

**Magdalena Kroplewska, Zbigniew Paluszak,
Barbara Breza-Boruta, Agata Marosz**

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy
e-mail: magdalenakroplewska@wp.pl

ZDOLNOŚĆ *LISTERIA MONOCYTOGENES* DO PRZEŻYCIA W ZAKŁADZIE PRZETWÓRSTWA ŻYWNOŚCI

THE STUDY ON THE SURVIVAL SKILLS OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* INHABITING A FOOD PROCESSING PLANT

DOI: 10.15611/pn.2017.494.10
JEL Classification: Q18

Streszczenie: Badano zdolność adaptacji bakterii *Listeria* spp. do warunków panujących w zakładzie przetwórstwa spożywczego. Przedstawione w niniejszej pracy wyniki uzyskano dla próbek pobranych w hali konfekcjonowania produktu. Obecność lub brak gatunku *Listeria monocytogenes* w pobranych z linii technologicznej oraz jej otoczenia wymazach sprawdzano z użyciem metod klasycznych. Następnie wykryte w próbkach szczepy analizowano z wykorzystaniem metod molekularnych, ustalając stopień ich podobieństwa genetycznego. Obecność bakterii stwierdzono w kratkach ściekowych oraz na posadzce – przy wejściu i wyjściu. Surowiec nie ma kontaktu z tymi miejscami, ale wykrycie patogenu w próbkach z nich pobranych może świadczyć o bytowaniu *L. monocytogenes* również na linii technologicznej. Brak zachowania środków ostrożności może doprowadzić do rozprzestrzenienia bakterii z tych punktów do innych pomieszczeń w zakładzie, a w konsekwencji zwiększyć ryzyko skażenia surowca i produktu.

Słowa kluczowe: bezpieczeństwo żywności, *Listeria monocytogenes*, stres środowiskowy, zakład przetwórstwa żywności.

Summary: The survival and adaptation skills of *Listeria* spp. were evaluated in this study. Microbiological swabs taken from the elements of a processing line and its surroundings in the product packaging hall, were examined for the presence of *Listeria monocytogenes* with the use of traditional microbiological methods. Strains detected in samples gathered from the sampling points, were then analyzed to compare their genetic similarity by molecular biology methods. Most frequently it was found in sewage grate, floor – near the entrance and floor – near the exit. The raw material does not come in contact with aforementioned, but it indicates the presence of *Listeria* spp. on the other elements of a processing line. Improper or insufficient precautionary measures can result in transferring of this pathogen onto further areas of the food-processing plant and significantly increase the risk of final product contamination.

Keywords: food safety, *Listeria monocytogenes*, environmental stress, food processing plant.

1. Wstęp

Priorytetem dla producentów żywności jest zadbanie o jakość wytwarzanych produktów spożywczych. Bezpieczeństwo mikrobiologiczne na liniach technologicznych zakładu przetwórstwa może być zapewnione tylko wówczas, gdy zachowane zostaną odpowiednie standardy higieny opisane w Wytycznych Dobrej Praktyki Higienicznej i Produkcyjnej. Sposobem kontroli stanu sanitarnego hal produkcyjnych, a także jakości surowca, półproduktu i produktu gotowego jest prowadzenie badań monitorujących obecność drobnoustrojów wskaźnikowych, w tym bakterii chorobotwórczych, takich jak *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Escherichia coli* [Zhao i in. 2014; Simmons, Wiedmann 2017].

Gram-dodatnia pałeczka *Listeria monocytogenes* to mikroorganizm zdolny do przetrwania praktycznie w każdych warunkach: w podwyższonej bądź obniżonej temperaturze, szerokim zakresie pH, wysokim stężeniu soli, a także przy ograniczonym dostępie tlenu [Renier i in. 2013; Ruppitsch i in. 2015]. Odporność na zewnętrzne czynniki stresu (tj. gwałtowne zmiany temperatury, środki dezynfekcyjne, antybiotyki) wzmacniana jest dzięki tworzonemu przez nie biofilmowi. Ta warstwowa struktura biologiczna, w skład której, oprócz bakterii, wchodzi pozakomórkowe substancje polimeryczne (EPS), powoduje wyspecjalizowanie poszczególnych komórek, ułatwia ich wzrost i rozwój, jak również obniża wrażliwość na negatywne dla nich warunki środowiska [Jamal i in. 2015, Srey, Jahid, Ha 2013; Strużycka, Stępień 2009].

Uwzględniając powyższe cechy oraz wysoki potencjał chorobotwórczy – wynikający z obecności wielu genów warunkujących wirulencję, m.in. *hly*, *prfA*, *plcA*, *actA*, *inlB* – można stwierdzić, że *L. monocytogenes* stwarza ogromne zagrożenie dla zdrowia publicznego oraz powoduje straty ekonomiczne dla przedsiębiorstwa, w którym wykrywana jest jej obecność. Skażenie produktu często bowiem spowodowane jest przez jego kontakt z powierzchniami roboczymi, z których całkowite usunięcie *L. monocytogenes* było utrudnione [Portnoy i in. 1992; Kathariou 2002; Lelieveld, Holah, Napper (red.) 2014; Reij, den Aantrekker 2004].

Celem badania było wykrywanie obecności *L. monocytogenes* w zakładzie przetwórstwa żywności i ocena podobieństwa genetycznego izolatów. Badania tego rodzaju wykonywano w tym przedsiębiorstwie po raz pierwszy. Ich początkowy etap, opisany w niniejszej pracy, polegał na ustaleniu, czy chorobotwórcze bakterie występują w hali konfekcji, w której pracuje najwięcej zatrudnionych. Próbkę pobierano z miejsc niemających kontaktu z surowcem i produktem, w których warunki do rozwoju chorobotwórczej pałeczki należącej do *Listeria* spp. były najbardziej korzystne.

2. Materiał i metody

2.1. Materiał do badań, odczynniki i aparatura laboratoryjna

Badania monitorujące obecność *Listeria* spp. przeprowadzono od stycznia do listopada 2016 r. w jednym z zakładów przetwórstwa żywności znajdującym się na te-

renie północnej Polski. Materiałem były próby środowiskowe, pobierane w każdym miesiącu dwukrotnie z posadzki przy wejściu (22) i wyjściu (22), a także z kratki ściekowej (22) w hali konfekcjonowania produktu.

Do selektywnego wykrywania *L. monocytogenes* w próbach wykorzystano pożywki płynne pół-Frasera i Fraseira (Merck, Niemcy) oraz podłoże stałe według Ottaviani i Agosti (Merck, Niemcy). W bulionie mózgowo-sercowym (BTL sp. z o.o., Polska) namnażano bakterie przed izolowaniem DNA, które przeprowadzano z zastosowaniem zestawu Genomic Mini AX Bacteria Spin i zalecanego przez producenta protokołu (A&A Biotechnology, Polska). Łańcuchową reakcją polimerazy (PCR) oraz losową amplifikacją polimorficznych fragmentów DNA (RAPD) wykonano z użyciem:

- polimerazy z buforem (Thermo Fisher Scientific, USA),
- $MgCl_2$ (Thermo Fisher Scientific, USA),
- mieszaniny deoksyrybonukleotydów (A&A Biotechnology, Polska),
- starterów reakcyjnych (Sigma-Aldrich, USA),
- wody wolnej od nukleaz (BioShop, Kanada).

Składnikami buforu elektroforetycznego były: kwas borowy (BioShop, Kanada), kwas wersenowy (BioShop, Kanada) oraz tri(hydroksymetylo)aminometan (BioShop, Kanada). Żele przygotowywano samodzielnie w zestawie do wylewania żelu (Bio-Rad, USA) i zestalano za pomocą agarozy (ABO, Polska). Jako barwnik interkalujący w DNA zastosowano Midori Green Advance (NIPPON Genetics, Japonia), do zatrzymywania próbek w studzienkach żelu wykorzystano obciążacz DNA Gel Loading Dye (6X) (Thermo Fisher Scientific, USA), a ustalenia wielkości prążków – marker wielkości DNA 50-1000 pz (A&A Biotechnology, Polska).

PCR oraz RAPD przeprowadzono w termocyklerze MJ Mini (Bio-Rad, USA). Elektroforezę w stałym polu elektrycznym wykonywano w zestawie Wide Mini-Sub Cell GT Cell podłączonym do zasilacza PowerPac™ Basic (Bio-Rad, USA). Amplikony rozdzielone w żelu uwidoczniano w świetle UV z użyciem zestawu GelDoc™ XR+ z oprogramowaniem Image Lab™ (Bio-Rad, USA).

2.2. Metody badawcze

Próbki do badań pobierano metodą wymazu zgodnie z normą PN-EN ISO 18593:2005. Wstępną identyfikację wykonywano klasycznymi metodami mikrobiologicznymi w oparciu o normę PN-EN ISO 11290-1:2017-07.

Kolonie uznane za *L. monocytogenes*, wyrosłe na pożywce ALOA, przesiewano do płynnego podłoża BHI, po czym inkubowano przez 18 godzin w temperaturze 37°C celem namnożenia materiału. Następnie izolowano bakteryjne DNA. Przynależność gatunkową wykrytych szczepów potwierdzano, wykorzystując metodę PCR opisaną uprzednio przez Brezę-Borutę i in. [Breza-Boruta, Szala, Kroplewska 2016]. Użyte startery reakcyjne umożliwiały amplifikację fragmentów DNA charakterystycznych dla gatunku *L. monocytogenes*.

Stopień podobieństwa genetycznego izolatów potwierdzonych jako *L. monocytogenes* ustalano na podstawie wyników losowej amplifikacji polimorficznych fragmentów DNA (RAPD). Skład mieszaniny reakcyjnej podano w tab. 1.

Tabela 1. Skład mieszaniny reakcyjnej w przeliczeniu na jedną próbkę poddaną RAPD ($v = 25 \mu\text{l}$)

Składnik (stężenie początkowe)	Objętość (μl)
polimeraza (5 U)	0,5
bufor do polimerazy (10x; zawierający 20 mM MgCl_2)	2,5
MgCl_2 (25 mM)	1,0
dNTPs (10 mM)	0,5
starter HLWL-74: 5'-ACGTATCTGC-3' (10 μM)	5,0
woda wolna od nukleaz	12,5
bakteryjne DNA	3,0

Źródło: na podstawie [Atil, Ertas, Ozbey 2011].

RAPD przebiegała w warunkach zaproponowanych przez Atila i in. [Atil, Ertas, Ozbey 2011]: 4' 94°C, 45'' 39°C, 1' 72°C, 43× (15'' 94°C, 45'' 39°C, 1' 72°C), 15'' 94 °C, 45'' 39°C, 10' 72°C. Następnie 6 μl roztworu po RAPD zmieszanego z 4 μl obciążacza nanoszono do studzienek 2-procentowego żelu agarozowego zawierającego dodatek barwnika interkalującego DNA. Uzyskane w wyniku RAPD produkty rozdzielano pod napięciem 85 V przez 2 godziny.

2.3. Statystyczne opracowanie wyników

Do sporządzenia diagramu podobieństwa szczepów na podstawie rezultatów RAPD wykorzystano program Statistica PL 12.0 (StatSoft, Polska). Metoda średnich połączeń (UPGMA, *unweighted pair-group method using arithmetic averages*) użyta do tego celu polega na obliczeniu odległości między dwoma skupieniami jako średniej odległości między wszystkimi parami obiektów należącymi do różnych skupień. Miarą odległości wiązania była wartość $1 - r$ Pearsona, gdzie r to współczynnik korelacji. Gdy $r = 1$, oznacza to, że zmienne są wysoce skorelowane, jeśli zaś $r = 0$ – wówczas brak jest korelacji pomiędzy nimi [<https://www.statsoft.pl>].

3. Wyniki i dyskusja

W tab. 2 zestawiono wyniki dotyczące częstotliwości występowania *L. monocytogenes* w punktach pobierania prób. Łącznie bakterie wykryto w 39 próbkach, co stanowiło 59,09% pobranych. Najczęściej, bo aż 16-krotnie, szczepy chorobotwórcze izolowano z kratki ściekowej w hali konfekcji. Patogenne pałeczki obecne były także w dwóch punktach pomiarowych – na posadzce przy wejściu i wyjściu z hali,

odpowiednio 9- i 14-krotnie. Taka częstotliwość świadczy o trudności usunięcia *L. monocytogenes*, wynikającej ze zdolności bakterii do adaptacji do niekorzystnych warunków środowiskowych. Wzrost oporności pałeczek na stosowane w zakładzie środki dezynfekcyjne może być skutkiem wytwarzanego przez nie biofilmu, stanowiącego barierę ochronną przed czynnikami zewnętrznymi oraz źródło składników odżywczych [Srey, Jahid, Ha 2013]. W kratkach ściekowych panują warunki korzystne do rozwoju zagregowanych w biofilmie kolonii *L. monocytogenes*.

Tabela 2. Częstotliwość występowania *L. monocytogenes* w punktach pobrania prób w hali konfekcjonowania produktu w 2016 r.

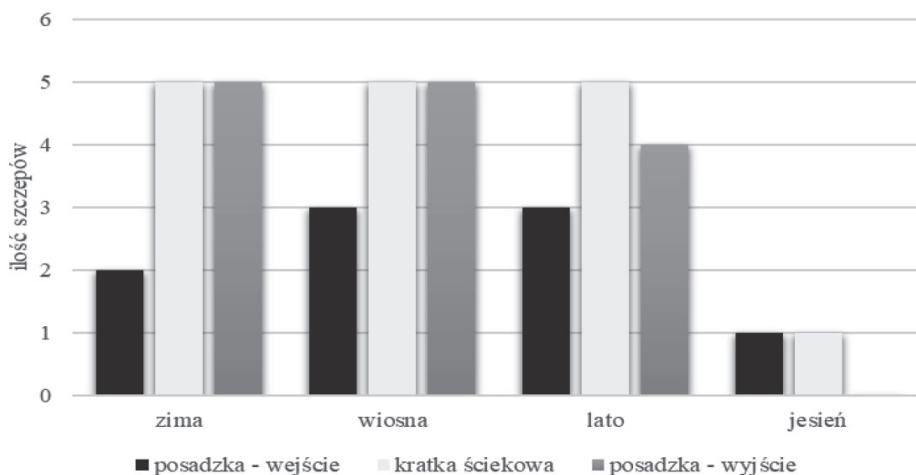
Termin pobrania	Punkt pobrania próbki*			Termin pobrania	Punkt pobrania próbki*				
	posadzka – wejście	kratka ściekowa	posadzka – wyjście		posadzka – wejście	kratka ściekowa	posadzka – wyjście		
ZIMA	1	0	1	0	LATO	12	0	1	1
	2	0	1	1		13	1	1	1
	3	1	1	1		14	0	0	0
	4	0	1	1		15	1	1	0
	5	0	0	1		16	0	1	1
	6	1	1	1		17	1	1	0
WIOSNA	7	1	1	1	18	0	0	1	
	8	0	1	1	19	0	0	0	
	9	1	1	1	20	0	0	0	
	10	1	1	1	21	0	0	0	
	11	0	1	1	22	1	1	0	

* 1 – *L. monocytogenes* obecne, 0 – *L. monocytogenes* nieobecne.

Źródło: materiały autorskie.

Biorąc pod uwagę zmiany pór roku, nie zaobserwowano różnicy w występowaniu *L. monocytogenes* zimą, wiosną i latem (rys. 1). W tych sezonach wykryto kolejno 12, 13 oraz 12 szczepów. Jedynie jesienią ich liczba spadła do 2, co mogło być związane ze zmniejszeniem produkcji, a tym samym ograniczeniem liczby zatrudnionych pracujących na hali. Wprowadzenie nowych procedur dezynfekcyjnych mogło mieć również wpływ na zredukowanie obecności bakterii w zakładzie.

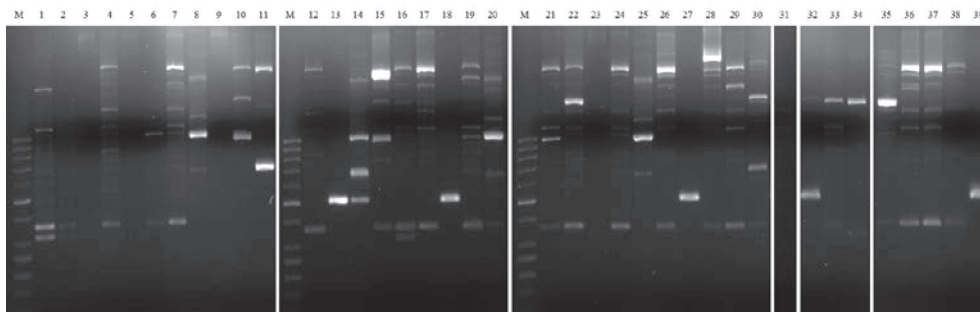
Szczepy wykryto w punktach, które nie miały bezpośredniego kontaktu z surowcem czy gotowym produktem. Uwzględniając przemieszczanie się pracowników pomiędzy stanowiskami roboczymi, można stwierdzić, że obecność bakterii w tych miejscach wpływa na zwiększenie ryzyka ich rozprzestrzenienia się na terenie zakładu i możliwość wtórnego zakażenia półproduktu. Sugeruje to także występowanie pałeczek w innych miejscach, w tym na liniach technologicznych.



Rys. 1. Występowanie *L. monocytogenes* w punktach pomiarowych w hali konfekcjonowania produktu w poszczególnych porach roku

Źródło: opracowanie własne.

Pozyskane w toku badań izolaty umożliwiły potwierdzenie hipotezy o uporczywości *L. monocytogenes*. Na rys. 2 przedstawiono 32 specyficzne profile RAPD uzyskane dla 35 spośród 39 szczepów. Dla 4 próbek otrzymanie charakterystycznego wzoru w żelu nie było możliwe. Mogło to wynikać przypuszczalnie ze zbyt małej ilości DNA poddanego reakcji bądź z degradacji próbek.

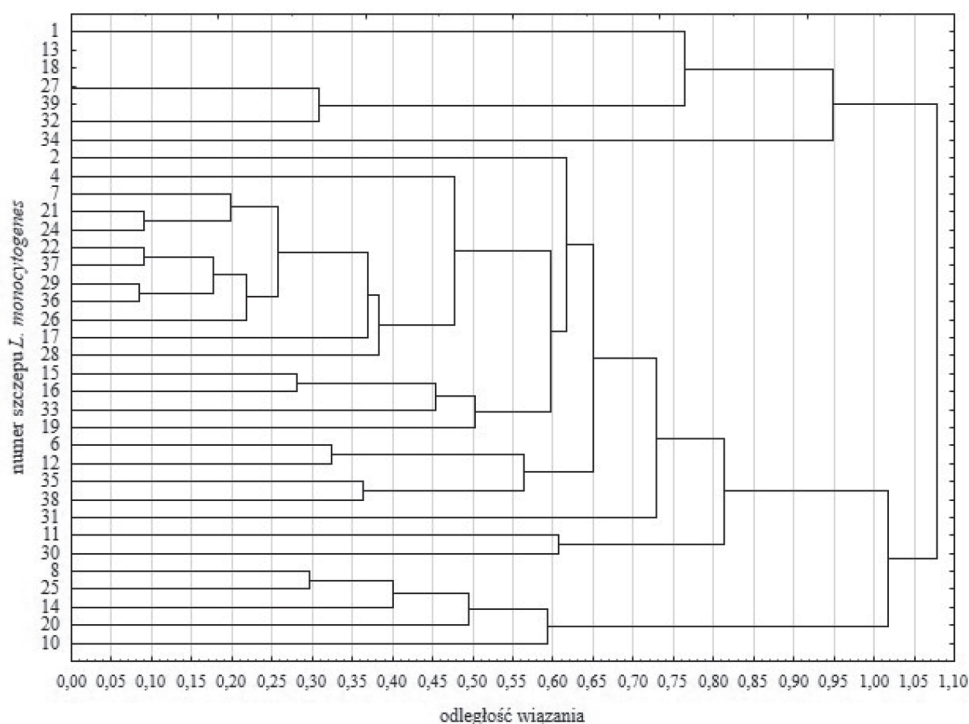


M – marker wielkości DNA (50-1000 pz). Na ścieżkach: 1, 2, 5, 7, 11, 14, 16, 19, 22, 24, 26, 29, 32, 33, 36, 39 – izolaty pochodzące z kratki ściekowej (serie: 1-4, 6-13, 15-17, 22), ścieżki: 3, 6, 8, 9, 12, 15, 17, 20, 23, 25, 27, 30, 34, 37 – szczepy wykryte na posadźce przy wyjściu z hali (serie: 2-13, 16, 18), zaś ścieżki: 4, 10, 13, 18, 21, 28, 31, 35, 38 – z posadźki przy wejściu do hali (serie: 3, 6, 7, 9, 10, 13, 15, 17, 22)

Rys. 2. Profile RAPD wykrytych szczepów *L. monocytogenes*

Źródło: opracowanie własne.

Stopień podobieństwa wykrytych *L. monocytogenes* oceniono, porównując liczbę i wielkość produktów RAPD uwidocznionych za pomocą UV w żelu agarozowym. Powstały na tej podstawie dendrogram został zaprezentowany na rys. 3.



Szczepy pochodzące z kratki ściekowej (serie: 1, 2, 4, 6-13, 15-17, 22) oznaczono numerami: 1, 2, 7, 11, 14, 16, 19, 22, 24, 26, 29, 32, 33, 36, 39; izolaty wykryte na posadzce przy wejściu do hali (serie: 3, 6, 7, 9, 10, 13, 15, 17, 22) to numery: 4, 10, 13, 18, 21, 28, 31, 35, 38; natomiast na posadzce przy wyjściu z hali (serie: 3, 4, 6-9, 11-13, 16, 18) – 6, 8, 12, 15, 17, 20, 25, 27, 30, 34, 37.

Rys. 3. Dendrogram podobieństwa szczepów *L. monocytogenes* (UPGMA, $1 - r$ Pearsona)

Źródło: opracowanie własne.

Diagram podobieństwa umożliwił wyróżnienie trzech grup (skupień). W pierwszej z nich znalazły się szczepy oznaczone jako: 8, 10, 14, 20, 25. Ich podobieństwo nie przekroczyło zakresu 40,5-70,5%. Do drugiej grupy – najbardziej zróżnicowanej (19,0-88,5%) – należały izolaty: 2, 4, 6, 7, 11, 12, 15, 16, 17, 19, 21, 22, 24, 26, 28, 29, 30, 31, 33, 35, 36, 37, 38. Szczepy: 1, 13, 18, 27, 32, 34, 39 wchodziły w skład trzeciego skupienia. Charakteryzowało się ono wysokim pokrewieństwem 69-100% dla 13, 18, 27, 32 oraz 39. Wyjątkiem w tej grupie były dwa izolaty, tj. 1 i 34 – podobne do pozostałych, odpowiednio w 23% i 5%. Co istotne, szczepy 13, 18, 27 oraz 39 okazały się identyczne. Fakt ten świadczy o tym, że *L. monocytogenes* może po-

zostać w środowisku mimo regularnie wykonywanej dezynfekcji, dwa szczepy (13 i 18) bowiem wykryto w odstępie 35 dni w tym samym miejscu: na posadzce, przy wyjściu z hali konfekcji. Uzyskane wyniki wskazują, że w sprzyjających warunkach bakteria ta może z łatwością się rozprzestrzeniać. Zostało to potwierdzone przez zidentyfikowanie szczepu 27 w drugim punkcie pomiarowym (kratka ściekowa w hali konfekcji) po 85 dniach, a także szczepu 39 na posadzce przy wejściu na halę konfekcji – po upływie 230 dni.

Wyniki uzyskane na podstawie przeprowadzonych badań są zgodne z doniesieniami opublikowanymi przez takich autorów, jak Simmons i Wiedmann [2017]. Stwierdzili oni, że obecność *L. monocytogenes* na kratkach ściekowych może być jedną z głównych przyczyn wtórnego skażenia surowca oraz produktu. Swoimi badaniami potwierdzają to także Dzieciol i in. [2016], którzy jednocześnie zwracają uwagę na wpływ biofilmu na wzrost oporności bakterii na stres środowiskowy. Podobne tendencje w braku wrażliwości pałeczek *L. monocytogenes* na zastosowane środki antybakteryjne odnotowali również Reij i den Aantrekker [2004]. W swojej pracy autorzy podkreślają ponadto, jak duże znaczenie ma zachowanie odpowiednich standardów bezpieczeństwa i higieny, w tym konieczność dokładnej i systematycznej dezynfekcji.

4. Podsumowanie

L. monocytogenes wykryto na posadzce przy wejściu i wyjściu oraz kratce ściekowej w hali konfekcji. Szczepy te, mimo że nie miały bezpośredniego kontaktu z przetwarzanym surowcem, mogą stanowić źródło rozprzestrzenienia się na terenie zakładu i możliwość wtórnego zakażenia półproduktu i produktu gotowego. Jest to sytuacja niekorzystna zarówno dla pracowników, jak i dla konsumentów, ponieważ zwiększa ryzyko zachorowania.

Uzyskane wyniki świadczą o możliwościach przetrwania patogenicznych bakterii *L. monocytogenes* w środowisku produkcyjnym zakładu przetwórstwa spożywczego. Ponadto otrzymane po RAPD profile szczepów potwierdzają bliskie genetyczne podobieństwo, a w przypadku 4 próbek – nawet ich identyczność. Zwraca to uwagę na łatwość, z jaką szczepy te mogą zostać przeniesione z jednego miejsca do drugiego. Obliguje również do prowadzenia stałej kontroli obecności patogenu i podjęcia działań mających na celu jego eradykację z obszaru produkcji.

Literatura

- Atil E., Ertas H.B., Ozbey G., 2011, *Isolation and molecular characterization of Listeria spp. from animals, food and environmental samples*, Veterinarni Medicina, vol. 56, no. 8, s. 386-394.
- Breza-Boruta B., Szala B., Kroplewska M., 2016, *Powietrze na liniach produkcyjnych zakładu mięsnego jako źródło zanieczyszczenia mikrobiologicznego*, Prace Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu, nr 461, s. 42-54.

- Dzieciol M., Schornsteiner E., Muhterem-Uyar M., Stessl B., Wagner M., Schmitz-Esser S., 2016, *Bacterial diversity of floor drain biofilms and drain waters in a Listeria monocytogenes contaminated food processing environment*, International Journal of Food Microbiology, vol. 223, s. 33-40.
<https://www.statsoft.pl/textbook/> (dostęp: 19.08.2017).
- Jamal M., Tasneem U., Hussain T., Andleeb S., 2015, *Bacterial biofilm: Its composition, formation and role in human infections*, Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology, vol. 4, s. 1-14.
- Kathariou S., 2002, *Listeria monocytogenes virulence and pathogenicity, a food safety perspective*, Journal of Food Protection, vol. 65, no. 11, s. 1811-1829.
- Lelieveld H.L.M., Holah J.T., Napper D. (red.), 2014, *Hygiene in Food Processing: Principles and Practice*, Woodhead Publishing Limited.
- PN-EN ISO 11290-1:2017-07, *Mikrobiologia łańcucha żywnościowego – Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby Listeria monocytogenes i innych Listeria spp. Część 1: Metoda wykrywania*.
- PN-EN ISO 18593:2005, *Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalne metody pobierania próbek z powierzchni z użyciem płytek kontaktowych i wymazów*.
- Portnoy D.A., Chakraborty T., Goebel W., Cossart P., 1992, *Molecular determinants of Listeria monocytogenes pathogenesis*, Infection and Immunity, vol. 60, no. 4, s. 1263-1267.
- Reij M.W., den Aantrekker E.D., 2004, *Recontamination as a source of pathogens in processed foods*, International Journal of Food Microbiology, vol. 91, s. 1-11.
- Renier S., Chagnot C., Deschamps J., Caccia N., Szlavik J., Joyce S.A., Popowska M., Hill C., Knöchel S., Briandet R., Hébraud M., Desvaux M., 2013, *Inactivation of the SecA2 protein export pathway in Listeria monocytogenes promotes cell aggregation, impacts biofilm architecture and induces biofilm formation in environmental condition*, Environmental Microbiology, s. 1-17.
- Ruppitsch W., Pietzka A., Prior K., Bletz S., Fernandez H.L., Allerberger F., Harmsen D., Mellmann A., 2015, *Defining and evaluating a core genome multilocus sequence typing scheme for whole-genome sequence-based typing of Listeria monocytogenes*, Journal of Clinical Microbiology, vol. 53, no. 9, s. 2869-2876.
- Simmons C.K., Wiedmann M., 2017, *Identification and classification of sampling sites for pathogen environmental monitoring programs for Listeria monocytogenes: Results from an expert elicitation*, Food Microbiology,
- Srey S., Jahid I.K., Ha S.D., 2013, *Biofilm formation in food industries: A food safety concern*, Food Control, 31, s. 572-585.
- Strużycka I., Stępień I., 2009, *Biofilm – nowy sposób rozumienia mikrobiologii*, Nowa Stomatologia, vol. 3, s. 85-89.
- Zhao X., Lin C.W., Wang J., Oh D.H., 2014, *Advances in rapid detection methods for foodborne pathogens*, Journal of Microbiology and Biotechnology, vol. 24, no. 3, s. 297-312.