

UNIVERSITETI I PRISHTINËS “HASAN PRISHTINA”

FAKULTETI I BUJQËSISË DHE VETERINARISË

DEPARTAMENTI: TEKNOLOGJI USHQIMORE ME BIOTEKNOLOGJI

PROGRAMI: MASTER - SHKENCA E USHQIMIT



Mentori:

Prof. Dr. Afrim Hamidi

Kandidatja:

Bsc. Erënesa Gorçaj

Prishtinë, 2021

UNIVERSITETI I PRISHTINËS “HASAN PRISHTINA”

FAKULTETI I BUJQËSISË DHE VETERINARISË

DEPARTAMENTI: TEKNOLOGJI USHQIMORE ME BIOTEKNOLOGJI

PROGRAMI: MASTER - SHKENCA E USHQIMIT



PUNIM DIPLOME

**“SHFAQJA E *LISTERIA MONOCYTOGENES* NË MISH TË FRESKËT  
DHE NË PRODHIME TË NDRYSHME TË MISHIT”**

Mentori:

Prof. Dr. Afrim Hamidi

Kandidatja:

Bsc. Erënesa Gorçaj

Prishtinë, 2021

## **DEKLARATË**

Deklaroj se ky hulumtin shkencor është kryer në laboratorin e mikrobiologjisë dhe higjienës së ushqimeve në Institutin e Bujqësisë, në kuadër të Universitetit të Prishtinës “Hasan Prishtina”.

Të gjitha të dhënat e përdorura dhe rezultatet e fituara janë puna ime hulumtuese.

## **DEDIKIMI**

Ky punim i dedikohet prindërve të mi.

Pa ju asgjë nuk do të ishte e mundur!

## **FALENDERIMET**

Falenderoj familjen time që janë mbështetja më e madhe.

Falenderoj Profesorin Dr.Afrim Hamidi, për mundësinë e dhënë për të punuar në këtë temë, e cila përveç që ndikoj në zgjerimin e njohurive të mia, ishte gjithashtu shumë atraktive.

Falenderimet i takojnë Profesorit për mbështetjen dhe motivimin gjatë punës laboratorike.

# PËRMBAJTJA

DEKLARATË.....	3
DEDIKIMI .....	4
FALENDERIMET .....	5
PËRMBAJTJA .....	6
PËRMBAJTJA E TABELAVE .....	9
PËRMBAJTJA E FIGURAVE .....	10
PËRMBLEDHJE.....	12
ABSTRACT .....	14
1.HYRJE .....	16
1.1.....	Mishi ..... 16
1.2 <i>Listeria monocytogenes</i> në mish dhe në produktet e mishit.....	19
1.3 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	20
1.4 Faktorët e rritjes së <i>Listeria monocytogenes</i> .....	22
1.4.1 Ndikimi i Ph.....	22
1.4.2 Stresi osmotik.....	22
1.4.3 Temperatura.....	23
1.4.4 Paketimi .....	23
1.5 Strategjitë e kontrollimit të <i>Listeria monocytogenes</i> në mish.....	24
1.6 Modelet parashikuese mikrobiologjike të <i>Listeria monocytogenes</i> .....	25
1.7 Infektimet dhe shpërthimet ushqimore me <i>Listeria monocytogenes</i> .....	25
1.7.1 Shpërthimet ushqimore me <i>Listeria monocytogenes</i> .....	29

1.8 <i>Listeria monocytogenes</i> në hapësirat punuese të fabrikave.....	30
1.8.1 Vendndodhja e objektit, dizajni dhe struktura.....	32
1.8.2 Dizajni i pajisjeve .....	33
1.8.3 Pastrim-dezinfektimi.....	33
1.8.4 Higjiena personale .....	35
1.8.5 Vlefshmëria e pastrim-dezinfektimit .....	35
1.9 Legjislacioni në lidhje me <i>Listeria monocytogenes</i> .....	36
2.QËLLIMI I HULUMTIMIT .....	39
3.MATERIALI DHE METODAT E PUNËS .....	40
3.1 Terrenet ushqyese .....	41
3.1.1 Terreni ushqyes Palcam .....	41
3.1.3 Terreni ushqyes Oxford.....	43
3.2 Half Fraser Broth.....	45
3.3 Fraser Broth.....	46
3.4.1 Ecuria e punës me hollimin primar .....	48
3.5 Hollimi sekondar .....	51
3.5.1 Ecuria e punës me hollimin sekondar.....	52
3.6 Testet konfirmuese (Gram Testi, Motiliteti dhe Katalaza).....	53
3.6.1 Gram Testi.....	53
3.6.2 Procedura e Gram Testit.....	54
3.6.3 Testi i motilitetit.....	55
3.6.4 Procedura e Motilitetit .....	56
3.6.5 Testi i katalazës.....	58
3.6.6 Procedura e testit të Katalazës .....	58
3.6.7 Test konfirmues .....	59

3.7 Listeria System 18R.....	59
3.7.1 Ecuria e punës me Listeria System 18R .....	60
3.8 Ngrirja e izolateve.....	66
3.8.1 Procedura e ngrirjes së izolateve .....	66
4.REZULTATET .....	68
5.DISKUTIMET .....	72
6.KONKLuzionET.....	74
7.REFERENCAT .....	75



## **PËRMBAJTJA E TABELAVE**

Tabela 1: Identifikimi i species së *Listerias*

Tabela 2: Identifikimi i *Listeria monocytogenes*

Tabela 3: Mostrat e testuara

Tabela 4: Mostrat pozitive

## **PËRMBAJTJA E FIGURAVE**

Figura 1: Palcam Agar

Figura 2: Terreni ushqyes

Figura 3: Suplementi

Figura 4: Pllakat e Petrit me Palcam Agar

Figura 5: Oxford Agar

Figura 6: Terreni ushqyes

Figura 7: Suplementi

Figura 8: Pllakat e Petrit me Oxford Agar

Figura 9: Half Fraser

Figura 10: Suplementi

Figura 11: Fraser Broth

Figura 12: Hollimi primar

Figura 13: Mostra e inkubuar

Figura 14: Inkubimi i mostrave

Figura 15: Mostra e shtrirë në Palcam

Figura 16: Mostra e shtrirë në Oxford

Figura 17: Hollimet Fraser

Figura 18: Përzierja Vortex

Figura 19: Fraser hollimi dhe terrenet ushqyese

Figura 20: Mostra të ndryshme

Figura 21: Mikroorganizmat në mikroskop

Figura 22: Organizmat motil do të migrojnë jashtë vijës së inokulimit, duke shkaktuar turbullira përgjatë gjithë tubit (tubi 1 dhe 3), ndërsa organizmat jo lëvizës do të rriten vetëm përgjatë vijës së inokulimit (tubi 2)

Figura 23: *Listeria monocytogenes* dhe motiliteti

Figura 24: Testi i katalazës

Figura 25: Listeria System 18R

Figura 26: Listeria System 18R

Figura 27: Listeria System 18R

Figura 28: Kriotub

Figura 29: Vendosja e kolonive në kriotuba

Figura 30: *Listeria monocytogenes*

Figura 31: *Listeria monocytogenes*

## PËRMBLEDHJE

*Listeria monocytogenes* është një patogjen ushqimor zoonotik që lidhet me shëndetin publik dhe implikimet serioze ekonomike. Tek qeniet njerëzore, simptomat e listeriozës përfshijnë encefalit, septikemi dhe meningjit. Për më tepër, listerioza mund të shkaktojë simptoma gastroenterike dhe aborte tek gratë shtatzëna.

Viteve të fundit, janë raportuar një numër i madh shpërthimesh të lidhura me konsumin e mishit të kontaminuar dhe produkteve të mishit me *Listeria monocytogenes*.

Si një ndër produktet me vlera ushqyese të larta si dhe ndër produktet më të përdorura që mund të gjendet në forma të ndryshme, mishi është shumë i ndjeshëm ndaj patogjenëve të ndryshëm.

Përpunimi i duhur, ruajtja në kushte adekuate, paketimi, temperatura e mbajtjes së mishit dhe produkteve të ndryshme të tij, janë kushtet të cilat arrijnë të ndalin rritjen e mikroorganizmave të ndryshëm, që mund të shkaktojnë pasoja të mëdha në shëndetin e konsumatorit, varësisht nga zhvillimi i patogjenit të caktuar.

Një ndër patogjenët më të rrezikshëm që mund të gjendet në mishin e freskët dhe në prodhimet e tij është *Listeria monocytogenes*. Përqindja e vdekjeve që mund të shkaktohen nga ky mikroorganizëm është deri në 30%.

Hulumtimet në këtë studim janë bërë në 52 mostra të ndryshme, përfshirë mishin e freskët, qofte, qebapa, proshutë, suxhuk, salam dhe vishlle.

Nga gjithsej 52 mostra të analizuar, 4 janë të konfirmuara pozitive me *Listeria monocytogenes*.

Të gjitha mostrat janë analizuar me anë të shumë testeve dhe rezultatet pozitive kanë qenë të konfirmuara me anë të tyre.

Mostrat të cilat kanë rezultuar pozitive, kanë qenë të tipit mish i freskët dhe mish i përpunuar minimalisht.

Të gjitha mostrat janë marrë drejtpërdrejt në fabrika dhe me këtë rast vihet në dyshim metodat e pastrim-dezinfektimit në vende të tilla.

Në bazë të këtyre rezultateve është konfirmuar prezenca e *Listeria monocytogenes* në fabrikat e përpunimit të mishit dhe si e tillë shtrohet pyetja se në cilin hap të zinxhirit ushqimor është kontaminuar produkti?

Përveç kësaj, a mund të transferohet *Listeria monocytogenes* nga ambienti në produkt dhe si mund të arrijmë sigurinë ushqimore në tërë zinxhirin ushqimor?

Bazuar në rezultatet e fituara nga ky studim del se këto mostra si mish i freskët dhe produktet e tij lënë akoma shumë për të dëshiruar në kuptimin e kushteve gjatë procesit të përpunimit, respektimin të kushteve higjieno-sanitare dhe respektimin e trajtimit termik si dhe kushtet e ruajtjes qoftë para ose pas prodhimit.

Fjalët kyçe: mish, mish i freskët, qofte, qebapa, produkte të mishit, *Listeria monocytogenes*, mostra.

## ABSTRACT

*Listeria monocytogenes* is a zoonotic food pathogen associated with public health and serious economic implications. In humans, symptoms of listeriosis include encephalitis, septicemia and meningitis. Furthermore, listeriosis can cause gastrointestinal symptoms and miscarriages in pregnant women.

In recent years, a large number of outbreaks have been reported related to the consumption of contaminated meat and meat products with *Listeria monocytogenes*.

As one of the products with high nutritional values as well as among the most used products that can be found in different forms, meat is very sensitive to various pathogens.

Proper processing, storage in adequate conditions, packaging, storage temperature of meat and its various products are conditions which manage to stop the growth of various microorganisms, which can cause major consequences on the health of the consumer, depending on development of certain pathogen.

One of the most dangerous pathogens that can be found in fresh meat and its products is *Listeria monocytogenes*. The percentage of deaths that can be caused by this microorganism is up to 30%.

Research in this study has been done on 52 different samples, including fresh meat, meatballs, kebabs, bacon, sausage, salami and hot dogs.

Out of a total of 52 samples analyzed, 4 have been confirmed positive with *Listeria monocytogenes*.

All samples have been analyzed by many tests and samples that have resulted positive have been confirmed by them.

The samples that have been confirmed positive with *Listeria monocytogenes* are from fresh meat and minimally processed meat products.

All samples have been taken directly at the factory and in this case the methods of cleaning-disinfection in such places are questioned.

Based on these results, the presence of *Listeria monocytogenes* in meat processing factories has been confirmed and as such the question arises in which step of the food chain the product has been contaminated?

In addition, can *Listeria monocytogenes* be transferred from the environment to the product and how can we achieve food safety throughout the food chain?

Based on the results obtained from this study it turns out that these samples of fresh meat and its products still leave much to be desired in terms of conditions during the processing procedure, compliance with hygienic and sanitary conditions and with thermal treatment and storage conditions before or after production.

Keywords: meat, fresh meat, meatballs, kebabs, *Listeria monocytogenes*, samples.

# 1.HYRJE

## 1.1 Mishi

Baza e një diete të mirë dhe të përshtatshme për rritjen, zhvillimin dhe mirëmbajtjen e shëndetit është shumëllojshmëria. Një shumëllojshmëri e ushqimeve mund të sigurojë mjaftueshëm gamën e plotë të lëndëve ushqyese. Pjesa më e madhe e kequshqyerjes është rezultat i mbështetjes shumë të madhe në një ushqim të vetëm kryesor.

Përmirësimet në dietë varen nga një përzgjedhje e ushqimeve që plotësojnë njëra tjetrën në lëndët ushqyese që ato furnizojnë. Sidoqoftë, është e vështirë në shumë rajone të marrësh një larmi të tillë. Mishi mund të plotësojë shumicën e dietave, veçanërisht ato që varen nga një përzgjedhje e kufizuar e ushqimeve bimore.

Mishi është një produkt ushqimor proteinik me një përmbajtje të konsiderueshme uji që e bënë atë një matricë të ndjeshme ndaj rritjes bakteriale. Meqenëse mishi është pjesë e zakoneve dietike të konsumatorëve, vitet e fundit janë studiuar disa strategji për të përmirësuar sigurinë, jetëgjatësinë dhe cilësinë e tij.

Mishi, si një produkt që përdoret për ushqim, përfshinë jo vetëm muskujt dhe dhjamin, por edhe tendinat dhe ligamentet.

Mishi vlerësohet si një ushqim i plotë me proteina që përmbanë të gjitha aminoacidet e nevojshme për trupin e njeriut. Yndyra e mishit, e cila ndryshon shumë ndër specie, në cilësi dhe në prerje, është një burim i vlefshëm energjie dhe gjithashtu ndikon në aromën, lëngshmërinë dhe butësinë e dhjamt. Ndërsa, pjesët e tilla si mëlçia, veshkat, zemra dhe pjesë të tjera janë burime të shkëlqyera të vitaminave dhe mineraleve thelbësore, që asimilohen lehtësisht nga sistemi gastrointestinal.

I gjithë mishi i freskët kualifikohet si “natyral”. Produktet e etiketuara “natyrore” nuk duhet të përmbajnë asnjë aromë, as artificiale, përbërës ngjyrosës, ruajtës kimik ose ndonjë përbërës tjetër artificial apo sintetik dhe produktet e mishit të freskët janë produktet e njohura si të përpunuara minimalisht (i bluar, qofte, qebap etj). Përpunimi minimal nënkupton që produkti është përpunuar



në një mënyrë që nuk e ndryshon thelbësisht produktin. Etiketa duhet të përmbajë një deklaratë që shpjegon kuptimin e termit natyror (të tilla si pa përbërës artificial, të përpunuara në mënyrë minimale).

Mishi dhe produktet e mishit janë burime të koncentruara të proteinave me cilësi të lartë dhe përbërja e tyre e amoniacideve zakonisht kompenson mangësitë në ushqimin kryesor. Ato furnizojnë organizmin me hekur dhe ndihmojnë të absorbojnë më lehtë hekurin nga ushqimet e tjera, poashtu edhe zinkun. Gjithashtu, janë burime të pasura të disa prej vitaminave të grupit B. Duke siguruar lëndë ushqyese të tilla, konsumi i mishit mund të lehtësojë mangësitë e zakonshme ushqyese.

Mishi gjen përdorim të madh në dietën tonë të përditshme dhe si i tillë -përdoret në forma të ndryshme. Mishi, përveç që gjendet në treg si i freskët apo minimalisht i procesuar, gjendet edhe si produkte tjera:

- Produkte të kriposura (cured meat products) – mish që është ruajtur gjatë plakjes, tharjes, konservimit, kriposjes, shëllirës ose tymosjes. Qëllimi është ngadalësimi i prishjes dhe parandalimi i rritjes së mikroorganizmave, metodë kjo e cila daton nga kohët e lashta, kur ishte thelbësore për ruajtjen e sigurt të mishit dhe parandalimin e helmimit nga ushqimi. Janë produkte të trajtuara me kripë (klorur natriumi) dhe nitrate/nitrite së bashku me disa përbërës të tjerë. Këto produkte ndahen në produkte të kriposura të freskëta dhe të kriposura të trajtuara termikisht. Kriposja për të dy grupet, të patrajtuara dhe të trajtuara në parim është e ngjashme.

Pjesët e mishit trajtohen me sasi të vogla të nitriteve, ose me kripë të thatë apo si tretësirë e kripës në ujë. Në përgjithësi qëndrueshmëria mikrobike e këtyre produkteve gjatë afatit të ruajtjes sigurohet nga shtimi i klorurit të natriumit, nitritit, paketimit adekuat dhe ruajtjes në frigorifer.

- Suxhuku, është një lloj produkti i mishit që bëhet nga mishi i bluar, së bashku me kripën, erëzat dhe aromatizues tjerë. Përbërës tjerë mund të shtohen si mbushës. Masa e tillë e fituar futet në zorrë për t'i dhënë formën, të cilat mund të jenë natyrale ose sintetike, të cilat në shumicën e rasteve mund të hiqen.

Prodhimi i suxhukut është një teknikë tradicionale e ruajtjes së ushqimit, që vjen si pasojë e tharjes, tymosjes ose ngrirjes. Disa prej produkteve të tilla mund të ruhen pa ftohje, por disa prej tyre duhet të ngrihen derisa të gatohen.

Është një produkt i cili prodhohet në shumë vende të botës dhe mund të prodhohet në mënyrë tradicionale si dhe industriale. Lloji tradicional është ai i cili prodhohet në kushte shtëpiake, është më ekonomik, me shije më të mirë si dhe të siguruar për përmbajtjen e tij. Ndërsa, lloji industrial është ai i cili prodhohet në fabrika më ndihmën e makinave të ndryshme me pajisje për mbushje, mikser për bluarje, mjete për mbështjellje etj.

Krahas klasifikimit të përgjithshëm ekziston edhe një klasifikim i suxhukut, i cili lidhet me mënyrën e përpunimit si: suxhuk i freskët, i kriposur, i tymosur, i tharë apo gjysëm i tharë.

Suxhuku përfshinë një gamë të gjerë të varieteteve kombëtare dhe rajonale, të cilat ndryshojnë nga mishi që përdoret, nga aromatizuesit ose erëzat, si dhe nga mënyra e përgatitjes.

- Produktet e parazitara dhe të ziera të mishit, si salamet, kremviçet, salsiçet, të cilat janë nga produktet më të konsumuara, për shkak të përmbajtjes së mishit si komponent kryesor, por edhe çmimit të tyre.

Produktet e tilla zgjojnë disa mospajtime te njerëzit, sepse produkte të tilla prodhohen nga mishi i papërpunuar dhe produkti përfundimtar konsumohet ende si i papërpunuar.

Gjithashtu, mikrobiologjia luan një rol jetësor në prodhimin e sallamit të fermentuar dhe të tharë, gjë që i ndërlikon gjërat edhe më shumë, duke luajtur një rol jetik në prodhimin e sallamit.

Për shkak të trajtimit termik të tyre, rritja e baktereve konsiderohet të jetë në një nivel më të ulët, por për shkak të sasisë së ujit që shtohet në këto produktet gjatë përpunimit, gjasat për kontaminimin janë të mëdha.

Produktet e parazitara dhe të ziera ato produkte që fitohen, duke përzier mishin me erëza, kripë, nitate dhe duke u munduar t'a mbajmë sa më të ftohtë, duke e lënë të fermentohet në temperaturë jo shumë të ngrohtë dhe pastaj të ftohet në temperaturë të ftohtë.

Ekzistojnë shumë opsione dhe pikëpamje konfliktuale rreth asaj se si bëhet një sallam në formën më të mirë. Ka variacione tradicionale, ku mënyrat e sallamit ndryshojnë nga rajoni në rajon, që rezultojnë në nomenklaturë të ndryshme; ka preferenca personale; siç

është ajo me përqindje të erëzave që përdoren në kombinim, pastaj sa yndyrë përdoret, sa mish, bluarja e mishit etj.

Dhe në fund janë çështjet e sigurisë, kulturat fillestare, nitratat, nitritet, por edhe patogjenët ushqimor që mund të çojnë në prishje totale të produktit.

## **1.2 *Listeria monocytogenes* në mish dhe në produktet e mishit**

Si një ndër ushqimet më të ndishme nga faktorët e jashtëm, mishi dhe produktet e tij në kushte jo adekuate të përpunimit, të paketimit, ruajtjes apo secilit hap të zinxhirit ushqimor arrin të kontaminohet me mikroorganizma të ndryshëm, ku me fatalitet për jetën e konsumatorit mund të jetë kontaminimi me *Listeria monocytogenes*.

Temperatura e shkatërrimit të *Listeria monocytogenes* është 70°C, megjithatë përgatitja jo e duhur e mishit apo produkteve të tij, do të thotë rritje dhe zhvillim i mëtutjeshëm i mikroorganizmit në fjalë në produktet e tilla.

Edhe pse në disa produkte, me anë të trajtimit termik, pasterizimit arrihet të largohet *Listeria monocytogenes*, kontaminimi mund të ndodhë edhe nga ambienti i punës, qoftë tavolina, mbushësi apo makineritë e ndryshme.

Prandaj, është e pashmangshme siguria e cila duhet të ofrohet në secilën etap të zinxhirit ushqimor të mishit dhe produkteve të tij.

*Listeria monocytogenes* është izoluar nga shumë mjedise të ndryshme si toka bujqësore dhe vegjetacioni, objektet e përpunimit dhe vendet e shitjes me pakicë. Prandaj, disa burime janë identifikuar si rrugë të mundshme për kontaminimin e ushqimit dhe më pas transmetimin e *Listeria monocytogenes* tek qeniet njerëzore.

Kontaminimi i mishit dhe produkteve të mishit me *Listeria monocytogenes* është një proces kompleks që lidh gjithë zingjirin ushqimor.

### 1.3 *Listeria monocytogenes*

*Listeria* përfshinë një grup bakteresh psikotrofike, gram pozitive, që mund të izohet nga një larmi e madhe burimesh mjedisore si: uji, toka, ushqimet, kafshët ose njerëzit. Gjithashtu, *Listeria* mund të kolonizojë sipërfaqe të ndryshme inerte (sipërfaqe të makinerive ushqimore, sipërfaqe të vendeve të punës etj).

*Listeria* ka formë shkopore, jo sporo formuese, me katalazë pozitive, oksidazë negative dhe është anaerobe fakultative, që tregojnë lëvizshmëri në 25 °C. *Listeria* mund të rritet në një larmi të kushteve më përqendrime të larta të kripës, aktivitet të ulët të ujit, diapazson të gjerë të pH (4.5-9) dhe gamë të gjerë të temperaturës (0 – 45 °C, optimale 30 – 37 °C). (Saraiva, Garcia-Diez, Fontes, Esteves 2018)

*Listeria* përfshinë disa lloje të tilla si: *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Listeria innocua*, *Listeria wëelshimeri*, *Listeria seeligeri*, *Listeria grayi*, *Listeria marthii*, *Listeria rocourtiae*, *Listeria leichmanii*, *Listeria floridensis*, *Listeria aquatic* etj. Mes tyre, *Listeria monocytogenes* është më i rëndësishmi për shkak të patogjenitetit të tij që prek kafshët dhe njerëzit. Gëlltitja e ushqimeve të kontaminuara është burimi më i rëndësishëm i infeksionit njerëzor. Sipas antigjeve somatike (O) dhe flagjelare (H), janë të njohura 13 serotipe të *Listeria monocytogenes* dhe janë të identifikuar alfanumerikisht si: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e dhe 7. Serotipi 1/2a, 1/2b dhe 1/2c izohet më së shpeshti si nga ushqimet, ashtu edhe nga zona në të cilat përpunohet ushqimi. Llojet e mjeteve të ndryshme të përpunimit të ushqimit, mishi i ftohur, ushqimet e gatshme për t'u ngrënë, djathi, peshku i tymosur dhe ushqimet e detit janë më të ndjeshme ndaj zhvillimit të *Listeria monocytogenes*. Për shumicën e njerëzve të shëndetshëm, listerioza nuk nënkupton më shumë se një kërcënim të kufizuar me simptoma gastrointestinale, që përfundojnë në 36-48 orë. Sidoqoftë, infeksionet kërcënuese për jetën ndodhin kryesisht në gratë shtatzëna, tek të sapolindurit, në foshnje, tek të moshuarit dhe individët me sistem imunitar të dobët. Karakteristikat klinike të listeriozës kanë një ndryshueshmëri të konsiderueshme dhe lehtë mund të ngatërrohen me infeksione tjera. Ndonjëherë vërehen manifestime gastrointestinale si infeksion primar. Këto manifestime të tretjes zakonisht kufizohen në vetvete dhe zgjidhen spontanisht. *Listeria monocytogenes* ka një tropizëm për sistemin nervor qendror duke shkaktuar meningjit. Ndërsa sepsis, pa një infeksion të lokalizuar, është paraqitja më e zakonshme të pacientët me sistem imunitar të mangët. (Saraiva, Garcia-Diez, Fontes, Esteves 2018)

Meqenëse *Listeria monocytogenes*, është një mikrorroganizëm që gjendet kudo, mishit dhe produktet e mishit mund të kontaminohen me të, gjatë kontaktit me lëndë të parë, në mjedisin e përpunimit dhe në tregjet e shitjes me pakicë. *Listeria monocytogenes* mund të ngjitet në sipërfaqe duke formuar biofilma, që përbëhen nga qelizat dhe materialet polimere jashtëqelizore që mbrojnë bakteret dhe çojnë në rritje dhe mbijetesë të saj. *Listeria monocytogenes* ka treguar rezistencë ndaj biocideve dhe rezistencë të varur nga temperatura ndaj fageve. Prandaj, gjetja e metodologjive alternative për të shmangur kontaminimin, mbijetesën dhe rritjen e mëtejshme të *Listeria monocytogenes* janë kërkesa të rëndësishme të industrisë së mishit.

Megjithëse, numri i rasteve të listeriozës është relativisht i ulët, fraksioni i rasteve që rezultojnë në vdekje janë të larta, duke arritur deri në afërsisht 30%.

Rregullorja (EC) Nr.2073/2005, e rishikuar nga Rregullorja (EC) Nr.1441/2007, nuk përcakton kufinj të prezencës së *Listeria monocytogenes* në mishin e freskët.

## 1.4 Faktorët e rritjes së *Listeria monocytogenes*

### 1.4.1 Ndikimi i Ph

Rritja optimale e pH e *Listeria monocytogenes* është mes 6 dhe 8. Sidoqoftë, mund të përshtatet, të rritet dhe të mbijetojë edhe në mjedise acide. Rezistenca e saj varet nga faktorë tjerë ekologjik dhe gjendja fiziologjike. Ndikimi i pH në rritjen e *Listeria monocytogenes* është e studiuar gjerësisht. Është gjetur se pH i fundit në mishin normal dhe atë DFD, ka ndikuar dukshëm në rritjen e *Listeria monocytogenes* të inokuluar në mostrat e mishit të ruajtura në temperaturën 4 dhe 9 °C. Rritja e *Listeria monocytogenes* ishte më e lartë në mishin DFD, duke e vënë në pah efektin e pH përfundimtar me varësinë e dukshme të temperaturës së ruajtjes.

Është treguar gjithashtu se, toleranca ndaj pH të ulët mund të induktohet në *Listeria monocytogenes*. Gjatë periudhës së adaptimit, *Listeria monocytogenes* sintetizon një sërë proteinash që i lejojnë të mbijetojë në kushte stresi. Si faktor përgjegjës për rezistencën e *Listeria monocytogenes*, referohet faktori i stresit sigma ( $\sigma_B$ ), megjithëse gjene të tjera janë gjithashtu të përfshira në mekanizmat e rezistencës. (Saraiva, Garcia-Diez, Fontes, Esteves 2018)

Rezistenca e *Listeria monocytogenes* ndaj kushteve acidike mund të rrezikojë sigurinë e disa produkteve ushqimore me pH të ulët. Duhet të merret në konsideratë sidomos, në produktet ushqimore me jetë të gjatë në të cilën mikroorganizmat e mbijetesës mund të shoqërohen më një shpërthim ushqimor.

### 1.4.2 Stresi osmotik

Rezistenca e *Listeria monocytogenes* në vlera të ulëta të aktivitetit uJOR varet nga faktorët e mjedisit si dhe nga gjendja fiziologjike. Rezistenca osmotike hyn në vlerësim së bashku me faktorë tjerë si temperatura dhe pH. Me uljen e temperaturës rritet vlera minimale e aktivitetit uJOR, që është e nevojshme për rritjen e *Listeria monocytogenes*. Diapazoni i aktivitetit uJOR të *Listeria monocytogenes* që e lejon rritjen është i ndryshueshëm. *Listeria monocytogenes* është tolerante ndaj NaCl.

Përshtatja e *Listeria monocytogenes* në stresin osmotik shoqërohet në tre mekanizma kryesor: thithja e proteinave, akumulimi i tretësirave dhe faktori sigma i stresit.

Niveli optimal i aktivitetit ujqor të rritjes së *Listeria monocytogenes* është 0.97, por ka aftësinë të rritet edhe në 0.90, gjithashtu mund të mbijetojë për një periudhë kohore edhe në 0.81.

### 1.4.3 Temperatura

*Listeria monocytogenes* është e aftë të mbijetojë dhe të shumëzohet në një gamë të gjerë të temperaturave. Kufiri më i ulët për rritjen e tij në matricat ushqimore me një përmbajtje të lartë lëndësh ushqyese dhe pH neutral është 0 °C. Gjithashtu, është raportuar për praninë e *Listeria monocytogenes* edhe në produktet e mishit të ruajtura në frigorifer. Megjithëse ftohja, është një metodë e zakonshme e ruajtjes, përdorimi pa kriter i të ftohtit, domethënë, në produktet e mishit të tharë në feta, mund të përmirësojë mbijetesën e *Listeria monocytogenes*. Faza e vonësës është e ndryshueshme në përputhje me temperaturën e mjedisit dhe mund të shoqërohet me modifikimin fiziologjik të *Listerias* për të mbijetuar në temperatura të ulëta. Ndryshimet në përbërjen e membranës në temperatura të ulëta mund të çojnë në një ndryshim në përbërjen e lipideve të membranës në mënyrë që të ruhet rrjedhshmëria e nevojshme për aktivitetin e duhur enzimatik. Rritja në temperatura të ulëta rezulton në një rritje në përqindjen e acideve yndyrore të pangopura. Temperaturat e ulëta çojnë në ndryshime në shprehjen e gjeneve dhe thithje të proteinave. (Saraiva, Garcia-Diez, Fontes, Esteves 2018)

Nivelet e rritjes së temperaturës për *Listeria monocytogenes* temperaturës 0 – 45 °C me një optimale nga 30 – 37 °C.

Faktorët e rritjes së *Listeria monocytogenes* kanë të bëjnë me temperaturën, pH, aktivitetin ujqor, kripa 25.5% dhe ambienti me 10% CO<sub>2</sub>.

### 1.4.4 Paketimi

Rritja e *Listeria monocytogenes* vështirë se ndikohet nga atmosfera anaerobe ose atmosfera me oksigjen të zvogëluar (Saraiva, Garcia-Diez, Fontes, Esteves 2018). Sistemet e paketimit me

atmosfera të modifikuar (modified atmosphere packaging), mund të zvogëlojnë mbijetesën dhe rritjen e *Listeria monocytogenes* nga prania e dioksidit të karbonit në paketimin me atmosferë të modifikuar\_ (Saraiva, Garcia-Diez, Fontes, Esteves 2018). Paketimi në temperatura të ulëta dhe paketimi në vakum duhet gjithashtu të shoqërohet me pengesa të tilla si bakteriocina ose vajra esenciale.

### 1.5 Strategjitë e kontrollimit të *Listeria monocytogenes* në mish

Mënyrat klasike të ruajtjes së mishit janë ftohja dhe ngrirja, por teknologjitë e tilla si sistemet e paketimit, si paketimi me atmosferë të modifikuar dhe paketimi aktiv ose përdorimi i përbërjeve natyrore antimikrobike kanë lindur për të përmirësuar sigurinë dhe cilësinë e tij.

Aktualisht, shqetësimi në rritje i konsumatorëve në lidhje me rrezikun që vjen nga ushqimet pasqyron një ndërgjegjësim të rritur në lidhje me efektet e dëmshme që mund të kenë në shëndetin e njeriut. Si pasojë, kërkesa e konsumatorëve për ushqime më të shëndetshme dhe natyrore është rritur duke bërë kështu që industria ushqimore të përdorë substanca natyrore të tilla si ekstrakte bimore, vajra thelbësore dhe acide organike për të përmbushur këtë tendencë.

Sipas studimeve, është raportuar se përdorimi i vajrave esenciale nuk është i mjaftueshëm për kontrollimin e *Listeria monocytogenes*. Pastaj, përdorimi i chitosan i tretur në acid acetic ose laktik përdoret për kontrollimin e *Listeria monocytogenes*, por edhe vetëm acidi laktik mund të kontrollojë atë. Përveç kësaj përdoret edhe *Lactobacillus sakei*, por edhe bakteriofagët. (Saraiva, Garcia-Diez, Fontes, Esteves 2018)

Bakteriofagët e padëmshëm për qelizat njerëzore konsiderohen si agjentë natyral të biokontrollit kundër patogjenëve. Bakteriofagët janë viruse bakteriale me specifika të nikoqirit dhe aktivitetet e lysis, që mund të përdoren si ruajtës ose për zbulimin e shpejtë të patogjenëve. Fagët e përdorur për qëllime të biokontrollit duhet të jenë virulentë dhe të infektojnë dhe vrasin sa më shumë shtame të synuara.



## 1.6 Modelet parashikuese mikrobiologjike të *Listeria monocytogenes*

Modelet parashikuese të mikrobiologjisë përdoren për të arritur në përfundimin e evolucionit të popullatës mikrobike, duke marrë parasysh ndotjen fillestare dhe mjedisin ushqimor, pasi që mikroorganizmat në mjedise të caktuara janë të riprodhuara. Interesi në rritje për sjelljen e rreziqeve si *Listeria monocytogenes* promovoi përparime të rëndësishme në mikrobiologjinë parashikuese dhe filloi të përdoret matrica e ushqimit, në vend të terreneve ushqyese. Strategjitë tradicionale përdorin shtame të rritjes së shpejtë në kushte optimale të rritjes. Kjo siguron rezultate të plota, por sot përdoren edhe metoda parashikuese mikrobiologjike të ndara në tri pjesë:

- 1- Primare, përdoren për të vlerësuar ndryshimet në popullatën mikrobiale si një funksion i kohës,
- 2- Sekondare, reagimet e mikroorganizmave ndaj kushteve mjedisore dhe
- 3- Terciare, algoritme të inkuorporuara për të integruar efektin e variablave mjedisore në parashikimet mikrobiologjike. (Saraiva, Garcia-Diez, Fontes, Esteves 2018).

## 1.7 Infektimet dhe shpërthimet ushqimore me *Listeria monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* është e përhapur në mjedis, veçanërisht në tokë dhe ujë. Bakteret mund të mbijetojnë në tokë për shumë muaj. Kafshët mund të mbajnë *Listeria monocytogenes* pa shenja të infektimit dhe të hedhin bakteren me jashtëqitjen e tyre.

Bakteret janë në gjendje të jetojnë një gamë të gjerë të kushteve dhe mjediseve, duke toleruar si kushtet acidike ashtu edhe ato të kripura, si temperaturat e larta ashtu edhe ato të ulëta dhe me një përmbajtje mjaft të ulët lagështie. Këto karakteristika lejojnë që *Listeria monocytogenes* të mbijetojë për një kohë të gjatë në një sërë produktesh ushqimore dhe impiante të përpunimit të ushqimit. Për shkak se bakteret mund të shumohen dhe të qëndrojnë në fabrikat e përpunimit të ushqimit për vite, madje në një rast të dokumentuar më shumë se 10 vite, *Listeria monocytogenes*, është e vështirë për t'u kontrolluar dhe mund të rezultojë në ndotje të përhershme të ushqimit.

Ndryshe nga shumica e baktereve, *Listeria monocytogenes* mund të rritet dhe shumohet në temperatura të ulëta, duke i bërë bakteret një problem potencial edhe në ushqimin e ftohur siç duhet. Një studim gjithashtu, gjeti një përqindje relativisht të lartë të produkteve të viçit të papërpunuar të ngrirë të kontaminuar me *Listeria monocytogenes*.

Njerëzit infektohen me *Listeria monocytogenes* duke ngrënë ushqim të kontaminuar. Njerëzit gjithashtu mund të infektohen duke trajtuar ushqim të kontaminuar, siç është ushqimi i kontaminuar për kafshët shtëpiake, ose duke prekur sipërfaqet dhe veglat e kontaminuara dhe pastaj duke i transferuar aksidentalisht bakteret nga duart në gojën e tyre. Foshnjat mund të infektohen në mitër ose në lindje, nëse nënat e tyre kanë ngrënë ushqim të kontaminuar gjatë shtatzanisë.

Bakteret mund të infektojnë një sërë ushqimesh, si:

- Mishin e gjallë,
- Mishin e përpunuar si hot dog,
- Perime të papërpunuara,
- Ushqim deti,
- Sallata të përgatitura ose të ruajtura,
- Pjeptra,
- Djathëra të butë,
- Qumësht dhe produkte të qumështit etj.

Pasterizimi, gatimi dhe shumica e agjentëve dezinfektues vrasin *Listeria monocytogenes*.

Sidoqoftë, në disa ushqime të gatshme të tilla si hot dog dhe mish të gatshëm për t'u ngrënë, kontaminimi mund të ndodhë pasi ushqimi është përpunuar në fabrikë, por para paketimit. Këto

produkte mund të hahen në mënyrë të sigurt nëse nxehen në temperatura të larta. (Saraiva, Garcia-Diez, Fontes, Esteves 2018)

Listerioza ndodh veçanërisht në gratë shtatzëna, të sapolindurit, të moshuarit dhe njerëzit me sistem imunitar të dobët. Pasi një person infektohet me *Listeria monocytogenes*, bakteret rriten shpejt në mëlçi dhe më pas lëvizin në qarkullimin e gjakut dhe mund të pushtojnë shumë vende në trup, duke përfshirë:

- Trurin,
- Membranat që rrethojnë trurin dhe palcën kurrizore, duke shkaktuar meningjit,
- Traktin gastrointestinal dhe
- Qarkullimin e gjakut.

Gratë shtatzëna kanë 18 herë më shumë gjasa të marrin listeriozën, sesa të rriturit tjerë të shëndetshëm, dhe 16 deri 27% e të gjitha infeksioneve të *Listeria monocytogenes* janë tek gratë shtatzëna. Ende nuk dihet shkaku pse gratë shtatzëna janë kaq të ndjeshme ndaj listeriozës.

Diagnostifikimi i listeriozës në gratë shtatzëna është i vështirë, sepse ato zakonisht nuk kanë simptoma gastrointestinale, të tilla si të vjella dhe diarre, që zakonisht shoqërohen më këtë sëmundje ushqimore. Simptoma më e zakonshme dhe nganjëherë e vetme e listeriozës në gratë shtatzëna janë ethet. Shpesh shfaqet si një sëmundje e ngjashme me gripin me simptoma jo specifike, të tilla si lodhja dhe dhimbjet e muskujve, të cilat janë të përkohshme dhe largohen vetë. Disa gra shtatzëna nuk japin shenja të infektimit. (Saraiva, Garcia-Diez, Fontes, Esteves 2018)

Përderisa, listerioza tek nëna është e lehtë, infeksioni tek fetusit dhe tek i porsalinduri mund të jetë i rëndë. Listerioza mund të zhvillohet në çdo kohë gjatë shtatzanisë dhe sëmundja shkakton abort, lindje të parakohshme dhe infeksion kërcënues për jetën e të porsalindurit, të tilla si infeksioni i gjakut, shqetësime të frymëmarrjes ose penumoni dhe meningjit. Listerioza është një nga shkaqet më të zakonshme të meningjitit tek të porsalindurit.

Me një shkallë vdekshmërie prej 20 deri 30%, të sapolindurit vuajnë nga pasojat më serioze të listeriozës. Ata kanë sëmundje të hershme ose të vonshme në varësi të kohës kur shfaqen simptomat e tyre. (Jordan, O'Brien, Lourenco & Pennone 2018).

Fëmijët dhe të rriturit e shëndetshëm herë pas here sëmuren nga listerioza, por rrallë sëmuren rëndë. Në njerëzit e shëndetshëm, listerioza mund të shkaktojë gastroenterit, kryesisht diarre e shoqëruar me ethe. Simptoma tjera mund të përfshijnë të vjella, dhimbje të kyçeve, dhimbje koke dhe dhimbje në trup. Kjo formë e listeriozës ka një periudhë shumë më të shkurtër inkubacioni, me simptoma që zakonisht shfaqen brenda 24 orëve pasi një person gëlltit një numër të lartë të baktereve. Sëmundja është zakonisht e lehtë dhe kalon vetë. Diarreja mund të zgjasë deri në 5 ditë.

Njerëzit e moshuar dhe ata me sistem imunitar të dobët kanë një rrezik më të lartë në marrjen e disa formave të listeriozës, duke përfshirë:

- Inflamacion i trurit (encefalit),
- Meningjit dhe
- Infeksion i gjakut

Simptomat e listeriozës ndryshojnë në varësi të formës dhe mund të shfaqen papritur. Simptomat mund të përfshijnë ethe, dhimbje të muskujve, dhimbje koke të forta, nauze, të vjella, ngurtësim të qafës, konfuzion dhe humbje të ekuilibrit.

Në kontrast me periudhën e inkubacionit për sëmundjet e tjera, më të zakonshme të shkaktuara nga ushqimi, si salmoneloza, periudha e inkubacionit për listeriozën mund të jetë e gjatë dhe gjithashtu ndryshon në bazë të formës.

Rastet që përfshijnë një infeksion gjaku kanë një periudhë mjaft të shkurtër inkubacioni, me një mesatare prej 2 ditësh. Për rastet që përfshijnë encefalit ose meningjit, periudha e inkubacionit është më e gjatë, me një mesatare prej 9 ditësh.

Gjithashtu, ekziston një formë e lëkurës e listeriozës që vjen nga lëkura e paprekur që bie në kontakt të drejtpërdrejtë me bakteret. Forma e lëkurës është e rrallë dhe më së shumti shihet tek njerëzit në punë të rrezikuara, të tilla si veterinerët ose fermerët, të cilët janë të ekspozuar ndaj kafshëve të sëmura ose indeve të sëmura, veçanërisht pasi një kafshë ka një shtatzani të dështuar e shkaktuar nga *Listeria monocytogenes*. (Jordan, O'Brien, Lourenco & Pennone 2018).

### 1.7.1 Shpërthimet ushqimore me *Listeria monocytogenes*

Kur dy ose më shumë njerëz marrin të njëjtën sëmundje nga i njëjti ushqim ose pije e kontaminuar, njihet si shpërthim ushqimor.

Disa nga shpërthimet më të njohura ushqimore me *Listeria* janë:

- Shpërthim ushqimor me produkte mishi të gatshëm për t'u ngrënë, ku 12 njerëz u infektuan si pasojë e *Listeria monocytogenes*, në Florida, Louisiana dhe New York. 12 pacientët u raportua se kishin ngrënë produkte mishi të gatshme, dhe kjo ka pasuar me 1 rast të vdekjes.
- Apo shpërthimi ushqimor nga *Listeria monocytogenes*, pas konsumimit të pjeprit të kontaminuar, ku 147 njerëz ishin infektuar, 143 janë hospitalizuar dhe kjo ka pasuar me 33 raste të vdekjes- (Centers for Disease Control and Prevention).

## 1.8 *Listeria monocytogenes* në hapësirat punuese të fabrikave

*Listeria monocytogenes* gjendet kudo në mjedis, prandaj kontaminimi i mjedisit të hapësirave punuese të ushqimit është i pashmangshëm nëse nuk bëhen përpjekje të rrepta për të ndaluar një ndotje të tillë.

*Listeria monocytogenes* është raportuar në objekte të ndryshme të përpunimit të mishit, siç janë thertoret dhe fabrikat e përpunimit të mishit. Disa studime sugjerojnë se kafshët e paraqitura për therje janë një burim i rëndësishëm i kontaminimit fillestar të objekteve të përpunimit të mishit me *Listeria monocytogenes*. Kontaminimi i tillë mund të jetë nga sipërfaqja e jashtme e kafshëve, apo nga thundrat, të cilat mund të futen në objektet e përpunimit nëse nuk ndiqen masat e duhura të higjienës. Përveç kafshëve, ndotja mund të bëhet edhe përmes lëndës së parë dhe personelit, por edhe nga dyshemetë, kanalizimet, raftet e ndryshme etj. të cilat raportohen të jenë burime të kontaminimit me *Listeria monocytogenes*. (Matle, Mbatha & Madoroba 2020).

*Listeria monocytogenes* mund të mbijetojë për periudha të gjata kohore në një mjedis, në dukje armiqësor, siç është objekti i përpunimit të ushqimit, pjesërisht për shkak të aftësisë së tij për të duruar streset e ndryshme, të tilla si dezinfektuesit, pH, temperatura dhe aftësia për të formuar biofilma. Nëse mjedisi i përpunimit të ushqimit është i kontaminuar, ndotja e tërthortë me *Listeria monocytogenes*, është ndër rrugët kryesore të mundshme të ndotjes.

Meqenëse, pasojat e listeriozës për shëndetin publik janë aq serioze, shfaqja e *Listeria monocytogenes* në mjedisin e përpunimit të ushqimit dhe ndotja e mundshme e ushqimit është problem madhor për industrinë ushqimore. Në veçanti, është një problem për industrinë ushqimore të gatshme pasi nuk ka nxehtësi ose një hap tjetër antimikrobik mes prodhimit dhe konsumit.

Si një sëmundje ushqimore, reduktimi i shfaqjes së listeriozës është i mundur. Mund të merren masa për të parandaluar infektimin e mjedisit të përpunimit të ushqimit në radhë të parë, për të zvogëluar shfaqjen e tij në mjedisin e përpunimit të ushqimit përmes masave të përshtatshme higjienike dhe për të zvogëluar ndotjen e tërthotë në ushqim. Për më tepër, parandalimi i rritjes së *Listeria monocytogenes* në këto rrethana, mund të çojë në reduktim prej 37% të listeriozës.

Njëri ndër hapat listericid që është i rëndësishëm për eliminimin e *Listeria monocytogenes*, gjatë përpunimit të ushqimeve, është kontrollimi i *Listeria monocytogenes* në mjedisin e përpunimit, që njihet si një ndër hapat më të rëndësishëm për parandalimin e kontaminimit pas përpunimit në këto ushqime. Dëshmitë tregojnë se kur *Listeria monocytogenes* zbulohet në ushqimet e gatshme për t'u ngrënë (proshuta, suxhuku, salami), kjo vjen si pasojë e rikontaminimit pas përpunimit. Për ushqimet e tilla, duhet të mirëet një hap listericid, duke kontrolluar mjedisin për të minimizuar potencialin që këto ushqime të kontaminohen.

Një program testimi mjedisor që synon ndërmarrjen e veprimve të duhura kur *Listeria monocytogenes* është detektuar në hapësirat punuese, është një masë më e mirë, me kosto efektive për të minimizuar dhe parandaluar rrezikun e kontaminimit të produktit.

Para hartimit të një programi të monitorimit të mjedisit, është e rëndësishme të sigurohen në mënyrë adekuate Praktikat e Mira të Higjienës dhe Praktikat e mira të Prodhimit. Këto janë pjesë mbështetëse e programit HACCP për siguri ushqimore dhe ndihmojnë në kontrollimin e *Listeria monocytogenes*.

### 1.8.1 Vendndodhja e objektit, dizajni dhe struktura

Vendndodhja e objektit, dizajni dhe struktura luajnë një rol të madh në kontrollin e *Listeria monocytogenes* në mjedisin e përpunimit. Objektet që nuk janë projektuar posaçërisht për këto procese duhet të ketë kontrolle të jashtëzakonshme mbi sistemet. Disa aspekte të rëndësishme përfshijnë:

- Zonat përreth objektit duhet të jenë të mbyllura, të drenazuara dhe të mirëmbajtura në mënyrë të pastër dhe të rregullt.
- Zona e brendshme e objektit duhet të projektohet për të lehtësuar pastrimin dhe kanalizimin, të ketë drenazhim të mjaftueshëm dhe të mos lejojë grumbullimin e ujit. Kjo është veçanërisht e rëndësishme në zonat me rrezik të lartë.
- Aty ku është e mundur, duhet të ketë një ndarje fizike mes zonave me rrezik të ulët dhe të lartë. Aty ku nuk është kjo e mundur, duhet të krijohen procedura për të parandaluar ndotjen e tërthortë nga njerëzit, materialet dhe pajisjet nga zonat me rrezik të ulët në zonat me rrezik të lartë.
- Gjithashtu, duhet të instalohen objekte adekuate të dezinfektimit mes zonave me rrezik të lartë dhe të ulët.
- Duhet të ketë hapësirë të mjaftueshme mes pajisjeve për të lejuar që objekti dhe pajisjet efektive të pastruara dhe dezinfektuara.
- Pajisjet dhe pajisjet e sipërme ku mund të grumbullohen pluhuri dhe lëndët e huaja duhet të shmangen, veçanërisht në zonat me rrezik të lartë.
- Dyert dhe dritaret veçanërisht në zonat me rrezik të lartë, duhet të mbyllen siç duhet.
- Nëse ndodhin rinovime, prodhimi normal duhet të dekurajohet. Nëse prodhimi vazhdon, duhet të merret parasysh për të krijuar një barrier fizike mes dy zonave.
- Gjithashtu do të ketë nevojë për të rritur frekuencën e pastrimit dhe kanalizimeve dhe monitorimi i mjedisit.
- Testimi i shtuar i ushqimit gjithashtu duhet të merret në konsideratë.



### 1.8.2 Dizajni i pajisjeve

Të gjitha pajisjet, veçanërisht në zonat me rrezik të lartë, duhet të jenë të përshtatshme për përdorim dhe të dizajnuara mirë dhe me një konstruksion higjienik. Pajisjet duhet të mirëmbahen në gjendje të mirë dhe disa pika duhet të merren parasysh:

- Hapësirat e vdekura duhet të shmangen pasi ato mund të lejojnë grumbullimin e përbërësve ose produktit dhe janë të vështira për t'u pastruar dhe dezinfektuar.
- Sipërfaqet e kontaktit të produktit duhet të jenë të lëmuara dhe jo poroze.
- Çezmat, tubat duhet të riparohen, pasi ato mund të jenë burimi kryesor i ndotjes në mjedis dhe në sipërfaqet e kontaktit me ushqim.
- Njësitë e ftohjes, frigoriferët dhe pajisjet e kontrollit të inspekteve nuk duhet të vendosen mbi zona të prodhimit dhe përpunimit.

### 1.8.3 Pastrim-dezinfektimi

Shfaqja e *Listeria monocytogenes* në mjedisin e përpunimit të mishit, mund të rritet ose të zvogëlohet për shkak të higjienës. Higjiena është një proces që konsiston në protokollet e pastrimit, që pasohet nga dezinfektimi. Procedurat e duhura të pastrimit dhe dezinfektimit zvogëlojnë shfaqjen e *Listeria monocytogenes* në një strukturë të përpunimit të mishit.

Sidoqoftë, ky patogjen shpesh gjendet edhe pas pastrimit dhe kjo tregon qëndrueshmërinë e saj dhe jo efektivitetin e pastrimit. Gjatë procesit të pastrimit, pastruesit përdoren për të hequr agjentin mikrobik në zonat e përpunimit të ushqimit (mishit në këtë rast). Megjithatë, ky process pengohet nga prania e vendeve të strehimit brenda objektit.

Disa studime tregojnë se *Listeria monocytogenes*, ka aftësinë t'i rezistojë agjentëve sanitarë që përdoren dhe kjo rezistencë ndodh për shkak të formimit të biofilmave dhe ku ato vazhdojnë të qëndrojnë në strukturë për disa vjet. Në bazë të këtyre studimeve, u tregua se *Listeria monocytogenes* mund të formonte biofilma në sipërfaqe të tilla si polietileni, klorur polivinil, në qelq dhe në inoks të çelikut, në objektet e përpunimit të ushqimit. Formimi i biofilmave ndikohet

nga karakteristikat e shtameve, vetitë fizike dhe kimike të substratit për ngjitje, faza e rritjes së baktereve, temperature, mjedisi i rritjes dhe prania e mikroorganizmave tjerë. (Carpentier & Cerf 2011).

Pastrimi dhe dezinfektimi janë jetik për të kontrolluar dhe eliminuar *Listeria monocytogenes* dhe mikroorganizma të tjerë në mjedisin e përpunimit. Pastrimi dhe dezinfektimi janë dy operacione të ndara:

- Pastrimi – heqja e mbeturinave, papastërtisë dhe yndyrës nga pajisjet dhe ambientet. Mund të përfshijë pastrimin e thatë ose pastrimin e lagësht me përdorimin e detergjentëve.
- Dezinfektimi – procesi i zvogëlimit të numrit të mikroorganizmave të pranishëm në pajisje dhe ambient. Mund të përfshijë përdorimin e kimikateve, ujit të nxehtë ose avullit.

Mënyra në të cilën pajisjet dhe mjedisi i përpunimit pastrohen dhe dezinfektohen varen nga shumë faktorë dhe programi duhet të përshtatet për bizneset individuale. Pikat e rëndësishme që duhet të merren parasysh përfshijnë:

- Procedurat Standarde të Veprimit për programin e pastrimit dhe dezinfektimit, veçanërisht për zonat me rrezik të lartë, është thelbësore për të siguruar që programi është efektiv.
- I gjithë stafi duhet të trajnohet dhe të kuptojë rëndësinë e programit. Duhet të mbahet një regjistër trajnimi
- Programi duhet të përfshijë të gjitha pajisjet dhe artikujt që përdoren nga biznesi në ambientin e punës.
- Automjetet e transportit të ushqimit gjithashtu duhet të përfshihen.
- Pajisjet e pastrimit dhe dezinfektimit duhet të jenë të përshtatshme për përdorim.
- Detergjentët dhe dezinfektuesit duhet të jenë të përshtatshëm për përdorim në ambientin e përpunimit të ushqimit dhe të përdoren sipas udhëzimeve.
- Pajisje duhet të pastrohen dhe të dezinfektohen vazhdimisht.

#### **1.8.4 Higjiena personale**

Praktikat e mira të higjienës personale është e domosdoshme në të gjitha objektet e përpunimit të ushqimit pasi parandalon ndotjen e tërthortë të ushqimit nga njerëzit dhe pajisjet.

- I gjithë stafi, përfshirë edhe ata që nuk merren drejtpërdrejtë me produktin, duhet të trajnohen dhe të ndjekin praktikatat e mira të higjienës personale.
- Duhet të ketë trajnim shtesë për të gjithë personelin që punojnë në zona me rrezik të lartë.
- Vizitorët gjithashtu duhet të ndjekin praktikatat e mira të higjienës personale.
- Pajisjet/veshjet, mbrojtëset personale si përparëset e disponueshme, dorëzat, rrjetat e flokëve, rrjetat e mjekrrës duhet të përdoren nga të gjithë njerëzit që hyjnë në mjedisin e përpunimit. Duhet të merren parasysh mbulesat me ngjyra alternative në zonat me rrezik të lartë. Çizmet e papërshkueshme nga uji duhet të vishen nga personeli i përpunimit që punon në zona me lagështi dhe në banjo.
- Qasja e drejtpërdrejtë në zonat me rrezik të lartë nga zonat me rrezik të ulët duhet të shmanget.
- Kur hyni në zona me rrezik të lartë nga zona me rrezik të ulët, duhet të ketë objekte për larje dhe dezinfektim.

#### **1.8.5 Vlefshmëria e pastrim-dezinfektimit**

Pasi që këto procedura të pastrim-dezinfektimit të përfundohen, është thelbësore që këto të vërtetohen dhe kjo bëhet në bazë të pyetjes si – a është procedura e dokumentuar e aftë për të kontrolluar rreziqet e identifikuara? Kjo mund të përfshijë patogjene bakteriale ose alergjene. Metoda e vërtetimit të një procedure pastrimi është si vijon:

- Dokumentohet procedura e pastrimit ashtu siç ekziston në të vërtetë. Kjo bëhet në bashkëpunim me ata që kryejnë pastrimin.
- Identifikohen rreziqet e përgjithshme dhe specifike, bakteret etj.
- Identifikohet programi i monitorimit. Kjo përfshinë standardin që duhet të arrihet dhe pikat specifike të marrjes së mostrave bazuar në një vlerësim të rrezikut.
- Kryhet programi i pastrim-dezinfektimit siç është dokumentuar dhe ndiqen kontrollet e monitorimit.
- Konfirmohet që procedura e dokumentuar është e aftë të përmbushë kriteret e monitorimit.
- Nëse procedura nuk efektive, duhet të korrigjohet problemi.
- Përsëritet procesi i mësipërm, derisa procedura e dokumentuar e pastrim-dezinfektimit të konfirmohet si efektive në përmbushjen e standardit.
- Kryerja e trajnimeve të punonjësve.
- Mbahen shënimet e plota të të dhënave dhe procesit të mësipërm. (Food Authority 2019).

Prandaj, njëra ndër problemet kryesore që mund të ndikojnë në shfaqjen e *Listeria monocytogenes*, në fabrikat e përpunimit të mishit dhe produkteve të mishit është pastrimi dhe dezinfektimi jo adekuat i hapësirave punuese, është mungesa e trajnimit të punëtorëve për higjienë personale dhe praktikat jo të mira të punës.

### **1.9 Legjislacioni në lidhje me *Listeria monocytogenes***

Patogjenët e ushqimit duke përfshirë *Listeria monocytogenes*, mbeten një kërcënim serioz për shëndetin publik dhe një pengesë e rëndësishme për zhvillimin socio-ekonomik në mbarë botën. (Grace 2015).

Shumë vende kërcënimeve të tilla të paraqitura i përgjigjën nëpërmjet rregulloreve strikte për standardet ose kriteret mikrobiologjike në lidhje me kontaminimin e produkteve ushqimore. Kriteret mikrobiologjike për sigurinë e ushqimit i referohen udhëzimeve që përdoren për të

përcaktuar nëse një produkt ushqimor është i pranueshëm për konsum njerëzor, bazuar në ngarkesën bakteriale të mikroorganizmave të veçantë në ushqim.

Standardet mikrobiologjike ndryshojnë mes vendeve të ndryshme; megjithatë, ato udhëhiqen nga standardet ndërkombëtare siç janë Komisioni ndërkombëtar për Specifikimet Mikrobiologjike për Ushqimin (ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Food) dhe Komisioni Codex Alimentarius (CAC – Codex Alimentarius Commission).

ICMSF është një organizatë këshilluese vullnetare, e cila përcakton standarde dhe metoda në lidhje me praninë e mikroorganizmave në ushqim. ICMSF thekson se testimi i mostrës së ushqimit mund të përdoret për vlerësimin e sigurisë dhe cilësisë së ushqimit dhe për të vërtetuar efikasitetin e masës së kontrollit mikrobik siç është Analiza e Rrezikut dhe Pikat Kritike të Kontrollit (HACCP – Hazard Analysis and Critical Control Point). ICMSF rekomandon maksimum 100cfu/g *Listeria monocytogenes* në ushqim në kohën e konsumimit.

CAC (Codex Alimentarius Commission) është një grup standardesh ushqimore, udhëzimesh dhe kode praktike të prodhuara me qëllim, mbrojtjen e shëndetit të konsumatorit dhe lehtësimin e tregtisë ndërkombëtare (Rip 2011). Pajtueshmëria me standardet CAC është vullnetare, por shumë qeveri dhe institucione joqeveritare përdorin CAC si bazë për legjislacionin dhe standardet mikrobiologjike. Standardi CAC për *Listeria monocytogenes* zbatohet vetëm për ushqime e gatshme për t'u ngrënë (Ready to Eat), i cili i ndan ato në tre kategori bazuar në aftësinë e produktit ushqimor për të mbështetur rritjen e këtij patogjeni (Food and Authority 2013). Kriteri mikrobiologjik për *Listeria monocytogenes* në ushqimet e gatshme për t'u ngrënë që i përkasin kategorisë së parë nuk ka nevojë të përcaktohet. Prandaj, kriteret mikrobiologjike sipas CAC janë vendosur për produktet ushqimore RTE që i përkasin kategorisë së dytë dhe të tretë. Grupi i dytë përfaqëson ushqime RTE që nuk mbështesin rritjen e *Listeria monocytogenes*, ndërsa grupi i tretë zbatohet për produktet që mund të mbështesin rritjen e këtij patogjeni. Niveli i pranueshëm prej 100cfu/g është i përcaktuar për ushqimin në kategorinë e dytë, ndërsa toleranca është 0 (mungesë në 25g ushqim) për produktet e kategorisë së tretë. (Obaidat, Salman & Lafi 2015).

Standardi mikrobiologjik European për *Listeria monocytogenes* në produktet ushqimore është në përputhje me rekomandimet e CAC. Standardi kërkon mungesën e *Listeria monocytogenes* në produktet ushqimore që janë të destinuara për konsum foshnjor ose mjekësor dhe në ushqimin që mund të mbështesë rritjen e këtij patogjeni. Në produktet e tilla kërkohet mungesë në 25g

ushqim, pra nuk ka tolerancë, ndërsa në RTE që e mbështesin rritjen e këtij patogjeni niveli i pranishëm është 100cfu/g. (Matle, Mbatha & Madoroba 2020).

## 2.QËLLIMI I HULUMTIMIT

Qëllimi i këtij studimi është vlerësimi i prevalencës së *Listeria monocytogenes* në mishin e freskët, në prodhime të mishit minimalisht të procesuara, në prodhime të ndryshme të mishit, të tipit suxhuk, proshutë dhe produkte të paraziera dhe të ziera.

Rëndësia e këtij studimi qëndron në faktin se përket në fushën e sigurisë ushqimore, më saktësisht në analizat bakteriologjike për detektimin e një nga patogjenëve më të rrezikshëm siç është *Listeria monocytogenes*.

*Listeria monocytogenes* është njëra ndër bakteret me shkallë vdekshmërie mjaft të lartë, rreth 30%. Duke marrë parasysh kushtet e trajtimit, përpunimit, ruajtjes së mishit në Kosovë, ku në shumicën e rasteve ka higjienë të dobët, ky hulumtim jo vetëm që ka qenë atraktiv për t'u realizuar, por ka vlera të mëdha që do t'i ndihmonin institucioneve kompetente për të pasur një pasqyrë të qartë për praninë e *Listeria monocytogenes* në ushqimet si subjekt i këtij studimi si dhe ndihmon në perceptimin real të rrezikut që i kanoset konsumatorit Kosovar nga prania e këtij patogjeni si hap i parë drejt marrjes së masave adekuate për përmirësimin e gjendjes.

Në rastin tonë analizat janë bërë në mostrat nga mishi i freskët (i papërpunuar), nga mishi minimalisht i përpunuar siç janë burgerët, qoftet qebapat, nga produktet e kriposura, tymosura të mishit (të llojit suxhuk), nga produktet e njoma, kriposura të mishit, të tipit proshutë si dhe nga produktet e paraziera dhe të ziera të mishit, të marra direkt nga fabrikat e përpunimit të mishit, të cilat në kushte normale janë të pastruara dhe të dezinfektura, çka e zvogëlon mundësinë e detektimit të mikroorganizmave në përgjithësi, përfshirë këtu edhe *Listeria monocytogenes*, nëse pastrimi dhe dezinfektimi janë kryer siç duhet, por edhe e rrit mundësinë e shfaqjes së *Listeria monocytogenes*, nëse procesi i tillë nuk kryhet siç duhet, pasi që *Listeria monocytogenes* është prezente kudo.

### 3.MATERIALI DHE METODAT E PUNËS

Për punën e realizuar janë marrë gjithsej 52 mostra. Mostrat janë marrë në fabrika të përpunimit të mishit dhe mostrat e marra janë mish i freskët, produkte të mishit minimalisht të procesuara (të llojit qebap, qofte dhe pleskavicë), produkte të kriposura, tymosura (të llojit suxhuk), produkte të njoma, kriposura (të llojit proshutë), si dhe produkte të parazitiera dhe të ziera të mishit.

Mostrat janë si vijon:

Mish i freskët: 22

Suxhuk: 12

Proshutë: 10

Produkte të parazitiera dhe të ziera: 8

Gjatë marrjes së mostrave rëndësi u është kushtuar kushteve në të cilën ka qëndruar mostra, mënyra e marrjes së mostrës, paketimi, temperatura etj.

Për detektimin e *Listeria monocytogenes*, ekzistojnë metoda të ndryshme. Metodologjia e punës, e cila është përdorur për bakterien *Listeria monocytogenes*, është kryer në bazë të standardit ISO 11290-1:2017 me hapat e punës:



### **3.1 Terrenet ushqyese**

Terrenet ushqyese janë lëndë ushqyese, që përdoren për kultivimin e mikroorganizmave. Terrenet ushqyese janë të popullarizuara, sepse arrijnë të rrisin një shumëllojshmëri të llojeve të baktereve, kërpudhave duke përmbytur lëndë ushqyese të nevojshme për rritjen e tyre.

#### **3.1.1 Terreni ushqyes Palcam**

Terreni ushqyes Palcam përdoret si një terren izolues selektiv për detektimin e *Listeria monocytogenes* në produktet ushqimore. Për shkak të veprimit të kombinuar të kloridit të litiumit dhe suplementit selektiv, ky terren ndalon rritjen e mikroorganizmave që nuk i takojnë *Listerias*. Në këtë terren, në 37°C, në 24 orë, shfaqen koloni të *Listerias* më ngjyrë të hirit ose të gjelbërt në të hirit, me diametër deri në 1mm, e rrethuar me një hije ngjyrë kafe në të zezë. Ndërsa, pas 48 orëve të inkubimit, kolnitë tipike dallohen me një diametër rreth 2mm.



Figura 1: Palcam Agar



Figura 2: Terreni ushqyes



Figura 3: Suplementi

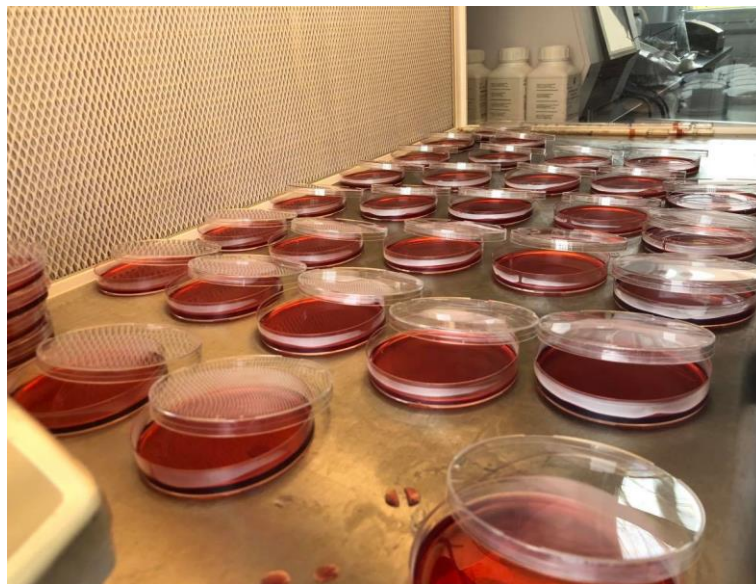


Figura 4: Pllakat e Petrit me Palcam Agar

### 3.1.3 Terreni ushqyes Oxford

Terreni ushqyes Palcam përdoret si një terren izolues selektiv për detektimin e *Listeria monocytogenes* në produktet ushqimore. Për shkak të veprimit të kombinuar të kloridit të litiumit dhe suplementit selektiv, ky terren ndalon rritjen e mikroorganizmave që nuk i takojnë *Listerias*. Në këtë terren, në 37°C, në 24 orë, shfaqen koloni të *Listerias* me ngjyrë të hirit ose të gjelbërt në të hirit, me diametër deri në 1mm, e rrethuar me një hije ngjyrë kafe në të zezë. Ndërsa, pas 48 orëve të inkubimit, kolonitë tipike dallohen me një diametër rreth 2mm.

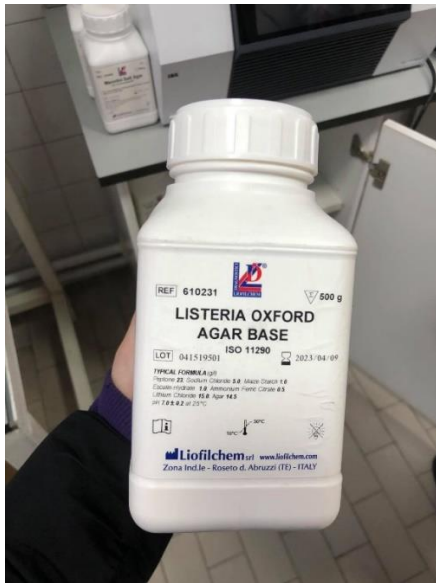


Figura 5: Oxford Agar



Figura 6: Terreni ushqyes

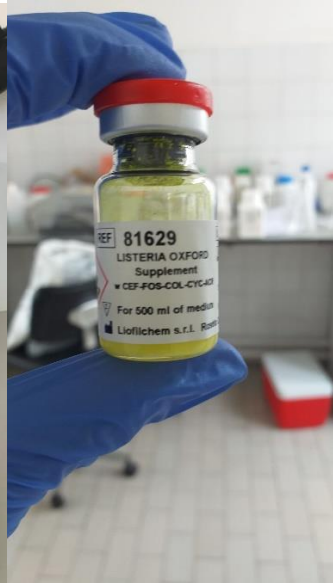


Figura 7: Suplementi

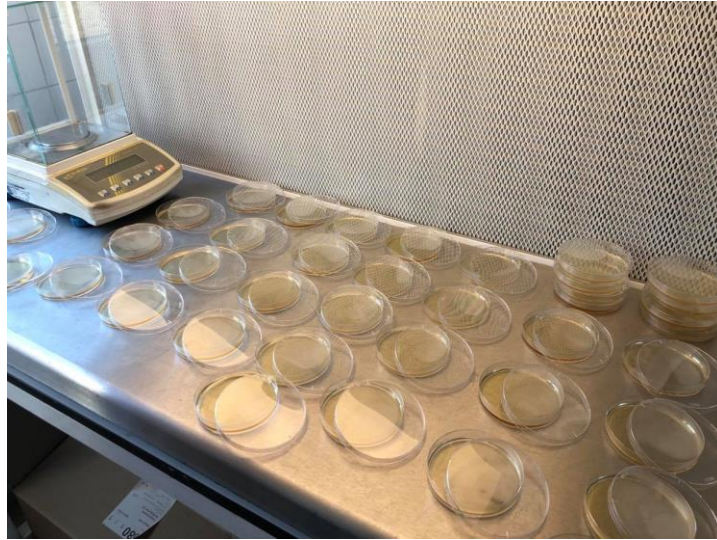


Figura 8: Pllakat e Petrit me Oxford Agar

### 3.2 Half Fraser Broth

Half Fraser përdoret me citrat hekri të amoniumit për pasurimin selektiv të specieve të *Listerias*. Ky njihet si pasurimi fillestar për izolimin e *Listeria spp*, e formuluar në bazë të ISO 11290. Komponentët selektivë acriflavina dhe acidi nalidixic përzihen në pluhurin bazë dhe citrati i amoniumit shtohet pas sterilizimit. Half Fraser Broth është zhvilluar për të dhënë rezultate të përmirësuara për izolimin e *Listeria spp* si me metodat tradicionale ashtu edhe me atë ELISA. Half Fraser Broth është një modifikim i Fraser Broth, që përmbanë gjysmën e përqendrimit të acidit nalidixic dhe hidroklorurit akriflavinë për të ndihmuar në rimëkëmbjen e qelizave të stresuara.



Figura 9: Half Fraser



Figura: 10 Suplementi

### 3.3 Fraser Broth

Fraser Broth është një hollim sekondar për pasurimin e qelizave që përdoret për izolimin e *Listeria spp.* Përmbanë eskulin për të treguar praninë e izolimit të mundshëm të *Listerias*, ashtu sikurse përmbanë klorur litiumi. *Listeria spp.* hidrolizon eskulinën për të formuar esculetin, e cila reagon me citratin e amonit ferrik duke rezultuar në një precipitat të zi dhe një reagim pozitiv të dukshëm.





Figura 11: Fraser Broth

### 3.4 Hollimi primar

Në kushte sterile peshohen 10 gram mostër e caktuar, e cila vendoset në qesen e Stomaherit, ku shtohen 90ml Half Fraser Broth të përgatitur paraprakisht. Kjo përzierje homogjenizohet në homogjenizator. Në qesen e Stomaherit shënohet kodi dhe mostra e tillë vendoset në inkubim në 30 °C për 24 orë.

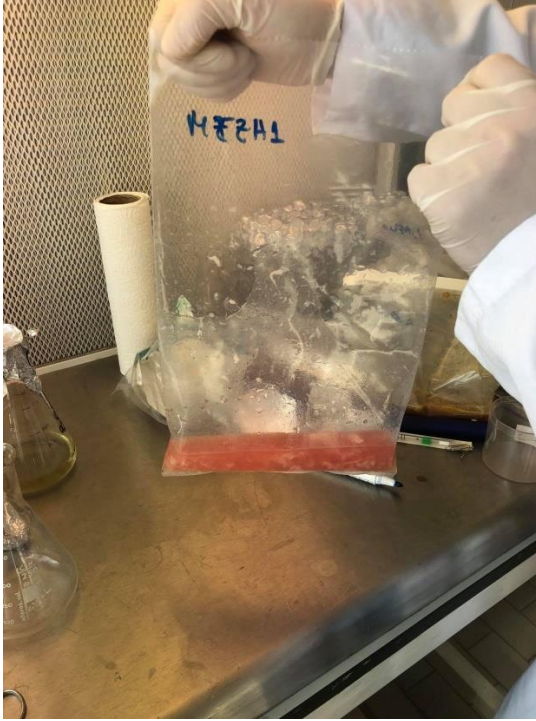


Figura 12: Hollimi primar



Figura 13: Mostra e inkubuar

### 3.4.1 Ecuria e punës me hollimin primar



Pas 24 orëve inkubim, në kushte sterile vendosën 0.1ml nga mostra e homogjenizuar në pllakat e Petrit, përkatësisht në terrenin ushqyes Palcam dhe në terrenin ushqyes Oxford, ku bëhet shtrirja më anzë. Terrenet vendosen në inkubim në 37 °C për 48 orë.

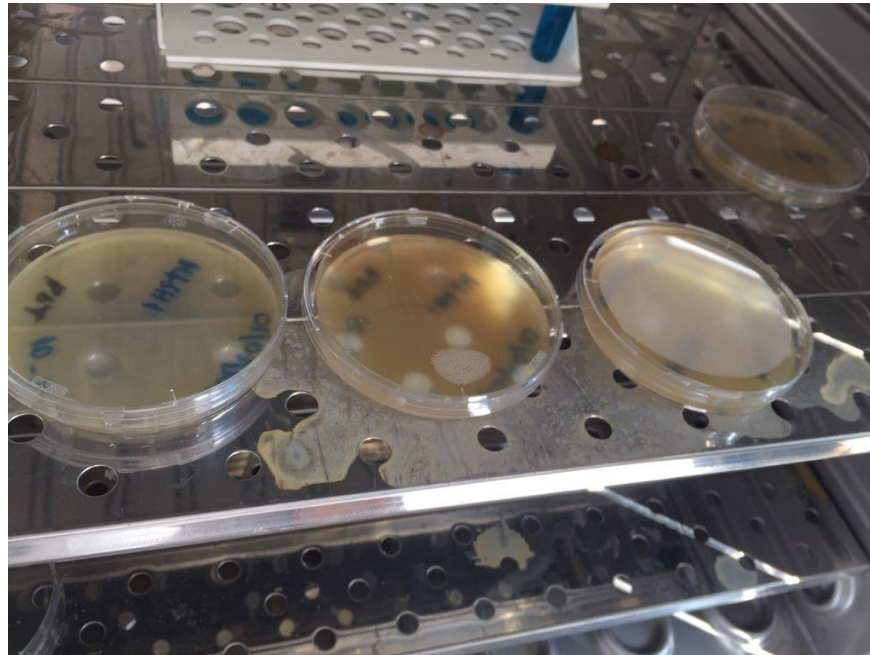


Figura 14: Inkubimi i mostrave

Pas 48 orëve, pllakat e Petrit nxirren nga inkubatori dhe pllakat me koloni dyeshuese mënjanojnë për testet vazhduese konfirmuese.

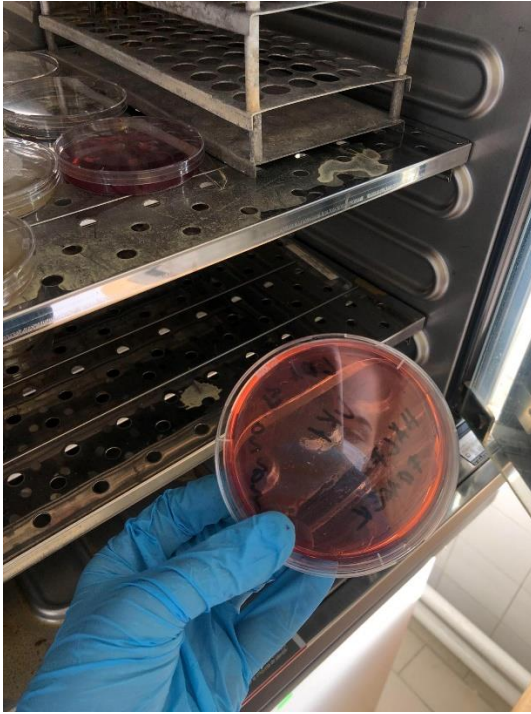


Figura 15: Mostra e shtrirë në Palcam

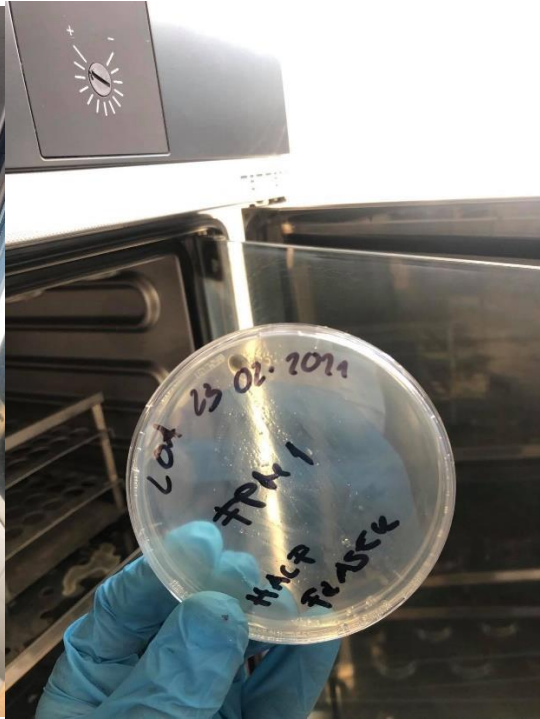


Figura 16: Mostra e shtrirë në Oxford

### 3.5 Hollimi sekondar

Hollimi sekondar ka të bëjë me Fraser Broth. Në kushte sterile merren epruvetat me 10ml Fraser Broth të përgatitura paraprakisht dhe nga mostra e parë e homogjenizuar e cila ka qëndruar në inkubim për 24 orë, merren 0.1ml material dhe vendosen në epruveta (në të njëjtën ditë kur bëhet shtrirja në pllaka e hollimit Half Fraser). Vorteksohen dhe inkubohen për 48 orë në 37 °C.



Figura 17: Hollimet Fraser

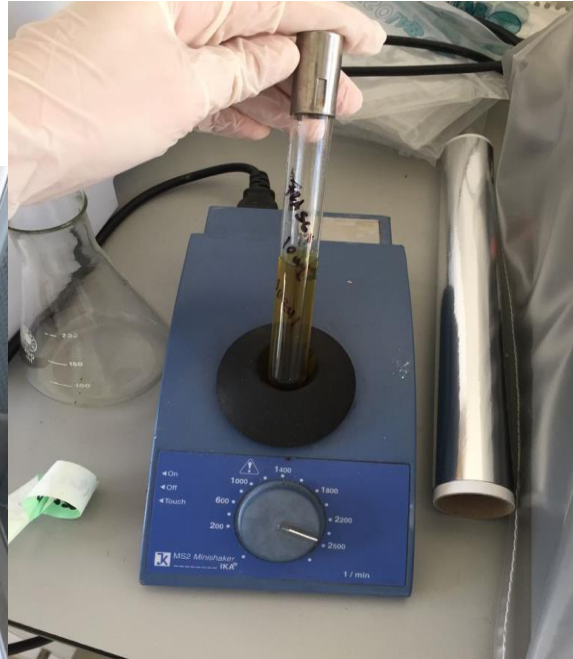


Figura 18: Përzierja në Vortex

### 3.5.1 Ecuria e punës me hollimin sekondar

Pas 48 orëve, epruvetat nxirren nga inkubatori dhe bëhet shtrirja në pllakat e Petrit, përkatësisht në terren ushqyes Palcam dhe Oxford. Shtrirja e 0.1 ml bëhet me anë dhe inkubohen përsëri për 48 orë në 37 °C.



Figura 19: Fraser hollimi dhe terrenet ushqyese

Pas 48 orëve, pllakat e Petrit nxirren nga inkubatori dhe pllakat me koloni dyeshuese mënjnohen për testet vazhduese konfirmuese.



Figura 20: Mostra të ndryshme

### 3.6 Testet konfirmuese (Gram Testi, Motiliteti dhe Katalaza)

Pllakat dyshuese janë mënjanuar për testet konfirmuese si:

- **Gram Testi**
- **Motiliteti**
- **Katalaza**

#### 3.6.1 Gram Testi

Është një test që përdoret për detektimin e bakteve të ndryshme, me anë të një metode të caktuar. Ekzistojnë dy kategori kryesore të bakteve që përcaktohen me anë të Gram Testit:

- Gram positive dhe
- Gram negative

Kategoritë diagnostikohen bazuar në mënyrën se si bakteret reagojnë ndaj testit të Gramit. Kur kolonia kombinohet me bakteret në një mostër, bakteret do të marrin ngjyrë vjollce ose pink. Nëse bakteret qëndrojnë ngjyrë vjollce, janë gram positive. Nëse marrin ngjyrë pink, atëherë janë gram negative. Këto dy kategori përfshijnë lloje të ndryshme të baktereve, si psh:

Gram positive: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile* etj.

Gram negative: *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Yersinia pestis* etj.

### 3.6.2 Procedura e Gram Testit

Në xhamin mikroskopik, të cilin paraprakisht e kemi pastruar me ujë të destiluar e fiksojmë një pikë uji. Me kujdes vendosim koloninë e dyshuar nga pjata e Petrit në pikën e ujit. Fiksohet me flakë dhe:

- Vendoset Crystal Violet për 1 minutë,
- Pastrohet me ujë të destiluar,
- Vendoset Lugol për 1 minutë,
- Pastrohet me alkool 96%,
- Pastrohet me ujë të destiluar,
- Vendoset Safranin për 35 sekonda,
- Pastrohet me ujë dhe
- Lihet të thahet,
- E vendosim në mikroskop dhe me anë të acidit acetic arrijmë t'a gjejmë me lehtë.

*Listeria monocytogenes* është baktere gram pozitive dhe si e tillë, ngjyra e cila duhet të vërehet është ngjyrë vjollcë.



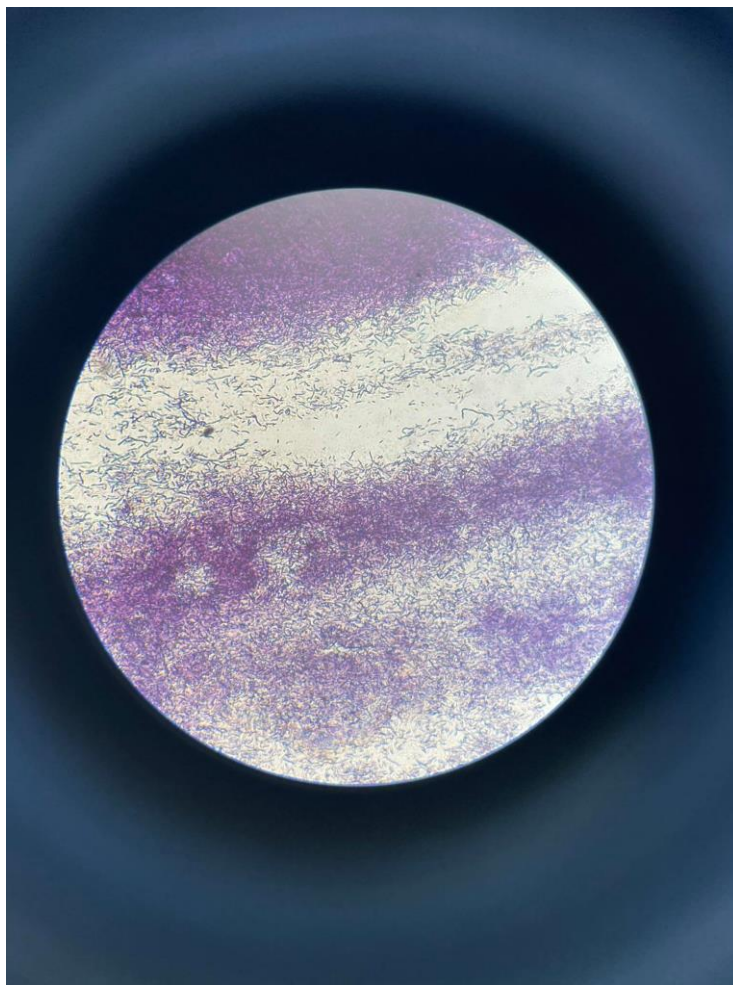


Figura 21: Mikroorganizmat në mikroskop

### 3.6.3 Testi i motilitetit

Testi i lëvizshmërisë, përdoret për të përcaktuar nëse një organizëm është i lëvizshëm ose jo. Organizmat e lëvizshëm përmbajnë flagella, e cila i ndihmon ata të udhëtojnë prej pikës së inokulimit. Bakteret lëvizëse lëvizin me struktura të quajtura flagella (disa baktere të jashtëzakonshme lëvizin me ndihmën e fijeve aksiale, të cilat nuk mund të shihen me mikroskop). Testi i lëvizshmërisë na ndihmon të bëjmë dallimin mes gjinive dhe llojeve të baktereve.

Ekzistojnë një sërë mënyrash për të përcaktuar lëvizshmërinë e një bakteri, teste biokimike dhe analiza mikroskopike. Nëse kemi një kulturë të freskët të baktereve, mikroskopia është mënyra më e saktë për të përcaktuar lëvizshmërinë bakteriale dhe “metoda e rënies së varur” është një teknikë mikroskopike, që përdoret zakonisht. Për përgatitjen mikroskopike, një pikë e organizmit vendose në xhamin mikroskopik, i shtohet vaj dhe kultura vërehet mikroskopisht për lëvizshmëri.

Mënyra tjetër e cila përdoret shpesh, është edhe ajo kur organizmi inokullohet në një terren gjysëm të ngurtë në një vijë të drejtë me drejtim poshtë dhe në qendër të tubit.

Organizmat e lëvizshëm do të shkaktojnë turbullira në të gjithë tubin dhe do të migrojnë e rriten jashtë vijës së inokulimit, duke formuar një formë si ombrellë.

Në mediumet e tilla gjysëm të ngurta, bakteret e lëvizshme vërshojnë dhe japin një rritje e cila vërehet lehtësisht me sy.

#### **3.6.4 Procedura e Motilitetit**

Në 250ml ujë të destiluar vendosen 7.5 gram pluhur motiliteti. Vendosen në përzierësin magnetik dhe ndahen në 5 ose 10ml në epruveta. Autoklavizohen në 121 °C për 15min.

Pas autoklavizimit merren mostrat e dyshuara për *Listeria monocytogenes* dhe me anë vendosen në epruvetë. Inkubohen në 25°C për 24 orë.

Pas inkubimit, tubat mbahen në dritë dhe shikohet vija e goditjes për të përcaktuar lëvizshmërinë.

- Bakteret jo lëvizëse në përgjithësi japin rritje që janë të kufizuara në vijën e goditjes, kanë kufinjë të përcaktuar qartë dhe e lënë mediumin përreth transparent.
- Bakteret e lëvizshme zakonisht japin rritje difuze, të mjegullta që përhapen në të gjithë mjedisin, duke e bërë atë më të turbullt.

*Listeria* është lëvizëse në 25°C, me karakteristikë të formimit të një ombrelle, si shenjë e motilitetit. Janë jo lëvizëse në temperaturën 35°C.

*Listeria monocytogenes* është aktivisht e lëvizshme me anë të flagelave peritrik në temperaturë të dhomës (20-25°C).



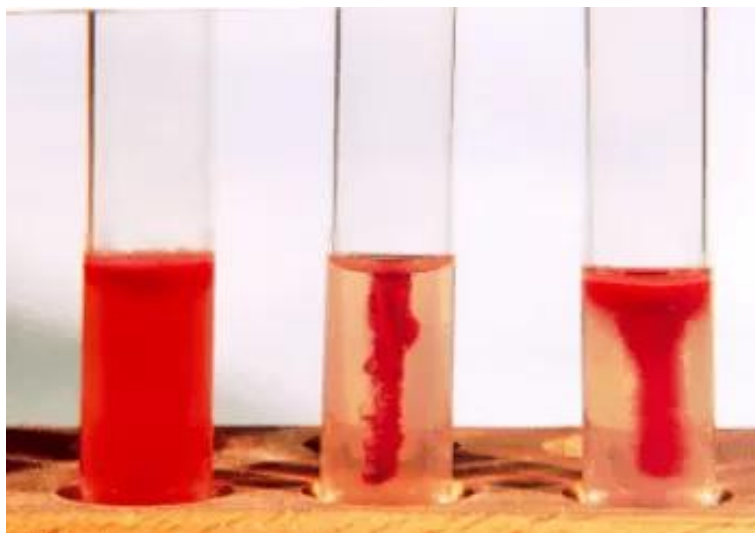


Figura 22: Organizmat motil do të migrojnë jashtë vijës së inokulimit, duke shkaktuar turbullira përgjatë gjithë tubit (tubat 1 dhe 3), ndërsa organizmat jo lëvizës do të rriten vetëm përgjatë vijës së inokulimit (tubi 2)



Figura 23: *Listeria monocytogenes* dhe motiliteti

### 3.6.5 Testi i katalazës

Ky test përdoret për të identifikuar organizmat që prodhojnë enzimën katalazë. Kjo enzimë detoksifikon peroksidin e hidrogjenit duke e kthyer në ujë dhe në oksigjen.



### 3.6.6 Procedura e testit të Katalazës

Në kushte plotësisht sterile në xhamin mikroskopik vendoset një pikë peroxydase hydrogen dhe me anë të anzës vendoset kolonia dyshuese. Nëse fluskon është pozitive.



Figura 24: Testi i katalazës

### 3.6.7 Test konfirmues

Një ndër testet e shpejta konfirmuese, e cila përdoret për detektimin e *Listeria monocytogenes*, është edhe vendosja e tubave të hollimit Fraser, pas shtrirjes në pllakat e Petrit, në temperaturat ftohëse në frigorifer. Tubat e tillë qëndrojnë për dy javë në ambientin e tillë dhe pas dy javëve shtrihen në Palcam dhe Oxford agaret, pasi që *Listeria monocytogenes* mund të mbijetojë temperaturat e tilla.

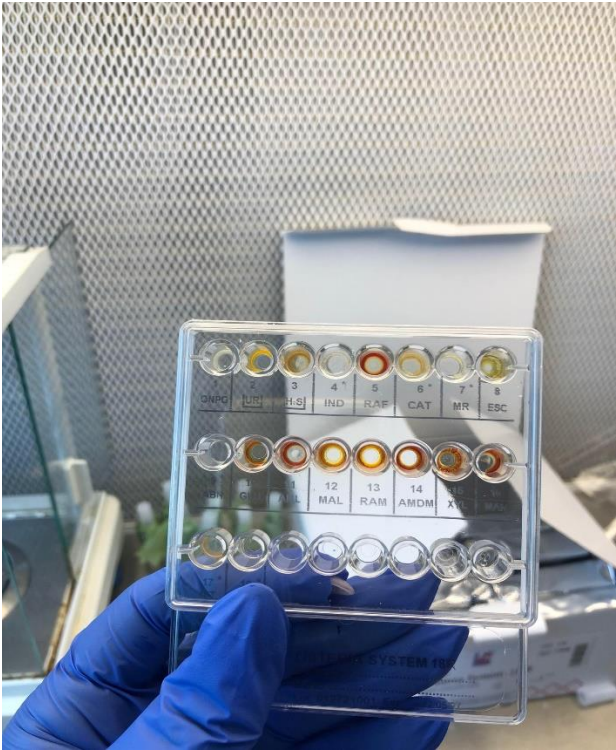
## 3.7 Listeria System 18R

Listeria System 18R është një panel me 18 fushëza që përmban substrate biokimike për identifikimin e specieve të *Listerias* të izoluar nga terrenet ushqyese selektive ose jo selektive. Paneli inokulohet me një tretësirë të *Listeria spp.* dhe inkubhet në 36 +/-1 °C për 18 deri 24 orë.

Lloji identifikohet përmes një kodifikimi numerik të marrë nga ndryshimi i ngjyrës së testeve biokimike në fushëzat e reagimit. Listeria System 18R lejon identifikimin e këtyre specieve për 18-24 orë:

- *Listeria monocytogenes*,
- *Listeria grayi subsp. grayi*,
- *Listeria grayi subsp. murrayi*,
- *Listeria seeligeri*,
- *Listeria ëelshimeri*,
- *Listeria ivanovii dhe*
- *Jonesia denitrificans*.

**3.7.1 Ecuria e punës me Listeria System 18R**



## Figura 25: Listeria System 18R

### 1. Përgatitja e tretësirës bakteriale

- Sigurohemi që pjesa e cila po testohet t'i takojë *Listerias*, duke u bazuar në morfologjinë dhe në testet paraprake të Gramit.
- Hapim një tretësirë fiziologjike, që gjendet në kit.
- Marrim 2-3 koloni të izoluara mirë dhe morfologjikisht të njëjta nga terrenet ushqyese për *Listerian*.
- Me kujdes vendosim koloninë bakteriale në tretësirën fiziologjike

### 2. Inokulimi i sistemit

- Marrim një sistem nga zarfi dhe e lëmë të ambientohet në temperaturën e dhomës.
- Vendosim një disk të ksilozës, në fushëzën 15-XYL.
- Shënojmë të dhënat e mostrës.
- Transferojmë 0.2ml (4 pika) nga tretësira bakteriale në secilën fushëz të sistemit.
- Në fushëzat 2-UR dhe 3-H<sub>2</sub>S, shtojmë 2 pika të vajit të vazelinës për përdorim mikrobiologjik.
- Mbyllim sistemin me kapakun dhe inkubojmë në 36 +/-1°C për 18-24 orë.

### 3. Pas inkubimit, vazhdojnë testet tjera.

- ABN testi
- Vendosim një disk të ABN, që gjendet në kit, në fushëzën 9-ABN dhe inkubojmë sistemin për 4 orë në 36 +/-1°C. pas 4 orëve shtojmë 2 pika të reagjentit ABN, që gjendet në kit dhe vërejmë prezencën ose mungesën e ngjyrës së verdhë. Prezenca e ngjyrës së verdhë (pozitiv) tregon për prezencën e *Listeria spp.*, por jo *Listeria monocytogenes*.  
Mungesa e ngjyrës së verdhë (negativ) tregon për prezencën e *Listeria monocytogenes*, por duhet të vazhdohet edhe me testet tjera për konfirmimin e prezencës së *Listeria monocytogenes*.

### 4. Testi i Indolit

- Shtojmë 3 pika të reagentit Kovac në fushëzën 4-IND, presim 1-2 minuta dhe vërejmë shfaqjen e një unaze me ngjyrë kuq-pink. (test pozitiv)

5. Testi i Katalazës

- Shtojmë 2 pika  $H_2O_2$ , në fushëzën 6-CAT, presim 1-2 minuta dhe vërejmë shfaqjen e fluskave. (test pozitiv)

6. Testi Methyl Red

- Shtojmë 2 pika të reagentit metil të kuq në fushëzën 7-MR, presim 1-2 minuta dhe vërejmë shfaqjen e ngjyrës së kuqe. (test pozitiv)

7. Testi i Nitratit

- Shtojmë 1 pikë acid sulfanilik dhe 1 pikë naftilamin në fushëzën 17-NIT, presim 1-2 minuta dhe vërejmë shfaqjen e ngjyrës së kuqe në të portokalltë. (test pozitiv)

8. Testi VP

- Shtojmë 2 pika alpha-naphtol dhe 1 pikë NaOH 40% në fushëzën 18-VP, presim 20 minuta dhe vërejmë shfaqjen e një unaze të kuqe në pink. (test pozitiv).

Fushëza	Identifikimi biokimik	Ngjyra e fushëzës	
		Positive	Negative
1-OPNG	Hidroliza OPNG	E verdhë	Pa ngjyrë
2-UR	Hidroliza e uresë	E vjollcë-pink-kuqe	E verdhë
3- $H_2S$	Prodhimi i hidrogjenit sulfurik	E zezë	E verdhë
4-IND	Prodhimi i indolit	Unazë pink	E verdhë

5-RAF	Fermentimi i rafinozës	E verdhë-e verdhë në ari	Portokalltë-kuqe
6-CAT	Prodhimi i katalazës	Prezenca e fluskave	Mungesa e fluskave
7-MR	Prodhimi i acidit organik	Pink-kuqe	E verdhë
8-ESC	Hidroliza e aeskulinës	E zezë	E verdhë
9-ABN	Hidroliza e amonoacil- $\beta$ -naftilamidit	E verdhë	Pa ngjyrë
10-GLU	Fermentimi i glukozës	E verdhë- e verdhë në ari	Portokalltë-kuqe
11-ARL	Fermentimi i arabitolit	E verdhë- e verdhë në ari	Portokalltë-kuqe
12-MAL	Fermentimi i maltozës	E verdhë- e verdhë në ari	Portokalltë-kuqe
13-RAM	Fermentimi i ramnozës	E verdhë- e verdhë në ari	Portokalltë-kuqe
14-AMDM	Fermentimi i $\alpha$ -metil-D-mannoside	E verdhë- e verdhë në ari	Portokalltë-kuqe
15-XYL	Fermentimi i ksilozës	E verdhë- e verdhë në ari	Portokalltë-kuqe
16-MAN	Fermentimi i manitolit	E verdhë- e verdhë në ari	Portokalltë-kuqe
17-NIT	Reduktimi i nitrateve dhe nitriteve	Portokalltë-kuqe	E verdhë
18-VP	Prodhimi i acetoine	Unazë pink	E verdhë

Tabela 1: Identifikimi i species së *Listerias*



Figura 26: Listeria System 18R

Sistemi	<i>Listeria Monocytogenes</i>
1-OPNG	-
2-UR	-
3-H2S	-
4-IND	-
5-RAF	-
6-CAT	+
7-MR	+
8-ESC	+
9-ABN	-



10-GLU	+
11-ARL	+
12-MAL	Varet +/-
13-RAM	Varet +/-
14-AMDM	+
15-XYL	-
16-MAN	-
17-NIT	-
18-VP	+

Tabela 2: Identifikimi i *Listeria monocytogenes*



Figura 27: Listeria System 18R

### 3.8 Ngrirja e izolateve

Një kulturë bakteriale në një tub të është në një mjedis të mbyllur. Megjithëse kultura mund të jetë e shëndetshme në fillim, duke marrë parasysh kohën, numri i qelizave të qëndrueshme do të ulët në zero. Qëllimi i ruajtjes së kulturave është ngadalësimi i shkallës së vdekshmërisë, në mënyrë që kur të rishikohet kultura, disa nga qelizat janë ende të disponueshme për kultivim. Arsyet pse qelizat vdesin mund të jenë të shumta, por në çdo rast bazohen në kiminë e qelizave dhe mjedisit të tyre.

Nëse reagimet kimike të dëmshme mund të ngadalësohen ose ndaloh~~en~~en, atëherë kultura e përgjithshme do të mbetet e zbatueshme për një kohë më të gjatë kohore.

Njëra ndër qasjet themelore për te ngadalësuar shkallën e reaksioneve të dëmshme në një kulturë bakteresh është ulja e temperaturës, e cila zvogëlon shpejtësinë e të gjitha reaksioneve kimike. Kjo mund të bëhet duke përdorur frigoriferë dhe ngrirës të thellë.

#### 3.8.1 Procedura e ngrirjes së izolateve

Në kushte sterile, merret 8ml nga uji i destiluar i autoklavizuar në 121°C për 15minuta dhe vendosen në një epruvetë. Në epruvetë shtohen edhe 2ml glicerol. Përzihen në vortex dhe vendosen në kriotuba nga 1.6ml. Në kushte sterile merret kolonia pozitive e *Listeria monocytogenes* dhe vendoset në kriotub. Në të vendoset kodi dhe futen në ngrirje të thellë për ruajtje.



Figura 28: Kriotub



Figura 29: Vendojsa e kolonive në kriotuba

## 4.REZULTATET

Në bazë të testeve Gram, motilitet, katalazë si dhe Listeria System 18R, nga gjithsej 52 mostra të analizuara të mishit të freskët, mishit minimalisht të procesuar, produkteve të mishit si suxhuk, proshutë, salam, vishlle etj., katër mostra kanë rezultuar të jenë pozitive me *Listeria monocytogenes*.

Mostra	Palcam		Oxford	
	Half Fraser (gram test, motiliteti, katalazë dhe Listeria System 18R)	Fraser (gram test, motiliteti, katalazë dhe Listeria System 18R)	Half Fraser (gram test, motiliteti, katalazë dhe Listeria System 18R)	Fraser (gram test, motiliteti, katalazë dhe Listeria System 18R)
1. MFH1	Negative	negative	<b>Pozitive</b>	Negative
2. MFZH1	Negative	Negative	Negative	Negative
3. QEFZH1	Negative	Negative	Negative	Negative
4. QFZH1	Negative	Negative	Negative	Negative
5. MFT1	Negative	Negative	Negative	Negative
6. MFB1	Negative	Negative	Negative	Negative
7. PFB1	Negative	Negative	Negative	Negative
8. QFB1	Negative	Negative	Negative	Negative
9. QEFB1	Negative	<b>Pozitive</b>	Negative	<b>Pozitive</b>
10. QK1	Negative	Negative	Negative	Negative
11. MFK1	<b>Pozitive</b>	Negative	Negative	Negative

12. QEK1	Negative	Negative	Negative	Negative
13. MFE1	Negative	Negative	Negative	Negative
14. QE1	Negative	Negative	Negative	Negative
15. QEE1	Negative	Negative	Negative	Negative
16. QEM1	Pozitive	Negative	Pozitive	Negative
17. MFM1	Negative	Negative	Negative	Negative
18. QG1	Negative	Negative	Negative	Negative
19. QSHG1	Negative	Negative	Negative	Negative
20. MFG1	Negative	Negative	Negative	Negative
21. MFGA1	Negative	Negative	Negative	Negative
22. QGA1	Negative	Negative	Negative	Negative
23. SUH1	Negative	Negative	Negative	Negative
24. SUZH1	Negative	Negative	Negative	Negative
25. SFB1	Negative	Negative	Negative	Negative
26. SK1	Negative	Negative	Negative	Negative
27. SSHE1	Negative	Negative	Negative	Negative
28. SIE1	Negative	Negative	Negative	Negative
29. SEP1	Negative	Negative	Negative	Negative
30. SM1	Negative	Negative	Negative	Negative
31. SGA1	Negative	Negative	Negative	Negative
32. SUASH1	Negative	Negative	Negative	Negative
33. SUAI1	Negative	Negative	Negative	Negative
34. SGI1	Negative	Negative	Negative	Negative
35. KP1	Negative	Negative	Negative	Negative
36. PZH1	Negative	Negative	Negative	Negative
37. PB1	Negative	Negative	Negative	Negative
38. PE1	Negative	Negative	Negative	Negative
39. PK1	Negative	Negative	Negative	Negative
40. PVM1	Negative	Negative	Negative	Negative
41. PVM2	Negative	Negative	Negative	Negative
42. PEP1	Negative	Negative	Negative	Negative

43. PEP2	Negative	Negative	Negative	Negative
44. PGAGJ1	Negative	Negative	Negative	Negative
45. VK1	Negative	Negative	Negative	Negative
46. FBV1	Negative	Negative	Negative	Negative
47. VE1	Negative	Negative	Negative	Negative
48. SGJM1	Negative	Negative	Negative	Negative
49. SPM1	Negative	Negative	Negative	Negative
50. VEP1	Negative	Negative	Negative	Negative
51. SEGJ1	Negative	Negative	Negative	Negative
52. SEP1	Negative	Negative	Negative	Negative

Tabela 3: Mostrat e testuara

Mostra	<i>Listeria monocytogenes</i>
1. MFH1	Pozitive
2. QEFB1	Pozitive
3. MFK1	Pozitive
4. QEM1	Pozitive

Tabela 4: Mostrat pozitive



Figura 30: *Listeria monocytogenes*

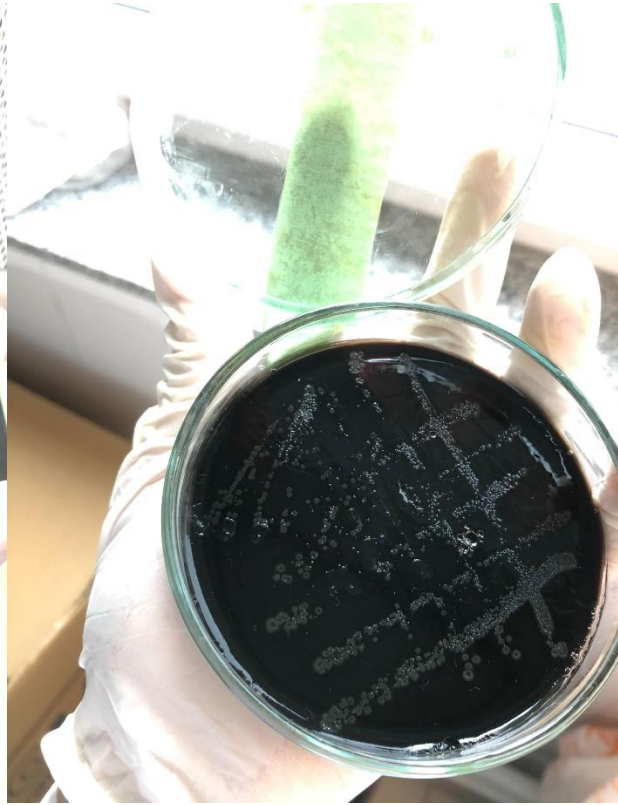


Figura 31: *Listeria monocytogenes*

## 5.DISKUTIMET

- Nga të gjitha mostrat pozitive, dy kanë qenë mish i freskët dhe dy kanë qenë produkt i mishit i përpunuar minimalisht.
- Deri te kontaminimi mund të vije nga mungesa e higjienës së punëtorëve apo nga mungesa e metodave të mirëfillta të pastrim dezinfektimit.
- Duhet të analizohen pikat kritike të kontaminimit të produktit.
- Pika kritike e kontaminimit të mostrave (mish i freskët) është manipulimi me mishin e freskët. vendosja në hapësira punuese të kontaminuara me *Listeria monocytogenes* dhe mungesa e higjienës së punëtorëve.
- Pika kritike e kontaminimit të mostrave (mish i përpunuar minimalisht) është përzierja e përbërësve të ndryshëm për të arritur produktin final, hapësirat punuese të kontaminuara si dhe mungesa e higjienës nga punëtorët.
- Hapat e parandalimit të *Listeria monocytogenes*, që duhet t'u kushtohet rëndësi janë:
- Parandalimi i krijimit dhe rritjes së *Listeria spp*, në mjedisin e përpunimit të ushqimit, veçanërisht në sipërfaqet e kontaktit me ushqim dhe sipërfaqeve pranë ushqimeve të ekspozuara.
- Zbatimi i një programi të mostrimit, për të vlerësuar nëse mjedisi i përpunimit është nën kontroll.
- Marrja e masave nëse rezultatet janë positive.
- Mostrim i mëtejshëm për të verifikuar që mjedisi pas pastrimit dhe kanalizimeve është nën kontroll.
- Rishikimi i rezultateve të përgjithshme çdo muaj për të zbuluar problemet dhe tendencat.
- Rishikimi i rezultateve të përgjithshme tremujore për të vlerësuar trendet më të gjëra dhe për të matur përparimin e përgjithshëm drejt përmirësimit të vazhdueshëm.
- *Listeria monocytogenes* është prezente në fabrikat e përpunimit të mishit në Kosovë.
- *Listeria monocytogenes* nga ambienti mund të transferohet në produktet e mishit.
- Vëmendje e madhe duhet t'i kushtohet pastrim-dezinfektimit. Nevoja për trajnime të stafit në lidhje me pastrim-dezinfektim.



- Disa nga produktet e mishit nuk mbulohen nga kriteret e higjienës në Kosovë, por ato duhet gjithsesi të testohen për *Listeria monocytogenes* dhe të konfirmohet mungesa e saj.
- Siguria ushqimore duhet të konfirmohet në secilin hap të zingjirit ushqimor, për të dhënë produkte të sigurta dhe të ruhet shëndeti i konsumatorit.
- Prej gjithsej 52 mostrave, 4 prej tyre janë konfirmuar si pozitive me *Listeria monocytogenes*, çka paraqet rrezik për shëndetin e konsumatorëve.
- Rregullorja (EC) Nr.2073/2005, e rishikuar nga Rregullorja (EC) Nr.1441/2007, nuk përcakton kufinj të prezencës së *Listeria monocytogenes* në mishin e freskët.
- Legjislacioni aktual dhe ai i BE-së (rregullorja 2073/2005) duhet zbatim edhe pse produktet e tilla në treg është vështirë të krahasohen me produkte brenda rregullores, por sido qoftë sistemet e kontrollit duhet të integrohen.
- Përqindja e rasteve që rezultojnë me vdekje nga *Listeria monocytogenes* është deri në 30%.
- Në Kosovë ende nuk ka raste të raportimit të Listeriozës dhe një rëndësi e tregojnë edhe investigimet e shpërthimeve duke krijuar edhe kushtet njëkohësisht për investigime të tilla.
- Përdorimi i dezinfektantëve dhe vendosja në vendet adekuate dhe monitorimi i tyre.
- Rëndësi dhe vëmendje mishit, respektimit të lëndës së parë, pasi që mund të vie lënda e parë e kontaminuar.
- Erëzat e ndryshme të përdorura në mish dhe të gjitha shtesat tjera mund të ndikojnë në kontaminim.
- Pastrim-dezinfektimi dhe monitorimi i tyre (P+D).
- Duhet të ketë një shënim rreth përmbajtjes së produkteve të mishit që duhet të implementohet nga prodhuesit.
- Fabrikat për përpunimin e mishit duhet të kenë sistemin HACCP, Praktikat e Mira të Higjienës dhe Praktikat e Mira të Përpunimit.
- Duhet të sigurohet se institucionet përkatëse e bëjnë kontrollin e vazhdueshëm në fabrikat e përpunimit të mishit, duke siguruar konsumatorët se fabrikat e tilla përmbushin kushtet për prodhim dhe gjasat janë minimale që produkti i dalur nga këto fabrika të jetë i kontaminuar.

## 6.KONKLUZIONET

- *Listeria monocytogenes* është një nga patogjenët kryesor të ushqimit në botë.
- Mishi dhe produktet e mishit janë ndër produktet më të përdorura.
- Kushtet e përpunimit, prodhimit apo ruajtjes nuk janë të duhurat.
- *Listeria monocytogenes* ishte i pranishëm në këto produkte.
- Mishi i freskët në 4 mostra ka rezultuar pozitiv me *Listeria monocytogenes*.
- Bazuar në rezultatet e fituara nga ky studim del se këto mishi i freskët dhe produktet e tij lënë akoma shumë për të dëshiruar në kuptimin e kushteve gjatë procesit të përpunimit, respektimin të kushteve higjieno-sanitare dhe respektimin e trajtimit termik si dhe kushtet e ruajtjes qoftë para ose pas prodhimit.

## 7.REFERENCAT

1. Saraiva, Garcia-Diez, Fontes, Esteve. 2018. *Modeling the behavior of Listeria Monocytogenes in Meat*
2. Jordan, Hunt, Lourenco, Pennone. 2018. *Listeria monocytogenes is the Food Processing Environment*
3. Afrim Hamidhi, 2020. *Teknologjia e prodhimeve të mishit*
4. Gerhard Feiner, 2016. *Salami: Practical Science and Processing Technology*
5. Jordan, Fox, Wagner. 2014. *Listeria monocytogenes: Methods and Protocols*
6. Adams, Moss, McClure. 2016. *Food Microbiology*
7. Gerhard Feiner, 2006. *Meat Products Handbook: Practical Science and Technology*
8. Matle, Mbatha, Madoroba, 2020. *A review of Listeria monocytogenes from meat and meat products: Epidemiology, virulence factors, antimicrobial resistance and diagnosis*
9. Ryser, Marth, 2007. *Listeria, Listeriosis and Food Safety*
10. Goldfine, Shen, 2007. *Listeria monocytogene: Pathogenesis and Host Response*
11. Bell, Kyriakides, 1998. *Listeria*
12. Brul, Gerwen, Marcel, 2007. *Modelling Microorganisms in Food*
13. Blumenberg, Shaaban, Elgaml, 2020. *Microorganisms*
14. Paudyal, Karatzas, 2016. *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods*
15. David Hopkins. *Meat Science*
16. Kniel, Montville, Matthews, 2021. *Food Microbiology*
17. Lelieveld, Holah, Napper, 2013. *Hygiene in Food Processing*
18. Pierce, Leboffe, 2002. *Microbiology: Laboratory Theory & Application*
19. Manning, 2018. *Food and Drink – good Manufacturing Practice*
20. Nevijo Zdolec, 2016. *Fermented Meat Products*

Website:

1. <https://safefood360.com/resources/Cleaning.pdf>
2. <https://www.fda.gov/animal-veterinary/animal-health-literacy/get-facts-about-listeria>
3. [https://microbeonline.com/tests-bacterial-motility-procedure-results/#google\\_vignette](https://microbeonline.com/tests-bacterial-motility-procedure-results/#google_vignette)

4. <https://www.liofilchem.com/featured-products/listeria-system-18r-2.html>
5. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S007963520380053X>
6. [https://www.biorad.com/sites/default/files/webroot/web/pdf/fsd/literature/Technical\\_Sheets/TS\\_Palcam%20Agar\\_V3\\_05-08-11.pdf](https://www.biorad.com/sites/default/files/webroot/web/pdf/fsd/literature/Technical_Sheets/TS_Palcam%20Agar_V3_05-08-11.pdf)
7. <https://www.britannica.com/topic/meat>
8. <https://www.mayoclinic.org/>
9. [https://ec.europa.eu/food/safety/biological-safety/food-hygiene/microbiological-criteria\\_en?wt-search=yes](https://ec.europa.eu/food/safety/biological-safety/food-hygiene/microbiological-criteria_en?wt-search=yes)