|  |  |
| --- | --- |
| EBLHMA.png | **ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**  ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ |

**(Β.ΚΥΡΑΝΑ)**

**LISTERIA MONOCYTOGENES**

Η *Listeria monocytogenes*είναι βακτήριο της οικογένειας LISTERIACEAE θετικό κατά Gram. Έχει δομή μικρού βακίλου αγγίζοντας τα όρια του κόκκου. Είναι αερόβιος ή προαιρετικά αναερόβιος, ασποριογόνος, μεσόφιλους μικροοργανισμός. Έχει μικρές απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά και παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην τεχνολογία τροφίμων, αφού μπορεί και αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών (1-440C) σε τρόφιμα με συγκέντρωση άλατος μέχρι 20%. Σε θερμοκρασίες ψύξης συμπεριφέρεται ως ψυχρότροφος, επιβιώνει στην κατάψυξη και την ξήρανση, εμφανίζει θερμοαντοχή στην εξόντωσή του, επιβιώνει σε συνθήκες θέρμανσης, όπως η παστερίωση, πολλαπλασιάζεται σε εύρος pH από 5.6 έως 9.0, είναι ανθεκτικός σε διάφορα συντηρητικά και αντιοξειδωτικά, σε ραδιοακτινοβολία, στα αντιβιοτικά, καθώς και σε συσκευασίες κενού και τροποποιημένης ατμόσφαιρας.

Η *Listeria monocytogenes* θεωρείται κοσμοπολίτικος μικροοργανισμός, αφού οι τόποι που αποδείχθηκαν δυναμικές πηγές μόλυνσης είναι η σάπια βλάστηση, το έδαφος, γενικά τα επιφανειακά νερά των ποταμών και καναλιών και τα απόβλητα σε όλα τα μήκη και πλάτη της γης. Απομονώθηκε από **μαλακά τυριά**, ωμό γάλα, αλλαντικά, ψαρικά, κοτόπουλο, λαχανικά, σαλάτες και **έτοιμα προς κατανάλωση φαγητά που υπέστησαν ήπια θερμική επεξεργασία**. Μεταφέρεται στις βιομηχανίες τροφίμων από τα παπούτσια των εργαζόμενων και τα λάστιχα των αυτοκινήτων.

Τα περισσότερα στελέχη της είναι παθογόνα και προκαλούν τροφικές δηλητηριάσεις, όπως η **λιστερίωση** που οδηγεί στον θάνατο, με αποτέλεσμα οι οικονομικές ζημιές στην βιομηχανία τροφίμων να είναι βαρύτατες και η παρουσία της να **θεωρείται Νο.1 αιτία ανάκλησης ολόκληρων παρτίδων προϊόντων και αναστολής λειτουργίας μεγάλων βιομηχανιών.** Θεωρείται δε τόσο σημαντική η παρουσία της που η νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης επιβάλει **μηδενική ανοχή**.

Η χρήση νιτρωδών αλάτων μειώνει τον χρόνο επιβίωσης των κυττάρων της *Listeria* *monocytogenes* και επιβραδύνει τον πολλαπλασιασμό της. Επίσης, **εντατική θερμική επεξεργασία >600 C και χρήση 0.1% οξικού, κιτρικού ή γαλακτικού οξέος αναστέλλει τη δράση της.** Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η ευαισθησία της απέναντι στη λυσοζύμη και τις **βακτηριοσίνες.** Οι βακτηριοσίνες είναι ουσίες που συντίθενται από τα γαλακτικά βακτήρια (LAB), όπως τον *Lactobacillus lactis* και **θεωρούνται αποτελεσματικοί παρεμποδιστές ανάπτυξης των θετικών κατά Gramβακτηρίων, όπως η *Listeria monocytogenes***. Τέτοιες ουσίες είναι κυρίως η **νισίνη** και η **αβιδίνη,** χρήση των οποίων στα τρόφιμα επιτρέπεται σε 57 χώρες, αφού θεωρούνται βακτηριοκτόνα, μη τοξικά για τον άνθρωπο.

Η απομόνωση και ταυτοποίηση της *Listeria monocytogenes* ακολουθεί τα εξής στάδια:

**1. Δειγματοληψία.**

**2. Προεμπλουτισμός** (μη εκλεκτικός εμπλουτισμός) με LEB Broth Base, επώαση στους 300C για 24-48 ώρες.

**3. Εκλεκτικός εμπλουτισμός** με προσθήκη ειδικού αντιβιοτικού Listeria Selective Enrichment Supplement, επώαση στους 300C για 24-48 ώρες.

**4. Απομόνωση σε τρυβλία** (πρώτο πείραμα) με εκλεκτικά υποστρώματα Oxford ή Palcam Agar όπως και με το χρωμογόνο εκλεκτικό ALOA, επώαση στους 350C για 24-48 ώρες. Μεταφορά πέντε (5) ύποπτων αποικιών σε TSA-YE Agar(δεύτερο πείραμα).

**- Στο Oxford Agar παρατηρώ καφεπράσινες αποικίες με μαύρο δακτύλιο.**

- **Στο Palcam Agar παρατηρώ γκριζοπράσινες αποικίες με μαύρο δακτύλιο.**

- **Στο ALOA παρατηρώ μπλε-πράσινες αποικίες με άλω.**

**5. Ταυτοποίηση** με βιοχημικές δοκιμές.

**ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΚΑΤΑΝΟΗΣΗΣ**

1. Για ποιό λόγο γίνεται εξέταση σε ένα τρόφιμο για την παρουσία της Listeria monocytogenes;
2. Γράψτε τι γνωρίζετε για την L.monocytogenes (μορφολογικά-φυσιολογικά χαρακτηριστικά – συνθήκες ανάπτυξης).
3. Ποιοί τόποι θεωρούνται δυναμικές πηγές μολύνσεως από L.monocytogenes;
4. Ποιά τρόφιμα θεωρούνται φορείς της L.monocytogenes;
5. Τί επιβάλει η ΕU για την L.monocytogenes;
6. Ποιά στάδια ακολουθούνται για την απομόνωση και ταυτοποίηση της L.monocytogenes;
7. Τί είναι ο προ-εμπλουτισμός και για ποιό λόγο πραγματοποιείται;
8. Τί είναι ο εμπλουτισμός και για ποιό λόγο πραγματοποιείται;