

# ***LISTERIA MONOCYTOGENES* – ПАТОГЕН В ХРАНИТЕ (ОБЗОР)**

**д-р Десислава Бангиева, доц. д-р Валентин Русев**

*Катедра „Хигиена, технология и контрол на хранителните продукти от животински произход, ветеринарно законодателство и мениджмънт“, Ветеринарномедицински факултет, Тракийски университет, 6000 Стара Загора, България, тел.: ++359 42 699 543, e-mail: desislava\_bangieva@abv.bg*

## **РЕЗЮМЕ**

*Listeria monocytogenes* е патогенен микроорганизъм, причиняващ тежки заболявания по хората и животните, което определя и голямата му значимост за хуманната и ветеринарната медицина. Той е широко разпространен в околната среда и като психротроф е способен да се размножава в контаминирани храни дори при хладилно съхранение. Това е сериозна предпоставка за възникване на заболявания с разнообразна клинична симптоматика и висок леталитет. Множество данни свидетелстват за честотата на проявление на листериозата при различните рискови и възрастови групи, но остават недиагностицирани или недокладвани случаи. Този обзор обобщава по-съвременни данни от проучванията върху опасните серотипове *Listeria monocytogenes*, рискови за човешкото здраве и основните източници за заразяване на хората.

**Ключови думи:** *Listeria monocytogenes*, сурово мляко, листериоза, обществено здраве, хранителни рискове

## **SUMMARY**

*Listeria monocytogenes* is a pathogenic microorganism causing severe diseases in humans and animals, which determines its great importance for human and veterinary medicine. It is widely distributed throughout the environment and as a psychrotroph is able to multiply in contaminated foods even under cold storage. This is a serious precondition for the occurrence of diseases with diverse clinical symptoms and high lethality. Numerous data sources indicate the incidence of listeriosis at different risk and age groups but still some cases remain undiagnosed or unreported. This review summarizes more recent data from studies on the hazardous *Listeria monocytogenes* serotypes risky for human health and the main sources of human infection.

**Key words:** *Listeria monocytogenes*, raw milk, listeriosis, public health, food hazards

## ВЪВЕДЕНИЕ

Род *Listeria* включва 6 вида - *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Listeria ivanovii*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri* и *Listeria grayi*. Морфологично те представляват грам-положителни, неспорообразуващи пръчици, които проявяват характерна въртелива подвижност. Листерииите са факултативно анаеробни, психротрофи, повсеместно разпространени в околната среда (почва, растения, силаж, фекален материал, канализация и вода) и често се установяват в храните.

Проучванията на Swaminathan et al., 2007; Vidhya et al., 2007 и Clark et al., 2010 сочат, че *Listeria monocytogenes* е основният причинител на листериозата по животните и е сериозна заплаха за общественото здраве, защото при човека провокира тежко хранително заболяване с висок леталитет.

Една от най-важните характеристики на *Listeria spp.* е способността им да оцеляват в условия на стрес, което има отношение към хранително-вкусовата промишленост. Те растат при ниска температура, ниско рН, издържат на осмотичен стрес и преживяват при слабо консервиране на храните. Vidhya et al., 2007 посочват *Listeria monocytogenes* като основен хранителен патоген, който расте в температурния диапазон от 0 до 45°C при рН на средата от 4,4 до 9 (FAO/WHO, 2004). Тя е устойчива на сравнително високи концентрации на готварска сол и според Adams & Moss, 2000 расте при 10% NaCl, а при 16% NaCl и рН 6,0 може да преживее около година. В млякото, съхранявано при хладилни условия, Walker et al., 1990 отчитат, че *Listeria monocytogenes* е способна да расте при минимални температури между -0,1°C и -0,4°C.

В експериментално контаминиран с *Listeria monocytogenes* кашкавал, съхраняван при стайна температура, Daskalov et al., 2010 констатират елиминиране на част от патогена, но макар и в ниска концентрация ( $10^1$ - $10^3$  cfu/g) той се запазва през целия експериментален период. При експериментално контаминирани с *Listeria monocytogenes* сурово-сушени колбаси Daskalov et al., 2013 установяват, че съдържанието на готварска сол между 3 и 4.5%, и  $\geq 4.5\%$  не повлиява растежа на патогена, а само комбинацията от по-ниски стойности на рН (под 5) и по-ниски стойности на  $a_w$  са в състояние да го инхибират.

## ВИРУЛЕНТНИ ФАКТОРИ НА *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Проучванията (Kreft & Vazquez-Boland, 2001; Doumith et al., 2004; Conter et al., 2009; Clayton et al., 2011) свидетелстват за няколко предполагаеми вирулентни фактора на *Listeria monocytogenes*, между които най-важни в патогенезата на листериозата при човека изглеждат са *inlA*, *inlC* и *inlJ* (кодиращи интерналин-подобни протеини), *lmo2672* (отговорен за транскрипционния регулатор) и *lIsX* (за експресия на литериолизин S).

Анализите (серологични и PCR) групират *Listeria monocytogenes* в 13 серотипа (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e и 7) (FDA, 2011) с различен потенциал на вирулентност, съгласно соматични (O фактор) и флагеларни (H фактор) антигени. Проучванията (Liu et al., 2006; Roberts et al., 2006; Martins & Leal Germano, 2011) сочат, че повечето (98%) случаи на листериоза при хората се причиняват от серотиповете 4b, 1/2a, 1/2b и 1/2c, а за най-новите спорадични или епидемични случаи на листериоза е отговорен серотип 4b.

По данни на Kathariou, 2002 щамовете *Listeria monocytogenes*, изолирани от хора с листериоза и проби от храни в 95% принадлежат към серотипове 1/2a, 1/2b и 4b, но според Martins & Leal Germano, 2011 от храните най-често се изолира серотип 1/2a и по-рядко серотип 4b, а повечето случаи на листериоза при хората са свързани със серотип 4b, който е по-вирулентен.

В Швеция (Waak et al., 2002) и САЩ (Muraoka et al., 2003; Van Kessel et al., 2004) се наблюдава по-голяма вариабилност на серотиповете *Listeria monocytogenes* (1/2a, 1/2b, 3b, 4b и 4c).

В Алжир Bellouni, 1990 и Lebres & Mouffok, 2000 отнасят изолираните от хранителни продукти щамове на *Listeria monocytogenes* само към серотип 4b, а Gilbreth et al., 2005 и Wieczorek et al., 2012 определят серотип 1/2a като доминиращ сред серотиповете *Listeria monocytogenes* изолирани от различни храни.

От сурово мляко Muraoka et al., 2003 изолират най-много (89,1%) щамове *Listeria monocytogenes* от серотип 1/2a и значително по-малко (10,9%) от серотип 4b. Според Waak et al., 2002 и Gelbíčová & Karpísková, 2012a в суровото мляко преобладават щамовете *Listeria monocytogenes* от серогрупа “1/2a, 3a”. Jamali et al., 2013 потвърждават, че сред изолатите *Listeria monocytogenes* от суровото мляко в Иран серогрупата “1/2a, 3a” е доминираща, следвана от “1/2c, 3c” и “4b, 4d, 4e”.

Изолатите *Listeria monocytogenes* от сурово мляко Hamdi et al., 2007 отнасят към серотиповете 4b, 4d и 4e, докато Kevenk et al., 2016 ги определят като 4b и 1/2b, а изолатите *Listeria monocytogenes* от млечните продукти като 1/2a, 1/2b и 1/2c.

От тампонните проби взети от контактните повърхности на три млекопреработвателни предприятия в Индия Doijad et al., 2011 установяват, че всички изолати *Listeria monocytogenes* били от серотипове 1/2a, 1/2c, 3a и 3.

Гените *inlA*, *inlC* и *inlJ*, свидетелстващи за вирулентния потенциал на *Listeria monocytogenes*, присъстват в почти всички изолати от животни и хора заболели от листериоза (Marien et al., 2007; Mammìna et al., 2009), проби от околната среда (Gelbíčová & Karpísková, 2012b), от сурово мляко (Jamali et al., 2013) и от различни храни (Indrawattana et al., 2011; Lomonaco et al., 2012; Sant’Ana et al., 2012a). В Индия чрез PI-PLC-анализ на 105 изолата *Listeria monocytogenes* от сурово мляко Kalorey et al., 2008 установяват 90 изолата положителни за *hlyA* ген, а според Jamali et al., 2013 в Иран всички изолати *Listeria monocytogenes* от сурово мляко са положителни за гените *inlA*, *inlC* и *inlJ*.

## **РИСКОВИ ГРУПИ ХОРА И РАЗПРОСТРАНЕНИЕ НА ЛИСТЕРИОЗАТА**

Според Schlech, 2000 листериозата при хората представлява професионален риск, особено за фермерите, работниците в птицеферми, месодобивни и месопреработвателни предприятия и ветеринарните лекари, но повечето инфекции са с хранителен произход. Рискът за заболяване от листериоза е най-голям при уязвимите групи хора: бременните жени и техните ембриони, новородените деца, имunosупресирани хора с хронични чернодробни заболявания, диабет, рак, СПИН или с трансплантации, както и при хората в напреднала възраст (над 65 години).

Заболяването листериоза има дълъг инкубационен период (Gandhi & Chikindas, 2007; Swaminathan et al., 2007). За възприемчиви възрастни хора Krause

& Hendrick, 2010 посочват от 3 до 70 дни (средно 3 седмици). Според Spickler, 2005 гастроентеритът при здрави хора има инкубационен период 1 - 2 дни, а новородените, заразени по време на раждането, развиват симптоми от няколко дни до няколко седмици по-късно.

В повечето случаи на листериоза се наблюдават леки симптоми (главоболие, повишена температура, диария и миалгия) (FAO/WHO, 2004). Тежки симптоми (аборти, преждевременно раждане, менингит, менингоенцефалит, сепсис) са наблюдавани при животни и хора, предимно в рисковите групи като бременни, новородени и имунокомпрометирани лица (Gandhi & Chikindas, 2007; Swaminathan et al., 2007; Dalzini et al., 2016). Наблюдавани са случаи на спонтанни аборти и преждевременно раждане при жени, носителки на патогена (Barber & Okubadejo, 1965; Kaur et al., 2007). Quentin et al., 1990 описват случай на септичен аборт, като от кръвта и плацентата на пациентката е изолиран мултирезистентен към антибиотици щам на *Listeria monocytogenes* тип 4b.

Леталитетът от листериоза е висок и варира от 9-20 до 30-44% (Gandhi & Chikindas 2007; Swaminathan et al. 2007; Clark et al., 2010). Според Mead et al., 1999 той е значително по-висока от леталитетът при други, по-често срещани заболявания, причинени от патогените *Escherichia coli O157:H7*, *Campylobacter spp.* и *Salmonella spp.*

За периода от 1982 до 2010 г. Verraes et al., 2015 докладват за 64 случая и взрива на листериоза в Канада, САЩ и Европа, свързани с консумацията на млечни продукти.

През 2013 г. в ЕС (с 27 държави членки) се съобщава за 1 763 потвърдени случая на листериоза при хора и общо 191 смъртни случая. Наблюдавана е сезонност при заболяването през периода 2009-2013 г. с големи летни пикове и по-малки зимни пикове (EFSA/ECDC, 2015).

През 2014 г. в ЕС (с 27 държави членки) са потвърдени 2 161 случая на листериоза при хора, с 210 смъртни случая в 17 държави членки. Най-често е засегнато възрастното население, като при хората над 65-годишна възраст леталитетът достига 17,8% (EFSA/ECDC, 2015).

През 2015 г. в ЕС (с 28 държави членки) потвърдените случаи на листериоза при хората са вече 2 206. Наблюдавана е статистически значима тенденция за увеличаване на листериозата през периода 2008-2015 г. Смъртните случаи от листериоза през 2015 г. в 19 държави членки възлизат на 270 - най-висок годишен леталитет от 2008 г. Най-често се съобщава за листериоза при възрастни (над 64 години) пациенти и особено при тези над 84 години (EFSA/ECDC, 2016).

В България през 2011 г. са потвърдени 4, през 2012 г. - 10, през 2013 г. - 3, през 2014 г. - 10 и през 2015 г. - 5 случая на листериоза при хората (EFSA/ECDC, 2016).

## ИЗТОЧНИЦИ ЗА ЗАРАЗЯВАНЕ НА ХОРАТА

Листериозата е зооноза с източник на инфекцията домашните, дивите животни и човекът, а като преносител се сочат някои видове кърлежи.

Съществен източник на *Listeria monocytogenes* са различните видове готови за консумация храни (RTE) с дълъг срок на годност, който позволява развитието на

патогена. Според Lamont et al., 2011 от началото на 60-те години, с широкото и масово въвеждане и използване на хладилниците, преработените храни и храните с дълъг срок на годност все по-често стават причина за листериоза. Регламент (ЕО) № 2073/2005 на Комисията определя микробиологичните критерии за *Listeria monocytogenes* в храните. За RTE храните, в края на производството се изисква отсъствие в 25 g от продукта, ако производителят на храни не може да докаже по задоволителен начин пред компетентния орган, че продуктът няма да премине границата от 100 cfu/g през целия му срок на годност.

Доказателство за все по-нарастващото значение на храните в трансмисията на *Listeria monocytogenes* е констатацията на Seyoum et al., 2015 и Dalzini et al., 2016, че от всички спорадични и епидемични случаи на листериоза при хората, повечето (99%) са причинени от консумацията на контаминирани храни. Способността на *Listeria monocytogenes* да расте при хладилни температури и ниско рН (Swaminathan et al., 2007), спомага за попадането ѝ в хранителната верига чрез заразени храни. Такива според редица автори (Oliver et al. 2005; Aygun & Pehlivanlar, 2006; Beaufort et al., 2007; Oliver, et al., 2009; Fretz et al., 2010; Rahimi et al., 2010; Sant'Ana et al., 2012b; Jamali et al., 2013; Daminelli et al., 2014) са сурови, неизмити зеленчуци и плодове, варено или недобре сварено месо и месни продукти, студено пушена съомга, недостатъчно термично обработени готови за консумация храни (RTE). Доказано е (Schlech, 2000; Aurora et al., 2008; Kalorey et al., 2008; Seyoum et al., 2015), че листериозата при хората е предимно хранителна инфекция и има подчертана връзка с консумацията на контаминирани с *Listeria monocytogenes* мляко и млечни продукти.

Потребителските навици да се консумира сурово мляко също повишават риска от инфекция с *Listeria monocytogenes*. Тази практика е силно застъпена не само в развиващите се страни, но и в някои силно развити държави. Потребителите вярват, че чрез суровото мляко получават полезни за здравето си вещества, които биха се разрушили при загряване на млякото. Според Claeys et al., 2013 с изключение на някои органолептични промени, термичната обработка не променя съществено хранителната стойност на млякото.

Според Giacometti et al., 2012 и Giacometti et al., 2013 в Северна Италия от 37% до 43% от потребителите не варят сурово мляко преди консумация и дори го предоставят за консумация на деца под 5-годишна възраст. Проучванията на Swaminathan & Gerner-Smidt, 2007 и Brooks et al., 2012 показват, че млечните продукти произведени от непастьоризирано мляко, като някои видове прясно (незряло) сирене и сладолед, често са контаминирани с *Listeria spp.* Това показва, че консумацията на сурово мляко или продукти получени от него, представлява реална заплаха за здравето. Затова се препоръчва преди консумация суровото мляко да се подлага на термична обработка. Термизацията при 57-68°C за 15-20 s не гарантира инактивация на всички вегетативни форми, но пастьоризацията (високо-температурна, краткотрайна пастьоризация при 71-74°C за 15-40 s), УНТ (индиректна при 135-140°C за 6-10 s или директна при 140-150°C за 2-4 s) и стерилизацията при 110-120°C за 10-20 min, елиминират *Listeria monocytogenes* в млякото (Claeys et al., 2013).

Chaturongakul & Boor, 2006 съобщават за няколко големи взрива на листериоза, свързани с консумацията на пастьоризирано мляко и кашкавал, в които

въпреки ниските температури на хладилно съхранение *Listeria monocytogenes* може да се размножава. Вероятно се касае за нарушен режим на термична обработка на суровото мляко или вторична контаминация.

Според Claeys et al., 2013, значимостта на *Listeria monocytogenes* като причинител на листериоза по хората след консумация на сурово мляко или продукти, произведени от него е ниска, защото нейното развитие в суровото мляко се подтиска от наличната коменсална микрофлора, а за възникване на заболяването е необходима относително висока инфекциозна доза (Oliver et al., 2009).

## ДАНИ ОТ БЪЛГАРИЯ

Според Daskalov & Daskalova, 2012 внедряването на системата НАССР в предприятията за производство на готови за консумация храни в България не повлиява съществено върху нивото на замърсяване с *Listeria monocytogenes*. Напротив, преди официалното въвеждане на системата НАССР превалентността на *Listeria monocytogenes* била 4.2%, а след задължителното ѝ прилагане превалентността на *Listeria monocytogenes* става 6.9%. Най-значително замърсяване с *Listeria monocytogenes* е установено при сурово-сушените и някои термично обработени месни продукти.

Проучването на Gyurova et al., 2014 показва, че от изследваните RTE храни *Listeria monocytogenes* се открива само в рибните продукти, но отсъства в пробите месни продукти и сирена. Тези резултати потвърждават повишената безопасност на месните и млечните RTE продукти относно присъствието на *Listeria monocytogenes*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Въпреки някои противоречиви данни може да се обобщи, че листериозата при хората е предимно хранителна инфекция и има подчертана връзка с консумацията на контаминирани с *Listeria monocytogenes* мляко и млечни продукти. Консумацията на сурово мляко е реална заплаха за общественото здраве, особено за рисковите групи, като малки деца, бременни жени, хора в напреднала възраст или лица с компрометирана имунна система. Затова термичната обработка на суровото мляко е не само препоръчителна, а задължителна. Безспорна подкрепа на това е значителното подобряване на общественото здраве след въвеждането на забрана за продажба на сурово мляко и задължителната му пастьоризация. В някои държави, а напоследък и у нас реализацията на сурово мляко е разрешена, но само от регистрирани производители и с ясно посочена нотификация за варене преди консумация. За България съществуват оскъдни данни за превалентността, резистентността и генотипното разнообразие на *Listeria monocytogenes*, което е може да бъде обект на бъдещи изследвания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Adams, M. R. & M. O. Moss, 2000. Food Microbiology, Second Edition. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.

2. Anonymous, 2005. Commission Regulation (EC) 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union, 22.12.2005, L 338.
3. Aurora, R., A. Prakash, S. Prakash, D. B. Rawool & S. B. Barbuddhe, 2008. Comparison of PI-PLC based assays and PCR along with in vivo pathogenicity tests for rapid detection of pathogenic *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, **19**, 641-647.
4. Aygun, O. & S. Pehlivanlar, 2006. *Listeria* spp. in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. *Food Control*, **17**, 676–679.
5. Barber, M. & O. A. Okubadejo, 1965. Maternal and neonatal listeriosis: Report of case and brief review of literature of listeriosis in man. *British Medical Journal*, **2**, 735-738.
6. Beaufort, A., S. Rudelle, N. Gnanou-Besse, M. T. Toquin, A. Kerouanton, H. Bergis, G. Salvat & M. Cornu, 2007. Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated cold-smoked salmon. *Letters in Applied Microbiology*, **44**, 406-411.
7. Bellouni, R., 1990. *Listeria monocytogenes*: bactériologie et épidémiologie. Thèse doctorat en sciences médicales, INESM, Université d'Alger, pp.165.
8. Brooks, J. C., B. Martinez, J. Stratton, A. Bianchini, R. Krokstrom & R. Hutkins, 2012. Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. *Food Microbiology*, **31**, 154-158.
9. Chaturongakul, S. & K. J. Boor, 2006. SigmaB activation under environmental and energy stress conditions in *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, **72** (8), 5197–5203.
10. Claeys, W. L., S. Cardoen, G. Daube, J. De Block, K. Dewettinck, K. Dierick, L. De Zutter, A. Huyghebaert, H. Imberechts, P. Thiange, Y. Vandenplas & L. Herman, 2013. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food Control*, **31**, 251-262.
11. Clark, C. G., J. Farber, F. Pagotto, N. Ciampa, K. Dore, C. Nadon, K. Bernard & L. K. Ng, 2010. Surveillance for *Listeria monocytogenes* and listeriosis, 1995-2004. *Epidemiology and Infection*, **138**, 559–572.
12. Clayton, E. M., C. Hill, P. D. Cotter & R. P. Ross, 2011. Real-time PCR assay to differentiate listeriolysin S-positive and-negative strains of *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, **77**, 163–171.
13. Conter, M., D. Paludi, E. Zanardi, S. Ghidini, A. Vergara & A. Ianieri, 2009. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, **128**, 497–500.
14. Dalzini, E., V. Bernini, B. Bertasi, P. Daminelli, M. N. Losio & G. Varisco, 2016. Survey of prevalence and seasonal variability of *Listeria monocytogenes* in raw cow milk from Northern Italy. *Food Control*, **60**, 466-470.
15. Daminelli, P., E. Dalzini, E. Cosciani-Cunico, G. Finazzi, S. D'Amico & M. N. Losio, 2014. Prediction of the maximal growth rate of *Listeria monocytogenes* in sliced mortadella by the square root type model. *Italian Journal of Food Science*, **26**, 261-267.
16. Daskalov, H. & A. Daskalova, 2012. Effect of implementation of HACCP system on distribution of *Listeria monocytogenes* in Bulgarian foods. *Book of Proceedings, 3rd International Scientific Meeting "Days of Veterinary Medicine 2012"*, Ohrid, pp. 120-122.

17. Daskalov, H., F. Fejzullah & T. Stoyahchev, 2013. Study on factors (pH, water activity, salt content) affecting the growth of *Listeria monocytogenes* in raw dried cured sausages. *Macedonian Veterinary Review*, **36** (2), 91–95.
18. Daskalov, H., S. Atanasova, T. Stoyanchev & N. Chipilev, 2010. Microbiological and near infrared spectroscopy analysis of Bulgarian yellow cheese, contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 13 (1), 31–37.
19. Doijad, S., S. B. Barbuddhe, S. Garg, S. Kalekar, J. Rodrigues, D. D’Costa, S. Bhosle & T. Chakraborty, 2011. Incidence and genetic variability of *Listeria* species from three milk processing plants. *Food Control*, **22**, 1900-1904.
20. Doumith, M., C. Cazalet, N. Simoes, L. Frangeul, C. Jacquet, F. Kunst, P. Martin, P. Cossart, P. Glaser & C. Buchrieser, 2004. New aspects regarding evolution and virulence of *Listeria monocytogenes* revealed by comparative genomics and DNA arrays. *Infection and Immunity*, **72**, 1072–1083.
21. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal* 2016;14(12):4634, 231 pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4634
22. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA Journal* 2015;13(12):4329, 190 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4329
23. EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2015. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2013. *EFSA Journal* 2015;13(1):3991, 165 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.3991
24. FDA, 2011. Fish and fishery products hazards and controls guidance. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration USA. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/food/guidanceregulation/ucm251970.pdf>. Accessed 2014 April 25.
25. Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO), 2004. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Technical Reports. Microbiological Risk Assessment Series 5, Geneva.
26. Fretz, R., J. Pichler, U. Sagel, P. Much, W. Ruppitsch, A. T. Pietzka, A. Stöger, S. Huhulescu, S. Heuberger, G. Appl, D. Werber, K. Stark, R. Prager, A. Flieger, R. Karpísková, G. Pfaff & F. Allerberger, 2010. Update: multinational listeriosis outbreak due to ‘Quargel,’ a sour milk curd cheese, caused by two different *L. monocytogenes* serotype 1/2a strains, 2009-2010. *Eurosurveillance*, 15(16):pii=19543. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19543>
27. Gandhi, M. & M. L. Chikindas, 2007. *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. *International Journal of Food Microbiology*, **113**, 1–15.
28. Gelbícová, T. & R. Karpísková, 2012a. Occurrence and typing of *Listeria monocytogenes* isolated from raw cow’s milk collected on farms and from vending machines. *Klinická Mikrobiologie Infekční Lékarství*, **18**, 38-42.
29. Gelbícová, T. & R. Karpísková, 2012b. Outdoor environment as a source of *Listeria monocytogenes* in food chain. *Czech Journal of Food Sciences*, **30**, 83-88.



30. Giacometti, F., A. Serraino, G. Finazzi, P. Daminelli, M. N. Losio, M. Tamba, A. Garigliano, R. Mattioli, R. Riu & R. G. Zandoni, 2012. Field handling conditions of raw milk sold in vending machines: experimental evaluation of the behaviour of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium and *Campylobacter jejuni*. *Italian Journal of Animal Science*, **11**, 132-136.
31. Giacometti, F., P. Bonilauri, A. Serraino, A. Peli, S. Amatiste, N. Arrigoni, M. Bianchi, S. Bilei, G. Cascone, D. Comin, P. Daminelli, L. Decastelli, M. Fustini, R. Mion, A. Petruzzelli, R. Rosmini, G. Rugna, M. Tamba, F. Tonucci & G. Bolzoni, 2013. Four-year monitoring of foodborne pathogens in raw milk sold by vending machines in Italy. *Journal of Food Protection*, **76**, 1902-1907.
32. Gilbreth, S. E., J. E. Call, F. M. Wallace, V. N. Scott, Y. Chen & J. B. Luchansky, 2005. Relatedness of *Listeria monocytogenes* isolates recovered from selected ready-to-eat foods and listeriosis patients in the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, **71**, 8115-8122.
33. Gyurova, E., G. Krumova-Vulcheva, H. Daskalov & Y. Gogov, 2014. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Bulgaria. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, **7**, 112–118.
34. Hamdi, T. M., M. Naïm, P. Martin & C. Jacquet, 2007. Identification and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated in raw milk in the region of Algiers (Algeria). *International Journal of Food Microbiology*, **116**, 190-193.
35. Indrawattana, N., T. Nibaddhasobon, N. Sookkrung, M. Chongsa-nguan, A. Tuntrongchitr, S. Makino, W. Tungyong & W. Chaicumpa, 2011. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in raw meats marketed in Bangkok and characterization of the isolates by phenotypic and molecular methods. *Journal of Health, Population and Nutrition*, **29**, 26-38.
36. Jamali, H., B. Radmehr & K. L. Thong, 2013. Prevalence, characterisation, and antimicrobial resistance of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolates from raw milk in farm bulk tanks. *Food Control*, **34**, 121-125.
37. Kalorey, D. R., S. R. Warke, N. V. Kurkure, D. B. Rawool & S. B. Barbuddhe, 2008. *Listeria* species in bovine raw milk: A large survey of Central India. *Food Control*, **19**, 109–112.
38. Kathariou, S., 2002. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. *Journal of Food Protection*, **11**, 1811-1829.
39. Kaur, S., S. V. S. Malik, V. M. Vaidya & S. B. Barbuddhe, 2007. *Listeria monocytogenes* in spontaneous abortions in humans and its detection by multiplex PCR. *Journal of Applied Microbiology*, **103**, 1889-1896.
40. Kevenk, T. O. & G. Terzi Gulel, 2016. Prevalence, antimicrobial resistance and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* isolated from raw milk and dairy products. *Journal of Food Safety*, **36**, 11-18.
41. Krause, D. & S. Hendrick, 2010. Zoonotic pathogens in the food chain, Canada, pages 256.
42. Kreft, J. & J. A. Vazquez-Boland, 2001. Regulation of virulence genes in *Listeria*. *International Journal of Medical Microbiology*, **291**, 145–157.
43. Lamont, R. F., J. Sobel, S. Mazaki-Tovi, J. P. Kusanovic, E. Vaisbuch, S. K. Kim, N. Uldbjerg & R. Romero, 2011. Listeriosis in human pregnancy: a systematic review. *Journal of Perinatal Medicine*, **39**, 227-236.

44. Lebres, E. H. A. & F. Mouffok, 2000. Enquête de listériose en Algérie. Recueil de la journée: Institut Pasteur d'Algérie face aux problèmes sanitaires de l'été, pp. 11–22.
45. Liu, D., M. L. Lawrence, M. Wiedmann, L. Gorski, R. E. Mandrell, A. J. Ainsworth & F. W. Austin, 2006. *Listeria monocytogenes* subgroups IIIA, IIIB, and IIIC delineate genetically distinct populations with varied virulence potential. *Journal of Clinical Microbiology*, **44**, 4229–4233.
46. Lomonaco, S., R. Patti, S. J. Knabel & T. Civer, 2012. Detection of virulence associated genes and epidemic clone markers in *Listeria monocytogenes* isolates from PDO Gorgonzola cheese. *International Journal of Food Microbiology*, **160**, 76-79.
47. Mammina, C., A. Aleo, C. Romani, N. Pellissier, P. Nicoletti, P. Pecile, A. Nastasi & M. M. Pontello, 2009. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from human listeriosis cases in Italy. *Journal of Clinical Microbiology*, **47**, 2925-2930.
48. Marien, M., A. Decostere, H. Werbrouck, E. Van Coillie, D. Paepe, H. Moyaert, F. Pasmans, S. Daminet & F. Haesebrouck, 2007. Isolation of *Listeria monocytogenes* from the gallbladder of a dog with liver insufficiency. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, **76**, 352-354.
49. Martins, E. A. & P. M. Leal Germano, 2011. *Listeria monocytogenes* in ready to eat, sliced, cooked ham and salami products, marketed in the city of São Paulo, Brazil: occurrence, quantification, and serotyping. *Food Control*, **22**, 297-302.
50. Mead, P. S., L. Slutsker, V. Diets, L. F. McCaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin & R. V. Tauxe, 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, **5**, 607–625.
51. Muraoka, W., C. Gay, D. Knowles & M. Borucki, 2003. Prevalence of *Listeria monocytogenes* subtypes in bulk milk of the Pacific Northwest. *Journal of Food Protection*, **66**, 1413-1419.
52. Oliver, S. P., B. M. Jayarao & R. A. Almeida, 2005. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathogens & Disease*, **2**, 115-129.
53. Oliver, S. P., K. J. Boor, S. C. Murphy & S. E. Murinda, 2009. Food safety hazards associated with consumption of raw milk. *Foodborne Pathogens and Disease*, **6**, 793-806.
54. Quentin, C., M. C. Thibaut, J. Horovitz & C. Bebear, 1990. Multiresistant strain of *Listeria monocytogenes* in septic abortion. *Lancet*, **336** (11), 375.
55. Rahimi, E., M. Ameri & H. Momtaz, 2010. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran. *Food Control*, **21**, 1448-1452.
56. Roberts, A., K. Nightingale, G. Jeffers, E. Fortes, J. M. Kongo & M. Wiedmann, 2006. Genetic and phenotypic characterization of *Listeria monocytogenes* lineage III. *Microbiology*, **152**, 685–693.
57. Sant'Ana, A. S., M. C. Igarashi, M. Landgraf, M. T. Destro & B. D. G. M. Franco, 2012a. Prevalence, populations and pheno-and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat vegetables marketed in São Paulo, Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, **155**, 1-9.
58. Sant'Ana, A. S., M. S. Barbosa, M. T. Destro, M. Landgraf & B. D. Franco, 2012b. Growth potential of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in nine types of ready-to-eat vegetables stored at variable temperature conditions during shelflife. *International Journal of Food Microbiology*, **157**, 52-58.

59. Schlech, W. F., 2000. Foodborne listeriosis. *Clinical Infectious Diseases*, **31**, 770-775.
60. Seyoum, E. T., D. A. Woldetsadik, T. K. Mekonen, H. A. Gezahegn & W. A. Gebreyes, 2015. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in raw bovine milk and milk products from central highlands of Ethiopia. *Journal of Infection in Developing Countries*, **9**, 1204-1209.
61. Spickler, A. R., 2005. Listeriosis. At <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php>
62. Swaminathan, B. & P. Gerner-Smidt, 2007. The epidemiology of human listeriosis. *Microbes and Infection*, **9**, 1236-1243.
63. Swaminathan, B., D. Cabanes, W. Zhang & P. Cossart, 2007. *Listeria monocytogenes*, p. 457-491. In Doyle M. & Beuchat L. (ed), Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, Third Edition. ASM Press, Washington, DC. doi:10.1128/9781555815912.ch21
64. Van Kessel, J. S., J. S. Karns, L. Gorski, B. J. McCluskey & M. L. Perdue, 2004. Prevalence of Salmonellae, *Listeria monocytogenes*, and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairies. *Journal of Dairy Science*, **87**, 2822-2830.
65. Verraes, C., G. Vlaemynck, S. Van Weyenberg, L. De Zutter, G. Daube, M. Sindic, M. Uyttendaele & L. Herman, 2015. A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk. *International Dairy Journal*, **50**, 32-44.
66. Vidhya, R., M. C. Vincent, S. R. Jayan, U. L. Mohandas, K. S. Dharsana, P. P. Suryaprasad & M. V Helan, 2007. *Listeria* - review of epidemiology and pathogenesis. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, **40**, 4-13.
67. Waak, E., W. Tham & M. L. Danielsson-Tham, 2002. Prevalence and fingerprinting of *Listeria monocytogenes* strains isolated from raw whole milk in farm bulk tanks and in dairy plant receiving tanks. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**, 3366-3370.
68. Walker, S. J., P. Archer & J. G. Banks, 1990. Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, **68**, 157-162.
69. Wiczorek, K., K. Dmowska & J. Osek, 2012. Characterization and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from retail beef meat in Poland. *Foodborne Pathogens and Disease*, **9**, 681-685.