

EURL Lm tehniline juhisdokument toidu käitlemisaladelt ja seadmetelt proovide võtmiseks *Listeria monocytogenes* tuvastamiseks¹

versioon nr 4 – 3. oktoober 2023

Graziella MIDELET, Léna BARRE, Adrien ASSÉRE, Bertrand LOMBARD, Thomas BRAUGE, Euroopa Liidu *Listeria monocytogenes* referentlaboratoorium, Prantsusmaa toidu-, keskkonna ja tööohutuse ning -tervishoiuamet (Anses), toiduohutuselabor, Boulogne-sur-Mer ja Maisons-Alfort, Prantsusmaa

Koostöös riiklike *Listeria monocytogenes* referentlaboratooriumide (NRL) esindajate tööühmaga ning riiklike pädevate ametiasutuste (CA) ja toidu töötajate esindajatega (FP):

Perekonnanimi	Eesnimi	Organisatsioon	Staatus	Riik
ALMEIDA	Gonçalo	Instituto Nacional de Investigação Veterinária, I.P.	NRL	Portugal
ANDERSEN	Jens Kirk	Riiklik toiduinstituut, Taani tehnikaülikool	NRL	Taani
BUBULIENÉ	Ruta	Riiklik toidu- ja veterinaaramet	CA	Leedu
CENTOROTOLA	Gabirella	Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale"	NRL	Itaalia
CHIOVEANU	Robert	Riiklik hügieeni ja veterinaar-toiduohutusamet	CA	Rumeenia
DE REU	Koen	Põllumajandus-, kalandus- ja toiduteaduse instituut	CA	Belgia
DWAN	Anne	Lõuna terviseteevuste juht	CA	Iirimaa
FREMAUX	Bastien	IFIP	FP	Prantsusmaa
GUTJAHR	Ewald	Austria toiduohutuse ja terviseamet	NRL	Austria
HANIN	Aurelie	ACTALIA	FP	Prantsusmaa
HICKEY	Bernadette	Mere- ja põllumajandusliku toidu piimateaduste laboriosakond	NRL	Iirimaa
IN 'T VELD	Paul	Hollandi toidu ja tarbijakaupade ohutuse amet	CA	Holland
JACUNSKAITE	Jolanta	Riikliku toidu- ja veterinaarameti veterinaarpuhastuseüksus	CA	Leedu
JANKULOSKI	Dean	Skopje veterinaarmeditsiinosakond	NRL	Põhja-Makedoonia
KRAMARENKO	Toomas	Veterinaar- ja toidulabor	NRL	Eesti
MAINER ALBIAC	Gabriel	Hollandi toidu- ja tarbijakaupade ohutuse amet	CA	Holland
POMILIO	Francesco	Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale"	NRL	Itaalia
URKE	Marika	Veterinaar- ja Toiduamet	CA	Eesti

Selle dokumendi loomist toetas Euroopa Liit. Dokumentis väljendatud vaated ja arvamused kuuluvad dokumendi autoritele ega peegelda tingimata Euroopa Liidu või Euroopa Tervishoiu ja Digitaalvaldkonna Rakendusameti (HaDEA) omi. Euroopa Liit ega HaDEA ei vastuta nende arvamuste ega vaadete eest.

¹ Tegemist on dokumendi „EURL Lm TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes*“ tõlkega (koostajad EU Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*, French Agency For Food, Environmental And Occupational Health & Safety (Anses), Laboratory for Food Safety, Boulogne-sur-Mer and Maisons-Alfort locations, France)

Sisukord

TERMINID	3
Eessõna	4
1. Sissejuhatus	4
1.1 Taust ja õiguslik raamistik	4
1.2 <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> PÜSIVUS TOIDUKÄITLEMISSETEVÕTETES	5
2. Käsitlusala	6
3. PROOVIVÕTUKOHTADE VALIK	6
4. MILLISE AJA JOOKSUL TULEKS PROOVID VÕTTA.....	6
5. PROOVIVÕTUKOHT	7
6. LAHJENDID SEADMETELT PROOVI VÕTMISEKS KASUTATAVA LAPI NIISUTAMISEKS.....	7
6.1 LIHTLAHJENDID	7
6.2 NEUTRALISEERIVAD LAHJENDID	7
7. PROOVIVÕTUMEETODID	7
8. SÄILITAMINE JA TRANSPORT	8
9. ANALÜÜSIMEETOD	8
10. VIITED.....	8

TERMINID

CEN: Euroopa Standardikomitee (<https://www.cencenelec.eu/>), ühendab 34 Euroopa riigi riiklike standardiameteid.

EURL *Lm*: Euroopa Liidu *Listeria monocytogenes* referentlaboratoorium

HACCP: Ohuanalüüsi ja kriitiliste kontrollpunktide (HACCP) süsteem

ISO: rahvusvaheline standardiorganisatsioon (www.iso.org). ISO on sõltumatu valitsuseväline rahvusvaheline organisatsioon, kuhu kuulub 165 riiklikku standardiametit.

NRL: riiklik referentlaboratoorium

VBNC: elus, aga mittekuultiveeritav

Eessõna

2010. aastal jõudsid Euroopa Liidu *Listeria monocytogenes* referentlaboratoorium (EURL *Lm*) ja riiklike *Listeria monocytogenes* referentlaboratooriumide võrgustik (NRL) EURL *Lm*-i läbiviidud materjalide uurimise järel üksmeelele, et rahvusvaheline ja Euroopa standard EN ISO 18593:2004, mis kirjeldab bakterite leidmiseks või loendamiseks toidukäitlemise piirkondades pindadelt ja seadmetelt proovi võtmist (kontaktplaadid, varrega tampoonid, käsna ja marlipapid), ei anna piisavalt juhiseid konkreetselt *L. monocytogenes* tuvastamiseks (vt ka sissejuhatust). Seega lepiti kokku, et EURL *Lm* loob koostöös töörühmaga teemakohase tehnilise juhisdokumendi, mida koordineerivad Brigitte Carpentier ja Léna Barre (ANSES projektijuhid, Prantsusmaa). Aastal 2012 avaldati EURL *Lm*-i juhiseid (versioon 3) toidukäitlemise aladelt ja seadmetelt *Listeria monocytogenes* tuvastamise proovide võtmiseks. Pärast 2015. aastat töötas ISO TC34/SC9/WG17 rahvusvahelise ja Euroopa standardiga EN ISO 18593 lähtudes EURL *Lm*-i 2012. aasta juhendist. See viis rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN ISO 18593 läbivaatamiseni, mis avaldati aastal 2018. Pärast rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN ISO 18593 läbivaatamist aastal 2018 ning rahvusvahelise ja Euroopa standardite EN ISO 11290 -1 ja EN ISO 11290 -2 läbivaatamist aastal 2017 lepiti kokku, et EURL *Lm* koostab selle juhiseid läbivaadatud versiooni koostöös 23 liikmega 12st EL-i liikmesriigist, kes kuuluvad NRL-idesse ja teistesse organisatsioonidesse (vt esilehte).

Taimede, loomade, toidu ja sööda alaline komitee kiitis 3. oktoobril 2023 heaks 4. versiooni tehnilise juhisdokumendi proovide võtmiseks toidukäitlemise aladelt ja seadmetelt *Listeria monocytogenes* tuvastamiseks.

1. SISSEJUHATUS

1.1. Taust ja õiguslik raamistik

Nüüdseks on kindlaks tehtud, et valmistoidud võivad käitlemise käigus saastuda *Listeria monocytogenes* alamliikidega, mis on toidukäitlemise ettevõtetes püsivad (Carpentier Cerf 2011). Rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN ISO 18593:2018 läbivaadatud versioon ei anna piisavalt juhiseid ega nõu konkreetselt *L. monocytogene* tuvastamiseks toiduahela keskkonna pindade proovidest. Kontaktplaadid *L. monocytogenes* tuvastamiseks ei sobi. Ainsad sobivad meetodid *L. monocytogenes* tuvastamiseks on pühkimisega proovivõtumeetodid (varrega tampooni ja käsna/lapi meetod). Ent varrega tampoonid sobivad *L. monocytogenes* proovi võtmiseks ainult raskesti ligipääsetavatest kohtadest.

Brauge jt (2020a) viisid Euroopas läbi uuringu, et koguda andmeid selle kohta, kuidas toidukäitlejad toitu töötlevates ettevõtetes pindadelt *Listeria monocytogene* tuvastamiseks ja loendamiseks proove võtavad. 14 EL-i liikmesriigist tuli tagasi 137 täidetud küsimustikku. Uurimuse tulemustest nähtus, et toidukäitlejad eelistavad kontaktproovivõtumeetoditele hõõrumismeetodeid (marlipadjandid, kuivtampoonid ja käsna) ning mitmed toidukäitlejad kasutasid pindadelt proovivõtmiseks kombineeritud meetodit.

Määruse (EÜ) 2073/2005 (koos muudatustega) raames, mis määratleb toitade mikrobioloogilised kriteeriumid (Anonymous 2005), on kohustuslik regulaarne proovivõtu programmi järgi toimuv keskkonnaproovide võtmine toidukäitlemisahelas (sh käitlemisalad ja seadmed) *L. monocytogenes* tuvastamiseks. Selliste proovivõtu programmide eesmärk on püsivate tüvede tuvastamine ja kõrvaldamine või kui kõrvaldamine on

võimatu, siis parandusmeetmete rakendamine, et vältida toidu saastumist patogeense bakteriga. Ebatõhus proovivõtuprogramm või ebasobiva proovivõtumeetodi kasutamine võib kaasa tuua valenegatiivse tulemuse, kuigi *L. monocytogenes* on pindadel tegelikult olemas. See takistab omakorda parandusmeetmete võtmist ja annab vale turvatunde. Lisaks otsustati mitte käsitleda *L. monocytogenes* loendamist pindadel järgmistel põhjustel: esiteks, proovivõtuga ei ole võimalik korjata kõiki bakterirakke, kogutud rakkude arv varieerub ning pole prognoositav. Teiseks, *L. monocytogenes* rakud ei ole pindadel levinud ühtlaselt ning suurtelt ja väikestelt pindadelt võetud proovide võrdlemine annaks seega kehtetu tulemuse.

1.2 *LISTERIA MONOCYTOGENES* PÜSIVUS TOIDUKÄITLEMISETTEVÕTETES

Bakterite kinnitumise ja pindade hõivamise käigus muutuvad nende fenotüübid. Need näitavad suurenenud eksopolüsahhariidi tootmist ja vähenenud tundlikkust desinfitseerivate ainete suhtes, mis põhjustavad biokile moodustumist. Biokiled on keskkonna lahutamatu osa, mis lubab bakteritel olla vähem mõjutatud keskkonna stressiallikatest (desinfitseerimine, kuivatamine, nälgimine jne). *L. monocytogenes* suudab moodustada biokile ja püsida toidukäitlemise keskkonna pindadel mitmeid kuid või aastaid. Näiteks tuvastati Itaalias keskkonnaproovides *L. monocytogenes* kuue aasta jooksul (2003–2008) levimusega 16% (n=95 kogutud proovidest; Di Ciccio jt 2012). Aastatel 2003 kuni 2007 Portugalis juustutehastes läbiviidud uurimuses leiti, et mikroorganismide levimus ulatus toiduga kokkupuutuvatel pindadel 6,7%-ni (n=224 kogutud proovidest) ja toiduga mittekokkupuutuvatel pindadel 11,5%-ni (n=192 kogutud proovidest; Almeida jt 2013). Tais oli mereandide käitlemisettevõttes üle 1,5-aastase perioodi jooksul toiduga kokkupuutuvatel pindadel levimus 1,5% (n=195 kogutud proovidest) ja toiduga mitte kokkupuutuvatel pindadel 4,5% (n=177 kogutud proovidest; Vongkamjan jt 2017). Palju tõendeid *Listeria* püsivuse kohta toidukäitlemise keskkondades on esitanud uurimusrühm, kes tegutses lirimaal erinevates toidusektorites (Leong jt 2014), piimafarmides (Latorre jt 2011), aga ka jaekaubanduse valmistoidualadel (Wang jt 2015). Brauge jt (2020b) viisid läbi 8-kuulise proovide võtmise kampaania neljas suitsulõhet tootvas ettevõttes (tehased A, B, C ja D) ning leidsid tehases B *L. monocytogenes* VBNC-populatsiooni kasvu peamiselt lõiketeradel pärast puhastamist ja desinfitseerimist.

Mitmed uurijad on avaldanud, et biokiled aitavad kaasa eluvõimelisele, kuid mittekuultiveeritavale (VBNC) seisundile, mis aitab kaasa ka biokile kõrgele vastupidavusele stressirikastes oludes (Flemming jt 2016, Stewart Franklin 2008). VBNC-seisund viitab elusatele bakteritele, kellel on väga madal metaboolne aktiivsus ning kes ei paljune. Seega VBNC-rakud ei kasva tavapärasel mikrobioloogilistel keskkondadel, ent nad on suutelised taas elustuma ja soodsates tingimustes taas paljunema hakkama. VBNC-seisundi esilekutsumine toiduainete käitlemise ajal võib olla tingitud erinevatest keskkonnamõjudest, nagu nälg, oksüdatiivne stress, temperatuurimuutused ja desinfitseerimine. Overney jt (2017) näitasid VBNC-seisundi esilekutsumist *L. monocytogenes* biokiledes, mille tekitas LO28 tüvi (serotüüp 1/2c) roostevabal terasel pärast töötlemist 3%-lise (maht/maht) klooritud leeliselise puhastusvahendiga või soovitusliku 2%-lise (maht/maht) kontsentratsiooniga kvarternaarse ammooniumipõhise desinfektsioonivahendiga. Brauge jt (2018) näitasid, et *L. monocytogenes* VBNC-populatsioonid biokiledes olid pärast 0,5% NaOH lahusega töötlemist 48-tunniga tugevalt suurenenud. Brauge jt (2020b) täheldasid *L. monocytogenes*'e elujõulise kultiveeritava populatsiooni vähenemist ja *L. monocytogenes* VBNC-populatsiooni ilmumist biokiledes 48-tunni jooksul vastusena kvarternaarse ammoonium- või vesinikperoksiidipõhiste desinfitseerijatega töötlemisele. Aalto-Araneda jt (2019) uurisid 21 kalakäitlemisettevõtet ja *L. monocytogene* kontrolliga seotud protseduure. Nemat leidsid elusaid kultiveeritavaid *L. monocytogene* populatsioone ainult viilutatud ja peamiselt graavitud toodetes 7

tehases, sest kala viilutamise etapp on kriitiline toote saastumise punkt. Nad tuvastasid erinevates kalatööstusettevõtetes erinevaid kriitilisi punkte: töötlemismasinade arv, puudujäägid käitlemiskeskonnas ja seadmete puhastamises ning töötajate liikumine madala hügieeniga aladelt kõrge hügieeniga aladele.

2. KÄSITLUSALA

See juhiskirja täpsustab kust, kuidas ja millal tuleks võtta proove, et tuvastada pindadelt *L. monocytogenes* valmistoidu käitlemisaladel ja seadmetel. See juhiskirja ei ole loodud selleks, et hinnata puhastamise ja desinfitseerimise tõhusust.

Seda juhiskirja tuleb lugeda koos rahvusvahelise ja Euroopa standardiga EN ISO 18593: 2018. Proovivõtu koha/kohtade, alade ja proovivõtu aegade valikud peaksid olema riski- ja juhtumipõhised.

3. PROOVIVÕTUKOHTADE VALIK

Proovivõtukohtade valiku osas vaadake rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN 18593:2018 punkti 7.2.

See juhiskirja ei anna nõu proovivõtu sageduse, proovivõtukohtade arvu, proovide liitmise või koondamise (rahvusvaheline ja Euroopa standard EN ISO 6887-1:2017) või proovivõtukohtade roteerumise vajaduse osas.

4. MILLISE AJA JOOKSUL TULEKS PROOVID VÕTTA

Proovivõtu aegade ja sageduses osas vaadake rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN 18593:2018 punkti 7.4.

Et suurendada *L. monocytogenes* tuvastamise tõenäosust, tuleks proovid võimalusel võtta käitlemise ajal (sõltuvalt protsessist või toidusektorist) pärast vähemalt kahte tundi tootmist või tootmistsükli lõpus, st enne puhastamist ja desinfitseerimist. Mõnel juhul võib proovide võtmine vahetult enne tootmise alustamist (tavaliselt millalgi pärast puhastamist ja desinfitseerimist) olla kasulik püsivate tüvede tuvastamiseks või mittetuvastamiseks. Sellistel juhtudel oleks mõistlik esmalt tootmiseadmed lahti võtta ja seejärel lasta neil töötada ilma reaalse tootmiseta, et oleks võimalik tuvastada võimalikke jääke ka raskesti ligipääsetavates kohtades. Puhastamise ja desinfitseerimisjärgne proovivõtt võib pakkuda ka informatiivseid tulemusi, ent neid ei tohiks iseenesest pidada garantiiks puhastamise ja desinfitseerimise süsteemi tõhususe kohta (FDA 2017).

Bakterite seisundid (eluvõimelised kultiveeritavad või VBNC) varieeruvad sõltuvalt tootmise faasist – tootmise alguses, tootmise kestel või tootmise lõpus, või pärast puhastuse ja desinfitseerimise protsesse. Kuna proovivõtmise sagedus varieerub sõltuvalt töödeldavast toidust, antakse järgmised näited või viited heale hügieenitavale.

Käitlemisel, kus toitu toodetakse toorest toorainest, mida ei töödelda viisidel, mis vähendaksid mikroorganismide taset (nt toorjuustud), võib käitlemise ajal võetud pinnaproovist leitud *L. monocytogenes* olla pärit nendest samadest toorainetest, kui ka kohtadest, kus *L. monocytogenes* rakud võivad toidu käitlemiskeskonnas püsida.

Lisaks käitlemise ajal toimuvale proovivõtule võib proove võtta ka pärast puhastamist ja desinfitseerimist või tootmise alguses. Ent see võib kaasa tuua vale turvatunde. Vastupidi, *L. monocytogenes* tuvastamine toiduga kokkupuutumatelt pindadelt pärast puhastamist ja desinfitseerimist näitab tõsist puudujääki puhastamises ja desinfitseerimises.

5. PROOVIVÕTUKOHT

Proovivõtukohta osas vaadake rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN ISO 18593:2018 punkti 7.3. Rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN ISO 18593:2018 soovitusel peaks kogu proovivõtukoht olema võimalikult suur, et suurendada *L. monocytogenes* tuvastamise tõenäosust. Sellest lähtuvalt soovitatakse võimalusel proove võtta 1000 cm² kuni 3000 cm² (st 0,1 m² kuni 0,3 m²) suuruselt alalt.

6. LAHJENDID SEADMETELT PROOVI VÕTMISEKS KASUTATAVA LAPI NIISUTAMISEKS

6.1 LIHTLAHJENDID

Lihtlahjendite osas vaadake rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN ISO 18593:2018 punkti 5.1 ja rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN ISO 6887 osasid 1 ja 5.

6.2 NEUTRALISEERIVAD LAHJENDID

Neutraliseerivate lahjendite osas vaadake rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN ISO 18593:2018 punkti 5.3 ja lisa A.

7. PROOVIVÕTUMEETODID

Iga proovivõtumeetodi illustreeriv video ja digiformaadis juhend on leitav EURL *Lm* veebilehel (<https://sitesv2.anses.fr/en/minisite/listeria-monocytogenes/tutorials-implementation-sampling-techniques>) nagu ka praktilised lehed mitmest punktist koosnevate proovivõtutehnikate kohta: proovivõtumeetodi kirjeldus, milline proovivõtuvahend valida, kasutusõpetus, mõjutava materjali iseloom, mõjutava proovivõtupinna omadused, mõjutav proovivõtja, proovivõtumeetodi piirangud (<https://www.actia-asso.eu/en/surface-sampling>). Soovitame toiduettevõtetel selle materjali alla laadida ja seda toidukäitlemise kohtades kasutada.

Proovivõtumeetodeid vaadake rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN ISO 18593:2018 punktidest 7.5.3 ja 7.5.4 (erandiks on kontaktplaatide kasutamine, mis ei sobi *L. monocytogenes* tuvastamiseks).

Proovi võtmine pindade loputamise teel ei ole soovitatav, kuna loputamine ei ole mikroorganismide pindadelt võtmiseks sama tõhus kui pühkimine.

8. SÄILITAMINE JA TRANSPORT

Proovide säilitamise ja transpordi osas vaadake rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN ISO 18593:2018 punkti 8.2.

9. ANALÜÜSIMEETOD

Pärast proovide võtmist analüüsitakse neid rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN ISO 11290-1:2017 või muudetud määruse EÜ 2073/2005 artikkel 5 järgi kinnitatud alternatiivse meetodiga. Kui mitmel järjestikusel proovivõtul leitakse ühest ja samast toidukäitlemiskohast *L. monocytogenes* positiivseid proove ja parandusmeetmed on juba rakendatud, tuleb molekulaarse tüpiseerimise teel tuvastada isolaatidest *L. monocytogenes* alatüübid. Isolaatide määramine (nt cgMLST) peaks kindlaks tegema, kas isolaadid kuuluvad ühele ja seega püsivale kloonile. On tungivalt soovitatav, et toidukäitlejad ja laborid säilitaksid isolaate, et määrata, kas tüvi on püsiv või mitte ning et oleks võimalik jälitada saasteallikat. Kui käitlemisalale sisenev toit on kas toores või seda on töödeldud, et vähendada selle mikrobioloogilist kooslust (nt pastöriseerides, mikrofiltrerides jne), peaksid toidukäitlejad osana oma HACCP-süsteemist määrama aktsepteeritava positiivsete proovide arvu. Aktsepteeritav positiivsete proovide arv võib erineda sõltuvalt sellest, kas proov võetakse toiduga otseselt kokkupuutuvalt pinnalt või pinnalt, mis toiduga kokku ei puutu. Pinnad, mis puutuvad toiduga otseselt kokku on toidu saastumise vaatest suurema riskiga ning nendega seotud positiivsete proovide piirarv peaks seega olema rangem kui pindade puhul, mis toiduga kokku ei puutu.

10. VIITED

Normatiivsete viidete osas vaadake rahvusvahelise ja Euroopa standardi EN ISO 18593 (2018) punkti 2.

Aalto-Araneda, M., Lundén, J., Markkula, A., Hakola, S., Korkeala, H. (2019). Processing plant and machinery sanitation and hygiene practices associate with *Listeria monocytogenes* occurrence in ready-to-eat fish products. *Food Microbiol*, 82, 455-464.

Almeida, G., Magalhães, R., Carneiro, L., Santos, I., Silva, J., Ferreira, V., Hogg, T., Teixeira, P. (2013). Foci of contamination of *Listeria monocytogenes* in different cheese processing plants. *Int J Food Microbiol*, 167(3), 303-309.

Anonymous (2005). Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2005/2073/oj> accessed 17 march 2021.

Brauge, T., Barre, L., Leleu, G., André, S., Denis, C., Hanin, A., Frémaux, B., Guilbaud, M., Herry, J.M., Oulahal, N., Anger, B., Soumet, C., Midelet, G. (2020a). European survey and evaluation of sampling methods recommended by the standard en ISO 18593 for the detection of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on industrial surfaces. *FEMS Microbiol Lett*, 367(7).

Brauge, T., Faille, C., Leleu, G., Denis, C., Hanin, A., Midelet, G. (2020b). Treatment with disinfectants may induce an increase in viable but non culturable populations of *Listeria monocytogenes* in biofilms formed in smoked salmon processing environments. *Food Microbiol*, 92.

- Brauge, T., Faille, C., Sadovskaya, I., Charbit, A., Benezech, T., Shen, Y., Loessner, M.J., Bautista, J.R., Midelet-Bourdin, G. (2018). The absence of N-acetylglucosamine in wall teichoic acids of *Listeria monocytogenes* modifies biofilm architecture and tolerance to rinsing and cleaning procedures. *PLoS ONE*, 13(1).
- Carpentier, B., Cerf, O. (2011). Review--Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1), 1-8.
- Di Ciccio, P., Meloni, D., Festino, A.R., Conter, M., Zanardi, E., Ghidini, S., Vergara, A., Mazzette, R., Ianieri, A. (2012). Longitudinal study on the sources of *Listeria monocytogenes* contamination in cold-smoked salmon and its processing environment in Italy. *Int J Food Microbiol*, 158(1), 79-84.
- Fda (2017). Control of *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat Foods: Guidance for Industry
- Draft Guidance. <https://www.fda.gov/files/food/published/Draft-Guidance-for-Industry-Control-of-Listeria-monocytogenes-in-Ready-To-Eat-Foods-%28PDF%29.pdf>.
Accession 17 march 2021.
- Flemming, H.C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S.A., Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol*, 14(9), 563-575.
- Latorre, A.A., Van Kessel, J.A., Karns, J.S., Zurakowski, M.J., Pradhan, A.K., Boor, K.J., Adolph, E., Sukhnanand, S., Schukken, Y.H. (2011). Increased in vitro adherence and on-farm persistence of predominant and persistent *Listeria monocytogenes* strains in the milking system. *Appl Environ Microbiol*, 77(11), 3676-3684.
- Leong, D., Alvarez-Ordóñez, A., Jordan, K. (2014). Monitoring occurrence and persistence of *Listeria monocytogenes* in foods and food processing environments in the Republic of Ireland. *Front Microbiol*, 5, 436.
- Overney, A., Jacques-André-Coquin, J., Ng, P., Carpentier, B., Guillier, L., Firmesse, O. (2017). Impact of environmental factors on the culturability and viability of *Listeria monocytogenes* under conditions encountered in food processing plants. *Int J Food Microbiol*, 244, 74-81.
- Stewart, P.S., Franklin, M.J. (2008). Physiological heterogeneity in biofilms. *Nat Rev Microbiol*, 6(3), 199-210.
- Vongkamjan, K., Benjakul, S., Kim Vu, H.T., Vuddhakul, V. (2017). Longitudinal monitoring of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* phages in seafood processing environments in Thailand. *Food Microbiol*, 66, 11-19.
- Wang, J., Ray, A.J., Hammons, S.R., Oliver, H.F. (2015). Persistent and transient *Listeria monocytogenes* strains from retail deli environments vary in their ability to adhere and form biofilms and rarely have inLA premature stop codons. *Foodborne Pathog Dis*, 12(2), 151-158.