρισμός όλου του εξοπλισμού, των επιφανειών και των εργαλείων είναι απαραίτητος για την πρόληψη της δημιουργίας biofilm. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται σε δυσπρόσιτες περιοχές όπου ενδέχεται να επιμένουν βακτήρια. Οι συνήθεις περιβαλλοντικές δοκιμές για το *L. monocytogenes*, ειδικά σε περιοχές υψηλού κινδύνου όπως αποχετεύσεις, μονάδες ψύξης και γραμμές επεξεργασίας, μπορούν να βοηθήσουν στην έγκαιρη ανίχνευση της μόλυνσης.

Η διατήρηση των κατάλληλων θερμοκρασιών ψύξης και κατάψυξης συμβάλλει στον περιορισμό της ανάπτυξης του *L. monocytogenes*, αν και δεν εξαλείφει εντελώς τον κίνδυνο.

Η επιβολή αυστηρών προτύπων υγιεινής για τους εργαζομένους, συμπεριλαμβανομένου του πλυσίματος των χεριών, της χρήσης προστατευτικών ενδυμάτων και του ελέγχου της ροής του προσωπικού μεταξύ ακατέργαστων και επεξεργασμένων περιοχών, μειώνει τον κίνδυνο διασταυρούμενης μόλυνσης. Η συχνή ενημέρωση και εκπαίδευση του προσωπικού είναι απαραίτητη.

Η εφαρμογή ενός ισχυρού σχεδίου HACCP βοηθά στον εντοπισμό κρίσιμων σημείων της παραγωγικής διαδικασίας όπου είναι πιο πιθανή η μόλυνση και διασφαλίζει ότι υπάρχουν προληπτικά μέτρα.

Εικόνα 7.4. Πλάνο δειγματοληψιών κατά την εκτροφή και την επεξεργασία των ψαριών

TYPE	RISK	FREQUENCY	PARAMETER / LIMITS	SAMPLING POINT
Marine Water	MICROBIOLOGICAL	ANNUALLY /FARM & HATCHER Y	1.TPC /ml 36°C 2. TPC /ml 22°C 3. Total coliforms /100 ml 4. E. coli /100ml 5. Enterococci /100ml	FARMING WATER
Fish Flesh	MICROBIOLOGICAL	<u>WHOLE FISH</u> 2 / YEAR / SPECIE / GROUP OF FARMS	1. TPC /g @ 30°C <10 ⁵ to <10 ⁷ 2. Total coliforms /g <10 ³ to <10 ⁵ 3. Listeria monocytogenes /g <10 to <10 ² 4. Staphylococcus aureus /g <10 ² 5. E coli /g <10 to <10 ² 6. Pseudomonas spp /g <10 ³ to <10 ⁶	
		<u>PROCESSED FISH</u> MINIMUM 4 / WEEK / PROCESSING SITE	1. TPC /g @ 30°C <10 ⁵ to <10 ⁷ 2. Total coliforms /g <10 ³ to <10 ⁵ 3. Listeria monocytogenes /g <10 to <10 ² 4. Staphylococcus aureus /g <10 ² 5. E coli /g <10 to <10 ²	
		<u>FROZEN FISH</u> MINIMUM 2 SAMPLES / SPECIE/MONTH	1. TPC /g @ 30°C <10 ⁵ to <10 ⁷ 2. Total coliforms /g <10 ³ to <10 ⁵ 3. Escherichia coli /g <10 to <10 ² 4. Staphylococcus aureus /g <10 ² 5. Listeria monocytogenes /g <10 to <10 ² 6. Listeria monocytogenes /25g absence ² 7. Salmonella spp /25g absence ³	
FRESH WATER	MICROBIOLOGICAL	4 SAMPLES / YEAR / SITE	1. TPC /ml 36°C : No abnormal change 2. TPC /ml 22°C : No abnormal change 3. Total coliforms /100 ml : 0 4. E. coli /100 ml : 0 5. Enterococci /100 ml : 0 6. Clostridium perfringens /100 ml : 0 7. Pseudomonas aeruginosa /100 ml : -	TAP
ICE	MICROBIOLOGICAL	4 SAMPLES / YEAR / SITE	1. TPC /ml 36 °C : No abnormal change 2. TPC /ml 22°C : No abnormal change 3. Total coliforms /100 ml : 0 4. E. coli /100ml : 0 5. Enterococci / 100 ml : 0 6. Clostridium perfringens /100 ml : 0 7. Pseudomonas aeruginosa /100 ml : -	ICE MACHINES

04/10/2023

Greek legislation (Ministerial Decision 27829/25-5-2023 regarding water quality for human consumption)

1processing plant A min 100 samples Lmo / month

2processing plant B min 7 samples Lmo /month

^{2,3} These parameters are customers' requirements

Πηγή: προσωπικό αρχείο

Ο οδηγός υγιεινής Νο 9 του ΕΦΕΤ παραθέτει όλες τις ορθές συνθήκες τις οποίες πρέπει να διατηρεί μια μονάδα επεξεργασίας τροφίμων

Στο ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 5 παραθέτει και τις απαιτήσεις για την μεταφορά αλιευμάτων

Επιγραμματικά και ως κύρια σημεία αναφέρονται τα εξής

Τα οχήματα μεταφοράς πρέπει να είναι : Ισόθερμα η Αυτοδύναμου ψύξεως. Πρέπει να έχουν την κατάλληλη μόνωση και μηχανήμα αυτοδύναμης ψύξης (ψυγείο) ώστε να εξασφαλίζεται σε όλη τη διάρκεια τις μεταφοράς θερμοκρασία $\leq 4\text{o C}$ για τα ψυγμένα και $\leq -18\text{o C}$ για τα βαθιάς καταψύξεως.

Τα εσωτερικά τοιχώματα των οχημάτων μεταφοράς ή/ και των περιεκτών θα πρέπει να είναι από ανοξείδωτο ή άλλο κατάλληλο υλικό, λείο και αδιαπότιστο ώστε να καθαρίζονται, να απολυμαίνονται εύκολα και να μην επιμολύνουν τα αλιεύματα και να διατηρούνται καθαρά και σε καλή κατάσταση, να συντηρούνται ή να αντικαθίσταται όταν χρειάζεται

- Τα νωπά αλιεύματα θα πρέπει να συντηρούνται με καθαρό πάγο, σε αναλογία δυο κιλά αλιευμάτων προς ένα κιλό πάγου.

Απαιτήσεις για την αποθήκευση - διατήρηση των αλιευμάτων. Συγκεκριμένα πρέπει :

- Τα νωπά αλιεύματα: να διατηρούνται στην θερμοκρασία τήξης του πάγου.
- Τα κατεψυγμένα αλιεύματα σε θερμοκρασία -1°C έως 1°C .

7.4.2. Τρόποι περιορισμού στο Λιανικό εμπόριο

Στο λιανικό εμπόριο σε ότι αφορά τα συσκευασμένα προϊόντα η *Listeria* εμφανίζεται λόγω μολυσμένου τρόφιμου από το εργοστάσιο παραγωγής. Έτσι ο μόνος τρόπος περιορισμού της είναι η παρεμπόδιση της ανάπτυξης σε επίπεδα που μπορούν να γίνουν επικίνδυνα για την υγεία των καταναλωτών.

Καθώς τα ψάρια φαίνεται να είναι ευάλωτα ακόμα και σε συνθήκες ψύξης προτείνονται κάποιες κατευθυντήριες γραμμές σχετικά με τον έλεγχο των παραμέτρων χρόνου και θερμοκρασίας για την *L.m.* είναι τα εξής.

Πίνακας 7.2. Θερμοκρασία προϊόντων και μέγιστος χρόνος έκθεσης για την ανάπτυξη της *L.m.*

Θερμοκρασία Προϊόντων °C	Μέγιστος χρόνος έκθεσης
-0,4-5	7 ημέρες
6-10	2 ημέρες
11-21	12 ώρες
>21	3 ώρες

Πηγή: Γαϊτής, 2003

Σύμφωνα με έρευνα του EFSA, 2015 και λαμβάνοντας υπόψιν ότι η ανάπτυξη παθογόνων σε θερμοκρασίες αποθήκευσης πάνω από το 0°C μπορεί επίσης να συμβεί σε οποιαδήποτε συσκευασμένα προϊόντα αλιείας. Προτείνονται τα εξής

Για προ-συσκευασμένα φρέσκα προϊόντα αλιείας μπορούν να αποθηκεύονται σε θερμοκρασίες ψύξης πάνω από το 0°C (π.χ. 3–5°C) και να συμμορφώνονται με τους τρέχοντες κανονισμούς της ΕΕ και τους διεθνείς κανόνες. Παρέχονται παραδείγματα συνδυασμών ανθεκτικότητας προϊόντος (μέγιστη διάρκεια ζωής) και ατμόσφαιρας συσκευασίας που πρέπει να επιτρέψουν τη συμμόρφωση με τα κριτήρια ασφάλειας για διάφορες θερμοκρασίες αποθήκευσης στο λιανικό εμπόριο.

Θερμοκρασία λιανικού εμπορίου 3°C:

- Διάρκεια ζωής 11,6 ημερών και 0% CO₂ στον εσωτερικό χώρο της συσκευασίας
- Διάρκεια ζωής 14,4 ημερών και 20% CO₂ στον εσωτερικό χώρο της συσκευασίας
- Διάρκεια ζωής 18,8 ημερών και 40% CO₂ στον εσωτερικό χώρο της συσκευασίας

Για θερμοκρασία λιανικού εμπορίου 5°C:

- Διάρκεια ζωής 6,5 ημερών και 0% CO₂ στον εσωτερικό χώρο της συσκευασίας
- Διάρκεια ζωής 7,8 ημερών και 20% CO₂ στον εσωτερικό χώρο της συσκευασίας
- Διάρκεια ζωής 10 ημερών και 40% CO₂ στον εσωτερικό χώρο της συσκευασίας

Εκτός από τη μη συμμόρφωση με τα κριτήρια ασφάλειας, μια αύξηση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στο λιανικό εμπόριο πάνω από το 0°C μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη άλλων παθογόνων μικροοργανισμών που μπορούν να αναπτυχθούν σε χαμηλές θερμοκρασίες, όπως το *Yersinia enterocolitica* και το *Clostridium botulinum*.

7.4.3. Τρόποι περιορισμού στις επιχειρήσεις εστίασης

Παρόλο που τα ωμά ψάρια δεν ευνοούν ανάπτυξη της *L. monocytogenes* λόγω της μικρής διάρκειας ζωής τους και της άμεσης κατανάλωσης τους από την αλίευση, σε ορισμένες περιπτώσεις, η παρουσία αυτού του παθογόνου παραμένει ζήτημα ανησυχίας, ιδιαίτερα για ευπαθή άτομα. Τα ψάρια πρέπει να καθαρίζονται και να επεξεργάζονται προσεκτικά. Πρέπει να προηγείται η φύλαξη τους σε συνθήκες ψύξης πριν την επεξεργασία τους και να φυλάσσονται σε θερμοκρασίες μικρότερες των 4 °C (Atanasova *et. al.*, 2008).

Η τακτική παρακολούθηση, η αυστηρή τήρηση των κανόνων υγιεινής και η σωστή ψυκτική αλυσίδα είναι απαραίτητες για να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος μόλυνσης. Επιπλέον, συνιστάται σε άτομα με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα και άλλες ευπαθείς ομάδες να αποφεύγουν την κατανάλωση πιάτων που περιλαμβάνουν ωμό ψάρι, ώστε να μειωθούν οι πιθανοί κίνδυνοι για την υγεία που σχετίζονται με τη *L. monocytogenes*.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. CHALLENGE TEST

Σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2073/2005, Παράρτημα II, το Challenge Test απαιτεί από τους υπεύθυνους επιχειρήσεων τροφίμων, να αξιολογούν, όταν είναι απαραίτητο, την ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes* στα προϊόντα κατά τη διάρκεια της διάρκειας ζωής τους (Self-life). Το Ευρωπαϊκό Εργαστήριο Αναφοράς ανέπτυξαν τεχνικές οδηγίες για τη διεξαγωγή μελετών διάρκειας ζωής (Beaufort *et al.*, 2019).

Το challenge test μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εργαλείο, που βοηθά την βιομηχανία των τροφίμων και τις αρχές ασφάλειας να αξιολογήσουν τον κίνδυνο μόλυνσης από τη *Listeria* σε έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα. Μέσω τις μεθόδου γίνεται η εκτίμηση του δυναμικού ανάπτυξης της *L.m.*, η επικύρωση της ασφάλειας των τροφίμων, και η εν γένη συμμόρφωση στους κανονισμούς

Η μέθοδος αυτή σε συνδυασμό με την διάρκεια ζωή του προϊόντος έχει σχεδιαστεί για να αξιολογεί τη συμπεριφορά της *L. monocytogenes* σε τεχνητά περιβάλλοντα που αντικατοπτρίζουν τις πραγματικές συνθήκες. Γίνεται τεχνική επιμόλυνση του τρόφιμου με ενοφθαλμισμό. Στο τέλος της μεθόδου αξιολογείται το δυναμικό ανάπτυξης ή ο μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης του παθογόνου, ανάλογα με τα απαιτούμενα δεδομένα.

Ως έναρξη της δοκιμής θεωρείται η ημέρα του ενοφθαλμισμού και επιμόλυνση του τρόφιμου. Η διαδικασία ολοκληρώνεται στο τέλος της διάρκειας ζωής του προϊόντος. Το δυναμικό ανάπτυξης (Δ) είναι η διαφορά μεταξύ του \log_{10} cfu/g στην αρχή και στο τέλος της δοκιμής. Εάν η τυπική απόκλιση του Δ μεταξύ των δειγμάτων υπερβαίνει τα $0,5 \log_{10}$ cfu/g, η δοκιμή θεωρείται άκυρη για αυτήν την παρτίδα. Σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη δοκιμή είναι τα στελέχη που χρησιμοποιούνται για τον εμβολιασμό, η φυσιολογική κατάσταση των κυττάρων και οι ενδογενείς ιδιότητες του τρόφιμου, όπως το pH, η περιεκτικότητα σε NaCl, η φυσική μικροχλωρίδα και τα αντιμικροβιακά συστατικά.

Για τρόφιμα που θεωρείται ότι υποστηρίζουν την ανάπτυξη της *L. monocytogenes*, πρέπει να δοκιμαστούν τρεις παρτίδες. Αν όμως η πιθανότητα ανάπτυξης είναι μικρότερη από 10%, αρκεί μία παρτίδα. Η μεταβλητότητα μεταξύ των παρτίδων καθορίζει εάν χρειάζεται να δοκιμαστούν περισσότερες από μία παρτίδες, με την

παρτίδα που είναι πιο πιθανό να υποστηρίξει την ανάπτυξη να επιλέγεται κατά προτεραιότητα. Πρέπει να χρησιμοποιούνται τουλάχιστον δύο στελέχη σε πρώιμη στατική φάση για τον ενοφθαλμισμό, ένα εκ των οποίων πρέπει να έχει γνωστά χαρακτηριστικά, όπως αυτά της συλλογής στελεχών EURL *Lm*.

Το πρότυπο ISO 20976-1:2019, το οποίο έχει υιοθετηθεί ευρέως, εισήγαγε σαφή πρωτόκολλα για τον καθορισμό του δυναμικού ανάπτυξης των μικροοργανισμών στα τρόφιμα. Σε αντίθεση με παλαιότερες μεθόδους, που επικεντρώνονταν μόνο στη διαφορά μεταξύ των αρχικών και τελικών συγκεντρώσεων των βακτηρίων, το πρότυπο ISO απαιτεί να λαμβάνονται υπόψη όλα τα δεδομένα του πειράματος για τον υπολογισμό του δυναμικού ανάπτυξης, δίνοντας έμφαση στη μέγιστη βακτηριακή συγκέντρωση που επιτυγχάνεται. Αυτό μπορεί να προσφέρει μια πιο ολοκληρωμένη κατανόηση της συμπεριφοράς των βακτηρίων καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του προϊόντος.

Ωστόσο, υπάρχουν διαφορές μεταξύ του προτύπου ISO και των οδηγιών του ANSES EURL, κυρίως όσον αφορά τα όρια του δυναμικού ανάπτυξης. Οι οδηγίες του ANSES ταξινομούν τα τρόφιμα με βάση το δυναμικό ανάπτυξης $\leq 0,5 \log_{10}$, ενώ το ISO επιτρέπει μεγαλύτερη ευελιξία, δεχόμενο δυναμικό ανάπτυξης έως και $1,0 \log_{10}$ σε ορισμένες περιπτώσεις (Lani *et al.*, 2012).. Παρά τις διαφορές αυτές, και τα δύο έγγραφα τονίζουν την ευθύνη των υπεύθυνων παραγωγής να ερμηνεύουν σωστά τα αποτελέσματα και, εάν είναι απαραίτητο, να προσαρμόζουν τη διάρκεια ζωής των προϊόντων για την εξασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων.

Τα κύρια σημεία στα οποία πρέπει να δώσει προσοχή ο ερευνητής για να είναι επιτυχημένη η διαδικασία του challenge test είναι :

- Να γνωρίζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου προς εξέταση.
- Να επιλέξει σωστά τα στελέχη με τα οποία θα το επιμολύνει και να γίνει σωστά η εργαστηριακή προετοιμασία τους.
- Να έχει επιλέξει σωστά τον αριθμό των δειγμάτων του τροφίμου προς εξέταση
- Να έχει δημιουργήσει τις κατάλληλες θερμοκρασίες και να φροντίζει ότι αυτές θα διατηρηθούν σωστά
- Την ορθή ερμηνεία των αποτελεσμάτων του

Όσον αφορά το challenge test για *Listeria monocytogenes* έχουν γίνει έρευνες σε διάφορα τρόφιμα, όπως ενδεικτικά αναφέρονται τα αλλαντικά (Grassi *et al.*, 2013), τα μαλακά τυριά (Vasileiadi *et al.*, 2022). Για τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα η βιβλιογραφία που υπάρχει αναφέρει τις ορθές πρακτικές της μεθόδου (Gupta, & Adhikari, 2022; Spanu *et al.* 2014). Η αξία του *L.m.* challenge test έχει μελετηθεί από τους Lani *et al.* 2021 αλλά η βιβλιογραφία είναι περιορισμένη. Για τα RTE ψάρια υπάρχει μια έρευνα των Uyttendaele *et. al.*, 2009 τα αποτελέσματα της οποίας έδειξαν για το καπνιστό ψάρι υποστηρίζεται η ανάπτυξη της *L. monocytogenes* λόγω του σχεδόν ουδέτερου pH (6.0–6.5) και των σχετικά υψηλών τιμών υγρασίας (a_w) (0.96–0.98). Η εξαίρεση ήταν ένα δείγμα ψαριού με χαμηλότερη τιμή a_w (περίπου 0.94). Στα καπνιστά τρόφιμα τα χαρακτηριστικά των προϊόντων μπορούν να μειώσουν την ανάπτυξη της *L. monocytogenes*, συγκεντρώσεις έως 2 mg/100 g μπορεί όμως να μην είναι επαρκείς για να αναστείλουν τα βακτήρια σε θερμοκρασίες γύρω από 8°C. Η έρευνα καταλήγει ότι εάν το καπνιστό ψάρι παρασκευάζεται με ελαφρώς χαμηλότερο pH (5.5–6.0) και χαμηλότερες τιμές a_w (0.93–0.94), μπορεί να περιορίσει την ανάπτυξη της *L. monocytogenes*.

Συμπερασματικά το challenge test μπορεί να δώσει αρκετές και χρήσιμες πληροφορίες για την ανάπτυξη της *L.m.* στα τρόφιμα κάτω από διάφορες συνθήκες επεξεργασίας, συντήρησης και αποθήκευσης.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα ψάρια αποτελούν άριστο περιβάλλον ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes* (*L.m.*), λόγω της προσαρμοστικότητάς της σε ποικίλες περιβαλλοντικές συνθήκες. Επίσης η υψηλή περιεκτικότητα σε νερό και οι θρεπτικές ουσίες στη σάρκα των ψαριών, καθώς και η παρουσία των βακτηρίων στους ιστούς, ιδιαίτερα στα βράγχια, δημιουργούν ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξή της. Η ανθεκτικότητα σε χαμηλές θερμοκρασίες, όπως αυτές που επικρατούν στα περιβάλλοντα ψύξης, και η ικανότητα της να επιβιώνει σε ποικίλα αλατούχα περιβάλλοντα είναι χαρακτηριστικά που συνήθως συναντώνται στα προϊόντα ιχθυοκαλλιέργειας.

Αν και στο θαλασσινό νερό φαίνεται να μην ευνοείται η παρουσία της και να μην αποτελεί σημαντική πηγή μόλυνσης, η *L.m.* μπορεί να ανιχνευτεί σε γλυκά ή υφάλμυρα ύδατα, γεγονός που ενισχύει την πιθανότητα μόλυνσης και στα ψάρια εκτροφής.

Η απουσία της από τα περιβάλλοντα επεξεργασίας είναι πρακτικά αδύνατη. Κατά την επεξεργασία, η *L.m.* μπορεί να μεταφερθεί από μολυσμένες επιφάνειες, εξοπλισμό, ή ακόμα και το προσωπικό στους ιχθύες ή τα προϊόντα τους. Αν η επεξεργασία γίνεται σε συνθήκες ψύξης, η *L.m.*, η οποία αντέχει σε χαμηλές θερμοκρασίες, μπορεί να επιβιώσει και να αναπτυχθεί αργά. Επίσης αναλογικά με την περιπλοκότητα των χειρισμών του τρόφιμου κατά την επεξεργασία, φαίνεται να αυξάνεται και ο κίνδυνος διασταυρούμενης επιμόλυνσης. Έτσι *Listeria monocytogenes* μπορεί να εμφανιστεί στην αλυσίδα επεξεργασίας και εμπορίου ψαριών μέσω πολλών διαφορετικών μηχανισμών, όπως φαίνεται και από τις διακρατικές επιδημίες που αναλύθηκαν παραπάνω.

Η επιδημιολογική ιχνηλασιμότητα έχει δείξει ότι η μόλυνση μπορεί να ξεκινήσει από το στάδιο της παραγωγής και να διασπαρθεί διεθνώς μέσω της διανομής μολυσμένων προϊόντων. Τα δεδομένα αυτά ενισχύουν την πεποίθηση ότι η κύρια πηγή επιμόλυνσης των προϊόντων γίνεται στα περιβάλλοντα επεξεργασίας τους.

Η επιμόλυνση του τρόφιμου μπορεί να υπάρξει και λόγω κακών χειρισμών κατά τη διανομή και την αποθήκευση, εάν δεν τηρούνται σωστές συνθήκες καθαριότητας, ψύξης, και ελέγχου υγρασίας.

Αυτή η μόλυνση μπορεί να οδηγήσει σε έκθεση των καταναλωτών στον παθογόνο μικροοργανισμό, ειδικά όταν πρόκειται για ωμά ή καπνιστά ψάρια, που δεν υποβάλλονται σε θερμική επεξεργασία. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα σοβαρές επιδημίες λιστερίωσης με υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, ειδικά σε ευάλωτους πληθυσμούς, όπως ηλικιωμένοι ή ανοσοκατεσταλμένα άτομα.

Η παρουσία της *L. monocytogenes* στα προϊόντα και στο περιβάλλον των εγκαταστάσεων επεξεργασίας, η οποία πολλές φορές διαρκεί για χρόνια, τονίζει την ανάγκη για συνεχή και ενισχυμένους ελέγχους καθ' όλη τη διάρκεια της αλυσίδας παραγωγής και διάθεσης.

Στις αλυσίδες εστίασης, η κατανάλωση ωμών ή μη επαρκώς επεξεργασμένων ψαριών, όπως σε sushi ή sashimi, εγκυμονεί κινδύνους για τη δημόσια υγεία, ιδιαίτερα όταν τα ψάρια δεν έχουν υποβληθεί σε κατάλληλες διαδικασίες επεξεργασίας ή συντήρησης. Αν και υπάρχουν κανονισμοί και οδηγίες σε ευρωπαϊκό και εθνικό επίπεδο που καθορίζουν τις διαδικασίες για την ασφαλή κατανάλωση ωμών προϊόντων (π.χ. κατάψυξη σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες για την εξάλειψη παρασίτων), παραμένουν κάποια κενά στη νομοθεσία.

Ένα από τα βασικά κενά αφορά την έλλειψη αυστηρής επιτήρησης των πρακτικών αποθήκευσης και χειρισμού των προϊόντων ψαριού σε εστιατόρια και καταστήματα εστίασης. Σε πολλές περιπτώσεις, τα ωμά ψάρια μπορεί να μη συντηρούνται σε κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας ή να έρχονται σε επαφή με μη ασφαλή περιβάλλοντα κατά την προετοιμασία τους, αυξάνοντας τον κίνδυνο μόλυνσης από παθογόνα.

Επιπλέον, ενώ οι κανόνες για την παραγωγή και διανομή τροφίμων είναι αρκετά σαφείς σε εργοστασιακό επίπεδο, η νομοθεσία για τη μικρής κλίμακας επεξεργασία στα εστιατόρια μπορεί να μην εφαρμόζεται αυστηρά, αφήνοντας περιθώρια για κακές πρακτικές υγιεινής. Υπάρχουν επίσης διαφορές μεταξύ χωρών στην Ευρωπαϊκή Ένωση και παγκοσμίως όσον αφορά τις προδιαγραφές για την κατανάλωση ωμών ψαριών, γεγονός που καθιστά δύσκολη την εφαρμογή ενιαίων προτύπων. Τα ψάρια που

χαρακτηρίζονται ως "sushi grade" ή "sashimi grade" είναι προϊόντα που θεωρούνται κατάλληλα για κατανάλωση σε ωμή μορφή, όπως στο sushi ή sashimi. Ο όρος αυτός δεν έχει συγκεκριμένη νομική οριοθέτηση.

Ακόμα στις επιχειρήσεις εστίασης δεν υπάρχει πολλές φορές ο απαιτούμενος έλεγχος κατά την προμήθεια πρώτων υλών. Η προμήθεια ψαριών γίνεται πολλές φορές από τοπικούς ψαράδες ή από αγορές στην ιχθυόσκαλα. Ως εκ τούτου η ακαταλληλότητα του προϊόντος για ωμή κατανάλωση βασίζεται όχι σε κάποια πιστοποιημένη διαδικασία άλλα στην εμπιστοσύνη που έχει χτιστεί μεταξύ προμηθευτή και προμηθευόμενου.

Επιπλέον το κενό στην κατάρτιση των εργαζομένων στην εστίαση σχετικά με τις διαδικασίες ασφαλούς χειρισμού ωμών ψαριών, καθώς και οι περιορισμένοι έλεγχοι από τις αρμόδιες αρχές, είναι πρόσθετα ζητήματα που εντείνουν τον κίνδυνο για επιδημίες μέσω κατανάλωσης μολυσμένων προϊόντων. Συνεπώς, απαιτούνται αυστηρότεροι έλεγχοι και καλύτερη εκπαίδευση στις πρακτικές υγιεινής για την αντιμετώπιση αυτών των κινδύνων.

Ωστόσο, η ασφάλεια των RTE προϊόντων ψαριού εξαρτάται από πολλές παραμέτρους. Έτσι τονίζεται η σημασία του **challenge test** στην ανάπτυξη προϊόντων.

Το challenge test επιτρέπει στους παραγωγούς να γνωρίζουν αν ένα προϊόν είναι ασφαλές για κατανάλωση, ακόμα και σε συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξη παθογόνων. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για προϊόντα ψαριών που προορίζονται για κατανάλωση σε ωμή μορφή. Τα challenge tests βοηθούν τις επιχειρήσεις να καθορίσουν τις βέλτιστες πρακτικές για την αποθήκευση, τη μεταφορά και την έκθεση των προϊόντων ψαριών, προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος ανάπτυξης μικροβίων

Οι παραγωγοί τροφίμων μπορούν να χρησιμοποιούν challenge tests κατά την ανάπτυξη νέων προϊόντων για να βελτιώσουν τις συνταγές και τις διαδικασίες παραγωγής, προκειμένου να εγγυηθούν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και ασφάλεια των προϊόντων τους, χωρίς να θέτουν σε κίνδυνο την υγεία των καταναλωτών.

Η πρόληψη της λιστερίωσης, είναι ιδιαίτερα κρίσιμη για τις ευπαθείς ομάδες, όπως οι έγκυες γυναίκες, οι ηλικιωμένοι, οι νεογέννητοι και άτομα με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα. Τα βασικά σημεία για την πρόληψη είναι η καλή προσωπική υγιεινή. Επίσης η ορθή φύλαξη και στα οικιακά ψυγεία, πρέπει να φυλάσσονται σε σωστές θερμοκρασίες (ψυγείο στους 4°C ή χαμηλότερα) για να αποφεύγεται η

ανάπτυξη του *L.m.*. Για τις ευπαθείς ομάδες προτείνεται η αποφυγή της κατανάλωσης ωμών και καπνιστών τροφίμων.

Η πρόληψη της λιστερίωσης σε ευπαθείς ομάδες απαιτεί συνδυασμένη προσέγγιση που περιλαμβάνει την υγιεινή, την ασφαλή διαχείριση τροφίμων, την εκπαίδευση και την παρακολούθηση. Με την εφαρμογή αυτών των στρατηγικών, μπορεί να μειωθεί σημαντικά ο κίνδυνος λοίμωξης από *Listeria monocytogenes*.

Οι επαγγελματίες υγείας πρέπει να εκπαιδεύονται στην αναγνώριση των συμπτωμάτων της λιστερίωσης και στη σημασία της πρόληψης

Τα συστήματα δημόσιας υγείας πρέπει να παρακολουθούν και να αναφέρουν περιπτώσεις λιστερίωσης για την κατανόηση της εξάπλωσης της νόσου.

Οι έλεγχοι για την παρουσία *L.m.* σε τρόφιμα πρέπει να είναι αυστηροί, ειδικά σε ευαίσθητους τομείς όπως οι βιομηχανίες τροφίμων και εστίασης.

Η διεπιστημονική συνεργασία στην παραγωγή ασφαλέστερων προϊόντων τροφίμων ενσωματώνει την έννοια της Ενιαίας Υγείας, επιτρέποντας την ανάπτυξη ενός ολοκληρωμένου συστήματος που εξασφαλίζει την ασφάλεια και την ποιότητα των τροφίμων. Με την προώθηση της συνεργασίας μεταξύ επιστημονικών και επαγγελματικών τομέων, μπορούν να επιτευχθούν καλύτερα αποτελέσματα για την των ζώων και του περιβάλλοντος, κατ' επέκταση και των καταναλωτών.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Acciari VA, Torresi M, Iannetti L, et al. *Listeria monocytogenes* in smoked salmon and other smoked fish at retail in Italy: Frequency of contamination and strain characterization in products from different manufacturers. *J Food Prot* 2017;80:271–278.

Alam, Akm Nowsad. (2007). Packaging of Fish and Fish Products. Nowsad, AKM, Participatory Training of Trainers: A New Approach Applied in Fish Processing. Bangladesh Fisheries Research Forum. 329 p

Allerberger, F., and Wagner, M. (2010). Listeriosis: A resurgent foodborne infection. *Clin. Microbiol. Infect.* 16, 16–23. doi:10.1111/j.1469-0691.2009.03109.x

Annual Epidemiological Data (2024) NPHO. Available at: <https://eody.gov.gr/en/epidemiological-statistical-data/annual-epidemiological-data/> (Accessed: 30 August 2024).

Anses data sheet on foodborne biological hazards “*Listeria monocytogenes*”, April 2020 <https://www.anses.fr/en/system/files/BIORISK2016SA0081FiEN.pdf>

ATANASSOVA, V., REICH, F., & KLEIN, G. (2008). Microbiological Quality of Sushi from Sushi Bars and Retailers. *Journal of Food Protection*, 71(4), 860–864. doi:10.4315/0362-028x-71.4.860

Bell, C. and Kyriakides, A. (2009) ‘*Listeria monocytogenes*’, *Foodborne Pathogens*, pp. 675–717. doi:10.1533/9781845696337.2.675.

Ben Embarek, P. K., L. T. Hansen, O. Enger, and H. H. Huss. 1997. Occurrence of *Listeria* spp. in farmed salmon and during subsequent slaughter: comparison of Listertest lift and the USDA method. *Food Microbiol.* 14:39–46

Borucki MK, Call DR. *Listeria monocytogenes* serotype identification by PCR. *J Clin Microbiol.* 2003 Dec;41(12):5537-40. doi: 10.1128/JCM.41.12.5537-5540.2003. PMID: 14662936; PMCID: PMC309009.genes. *Microbiology* 141:2053-2061.

Buchanan, R., Whiting, R. & Ross, T., 2006. Development of Risk Management Metrics for Food Safety. JOINT FAO/WHO ACTIVITIES ON RISK ASSESSMENT OF MICROBIOLOGICAL HAZARDS IN FOODS - Background Paper for the JOINT FAO/WHO EXPERT CONSULTATION ON Development of Practical Risk

Management Strategies based on Microbiological Risk Assessment Outputs. Working draft 7, February 2006, Kiel, Germany, 3-7 April 2006.

Buchanan, R.L., Gorris, L.G.M., Hayman, M.M., Jackson, T.C. and Whiting, R.C., 2017. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food Control*, 75, pp.1-13. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.016>

Cai, J. and Leung, P. (2022) 'Unlocking the potential of aquatic foods in Global Food Security and nutrition: A missing piece under the lens of Seafood liking index', *Global Food Security*, 33, p. 100641. doi:10.1016/j.gfs.2022.100641.

Camargo, Anderson Carlos; Woodward, Joshua John; Call, Douglas Ruben; Nero, Luís Augusto . (2017). *Listeria monocytogenes* in Food-Processing Facilities, Food Contamination, and Human Listeriosis: The Brazilian Scenario. *Foodborne Pathogens and Disease*, (), fpd.2016.2274–. doi:10.1089/fpd.2016.2274

Camejo, A., Carvalho, F., Reis, O., Leitão, E., Sousa, S., and Cabanes, D. (2011). The arsenal of virulence factors deployed by *Listeria monocytogenes* to promote its cell infection cycle. *Virulence* 2 (5), 379–394. doi:10.4161/viru.2.5.17703

Carpentier, B., & Cerf, O. (2011). Review - persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 1e8. Cartwright, E. J., Jackso

CDC (no date) About listeria infection, Centers for Disease Control and Prevention. Available at: <https://www.cdc.gov/listeria/about/index.html> (Accessed: 30 August 2024).

Center for Food Safety and Applied Nutrition (no date) *Listeria* (listeriosis), U.S. Food and Drug Administration. Available at: <https://www.fda.gov/food/foodborne-pathogens/listeria-listeriosis> (Accessed: 30 August 2024).

CFA, 2010. Controlling *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Available at: <https://www.cfa.org> [Accessed 14 Sept. 2024].

Chapin, D. (2023) Savoring seafood history: Tracing the culinary evolution this national, Premier Catch. Available at: <https://www.premiercatch.com/blogs/seafood-nutrition/savoring-seafood-history-tracing-the-culinary-evolution-this-national-seafood-month> (Accessed: 15 April 2024).

Chatreman, N., Seecharran, D. and Ansari, A. (2020). Prevalence and distribution of pathogenic bacteria found in fish and fishery products: A review. *Vol*, [online] 202(0), pp.3–65. Available at: <https://www.fishlifesciencejournal.com/download/2020/v5.i2/79/176.pdf>.

Chen, Y., Luo, Y., Curry, P., Timme, R., Melka, D., Doyle, M., et al. (2017). Assessing the genome level diversity of *Listeria monocytogenes* from contaminated ice cream and

environmental samples linked to a listeriosis outbreak in the United States. PLoS One 12 (2), e0171389. doi:10.1371/journal.pone.0171389

Codex Alimentarius Commission (CAC), 2009. Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in foods. Rome: FAO/WHO.

Cordero, N., Maza, F., Navea-Perez, H., Aravena, A., Marquez-Fontt, B., Navarrete, P., Fiuero, G., González, M., Latorre, M., Reyes-Jara, A., 2016. Different transcriptional responses from slow and fast growth rate strains of *Listeria monocytogenes* adapted to low temperature. *Frontiers in Microbiology* 7 (229), 1–9. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00229>

Dortet, L., Veiga-Chacon, E., & Cossart, P. (2009). *Listeria Monocytogenes*. *Encyclopedia of Microbiology*, 182–198. doi:10.1016/b978-012373944-5.00217-0

Doumith M., Buchrieser C., Glaser P., Jacquet C., Martin P. (2004). Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 42, 3819–3822. 10.1128/JCM.42.8.3819-3822.2004

ECDC, 2019, European Centre for Disease Prevention and Control and European Food Safety Authority. Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* clonal complex 8 infections linked to consumption of cold-smoked fish products – 4 June 2019. Stockholm and Parma: ECDC/EFSA; 2019.

ECDC, 2023, European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority. Prolonged multicountry cluster of *Listeria monocytogenes* ST155 infections linked to ready-to-eat fish products – 13 December 2023. ISBN 978-92-9498-680-1 doi: 10.2900/042880 Catalogue number: TQ-06-23-028-EN-N

ECDC, 2023, Listeriosis annual epidemiological report 2022. Available at: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/LIST_AER_2022_Report.pdf (Accessed: 30 August 2024).

ECDC, 2024, European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority, 2024. Prolonged multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* ST1607 linked to smoked salmon products – 25 April 2024. ISBN 978-92-9498-716-7; doi: 10.2900/061379; Catalogue number TQ-02-24-480-EN-N

ECDC, 2018, European Centre for Disease Prevention and Control and European Food Safety Authority. Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* sequence type 8 infections linked to consumption of salmon products – 25 October 2018. Stockholm and Parma: ECDC/EFSA; 2018.

EFSA (2022) The European Union one health 2022 zoonoses report. Available at: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2023.8442> (Accessed: 30 August 2024).

EFSA (European Food Safety Authority), 2015. Scientific and technical assistance on the evaluation of the temperature to be applied to pre-packed fishery products at retail level. EFSA Journal 2015;13(7):4162, 48 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4162

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), Ricci A, Allende A, Bolton D, Chemaly M, Davies R, Fernández Escámez PS, Girones R, Herman L, Koutsoumanis K, Nørrung B, Robertson L, Ru G, Sanaa M, Simmons M, Skandamis P, Snary E, Speybroeck N, Ter Kuile B, Threlfall J, Wahlström H, Takkinen J, Wagner M, Arcella D, Da Silva Felicio MT, Georgiadis M, Messens W and Lindqvist R, 2018. Scientific Opinion on the *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. EFSA Journal 2018;16(1):5134, 173 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5134>

EODY (2022) ΟΡΙΣΜΟΙ ΚΡΟΥΣΜΑΤΟΣ ΓΙΑ ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΗ ΔΗΛΩΣΗ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ. Available at: <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2022/04/orismoi-loimodon-nosimatou-20220413.pdf> (Accessed: 23 January 2024).

European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority, 2024. Prolonged multicountry outbreak of *Listeria monocytogenes* ST173 linked to consumption of fish products – 19 June 2024. ISBN 978-92-9498-726-6; doi: 10.2900/171200; Catalogue number TQ-09-24-482-EN-N

European Centre for Disease Prevention and Control. Listeriosis. In: ECDC. Annual Epidemiological Report for 2022. Stockholm: ECDC; 2024. Stockholm, February 2024 https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/LIST_AER_2022_Report.pdf

European Commission, 2013. Guidance on microbiological criteria for foodstuffs. Available at: <https://ec.europa.eu> [Accessed 14 Sept. 2024].

European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes* (EURL Lm), 2013. Technical guidance document on conducting shelf-life studies. Available at: <https://www.eurlm.org> [Accessed 14 Sept. 2024].

FAO (1995) 4. Chemical Composition of fish products , Quality and quality changes in fresh fish - 4. Chemical Composition. Available at: <https://www.fao.org/4/V7180E/V7180e05.htm> (Accessed: 31 August 2024).

FAO, (1995α). postmortem changes in fish (no date) Quality and quality changes in fresh fish - 5. Postmortem changes in fish. Available at: <https://www.fao.org/4/V7180E/v7180e06.htm> (Accessed: 31 August 2024).

FAO. (2024). Total fisheries and aquaculture production. [online] Available at: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/131ab804-f871-4562-bd0d-2457ebad0e47/content/sofia/2024/world-fisheries-aquaculture-production.html> [Accessed 8 Sep. 2024].

Fao.org (2020) The nutritional benefits of fish are unique | GLOBEFISH | Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at: <https://www.fao.org/in-action/globefish/fishery-information/resource-detail/en/c/338772/> (Accessed: 15 April 2024).

FAO/WHO, 2004b. Risk analysis for food safety. Rome: FAO/WHO.

Firm, P.L. (2024) Boar's head listeria outbreak - 57 sick, 9 dead [update], Pritzker Hageman, P.A. Available at: <https://www.pritzkerlaw.com/personal-injury/2024/deadly-listeria-outbreak-tied-to-meat-sliced-at-deli-counters> (Accessed: 30 August 2024).

Fonnesbech Vogel, B., Huss, H.H., Ojeniyi, B., Ahrens, P., Gram, L., 2001. Elucidation of *Listeria monocytogenes* contamination routes in cold-smoked salmon processing plants detected by DNA-based typing methods. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 2586–2595.

Food and Environmental Hygiene Department of Hong Kong, 2000. Sushi & sashimi in Hong Kong—an evaluation of sushi and sashimi microbiological surveillance 1997–1999. Available at: <http://www.fehd.gov.hk/safefood/report/sashimi/ssras2eng.pdf> [Accessed 12 September 2024].

Food Standards Australia New Zealand (FSANZ), 2014. Food Safety Standard 1.6.1. Available at: <https://www.foodstandards.gov.au> [Accessed 14 Sept. 2024].

Gilbert, R.J., de Louvois, J., Donovan, T., Little, C., Nye, K., Ribeiro, C.D., Richards, J., Roberts, D. and Bolton, F.J., 2000. Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. *Communicable Disease and Public Health*, 3(3), pp.163-167.

Godziszewska, S., Musioł, E., and Duda, I. (2015). Listeriosis – A dangerous, contagious disease. Meningitis caused by *Listeria monocytogenes* – Case report. *ANN.ACAD.MED. SILES* (online). 69, 118–124. doi:10.18794/aams/33100

Grassi, M.A. et al. (2013) “Growth potential of *Listeria monocytogenes* in fresh sauces for pasta,” *Food Control*, 30(1), pp. 288–291. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.016>.

Gupta, P. and Adhikari, A. (2022) “Novel approaches to environmental monitoring and control of *Listeria monocytogenes* in food production facilities,” *Foods*, 11(12), p. 1760. Available at: <https://doi.org/10.3390/foods11121760>.

H. Hof / *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 35 (2003) 199–202

Hansen, C.H., Vogel, B.F. & Gram, L., 2006. Prevalence and Survival of *Listeria monocytogenes* in Danish Aquatic and Fish-Processing Environments. *Journal of Food Protection*, 69(9), pp. 2113-2122.

Hoffmann, R.C. (2004) 'A brief history of aquatic resource use in Medieval Europe', *Helgoland Marine Research*, 59(1), pp. 22–30. doi:10.1007/s10152-004-0203-5.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), 1996. *Microorganisms in foods 5: Characteristics of microbial pathogens*. New York: Springer Science+Business Media.

Kathariou, S. (2003). "Foodborne outbreaks of listeriosis and epidemic-associated lineages of *Listeria monocytogenes*," in *Microbial food safety in animal agriculture*. Editor M. E. Torrence, and R. E. Isaacson (Ames, IA: State University Press), 243–256.

Kathariou, S., Evans, P., and Dutta, V. (2017). "Strain-specific virulence differences in *Listeria monocytogenes*: Current perspectives in addressing an old and vexing issue," in *Foodborne pathogens 1st Edition* Editors J. B. Gurtler, M. P. Doyle, and J. L. Kornacki (Cham, Switzerland: Springer), 61–92.

Kleiner, Ulrike & Schinkel, Katharina & Baier, Carolin. (2013). Challenge tests assessing growth potential for *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Fleischwirtschaft -Frankfurt-*. 93. 128-131.

Koutsoumanis, K.P., Kendall, P.A. and Sofos, J.N. (2003) 'Effect of food processing-related stresses on acidtolerance of *Listeria monocytogenes*', *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), pp. 7514–7516. doi:10.1128/aem.69.12.7514-7516.2003.

Kryptou, E., Scortti, M., Grundström, C., Oelker, M., Luisi, B. F., Sauer-Eriksson, A. E., et al. (2019). Control of bacterial virulence through the peptide signature of the habitat. *Cell Rep*. 26 (7), 1815–1827. doi:10.1016/j.celrep.2019.01.073

Lanni, L. et al. (2021) "Challenge test as special tool to estimate the dynamic of *Listeria monocytogenes* and other foodborne pathogens," *Foods*, 11(1), p. 32. Available at: <https://doi.org/10.3390/foods11010032>.

Lecuit, M., Vandormael-Pournin, S., Lefort, J., Huerre, M., Gounon, P., Dupuy, C., et al. (2001). A transgenic model for listeriosis: Role of internalin in crossing the intestinal barrier. *Science* 292, 1722–1725. doi:10.1126/science.1059852

Liu, Y., Sun, W., Sun, T., Gorris, L. G. M., Wang, X., Liu, B., et al. (2020). The prevalence of *Listeria monocytogenes* in meat products in China: A systematic literature review and novel meta-analysis approach. *Int. J. Food Microbiol.* 312, 108358. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108358

Lungu, B., Ricke, S.C. and Johnson, M.G. (2009) ‘Growth, survival, proliferation and pathogenesis of *Listeria monocytogenes* under low oxygen or anaerobic conditions: A Review’, *Anaerobe*, 15(1–2), pp. 7–17. doi:10.1016/j.anaerobe.2008.08.001.

Madjunkov M, Chaudhry S, Ito S. Listeriosis during pregnancy. *Arch Gynecol Obstet*. 2017;296(2):143–152. doi: 10.1007/s00404-017-4401-

Magalhães, R., Mena, C., Ferreira, V., Silva, J., Almeida, G., Gibbs, P., & Teixeira, P. (2014). Bacteria: *Listeria monocytogenes*. *Encyclopedia of Food Safety*, 450–461. doi:10.1016/b978-0-12-378612-8.00101-3

Majumder, H. (2022) ‘A brief history of listeria species, increasing trend of foodborne listeriosis in ready-to-eat food and their interaction with antibiotics and possible control measures’, *Acta Scientific Microbiology*, 5(2), pp. 10–19. doi:10.31080/asmi.2022.05.0996.

Martin, R. E. (2012). A History of the Seafood Industry. *The Seafood Industry*, 1–13. doi:10.1002/9781118229491.ch1

Maury, M. M., Chenal-Francisque, V., Bracq-Dieye, H., Han, L., Leclercq, A., Vales, G., et al. (2017). Spontaneous loss of virulence in natural populations of *Listeria monocytogenes*. *Infect. Immun.* 85, 005411–e617. doi:10.1128/IAI.00541-17

Medrala, D., Dabrowski, W., Czekajlo-Kolodziej, U., Daczowska-Kozon, E., Koronkiewicz, A., Augustynowicz, E., Manzano, M., 2003. Persistence of *Listeria monocytogenes* strains isolated from products in a Polish fishprocessing plant over a 1-year period. *Food Microbiology* 20, 715–724.

Miettinen, H., Wirtanen, G., 2005. Prevalence and location of *Listeria monocytogenes* in farmed rainbow trout. *International Journal of Food Microbiology* 104, 135–143

Mitiku BA, Mitiku MA, Ayalew GG, Alemu HY, Geremew UM, Wubayehu MT. Microbiological quality assessment of fish origin food along the production chain in upper Blue Nile watershed, Ethiopia. *Food Sci Nutr*. 2022 Nov 18;11(2):1096-1103. doi: 10.1002/fsn3.3147. PMID: 36789068; PMCID: PMC9922121.

Miya, S. et al. (2010) “Risk of *Listeria monocytogenes* contamination of raw ready-to-eat seafood products available at retail outlets in Japan,” *Applied and Environmental Microbiology*, 76(10), pp. 3383–3386. Available at: <https://doi.org/10.1128/aem.01456-09>.

mowi (2023) *Salmon Farming Industry Handbook 2023*. Available at: <https://mowi.com/wp-content/uploads/2023/06/2023-Salmon-Farming-Industry-Handbook-2023.pdf> (Accessed: 18 April 2024).

Muscolino D, Giarratana F, Beninati C, Tornambene A, Panebianco A, Ziino G. Hygienic-Sanitary Evaluation of Sushi and Sashimi Sold in Messina and Catania, Italy. *Ital J Food Saf.* 2014 Jun 10;3(2):1701. doi: 10.4081/ijfs.2014.1701. PMID: 27800343; PMCID: PMC5083873.

National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (NACMCF), 2005. Microbiological testing and analysis: Guidelines for conducting studies.

Orsi, R.H. and Wiedmann, M. (2016) ‘Characteristics and distribution of listeria spp., including listeria species newly described since 2009’, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(12), pp. 5273–5287. doi:10.1007/s00253-016-7552-2.

Osek, J., Lachtara, B., and Wieczorek, K., 2022. *Listeria monocytogenes* – How This Pathogen Survives in Food-Production Environments? *Frontiers in Microbiology*, 13, p.866462. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.866462> [Accessed 14 Sept. 2024].

Pérez-Lloréns, J.L., Acosta, Y. and Brun, F.G. (2021) ‘Seafood in Mediterranean countries: A culinary journey through history’, *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 26, p. 100437. doi:10.1016/j.ijgfs.2021.100437.

Phan-Thanh, L., Mahouin, F., & Aligé, S. (2000). Acid responses of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 55(1-3), 121–126. doi:10.1016/s0168-1605(00)00167-7

Radoshevich L, Cossart P. *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol.* 2018 Jan;16(1):32-46. doi: 10.1038/nrmicro.2017.126. Epub 2017 Nov 27. PMID: 29176582.

RASFFa,2024 , Επιδημιολογικός Χαρτής Λιστερίωσης , Surveillance atlas of infectious diseases. Available at: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx> (Accessed: 30 August 2024).

RASFFb (no date) Application name. Available at: <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/screen/list> (Accessed: 30 August 2024).

Rasmussen, O. F., P. Skouboe, L. Dons, L. Rossen, and J. E. Olsen. 1995. *Listeria monocytogenes* exists in at least three evolutionary lines: evidence from flagellin, invasive associated protein and listeriolysin O

Rodrigues, C.S., de Sá, C.V.G.C., and de Melo, C.B., 2017. An overview of *Listeria monocytogenes* contamination in ready to eat meat, dairy and fishery foods. *Ciência Rural*, 47(2), p.e20160721. Available at: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20160721> [Accessed 14 Sept. 2024].

Rovas L, Razbadauskas A, Slauzgalvyte G. Listeriosis During Pregnancy: Maternal and Neonatal Consequences-A Case Report. *Int J Womens Health.* 2023 May 6;15:695-699. doi: 10.2147/IJWH.S399542. PMID: 37181459; PMCID: PMC10171218.

Russell AD. Challenge testing: principles and practice. *Int J Cosmet Sci.* 2003 Jun;25(3):147-53. doi: 10.1046/j.1467-2494.2003.00179.x. PMID: 18494896.

Saldivar, J.C. et al. (2018) ‘*Listeria monocytogenes* adaptation and growth at low temperatures’, *Food and Feed Safety Systems and Analysis*, pp. 227–248. doi:10.1016/b978-0-12-811835-1.00013-0.

Serventi L, Curi B, Johns R, Silva J, Bainbridge R, Gaither K. Pregnancy complicated by *Listeria monocytogenes*: a case report and review of the literature. *J Natl Med Assoc.* 2022;112(4):428–432. doi: 10.1016/j.jnma.2020.05.002

Shabala, L. et al. (2008) ‘Acid and NaCl limits to growth of *Listeria monocytogenes* and influence of sequence of inimical acid and NaCl levels on inactivation kinetics’, *Journal of Food Protection*, 71(6), pp. 1169–1177. doi:10.4315/0362-028x-71.6.1169.

Spanu C, Scarano C, Ibba M, Pala C, Spanu V, De Santis EP. Microbiological Challenge Testing for *Listeria Monocytogenes* in Ready-to-Eat Food: A Practical Approach. *Ital J Food Saf.* 2014 Dec 10;3(4):4518. doi: 10.4081/ijfs.2014.4518. PMID: 27800369; PMCID: PMC5076696.

Tahiluddin, A. B., Maribao, I. P., Amlani, M. Q., & Sarri, J. H. (2022). A review on spoilage microorganisms in fresh and processed aquatic food products. *Food Bulletin*, 1(1), 21-36. <https://doi.org/10.29329/foodb.2022.495.05>

Taormina, P.J. and Beuchat, L.R. (2002) Survival of *Listeria monocytogenes* in commercial food-processing equipment cleaning solutions and subsequent sensitive

The Mediterranean Diet | Intangible Heritage - UNESCO Multimedia Archives. Available at: <https://www.unesco.org/archives/multimedia/document-1680-eng-2> (Accessed: 25 April 2024).

Tocono, R. et al. (2014) “*Listeria monocytogenes* in vacuum-packed smoked fish products: Occurrence, routes of contamination, and potential intervention measures,” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(2), pp. 172–189. Available at: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12052>.

Vasileiadi, N. et al. (2022) “Challenge test for assessing the growth potential of *Listeria monocytogenes* in greek soft cheese (Anthotyros),” *Applied Sciences*, 12(23), p. 12349. Available at: <https://doi.org/10.3390/app1223123>

Willett, W. et al. (2019) ‘Food in the anthropocene: The eat–lancet commission on healthy diets from sustainable food systems’, *The Lancet*, 393(10170), pp. 447–492. doi:10.1016/s0140-6736(18)31788-4.

Xi. Ιχθυηρά και προϊόντα τους (no date) ΑΑΔΕ. Available at: <https://www.aade.gr/himeio/xi-ihthyira-kai-proionta-toys> (Accessed: 04 April 2024). <https://ministryofjustice.gr/wp->

Yin Y., Yao H., Doijad S., Kong S., Shen Y., Cai X., et al. (2019). A hybrid sub-lineage of *Listeria monocytogenes* comprising hypervirulent isolates. *Nat. Commun.* 10:4283. 10.1038/s41467-019-12072-1

Δελλής (2011) ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΔΟΣΗ ΦΙΛΕΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΠΕΣΤΡΟΦΑΣ (*Oncorhynchus mykiss*) ΣΕ ΕΝΑ ΕΜΠΟΡΙΚΟ ΚΑΠΝΙΣΤΗΡΙΟ ΙΧΘΥΩΝ ΤΗΣ ΗΠΕΙΡΟΥ., ΗΓΟΥΜΕΝΙΤΣΑ <https://ir.lib.uth.gr/xmlui/bitstream/handle/11615/44889/9640.pdf?sequence=1&isAll> owed=y

ΕΟΔΥ,(2023,)Available at: https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2024/03/epidimiologika-dedomena-listeriosi-ellada_2004-2023.pdf (Accessed: 30 August 2024).

Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 852/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 29ης Απριλίου 2004, για την υγιεινή των τροφίμων Available at: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2004/852/oj/ell> (Accessed: 30 August 2024).

Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 853/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 29ης Απριλίου 2004, για τον καθορισμό ειδικών κανόνων υγιεινής για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης Available at: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2004/853/oj/ell> (Accessed: 30 August 2024).

Λουγκοβόης, Β. (2021). Αυτόλυση Και Μικροβιακή Αλλοίωση Νωπών Ιχθυρών. [online] Τμήμα Επιστήμης Και Τεχνολογίας Τροφίμων, Π.Α.Δ.Α . Available at: <https://eclass.uniwa.gr/modules/document/file.php> [Accessed 9 Sep. 2024].

Οδηγία 2000/13/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 20ής Μαρτίου 2000, για προσέγγιση των νομοθεσιών των κρατών μελών σχετικά με την επισήμανση, την παρουσίαση και τη διαφήμιση των τροφίμων Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/ALL/?uri=CELEX%3A32000L0013> (Accessed: 04 April 2024).

Οδηγός αγοράς και υγιεινής συντήρησης των τροφίμων ζωϊκής προέλευσης, Έκδοση του κέντρου ελέγχου τροφίμων διεύθυνσης κτηνιατρικής Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, 2006.

Οδηγός αγοράς και υγιεινής συντήρησης των τροφίμων ζωϊκής προέλευσης, Έκδοση του κέντρου ελέγχου τροφίμων διεύθυνσης κτηνιατρικής Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, 2006.

Τσιρώνη, Θ.2010, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (ΕΜΠ)), Μελέτη μη θερμικών προκατεργασιών για τη βελτίωση της διατηρησιμότητας ιχθυηρών

Χώτος Γ.(2015), ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΝΕΡΟ ΚΑΙ ΨΑΡΙΑ (θεμελιώδεις απαραίτητες γνώσεις), Available at: <https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/TAY141/YDATOKALLIERGEIES%20WATER%20%26%20FISH.pdf>

. Helsing, L., 2020. *Challenge test assessing growth potential of Listeria monocytogenes in Eldost (Tillväxtpotential för Listeria monocytogenes i Eldost)*. Master's thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, Department of Molecular Sciences, Uppsala.

Hutchison, M.L., Thomas, D., Strachan, N.J.C. and Goodburn, K., 2012. *A review of the published literature and current production and processing practices in smoked fish processing plants with emphasis on contamination by Listeria monocytogenes*. Hutchison Scientific Ltd, Micropathology Ltd, Food Standards Scotland/University of Aberdeen, CFA.

U.S. Food and Drug Administration (FDA), 2011. *Control of Listeria monocytogenes in Ready-To-Eat Foods: Guidance for Industry. Draft Guidance*. U.S. Department of Health and Human Services, Center for Food Safety and Applied Nutrition.

Beaufort, A., Denis, C., Lombard, B., Stahl, V., Lahellec, C. and Malengreau, G., 2019. *Challenge test assessing growth potential of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods*. European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes* (EURL Lm), ANSES.

International Organization for Standardization (ISO), 2019. *Microbiology of the food chain - Requirements and guidelines for conducting challenge tests of food and feed products - Part 1: Challenge tests to study the growth potential, lag time and maximum growth rate*. ISO 20976-1:2019. ISO.

ANSES EURL Lm, 2021. *Technical guidance for conducting Listeria monocytogenes challenge tests in food*. European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*, July 2021, Version 4.

Uyttendaele, M., Busschaert, P., Valero, A., Geeraerd, A. H., Vermeulen, A., Jacxsens, L., Devlieghere, F. (2009). *Prevalence and challenge tests of Listeria monocytogenes in Belgian produced and retailed mayonnaise-based deli-salads, cooked meat products and smoked fish between 2005 and 2007*. *International Journal of Food Microbiology*, 133(1-2), 94–104. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05

Strunjak-Perovic I, Kozacinski L, Jadan M. and BrlekGorski D. 2010. Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of Croatia. *Veterinarni Medicina*, 55(5): 233- 241

Βαρελτζής Κ.,(2002) Κεφάλαιο 19.ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΑΛΙΕΥΜΑΤΩΝ , pp. 526–579. in ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΖΩΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ (Γεωργάκης Σ.Α., Βαρελτζής Κ.Π., Αμβροσιάδης Ι.Α. Εκδοσή Β. Θεσσαλονίκη :Εκδόσεις Συγχρονή Παιδεία ISBN: 978-960-357-040-0

Βαρελτζής Κ.,(2002) Κεφάλαιο 19.ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΑΛΙΕΥΜΑΤΩΝ , pp. 526–579. in ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΖΩΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ (Γεωργάκης Σ.Α., Βαρελτζής Κ.Π., Αμβροσιάδης Ι.Α. Εκδοσή Β. Θεσσαλονίκη :Εκδόσεις Συγχρονή Παιδεία ISBN: 978-960-357-040-0

Hoffman, A., Gall, K.L., Norton, D.M., Wiedmann, M., 2003. *Listeria monocytogenes* contamination patterns for the smoked fish processing environment and for raw fish. *Journal of Food Protection* 66, 52 – 60.

Millard, G. and Rockliff, S., 2003. Microbiological quality of sushi July 2003–September 2003. Available at: <http://www.health.act.gov.au/c/health?a=da&did=10060511&pid=1094601516> [Accessed 12 November 2024].

FAO/WHO, 2004a. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Rome: FAO/WHO.

Κανονισμός - 2073/2005 - en - EUR-Lex (no date) EUR. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/ALL/?uri=CELEX%3A32005R2073> (Accessed: 30 August 2024).

Κανονισμός - 2073/2005 - en - EUR-Lex EUR. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/ALL/?uri=CELEX%3A32005R2073> (Accessed: 30 August 2024).

Basti A. A, Misaghi A, Salehi T. Z. and Kamkar A. 2006. Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. *Food cont.*, 17(3): 183-188.

Barria, C., Malecki, M., Arraiano, C.M., 2013. Bacterial adaptation to cold. *Microbiology* 159, 2437–2443.

Razavilar V, Khani M. R. and Motallebi A. A. 2013. Bacteriological study of cultured silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in Gilan province, Iran. *Ir. J. of Fisheries Sc.*, 12 (3): 689-701.

Kulawik, P. and Dordević, D., 2020. Sushi processing: microbiological hazards and the use of emerging technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, pp.1-14. doi:10.1080/10408398.2020.1840332.

ΕΟΔΥ (2022a) ΟΡΙΣΜΟΙ ΚΡΟΥΣΜΑΤΟΣ ΓΙΑ ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΗ ΗΛΩΣΗΝΟΣΗΜΑΤΩΝ. Available at: <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2022/04/orismoι-loimodon-nosimatou-20220413.pdf> (Accessed: 23 January 2024).

AGRO 4-1 (2002). Σύστημα Διαχείρισης για τη Διασφάλιση Ποιότητας Προϊόντων Ιχθυοκαλλιέργειας-Προδιαγραφή Παραγωγής-Ποιοτικός Έλεγχος Προϊόντος. AGROCERT. Σύστημα Διαχείρισης για τη Διασφάλιση Ποιότητας Προϊόντων Ιχθυοκαλλιέργειας.

AGRO 4-1 (2002). Σύστημα Διαχείρισης για τη Διασφάλιση Ποιότητας Προϊόντων Ιχθυοκαλλιέργειας-Προδιαγραφή Παραγωγής-Ποιοτικός Έλεγχος Προϊόντος. AGROCERT.

Ferreira, V., Wiedmann, M., Teixeira, P. and Stasiewicz, M.J., 2014. *Listeria monocytogenes* persistence in food-associated environments: epidemiology, strain characteristics, and implications for public health. *Journal of Food Protection*, 77(1), pp.150-170.

ΕΟΔΥ, 2022 *ΟΡΙΣΜΟΙ ΚΡΟΥΣΜΑΤΟΣ ΓΙΑ ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΗ ΔΗΛΩΣΗ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ*. Available at: <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2022/04/orismoι-loimodon-nosimatou-20220413.pdf> (Accessed: 23 January 2024)

ΕΟΔΥ, 2004-2023 Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης, 2004-2023

Available at: <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2024/03/epidemiological-data-for-listeriosis-greece-2004-2023.pdf>(Accessed: 23 January 2024)

