



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ – ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Σωτήριος – Απόλλων Καλοζούμης

«Μετα-ανάλυση μελετών για την ανίχνευση *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp στις εγκαταστάσεις ιχθυηρών»

ΒΟΛΟΣ, 2024

**«Μετα-ανάλυση μελετών για την ανίχνευση *Listeria monocytogenes*
και *Vibrio* spp στις εγκαταστάσεις ιχθυηρών»**

**«Meta-analysis of studies on the detection of *Listeria monocytogenes*
and *Vibrio* spp in fish facilities»**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

- 1) Ιωάννης Σ. Μποζιάρης**, Καθηγητής, Υγιεινή και Συντήρηση Ιχθυηρών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Επιβλέπων***.
- 2) Ελένη Γκολομάζου**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Προστασία - Ευζωία Ιχθύων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας - ***Μέλος***
- 3) Φωτεινή Φ. Παρλαπάνη**, Επίκουρος Καθηγήτρια, Μοριακή Μικροβιολογία και Ποιότητα Αλιευτικών Προϊόντων – Τροφίμων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες για την εξαιρετική ευκαιρία που μου προσφέρατε να εκπονήσω αυτή τη μεταπτυχιακή εργασία. Θέλω ιδιαίτερος να ευχαριστήσω την κα Φωτεινή Παρλαπάνη για την πολύτιμη καθοδήγηση, την υποστήριξη και τη συνεργασία, τόσο κατά τη συλλογή ερευνητικών δεδομένων όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας μεταπτυχιακής, καθώς και τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου κ. Ιωάννη Μποζιάρη και κα. Ελένη Γκολομάζου που συνέβαλαν ουσιαστικά στην επιτυχή ολοκλήρωση αυτής της ερευνητικής διαδικασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή Στατιστικής και ερευνητή Χατζόπουλο Δημήτριο για την πολύτιμη βοήθεια που μου παρείχε στην ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής εργασίας, όσον αφορά την επεξεργασία των δεδομένων.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη προς την αγαπημένη μου οικογένεια για τη συνεχή στήριξη και ενθάρρυνση ώστε να εκπληρώσω αυτό το μεταπτυχιακό.

Περίληψη

Η *Listeria monocytogenes* και το *Vibrio* spp. είναι σημαντικά τροφιμογενή ενδοκυτταρικά παθογόνα βακτήρια. Τα παθογόνα αυτά βακτήρια είναι η κύρια αιτία της ανάπτυξης σοβαρών ασθενειών που μπορεί να θέσουν σε κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία. Η κύρια πηγή των ανθρώπινων ασθενειών από αυτά τα παθογόνα είναι η κατανάλωση μολυσμένων προϊόντων διατροφής. Οι ασθένειες αυτές συχνά εμφανίζονται σε ήπια μορφή, αλλά μπορεί να εμφανιστούν σοβαρά και θανατηφόρα περιστατικά, καθώς και εστίες. Παρά αυτές τις προκλήσεις, έχει γίνει ελάχιστη προσπάθεια απαρίθμησης της επιβάρυνσης των παθογόνων αυτών βακτηρίων σε εγκαταστάσεις εκτροφής και παραγωγής ιχθυηρών και των προϊόντων τους σε παγκόσμια κλίμακα. Έτσι, αυτή η μελέτη διερεύνησε τις μελέτες για την ανίχνευση *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp στις εγκαταστάσεις ιχθυηρών μέσω μιας συστηματικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης της υπάρχουσας βιβλιογραφίας. Πραγματοποιήθηκε συστηματική αναζήτηση ηλεκτρονικών βάσεων δεδομένων για σχετικές παραπομπές όπως PubMed, Scopus και Google Scholar. Δόθηκε έμφαση στις περιοχές (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια, Μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων) και τις πηγές (μαχαίρια- εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικοί πάγκοι, συσκευασίες, στολές – ενδυμασίες, ψυγεία) που ανιχνεύθηκαν τα παθογόνα βακτήρια *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp. στις εγκαταστάσεις εκτροφής και επεξεργασίας ιχθυηρών. Οι αναγνωρισμένες δημοσιεύσεις εξετάστηκαν και πάνω από 60 μελέτες συμπεριλήφθηκαν στην ανασκόπηση από όπου εξήχθησαν τα δεδομένα. Σχετικά με τις περιοχές ανίχνευσης των παθογόνων, η συνολική εκτίμηση του μεγέθους της επίδρασης (effect size) για το *L. monocytogenes* στις περιοχές που ανιχνεύθηκε όπως συσκευαστήρια, καπνιστήρια, και μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων ήταν

1,336 (95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI]: 0,074–2,594). Για τον έλεγχο της ετερογένειας, υπολογίστηκαν τα ακόλουθα στατιστικά στοιχεία: Τιμή Cochran Q ($Q=2415,5$), $p < 0,001$ και $I^2 = 99,7\%$. Η συνολική εκτίμηση του μεγέθους της επίδρασης (effect size) για το *Vibrio spp.* στις περιοχές που ανιχνεύθηκε όπως συσκευαστήρια, καπνιστήρια, και μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων ήταν 1,590 (95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI]: 0,366–2,814). Για τον έλεγχο της ετερογένειας, υπολογίστηκαν τα ακόλουθα στατιστικά στοιχεία: Τιμή Cochran Q ($Q=474.8$), $p < 0,001$ και $I^2 = 98,1\%$.

Όσον αφορά τις πηγές ανίχνευσης των παθογόνων, η συνολική εκτίμηση του μεγέθους της επίδρασης (effect size) για το *L. monocytogenes* στις περιοχές που ανιχνεύθηκε όπως μαχαίρια- εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικοί πάγκοι, συσκευασίες, στολές – ενδυμασίες, ψυγεία στις μονάδες εκτροφής και παραγωγής ήταν -0,483 (95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI]: -1,393–0,426). Για τον έλεγχο της ετερογένειας, υπολογίστηκαν τα ακόλουθα στατιστικά στοιχεία: Τιμή Cochran Q ($Q=16932.6$), $p < 0,001$ και $I^2 = 99,9\%$. Ο αριθμός των μελετών για το *Vibrio spp.* ήταν περιορισμένος για τις πηγές που ανιχνεύτηκε και δε μπορούσε να πραγματοποιηθεί περαιτέρω μετα-ανάλυση εκτός από τη συστηματική ανασκόπηση που έχει ήδη πραγματοποιηθεί.

Σχετικά με τις χώρες ανίχνευσης με επίκεντρο την Ευρώπη, η συνολική εκτίμηση του μεγέθους της επίδρασης (effect size) για το *L. monocytogenes* στις Ευρωπαϊκές χώρες που ανιχνεύθηκε όπως Ισπανία, Δανία, Πολωνία, Ισλανδία και Ελλάδα ήταν 1.122 (95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI]: 0.478–1.767). Για τον έλεγχο της ετερογένειας, υπολογίστηκαν τα ακόλουθα στατιστικά στοιχεία: Τιμή Cochran Q ($Q=17.37$), $p < 0,001$ και $I^2 = 76.9\%$.

Η γνώση του υψηλού φορτίου των παθογόνων βακτηρίων *L. monocytogenes* και *Vibrio spp.* σε εγκαταστάσεις εκτροφής και παραγωγής ιχθυηρών και των προϊόντων τους είναι σημαντική για τη λήψη τεκμηριωμένων αποφάσεων από τους κλινικούς ιατρούς, τους επαγγελματίες της δημόσιας υγείας και τους υπεύθυνους χάραξης πολιτικής.

Λέξεις-κλειδιά: Μετα-ανάλυση, συστηματική ανασκόπηση, *L. monocytogenes*, *Vibrio spp.*, εγκαταστάσεις εκτροφής και παραγωγής ιχθυηρών, περιοχές ανίχνευσης (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια, Μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων), πηγές ανίχνευσης (μαχαίρια- εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικοί πάγκοι, συσκευασίες, ψυγεία)

Περιεχόμενα

Κατάλογος Εικόνων.....	10
Κατάλογος Πινάκων.....	11
1. Εισαγωγή.....	13
1.1 Γενικά.....	13
1.2 Επιδημιολογικά δεδομένα.....	16
1.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	19
1.4 <i>Vibrio</i> spp. σε υδάτινα περιβάλλοντα και ψάρια.....	23
1.5 Σκοπός της μελέτης.....	26
2. Υλικά και Μέθοδοι.....	27
2.1 Συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση.....	27
2.2 Στατιστική επεξεργασία / Μετα-ανάλυση.....	28
3. Αποτελέσματα.....	29
3.1 Συστηματική ανασκόπηση για περιοχές που ανιχνεύθηκαν τα <i>Listeria monocytogenes</i> και <i>Vibrio</i> spp	29
3.1.1 Μετα-ανάλυση για τη συγκέντρωση του συνολικού φορτίου του <i>L. monocytogenes</i> στις περιοχές που ανιχνεύθηκε	44
3.1.2 Μετα-ανάλυση για τη συγκέντρωση του συνολικού φορτίου του <i>Vibrio</i> spp. στις περιοχές που ανιχνεύθηκε	46
3.2 Συστηματική ανασκόπηση για τις πηγές που ανιχνεύθηκαν τα <i>Listeria monocytogenes</i> και <i>Vibrio</i> spp	48
3.2.1 Μετα-ανάλυση για τη συγκέντρωση του συνολικού φορτίου του <i>L. monocytogenes</i> στις πηγές που ανιχνεύθηκε	61

3.3 Χώρες που ανιχνεύθηκαν τα <i>Listeria monocytogenes</i> και <i>Vibrio</i> spp (Μόνο Ευρώπη)	63
4 Συζήτηση	66
5 Συμπεράσματα.....	70
Βιβλιογραφία.....	72
Abstract.....	81

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1: <i>Listeria monocytogenes</i>	14
Εικόνα 2: <i>Vibrio</i> spp.....	17

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1: Πηγές προέλευσης και συχνότητα εμφάνισης *Listeria monocytogenes*....30

Πίνακας 2: Πηγές προέλευσης και συχνότητα εμφάνισης *Vibrio* spp.....31

Πίνακας 3: Μελέτες σχετικά με τις περιοχές που ανιχνεύθηκαν τα *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια, Μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων).....41

Πίνακας 4: Forest plot μετα-ανάλυσης του *L. monocytogenes* σχετικά με τις περιοχές που ανιχνεύθηκε (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια, Μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων).....45

Πίνακας 5: Forest plot μετα-ανάλυσης του *Vibrio* spp. σχετικά με τις περιοχές που ανιχνεύθηκε (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια, Μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων).....47

Πίνακας 6: Πηγές προέλευσης και συχνότητα εμφάνισης *Listeria monocytogenes*....48

Πίνακας 7: Μελέτες σχετικά με τις πηγές που ανιχνεύθηκαν τα *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp (μαχαίρια- εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικοί πάγκοι, συσκευασίες, στολές – ενδυμασίες, ψυγεία).....58

Πίνακας 8: Forest plot μετα-ανάλυσης του *L. monocytogenes* σχετικά με τις πηγές που ανιχνεύθηκε (μαχαίρια- εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικοί πάγκοι, ψυγεία, συσκευασίες).....62

Πίνακας 9: Forest plot μετα-ανάλυσης του *L. monocytogenes* σχετικά με τις Χώρες (Ευρώπη) που ανιχνεύθηκε.....65

1. Εισαγωγή

1.1 Γενικά

Σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) (2020), η παγκόσμια παραγωγή ψαριών έχει αυξηθεί δραματικά τα τελευταία 60 χρόνια, σε περίπου 179 εκατομμύρια τόνους το 2018 με αξία 401 δισεκατομμύρια δολάρια. Η παγκόσμια κατανάλωση ψαριών αυξήθηκε επίσης από 9,0 κιλά κατά κεφαλήν το 1961 σε 20,5 κιλά το 2018. Η παραγωγή υδατοκαλλιέργειας αντιπροσωπεύει το 46% της συνολικής παραγωγής και το 62% της συνολικής αξίας πώλησης. Λόγω της αυξανόμενης ζήτησης για πρωτεΐνη υψηλής ποιότητας, της μείωσης των αλιευμάτων άγριων ψαριών και της προόδου στις τεχνολογίες ιχθυοκαλλιέργειας, η παγκόσμια παραγωγή υδατοκαλλιέργειας αναμένεται να διπλασιαστεί έως το 2050 (Tapia-Cammas et al., 2011). Η Κίνα είναι ο κύριος παραγωγός ψαριών υδατοκαλλιέργειας, συνεισφέροντας περισσότερο από το ήμισυ της παγκόσμιας παραγωγής. Ο κυπρίνος, η τιλάπια και ο σολομός είναι τα τρία κορυφαία είδη ψαριών που παράγονται παγκοσμίως. Σύμφωνα με την Εθνική Υπηρεσία Ωκεανών και Ατμόσφαιρας των Ηνωμένων Πολιτειών (NOAA) (2020), το 2017 οι Ηνωμένες Πολιτείες κατέλαβαν την 17η θέση στην παραγωγή υδατοκαλλιέργειας με εκτιμώμενη αξία 625,7 εκατομμυρίων λιρών αξίας 1,47 δισεκατομμυρίων δολαρίων. Τα κορυφαία είδη για την παραγωγή γλυκού και αλμυρού νερού είναι το γατόψαρο (330,4 εκατομμύρια λίβρες) και ο σολομός του Ατλαντικού (32,4 εκατομμύρια λίβρες), αντίστοιχα. Οι Ηνωμένες Πολιτείες ήταν επίσης ο κορυφαίος εισαγωγέας αλιευτικών προϊόντων, το 2018 εισάγοντας 6,1 δισεκατομμύρια λίβρες βρώσιμων αλιευτικών προϊόντων αξίας 22,4 δισεκατομμυρίων δολαρίων.

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι μικροοργανισμοί υπάρχουν συνήθως στις επιφάνειες των ψαριών, όπως το δέρμα και τα βράγχια, καθώς και στο εσωτερικό του ψαριού σε περιοχές όπως η πεπτική οδός και τα εσωτερικά όργανα, για παράδειγμα, τα νεφρά, το συκώτι και η σπλήνα. Ωστόσο, τα ψάρια και τα προϊόντα ψαριών, ειδικά τα ωμά ή μη μαγειρεμένα προϊόντα, αποτελούν σοβαρές εστίες μόλυνσης για τον άνθρωπο καθώς μπορούν να περιέχουν βακτηριακά παθογόνα, βιοτοξίνες, ισταμίνη, ιούς ή/και παράσιτα (Herrera et al, 2006). Τα ψάρια έχουν ταυτοποιηθεί ως πηγές βακτηριακών παθογόνων που συνδέονται με ανθρώπινες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένων των *Mycobacterium* spp., *Streptococcus iniae*, *Photobacterium damsela*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Erysipeliorichiap colerae*, *Erysipeliorichiap.* ., *Salmonella* spp. , *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Delftia acidovorans*, *Edwardsiella tarda*, *Legionella pneumophila* και *Plesiomonas shigelloides*. Επιπλέον, η παρουσία ανθεκτικών στα αντιβιοτικά γονιδίων (ARGs) σε αυτούς τους μικροοργανισμούς έχει προκαλέσει ανησυχίες σχετικά με την εξάπλωση της αντίστασης στα αντιβιοτικά (AMR) στο περιβάλλον και στον άνθρωπο (Preena et al., 2020). Εκτός από τα ανθρώπινα παθογόνα, τα βακτήρια θεωρούνται η κύρια αιτία της αλλοίωσης των ψαριών. Ορισμένα βακτήρια αλλοίωσης μπορούν να παράγουν ένζυμα αποκαρβοξυλάσης και να μετατρέψουν την ελεύθερη ιστιδίνη σε αξιόλογες ποσότητες ισταμίνης, με αποτέλεσμα τη δηλητηρίαση από σκομβροειδή, μια άλλη ανησυχία για την ασφάλεια των τροφίμων (Colombo et al., 2018).

Παθογόνοι μικροοργανισμοί και μικροοργανισμοί που προκαλούν αλλοίωση μπορούν να εισαχθούν σε ψάρια και προϊόντα ψαριών σε οποιοδήποτε σημείο της αλυσίδας παραγωγής και εφοδιασμού. Η εφαρμογή της επόμενης γενιάς τεχνολογιών

προσδιορισμού αλληλουχίας (NGS) επέτρεψε εις βάθος γνώσεις για το μικροβίωμα των ψαριών - την κοινοπραξία όλων των μικροβιακών κατοίκων στα ψάρια και στο περιβάλλον - που διευκολύνει την καλύτερη κατανόηση των πηγών παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών (Yukgehnaish et al., 2020). Η κατανόηση της επικράτησης, της οικολογίας, της συγκέντρωσης και της δυναμικής των παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών που υπάρχουν σε ολόκληρη την αλυσίδα παραγωγής ψαριών θα συμβάλει επίσης στην ανάπτυξη και εφαρμογή νέων στρατηγικών παρέμβασης. Διάφορες μέθοδοι απολύμανσης έχουν προταθεί, δοκιμαστεί και εφαρμοστεί για τη διασφάλιση της μικροβιολογικής ασφάλειας των ψαριών και των προϊόντων ψαριών, συμπεριλαμβανομένων των φυσικών, χημικών και βιολογικών παρεμβάσεων (Kuebutornye et al., 2020). Οι εξελίξεις σε αυτούς τους τομείς και ο εντοπισμός νέων φυσικών αντιμικροβιακών, δικαιολογούν περαιτέρω έρευνα ως τεχνικές για τη διασφάλιση της ασφάλειας των ψαριών και των προϊόντων ψαριών.

Ορισμένα από τα είδη βακτηρίων μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές ασθένειες στα ψάρια. Ένα σημαντικό παράδειγμα είναι το *Yersinia ruckeri*, ο αιτιολογικός παράγοντας της εντερικής ερυθρότητας του στόματος (ERM) στην ιριδίζουσα πέστροφα, με αποτέλεσμα μεγάλες εμπορικές απώλειες (Kumar et al., 2015). Ωστόσο, από την άποψη της δημόσιας υγείας, οι τύποι βακτηρίων που μεταδίδονται μέσω των ψαριών και μπορούν να προκαλέσουν ανθρώπινες ασθένειες είναι σημαντικοί. Η παρουσία ανθρώπινων παθογόνων μικροοργανισμών στα ψάρια και στα προϊόντα ψαριών μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των πολιτισμικών πρακτικών, των περιβαλλοντικών συνθηκών, της επεξεργασίας και της διανομής των προϊόντων (Adgamov et al., 2013).

Είναι απαραίτητο να μελετηθεί ο επιπολασμός των παθογόνων στα ψάρια για να διασφαλιστεί η καλύτερη κατανόηση της οικολογίας και της κατανομής των

παθογόνων στην τροφική αλυσίδα. Έχουν διεξαχθεί περιορισμένες μελέτες για παθογόνους παράγοντες στα ψάρια του γλυκού νερού και αυτές οι μελέτες κάλυψαν ως επί το πλείστον ένα ή δύο παθογόνα σε περιορισμένες γεωγραφικές περιοχές. Ωστόσο, η συλλογή και η συστηματοποίηση των προηγούμενων αναφερόμενων μελετών μπορεί να είναι χρήσιμη για την καλύτερη κατανόηση της επιδημιολογίας ορισμένων τροφιμογενών παθογόνων σε μια γεωγραφική περιοχή. Ο στόχος αυτής της ανασκόπησης ήταν να περιγράψει και να συζητήσει τις μελέτες για την ανίχνευση *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp στις εγκαταστάσεις ιχθυηρών, που εν δυνάμει μπορεί να προκαλούν ανθρώπινες ασθένειες μέσω της κατανάλωσης μολυσμένων ψαριών καθώς και προϊόντα τους.

1.2 Επιδημιολογικά δεδομένα

Με βάση επιδημιολογικά δεδομένα από το CDC, το FDA και το Υπουργείο Γεωργίας των ΗΠΑ (USDA) καθώς και από έρευνες που αναφέρονται στην επιστημονική βιβλιογραφία, ο επιπολασμός και οι τύποι παθογόνων μικροοργανισμών σε ψάρια και προϊόντα ψαριών είναι καλά τεκμηριωμένοι. Μερικές ανασκοπήσεις έχουν συνοψίσει τη συχνότητα εμφάνισης αυτών των παθογόνων στα θαλασσινά και τα κορυφαία παθογόνα έχουν αναφερθεί ότι είναι τα *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Vibrio* spp., *Yersinia* spp., *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* και *Aeromonas* spp. (Vaiyapuri et al., 2019). Μεταξύ αυτών, η σαλμονέλα ήταν η κορυφαία βακτηριακή αιτιολογία για επιδημίες που σχετίζονται με τα ψάρια. Το *Listeria monocytogenes*, παρά τη χαμηλή συχνότητα εμφάνισης εστιών ψαριών, είναι η πιο κοινή βακτηριακή αιτία για ανακλήσεις ψαριών και προϊόντων ψαριών. Επιπλέον, η πανταχού παρουσία του στο περιβάλλον επεξεργασίας καθώς και η ικανότητά του να

πολλαπλασιάζεται σε χαμηλές θερμοκρασίες καθιστούν το *L. monocytogenes* σημαντικό μέλημα για τα έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα ψαριών (RTE). Εκτός από τα προαναφερθέντα παθογόνα που αναφέρονται ως βακτηριακά παθογόνα που προκαλούν μεγαλύτερη ανησυχία στην καθοδήγηση των Κινδύνων και Ελέγχων Ψαριών και Προϊόντων Αλιείας, το *Aeromonas* spp. έχουν προσελκύσει την προσοχή ως αναδυόμενο ανθρώπινο παθογόνο που σχετίζεται με προϊόντα θαλασσινών (Daskalov, 2006).

Το *Aeromonas hydrophila*, το οποίο είναι ευρέως διαδεδομένο σε υδάτινα περιβάλλοντα, μπορεί όχι μόνο να προκαλέσει ασθένειες τόσο στα ψάρια όσο και στον άνθρωπο άμεσα, αλλά και να αυξήσει τα επίπεδα ισταμίνης, θέτοντας χημικό κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία. Η υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης *Salmonella* spp. εντοπίστηκε στις Ηνωμένες Πολιτείες και ήταν 1,3%. Η υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης *Salmonella* spp. αναγνωρίστηκε διεθνώς και ήταν 36,6% στο Βιετνάμ. Οι υψηλότερες συχνότητες εμφάνισης *L. monocytogenes* ήταν 78,7% και 28,1% στις Ηνωμένες Πολιτείες (συλλέχθηκαν δείγματα από μονάδες επεξεργασίας που αντιμετώπιζαν προηγουμένως προβλήματα με το *L. monocytogenes*) και στο Μεξικό, αντίστοιχα. Η συχνότητα εμφάνισης του *A. hydrophila* στις Ηνωμένες Πολιτείες ήταν 36,1% με βάση μια μελέτη για το φιλέτο γατόψαρου και η υψηλότερη επίπτωσή του στον κόσμο είναι 47% που εντοπίστηκε σε μια αιγυπτιακή μελέτη (Preena et al., 2020).

Τα τελευταία χρόνια, η εμφάνιση ανθεκτικών στα αντιβιοτικά βακτηρίων (ARB) έχει γίνει μια σημαντική πρόκληση όχι μόνο για την υδατοκαλλιέργεια αλλά για ολόκληρη τη βιομηχανία τροφίμων (Capita & Alonso-Calleja, 2013). Η AMR έχει γίνει παγκόσμια απειλή για τη δημόσια υγεία καθώς και ανησυχία για τη ρύπανση του περιβάλλοντος. Η πλαστικότητα των βακτηριακών κοινοτήτων μπορεί να επιτρέψει την ταχεία διάδοση των ARGs σε άλλες μικροβιακές κοινότητες μέσω οριζόντιας

μεταφοράς γονιδίων μέσω τρόπων όπως η σύζευξη, ο μετασχηματισμός και η μεταγωγή. Τα κινητά γενετικά στοιχεία (MGEs) είναι τμήματα DNA που μπορούν να κινηθούν μέσα σε ένα γονιδίωμα και μεταξύ διαφορετικών βακτηρίων και περιλαμβάνουν πλασμίδια, τρανσποζόνια και βακτηριοφάγους. Αυτές οι MGEs έχει αποδειχθεί ότι παίζουν κρίσιμο ρόλο στην οριζόντια γονιδιακή μεταφορά και τη διάδοση των ARGs (He et al., 2020). Η σύζευξη με τη μεσολάβηση πλασμιδίου είναι ο πιο κοινός μηχανισμός για τα βακτήρια να αποκτούν οριζόντια γονίδια αντίστασης. Μόλις τα ARG μεταφερθούν σε ένα βακτήριο, μπορεί να αναπτυχθεί ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά μέσω της καταστροφής ή τροποποίησης του ίδιου του αντιβιοτικού, της ανάπτυξης ενός ενεργού συστήματος εκροής για την άντληση του αντιβιοτικού ή/και της μείωσης της διαπερατότητας της μεμβράνης για τη μείωση της εισροής, τροποποίηση του αντιβιοτικού υποδοχείς, εναλλαγή μεταβολικών οδών και άλλοι βιολογικοί μηχανισμοί. Τα τρόφιμα έχουν αναγνωριστεί ως το πιο σημαντικό όχημα για τη μετάδοση ARB και ARGs στον άνθρωπο, με αποτέλεσμα σοβαρές συνέπειες για την ανθρώπινη υγεία όπως αποτυχία θεραπείας (Capita & Alonso-Calleja, 2013). Πολλά απομονωμένα στελέχη *Salmonella*, *L. monocytogenes* και *A. hydrophila* παρουσίασαν ανθεκτικότητα σε περισσότερα από ένα αντιβιοτικά, συμπεριλαμβανομένων των κρίσιμων αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία ασθενειών των ανθρώπων και των ψαριών.

Διάφοροι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της εποχής, του τμήματος του πεπτικού συστήματος των ψαριών και του τύπου διατροφής μπορούν να επηρεάσουν τον αριθμό των μικροοργανισμών που ανιχνεύονται. Τα ελάχιστα και μέγιστα ευρήματα για συγκεκριμένα βακτήρια σχετίζονταν με τις μεταβολές της θερμοκρασίας του νερού και παρατηρήθηκαν κατά τη χειμερινή και καλοκαιρινή περίοδο. Οι διαφορές στον αριθμό των βακτηρίων ανάλογα με το τμήμα του πεπτικού συστήματος

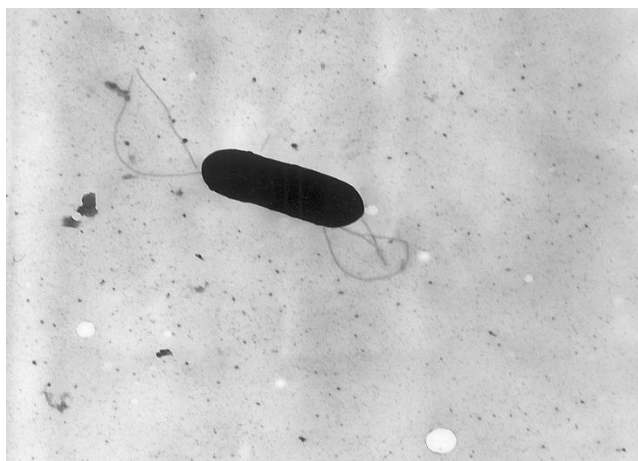
στα ψάρια και τον αριθμό των αερόβιων βακτηρίων κυμαίνονταν από $5,5 \times 10^3$ έως $5,0 \times 10^4$ CFU/g και από $1,0 \times 10^4$ έως 10^6 /g στο στομάχι και στο έντερο, αντίστοιχα (Diler et al., 2000). Έχει παρατηρηθεί ότι ο αριθμός των μικροοργανισμών στην πεπτική οδό εξαρτάται από τον τύπο της τροφής των ψαριών και ο υψηλότερος βακτηριακός πληθυσμός βρισκόταν σε τροφοδότες υπολειμμάτων από εκείνους στο νερό που τροφοδοτείται με φίλτρο.

Τα βακτήρια *L. monocytogenes*, *Vibrio* spp., *Salmonella*, *Yersinia* spp., και *C. botulinum*, παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς έχουν εντοπιστεί σε υδάτινα περιβάλλοντα και επίσης έχουν συνδεθεί με υψηλά ποσοστά θνησιμότητας στον άνθρωπο μέσω ασθενειών όπως η λιστερίωση, η αλλαντίαση και η μόλυνση που προκαλείται από *V. vulnificus*. Έτσι, μαζί με τα θρεπτικά οφέλη από την κατανάλωση ψαριών, υπάρχει και ο πιθανός κίνδυνος για την ανθρώπινη υγεία.

1.3 *Listeria monocytogenes*

Το *Listeria monocytogenes* είναι ένα είδος θετικών κατά Gram βακτηρίων που έχει υψηλό ποσοστό θνησιμότητας περίπου 16% (Scallan et al., 2011). Οι πληθυσμοί που είναι ευαίσθητοι στη μόλυνση από *L. monocytogenes* περιλαμβάνουν έγκυες γυναίκες, ηλικιωμένους και άτομα με ανοσοκαταστολή (Buchanan et al., 2017). Το *Listeria monocytogenes* είναι πανταχού παρόν στο περιβάλλον και ανεκτικό σε ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών πιέσεων. Το *Listeria monocytogenes* μπορεί να αναπτυχθεί σε διαλύματα αλατιού με έως και 14% χλωριούχο νάτριο. Μπορεί επίσης να επιβιώσει σε θερμοκρασία κατάψυξης και ακόμη και να αναπτυχθεί σε ψάρια σε θερμοκρασίες

ψυγείου. Ιδιαίτερη ανησυχία είναι ότι το *L. monocytogenes* μπορεί να πολλαπλασιαστεί σε προϊόντα ψαριών RTE (Hunt et al., 2018), τα οποία δεν έχουν περαιτέρω βήματα αδρανοποίησης πριν από την κατανάλωση. Επειδή ο επιπολασμός του *L. monocytogenes* σε προϊόντα υδρόβιων τροφίμων παγκοσμίως από το 1990 έως το 2013 έχει αναθεωρηθεί από τους Jami et al. (2014).



Εικόνα 1: *Listeria monocytogenes*

Η εμφάνιση του *L. monocytogenes* σε ψάρια και προϊόντα ψαριών διέφερε μεταξύ των χωρών και επηρεάζεται επίσης από τα είδη ψαριών, τις γεωγραφικές τοποθεσίες, τα στάδια δειγματοληψίας, τα μέρη δειγματοληψίας, τους τύπους προϊόντων και την προέλευση του δείγματος. Η συχνότητα εμφάνισης *L. monocytogenes* σε ψάρια και προϊόντα ψαριών κυμαίνονται από 1,4% έως 78,7% (Zarei et al., 2012). Οι Li et al. (2019) ανέφεραν ότι η συνολική επίπτωση της *L. monocytogenes* σε ψάρια γλυκού νερού σε όλη την Κίνα ήταν 2,6%. Δεν ανιχνεύθηκε *L. monocytogenes* στα ασιατικά ελώδη χέλια (*Monopterus albus*), στην τσιπούρα

(*Parabramis pekinensis*) ή στο *culter alburnus* (*Erythroculter ilishaeformis*), ενώ το 4,8% του loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) ήταν θετικό. Το ποσοστό των δειγμάτων ψαριών που ήταν θετικά για *L. monocytogenes* στην ανατολική περιοχή ήταν 1,0% και στην κεντρική/βορειοδυτική περιοχή ήταν 3,8%. Τα ψάρια λιανικής και τα προϊόντα ψαριών έχει αναφερθεί ότι έχουν υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης *L. monocytogenes* από τα ψάρια και τα προϊόντα ψαριών που ελήφθησαν σε δείγμα σε οποιοδήποτε άλλο στάδιο πριν από την επεξεργασία. Οι Basha et al. (2019) συνέλεξαν ψάρια και προϊόντα ψαριών τόσο από τις λιανικές αγορές όσο και από τα κέντρα εκφόρτωσης στην Ινδία. Το *L. monocytogenes* ανιχνεύθηκε μόνο σε δείγματα λιανικής, όχι στα δείγματα του κέντρου εκφόρτωσης. Ομοίως, μια μελέτη στο Ιράν ανέφερε ότι το 14,16% της πέστροφας λιανικής ήταν θετικό για *L. monocytogenes* σε σύγκριση με το θετικό ποσοστό 4,16% των δειγμάτων ψαριών που συλλέχθηκαν από λίμνες σε ιχθυοτροφεία (Rezai et al., 2018). Η *Listeria monocytogenes* ανιχνεύθηκε στο 26% των ψαριών λιανικής και στο 2% των ψαριών γλυκού νερού που αλιεύονται άγρια στη Λετονία (Terentjeva et al., 2015). Το δέρμα των ψαριών θεωρείται μια κύρια πηγή μόλυνσης. Σε μια μελέτη στις ΗΠΑ, το *L. monocytogenes* ανιχνεύθηκε στο 65,2% των δειγμάτων δέρματος από ακατέργαστο κατεψυγμένο σολομό, ενώ απουσίαζε σε δείγματα σάρκας από κάτω από το δέρμα. Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι οι πρακτικές μετά τη συγκομιδή αποτελούν σημαντικό σημείο μόλυνσης από *L. monocytogenes* στα ψάρια και στα προϊόντα ψαριών. Κατά την επεξεργασία των ψαριών, το *L. monocytogenes* που υπάρχει στο δέρμα των ψαριών ή στο περιβάλλον έχει πολλές πιθανότητες να μεταφερθεί σε φιλέτα μέσω διαφορετικών πρακτικών χειρισμού και μέσω σκευών ή μέσων όπως μαχαίρια κοπής, γάντια εργαζομένων και διαλύματα άλμης. Σε μια μονάδα επεξεργασίας που είναι γνωστό ότι αντιμετωπίζει προβλήματα με το *L. monocytogenes*, αυτό το παθογόνο ανιχνεύθηκε σε υψηλά επίπεδα 65% έως 67% τόσο στον

ακατέργαστο όσο και στον τελικό σολομό ψυχρού καπνίσματος (Eklund et al., 1995). Ως εκ τούτου, η επαρκής υγιεινή και οι κατάλληλες στρατηγικές ελέγχου στις μονάδες επεξεργασίας ψαριών είναι ζωτικής σημασίας για τη μείωση του κινδύνου μόλυνσης από *L. monocytogenes* στα ψάρια και στα προϊόντα ψαριών.

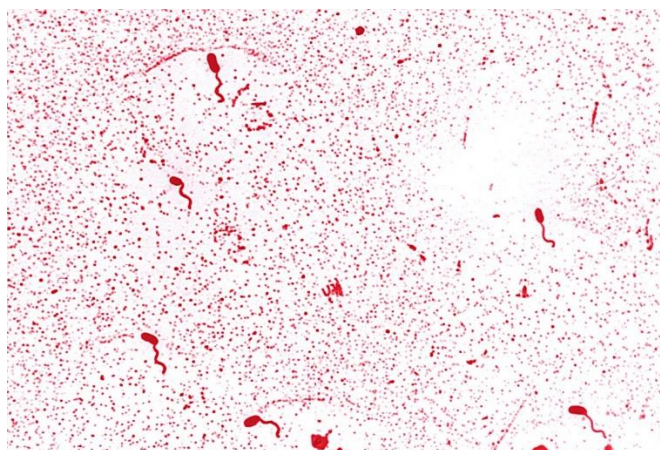
Η πρόσθετη επεξεργασία των ψαριών, όπως το κάπνισμα και η άλμη, μπορεί να ελέγξει το επίπεδο μόλυνσης από *L. monocytogenes*. Ο επιπολασμός του *L. monocytogenes* μειώθηκε από 3,8% στα ωμά ψάρια σε 1,3% στα τελικά καπνιστά ψάρια. Σε μια έρευνα που διεξήχθη στην Πολωνία, το *L. monocytogenes* ήταν θετικό στο 35,7% των φρέσκων ψαριών και μειώθηκε στο 5,3% στα καπνιστά ψάρια (Wieczorek & Osek, 2017). Ωστόσο, το *L. monocytogenes* παραμένει μια μεγάλη ανησυχία στα προϊόντα ψαριών RTE λόγω της ικανότητας του παθογόνου να αναπτύσσεται κατά την αποθήκευση σε ψύξη καθώς και της έλλειψης θερμικής επεξεργασίας πριν από την κατανάλωση. Η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) και το Ευρωπαϊκό Κέντρο Πρόληψης και Ελέγχου Νόσων (ECDC) συνόψισαν τα δεδομένα από 18 ευρωπαϊκές χώρες και η συνολική εμφάνιση *L. monocytogenes* σε προϊόντα ψαριών RTE ήταν 7,0% το 2017 (EFSA, 2018). Οι Konačević et al. (2012) ανέφεραν ότι το 15% των προϊόντων ψαριών RTE ήταν θετικά για *L. monocytogenes* στον Καναδά. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, το ποσοστό μόλυνσης των εγχώριων προϊόντων ψαριών RTE κυμαινόταν από 1,3 έως 1,4% έως 78,7% (Eklund et al., 1995). Το εξαιρετικά υψηλό ποσοστό μόλυνσης αναφέρθηκε σε δείγματα σολομού ψυχρού καπνίσματος που συλλέχθηκαν από έξι εγκαταστάσεις επεξεργασίας που είναι γνωστό ότι αντιμετώπισαν προβλήματα μόλυνσης από *L. monocytogenes*. Μια 5ετής έρευνα έδειξε ότι το 13,3 έως 15,2% των εγχώριων και εισαγόμενων καπνιστών ψαριών ήταν θετικά για *L. monocytogenes*, σε αντίθεση με τη συχνότητα εμφάνισης της σαλμονέλας, η οποία είναι χαμηλότερη στα εγχώρια ψάρια

και προϊόντα. Αυτό δείχνει μια παγκόσμια ανησυχία για το *L. monocytogenes* και την ασφάλεια των ψαριών.

Η παρουσία ανθεκτικών στα αντιβιοτικά απομονώσεων περιπλέκει περαιτέρω το *L. monocytogenes* και την ασφάλεια των ψαριών. Η *Listeria monocytogenes* που ανακτήθηκε από ψάρια και προϊόντα ψαριών ήταν συχνά ανθεκτική στην αμικικιλίνη, την κλινδαμυκίνη, την ερυθρομυκίνη και την τετρακυκλίνη. MDR βρέθηκε επίσης στο 100% του *L. monocytogenes* που απομονώθηκε από ψάρια και προϊόντα ψαριών στην Ινδία (Basha et al., 2019).

1.4 *Vibrio* spp. σε υδάτινα περιβάλλοντα και ψάρια

Το *Vibrio* spp. εντοπίζεται ευρέως σε ψάρια και περιβάλλοντα ψαριών. Διάφορα *Vibrio* spp. μπορεί να προκαλέσουν σοβαρή ασθένεια τόσο σε άγρια όσο και σε καλλιεργημένα ψάρια, και τα παθογόνα είδη ψαριών περιλαμβάνουν *V. ordalii* (σηψαιμία στους σολομούς), *V. anguillarum* («κόκκινο παράσιτο» στα χέλια), *V. salmonicida* (βακτήριο κρύου νερού στα ψάρια), *V. vulnificus* (βακτήριο ζεστού νερού στο ευρωπαϊκό χέλι), *V. viscous* και *V. wodanis* ("ελκώδης νόσος του χειμώνα" στον σολομό του Ατλαντικού) (Konačević et al., 2012).



Εικόνα 2: *Vibrio* spp.

Μεταξύ των *Vibrio* spp., τα *V. cholerae*, *V. vulnificus* και *V. parahaemolyticus* έχουν εμπλακεί σε ανθρώπινες μολύνσεις που σχετίζονται με την κατανάλωση ψαριών και οστρακοειδών. Το *Vibrio cholerae*, ο αιτιολογικός παράγοντας της χολέρας, είναι αυτόχthonος σε διάφορα υδάτινα περιβάλλοντα, αλλά παρά τις εντατικές προσπάθειες, η οικολογία και η μετάδοσή του μέσω μολυσμένων ψαριών παραμένει ασαφής. Υπάρχουν περιορισμένες μελέτες σχετικά με το ρόλο των ψαριών στην ασθένεια που προκαλείται από *V. cholerae*. Ωστόσο, αναφέρθηκε μόλυνση ψαριών έως και 50 % (Senderovich et al., 2010). Συχνότερα το *V. vulnificus* και το *V. parahaemolyticus* σχετίζονται με ανθρώπινη μόλυνση και η ασθένεια εμφανίζεται συνήθως λόγω της κατανάλωσης ανεπαρκώς θερμικά επεξεργασμένων ψαριών ή προϊόντων ψαριών (Novoslavskij et al., 2016). Αυτά τα βακτήρια μπορεί να προκαλέσουν γαστρεντερίτιδα και σηψαιμία (πρωτοπαθή) στον άνθρωπο και προκαλούν ιδιαίτερη ανησυχία λόγω της μεγάλης πιθανότητας θανάτου σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Τρεις βιότυποι (βιότυποι 1, 2 και 3) του *V. vulnificus* έχουν περιγραφεί, από τους οποίους ο βιότυπος 1 έχει απομονωθεί συχνότερα από το νερό και τον άνθρωπο. Εν τω μεταξύ, ο βιότυπος 2 απομονώθηκε συχνότερα από ψάρια και ανθρώπους. Ο βιότυπος 3 του *V. vulnificus*

δεν έχει συσχετιστεί με την κατανάλωση θαλασσινών παρά την παρατηρούμενη σύνδεση απομονωθέντων βακτηρίων από ανθρώπους και ψάρια που δοκιμάστηκαν με μεθόδους μεταβλητής διαδοχικής επανάληψης (VNTR) και πολλαπλών θέσεων (MLST) (Mahmud et al., 2010). Το *V. parahaemolyticus* μπορεί να ταξινομηθεί σύμφωνα με τον ορότυπο, ωστόσο, έχουν γίνει ταξινομήσεις με βάση την παρουσία συγκεκριμένων γονιδίων: Τα στελέχη *V. parahaemolyticus* θεωρούνται «παθογόνα» εάν η θερμοσταθερή άμεση αιμολυσίνη (tdh) ή/και η σχετιζόμενη με την TDH αιμολυσίνη (trh) υπάρχουν γονίδια.

Τα *Vibrio* είναι άφθονα σε υδάτινα περιβάλλοντα και αυτά τα βακτήρια παρατηρήθηκαν επίσης στο δέρμα, στα βράγχια και στις εντερικές οδούς των ψαριών ή των οστρακοειδών. Ο υψηλότερος αριθμός των *V. vulnificus* και *V. parahaemolyticus* περιγράφηκε στα έντερα των ψαριών σε σύγκριση με τα δείγματα νερού και ιζημάτων (Givens et al., 2014). Άλλοι παράγοντες όπως η αλατότητα του νερού και η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσουν τον επιπολασμό του *Vibrio spp.* σε ψάρια και υδάτινα περιβάλλοντα. Τα βακτήρια βρέθηκαν πιο συχνά σε ζεστό και νερό με χαμηλότερη αλατότητα (Huehn et al., 2014). Ο επιπολασμός του *V. vulnificus* ήταν 37% μετά από δοκιμή 242 δειγμάτων ψαριών που περιλάμβαναν 28 είδη ψαριών σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο Μεξικό. Επιπλέον, η αύξηση του επιπολασμού του *V. vulnificus* έως και 69 % παρατηρήθηκε κατά την καλοκαιρινή περίοδο (Tao et al. 2012). Οι συγγραφείς περιέγραψαν επίσης ότι η γενετική ποικιλοότητα των στελεχών βακτηρίων που μελετήθηκαν με τη μέθοδο του ενισχυμένου πολυμορφισμού μήκους θραυσμάτων (AFLP) έδειξε υψηλή γενετική ομοιότητα και δείκτη ποικιλοότητας Simpson 0,991 (Tao et al., 2012). Το *V. parahaemolyticus* συνδέεται συχνά με τα οστρακοειδή. Ωστόσο, παρατηρείται επίσης υψηλή αύξηση αυτών των βακτηρίων στα ψάρια και το παθογόνο ανιχνεύθηκε σε περισσότερο από το 50% των δειγμάτων

ψαριών που δοκιμάστηκαν στο Βιετνάμ, τη Μαλαισία και την Ινδονησία (Novoslavskij et al., 2016). Τα *Vibrio* spp. βρίσκονται πιο συχνά στα ψάρια θαλασσινού νερού. Παρόλα αυτά, τα παθογόνα παρατηρούνται και στα ψάρια του γλυκού νερού. Για παράδειγμα, το 24% των δειγμάτων γατόψαρου και το 40% των δειγμάτων κόκκινης τιλάπιας είχαν μολυνθεί με *V. parahaemolyticus* σε μια μελέτη από τη Μαλαισία (Paydar et al., 2013).

Συνοπτικά, το *Vibrio* spp. διανέμεται ευρέως σε υδάτινα περιβάλλοντα και βρίσκονται τόσο στα θαλάσσια όσο και στα ψάρια του γλυκού νερού. Αυτά τα βακτήρια μπορούν να μολύνουν τα ψάρια και τα προϊόντα ψαριών κατά τον ακατάλληλο χειρισμό, τη μακροχρόνια μεταφορά, τον εκσπλαχνισμό και επίσης τη διασταυρούμενη μόλυνση από τις πρώτες ύλες. Το *Vibrio* spp. μπορεί να πολλαπλασιαστεί στα τρόφιμα και το επίπεδο των βακτηρίων στο τελικό προϊόν μπορεί να αυξηθεί σε τέτοιο βαθμό που μπορεί να αποτελέσει κίνδυνο για την υγεία των καταναλωτών.

1.5 Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της μεταπτυχιακής διατριβής ήταν η μετα-ανάλυση μελετών ανίχνευσης των παθογόνων βακτηρίων *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp στις εγκαταστάσεις εκτροφής αλλά και επεξεργασίας ιχθυηρών.

Για την επίτευξη του παραπάνω σκοπού πραγματοποιήθηκε ο συνδυασμός, η επεξεργασία και η σύνοψη δεδομένων από ερευνητικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στο παρελθόν για την ανίχνευση των παθογόνων βακτηρίων *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp στις μονάδες εκτροφής, επεξεργασίας και συντήρησης

ιχθυηρών σε διεθνές επίπεδο με σκοπό να οδηγήσουν σε ένα συνολικό συμπέρασμα, μέσω της ποσοτικής ανάλυσης.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση

Πραγματοποιήθηκε αναζήτηση δεδομένων για σχετικές παραπομπές όπως ScienceDirect, PubMed, Scopus και Google Scholar, αλλά και αναφορές οργανισμών όπως Food and Agriculture (FAO), World Health Organization (WHO) και European Food Safety Authority (EFSA). Για τη συλλογή άρθρων χρησιμοποιήθηκαν λέξεις – κλειδιά που αφορούσαν τις περιοχές έρευνας παθογόνων βακτηρίων (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια, Τμήμα φιλετοποίησης) και τις πηγές (μαχαίρια - εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικοί πάγκοι, συσκευασίες, στολές – ενδυμασίες, ψυγεία - καταψύκτες) με βάση τα παθογόνα βακτήρια *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp. στις εγκαταστάσεις εκτροφής και επεξεργασίας ιχθυηρών.

2.2 Στατιστική επεξεργασία / Μετα-ανάλυση

Το πρόγραμμα Microsoft Excel χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτική ανάλυση των εξαγόμενων δεδομένων. Η μετα-ανάλυση και η συγκέντρωση της εκτίμησης του μεγέθους επίδρασης (με το διάστημα εμπιστοσύνης 95%) έγιναν χρησιμοποιώντας το μοντέλο τυχαίας επίδρασης (RE) για να ληφθεί υπόψη η ετερογένεια. Η εκτίμηση της στατιστικής ετερογένειας μεταξύ των μελετών που συμπεριλήφθηκαν έγινε με τη χρήση των στατιστικών Cochrane Q, και I^2 . Μια τιμή I^2 από 0 έως $\leq 40\%$ θεωρήθηκε χαμηλή ετερογένεια, $>40\%$ έως 60% θεωρήθηκε μέτρια ετερογένεια, $>60\%$ έως 75% θεωρήθηκε ουσιαστική ετερογένεια και $> 75\%$ έως 100% κρίθηκε ως υψηλή ετερογένεια. Σημαντική ετερογένεια θεωρήθηκε για $p < 0,10$.

3. Αποτελέσματα

3.1 Συστηματική ανασκόπηση για περιοχές που ανιχνεύθηκαν τα *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp

Σύμφωνα με τις πληροφορίες που συλλέχθηκαν από περίπου 68 ερευνητικά άρθρα παρατηρήθηκε ότι τα παθογόνα βακτήρια *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp είναι στενά συνδεδεμένα με τις υδατοκαλλιέργειες σε όλο τον κόσμο. Τόσο σε ιχθυηρά του γλυκού νερού όσο και του θαλασσινού νερού, τα παθογόνα βακτήρια συναντώνται σε μικρά αλλά και μεγάλα ποσοστά, με δείγματα να ξεπερνούν το 60% - Καπνιστήριο σολομού 68% *Listeria* spp. (Hansen et al. 2006). Στην Δανία το *Listeria* spp παρατηρήθηκε σε συσκευαστήρια υδατοκαλλιεργειών με ποσοστό 2% στα ακατέργαστα ιχθυηρά, ενώ 56% στα επεξεργασμένα (φιλέτα – απεντερωμένα). Σε έρευνα στη Γαλλία, σε ιχθυοτροφεία θαλασσινού νερού βρέθηκε 2% ποσοστό σε σχέση με ιχθυοτροφεία γλυκού νερού που παρατηρήθηκε 10%. Επίσης έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε υδατοκαλλιέργειες της Νορβηγίας, έδειξε ότι το *Listeria* spp. σε σφαγεία ψαριών ήταν 16% και 68% σε καπνιστήριο ψαριών. Στην Ισπανία θετικά δείγματα για *Listeria monocytogenes* στη μονάδα εκτροφής τους εντοπίστηκαν συχνότερα στον φρέσκο και καπνιστό σολομό (32,0% και 33,8% αντίστοιχα) καθώς και στον φρέσκο μπακαλιάρο (31,8%). Σε καπνιστήριο στην Πολωνία απομονώθηκε το 16,7% των δειγμάτων, σε ακατέργαστα ιχθυηρά το 9,0% των δειγμάτων και 28,6% του τελικού προϊόντος (φιλέτα), ενώ το 27,3% απομονώθηκε από περιβαλλοντικά δείγματα που αφορούν επιφάνειες επαφής και όχι με τα ιχθυηρά, επιφάνειες επαφής με εργαζόμενους (ποδιές, γάντια, εργαλεία, κ.α.) και αποχετεύσεις. Στον Πίνακα 1 παρουσιάζεται ο μέσος όρος της συχνότητας εμφάνισης του παθογόνου *Listeria monocytogenes* που παρατηρήθηκε στα ιχθυηρά αλλά και στις επιφάνειες, σε ποσοστά.

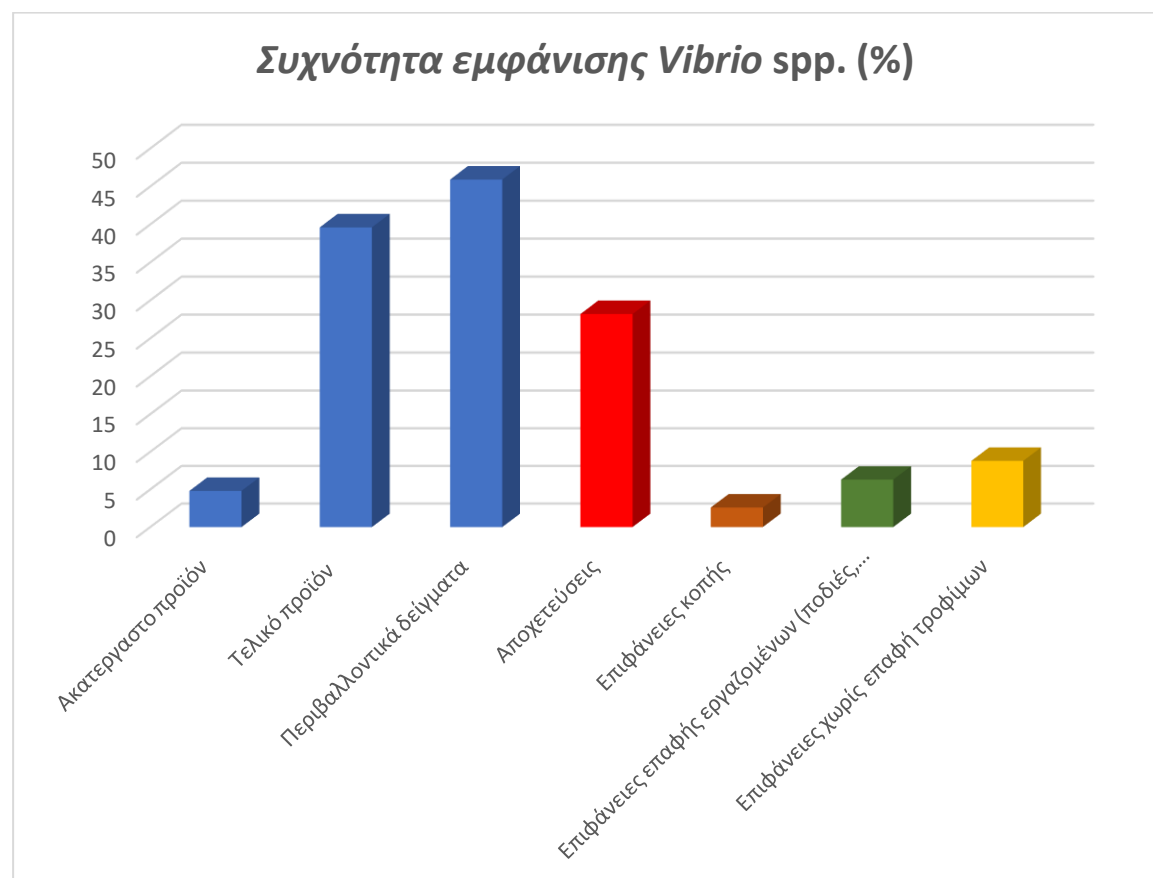


Πίνακας 1 Πηγές προέλευσης και συχνότητα εμφάνισης *Listeria monocytogenes*.

Όσον αφορά το παθογόνο βακτήριο *Vibrio* spp, διανέμεται ευρέως σε υδάτινα περιβάλλοντα και βρίσκονται τόσο στα θαλάσσια όσο και στα ψάρια του γλυκού νερού. Τα *V. cholerae*, *V. vulnificus* και *V. Parahemolyticus*, είναι τα πιο συχνά παθογόνα βακτήρια που έχουν εμπλακεί σε ανθρώπινες ασθένειες από ιχθυηρά καλλιέργειας και μη.

Στην Ταϊβάν το *V. Cholerae* έφτασε σε ποσοστό 72,2% κυρίως σε περιοχές εκτροφής με λίμνες γλυκού νερού, ενώ το *V. Vulnificus* σε ποσοστό 27,8% σε περιοχές εκτροφής με θαλασσινό νερό. Το *Vibrio anguillarum* ανιχνεύθηκε σε μεγάλο ποσοστό

σε θαλάσσιες μονάδες εκτροφής σολομού στη Χιλή (μέσο όρο 5,56 log CFU/g *V*). Σε υδατοκαλλιέργειες τσιπούρας Gilthead (*Sparus aurata*) και λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) που παράγονται σε δύο οικοσυστήματα στην Ανδαλουσία (Ισπανία) παρατηρήθηκε επίσης ο παθογόνος μικροοργανισμός *V. Parahaemolyticus* με χαμηλό ποσοστό, ενώ σε έρευνα που έγινε για τα ιζήματα των υδατοκαλλιεργειών το ποσοστό ήταν μεγαλύτερο του παθογόνου αυτού σε σχέση με το *V. Cholerae*. Τέλος, θετικά δείγματα με *V. Parahaemolyticus* βρέθηκαν στο συσκευαστήριο στην Κίνα, από τέσσερα είδη ιχθυηρών του γλυκού νερού και οστρακοειδών. Στον Πίνακα 2 παρουσιάζεται ο μέσος όρος της συχνότητας εμφάνισης του παθογόνου *Vibrio* spp σε ποσοστά, που παρατηρήθηκε στα ιχθυηρά, σε μονάδες εκτροφής και επιφάνειες.



Πίνακας 2 Πηγές προέλευσης και συχνότητα εμφάνισης *Vibrio* spp.

Οι Tey et al. (2015) εξέτασαν την εμφάνιση των *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* και *Vibrio cholerae* σε συνολικά 72 δείγματα από έξι λίμνες υδατοκαλλιέργειας για σφυρίδες και τιλάπια στη νότια Ταϊβάν με τη μέθοδο διήθησης μεμβράνης και υβριδισμού αποικιών. Το αλόφιλο *V. parahaemolyticus* ανακτήθηκε μόνο σε λίμνες θαλασσινού νερού, με υψηλή συχνότητα απομόνωσης 86,1% και μέση πυκνότητα 2,6 log CFU/g. Το *V. cholerae* βρέθηκε και στις λίμνες θαλασσινού και γλυκού νερού, αλλά κατά προτίμηση σε λίμνες γλυκού νερού, με συχνότητα 72,2% και μέση πυκνότητα 1,65 log CFU/g. Το *V. vulnificus* εντοπίστηκε κυρίως σε λίμνες θαλασσινού νερού, με συχνότητα απομόνωσης 27,8%. Η πυκνότητα του *V. parahaemolyticus* σε λίμνες θαλασσινού νερού συσχετίστηκε θετικά με τη θερμοκρασία του νερού (συντελεστής συσχέτισης Pearson, $r = 0,555$) και σχετιζόταν αρνητικά με την αλατότητα ($r = -0,333$). Ταυτοποιήθηκαν επίσης δύο υποτιθέμενα παθογόνα στελέχη tdh(+) *V. parahaemolyticus* (1,4% των δειγμάτων) και κανένα στέλεχος ctx(+) *V. cholerae*. Τα πειραματικά αποτελέσματα μπορεί να διευκολύνουν τις εκτιμήσεις του κινδύνου που ενέχουν αυτά τα παθογόνα είδη *Vibrio* στην Ταϊβάν, όπου η υδατοκαλλιέργεια παρέχει μεγάλο μέρος της προμήθειας θαλασσινών.

Η μελέτη των Sanjee & Karim (2016) στοχεύει στη μικροβιολογική ανάλυση κατεψυγμένων ψαριών με εξαγωγικό προσανατολισμό, όπως Jew Fish, Tongue Sole Fish, Cuttle Fish, Ribbon Fish, Queen Fish για να διαπιστωθεί η επιμόλυνσή τους κατά την επεξεργασία και συσκευασία τους σε πάγο στα πλαίσια της ασφάλειας της δημόσιας υγείας και του διεθνούς εμπορίου. Η παρουσία συγκεκριμένων παθογόνων ψαριών όπως η *Salmonella* spp. και *Vibrio cholerae* διερευνήθηκαν. Το ολικό μικροβιακό φορτίο όλων των δειγμάτων υπολογίστηκε κάτω από 5×10^5 cfu/g, ενώ τα ειδικά παθογόνα ψαριών όπως η *Salmonella* spp. και *V. cholerae* βρέθηκαν λιγότερο από 0,5 log CFU/g σε όλα τα δείγματα υπό έρευνα. Από αυτή τη μελέτη, μπορεί να

συναχθεί το συμπέρασμα ότι τα κατεψυγμένα ψάρια που ερευνήθηκαν ήταν επιλέξιμα για εξαγωγικούς σκοπούς και επίσης ασφαλή για ανθρώπινη κατανάλωση.

Σε μία άλλη μελέτη των Tapia-Cammas et al. (2011) σχεδιάστηκε ένα πρωτόκολλο που βασίζεται σε multiplex (m-)PCR για την ταυτόχρονη ανίχνευση των κύριων θαλάσσιων βακτηριακών παθογόνων σε μονάδες εκτροφής σολομού της Χιλής: *Streptococcus phocae*, *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* και *Piscirickettsia salmonis*. Τα φορτία των μικροοργανισμών βρέθηκαν εντός των ορίων ευαισθησίας m-PCR και ήταν ίσα με 5,56 log CFU/g *V. anguillarum*, 4,10 log CFU/g *S. phocae* και 4,72 log CFU/g *A. salmonicida*. Ο προσδιορισμός που περιγράφεται σε αυτή τη μελέτη είναι ένα γρήγορο, ευαίσθητο και αποτελεσματικό εργαλείο για την ανίχνευση της παρουσίας *S. phocae*, *A. salmonicida*, *V. anguillarum* και *P. salmonis* ταυτόχρονα από τις μονάδες εκτροφής. Ως εκ τούτου, μπορεί να είναι μια χρήσιμη εναλλακτική λύση σε μεθόδους που βασίζονται σε καλλιέργεια για τη διάγνωση λοιμώξεων σε ψάρια που λαμβάνονται από μονάδες εκτροφής σολομού της Χιλής.

Η μελέτη των Abdallah-Ruiz et al. (2022) προσδιόρισε τα επίπεδα μικροβιακών δεικτών και τον επιπολασμό της *Listeria* spp. και *Listeria monocytogenes* σε μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας γατόψαρου. Δείγματα ζωντανών ψαριών, νερού και ιζημάτων αναλύθηκαν σε μονάδες εκτροφής. Τα ζωντανά ψάρια είχαν 2% επικράτηση της *Listeria monocytogenes*, ενώ το ίζημα και το νερό ήταν αρνητικά για τη *Listeria*. Το φορτίο των ζωντανών ψαριών ήταν κατά μέσο όρο 4,2 για OMX και 2,3 log CFU/g για τη *Listeria monocytogenes*, αντίστοιχα. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας σε φιλέτα, ο επιπολασμός της λιστερίας ήταν υψηλότερος στα φιλέτα πριν (57%) και μετά (97%) από την κατάψυξη από ό,τι στο δέρμα του ψαριού (10%) με μέσο φορτίο 2.4 log CFU/g σε μαχαίρια, πάγκους, ψυγεία και συσκευασία. Το νερό του ψύκτη της διεργασίας είχε υψηλότερο ($p \leq 0,05$) επιπολασμό σε *Listeria* από το καθαρό νερό

ψύκτη. Επομένως τα περισσότερα σημεία δειγματοληψίας, η *Listeria* spp. ήταν παρούσα σε υψηλά επίπεδα ($>2,4 \log \text{CFU/g}$).

Η μελέτη των Correia Peres Costa et al. (2020) είχε στόχο να χαρακτηρίσει μικροβιολογικά τη τσιπούρα Gilthead (*Sparus aurata*) και το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) που παράγονται σε δύο οικοσυστήματα στην Ανδαλουσία (Ισπανία): τις εκβολές του ποταμού Γουαδαλκιβίρ (La Puebla del Río, Σεβίλλη) (Α), και οι εκβολές του ποταμού Guadiana (Ayamonte, Huelva) (Β). Τα ψάρια και το νερό που συλλέχθηκαν αναλύθηκαν για μικροοργανισμούς. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων αποκάλυψε ότι οι μικροβιακές μετρήσεις για τις διαφορετικές μικροβιολογικές παραμέτρους δεν ήταν στατιστικά διαφορετικές για τον τύπο ψαριού. Αντίθετα, λαμβάνοντας υπόψη το ανατομικό μέρος, τα σπλάχνα παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις για τα *Enterobacteriaceae*, τα ολικά κολοβακτηρίδια και για *Staphylococcus* spp. Επιπλέον, η τοποθεσία Α έδειξε στο νερό και στα ψάρια υψηλότερα επίπεδα για βακτήρια γαλακτικού οξέος, αερόβια μεσόφιλα βακτήρια, Εντεροβακτηρίδια, ολικά κολοβακτηρίδια και *Staphylococcus* spp. Ανιχνεύθηκαν *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp και *Vibrio parahaemolyticus* σε φορτίο $1 \log \text{CFU/g}$ στις εκβολές ποταμών στη θέση Β. Η προγνωστική ανάλυση έδειξε ότι η αρχική μικροβιολογική ποιότητα θα μπορούσε να έχει αντίκτυπο στη διάρκεια ζωής του προϊόντος. Τα αποτελέσματα τονίζουν τη σημασία της πρόληψης της μικροβιολογικής μόλυνσης του νερού στα συστήματα παραγωγής, προκειμένου να διασφαλιστεί η ποιότητα και η ασφάλεια των ψαριών.

Οι Li et al. (2018) αξιολόγησαν το αποτέλεσμα κατά του βιοφίλμ των διόδων εκπομπής φωτός (LED) 405 nm έναντι της *Listeria monocytogenes* σε δείγματα σολομού στους 4, 15 και 25 °C. Για το σενάριο σχηματισμού βιοφίλμ, πλακίδιο από ανοξείδωτο χάλυβα (SS) ή ακρυλικό (AC) σε αποστειρωμένο δέρμα σολομού

εμβολιάστηκαν με *L. monocytogenes* και στη συνέχεια φωτίστηκαν με LED 405 nm σε κάθε θερμοκρασία για 8 h. Για το σενάριο του προσχηματισμένου βιοφίλμ, τα βιοφίλμ *L. monocytogenes* προ-σχηματίστηκαν σε κάθε πλακίδιο στους 25 °C για 24 ώρες και στη συνέχεια φωτίστηκαν σε κάθε θερμοκρασία, ακολουθούμενη από επεξεργασία με 200 ppm ένωση τεταρτοταγούς αμμωνίου (QAC) για 10 δευτερόλεπτα για συγκριτικούς λόγους. Ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία φωτισμού, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο φωτισμός LED 405 nm μείωσε σημαντικά ($P < 0,05$) τους πληθυσμούς κυττάρων πλαγκτονικού και βιοφίλμ στα πλακίδια SS και AC κατά τη διάρκεια του σχηματισμού βιοφίλμ. Δεν υπήρξαν σημαντικές ($P \geq 0,05$) αλλαγές στους πληθυσμούς των πλαγκτονικών κυττάρων και των βιοφίλμ, για το σενάριο προσχηματισμένου βιοφίλμ, ως απόκριση στον φωτισμό LED στους 4 και 15 °C. Ωστόσο, σημαντικές μειώσεις κυττάρων βιοφίλμ παρατηρήθηκαν σε πλακίδια SS και AC ως απόκριση στον φωτισμό LED στους 25 °C για 8 ώρες. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι ο φωτισμός LED 405 nm μπορεί να είναι αποτελεσματικός στον έλεγχο του *L. monocytogenes* κατά τη διάρκεια της διαδικασίας σχηματισμού βιοφίλμ και στην πρόκληση ευαισθησίας στην επεξεργασία με απολυμαντικό σε προσχηματισμένα κύτταρα βιοφίλμ. Έτσι, αυτή η μελέτη προτείνει τη δυνατότητα της τεχνολογίας LED στον έλεγχο των βιοφίλμ *L. monocytogenes* κατά την επεξεργασία και αποθήκευση έτοιμου προς κατανάλωση σολομού, ελαχιστοποιώντας την πιθανότητα διασταυρούμενης μόλυνσης από μολυσμένες επιφάνειες.

Η μόλυνση από *Listeria monocytogenes* των έτοιμων προς κατανάλωση τροφίμων όπως τα ψάρια κρύου καπνίσματος προκαλείται συχνά από υποτύπους παθογόνων που επιμένουν σε περιβάλλοντα επεξεργασίας τροφίμων. Ο σκοπός της μελέτης των Hansen et al. (2006) ήταν να προσδιορίσει εάν αυτοί οι υποτύποι *L. monocytogenes* μπορούν να βρεθούν στο εξωτερικό περιβάλλον, δηλ. έξω από τις

εγκαταστάσεις επεξεργασίας τροφίμων, και εάν επιβιώνουν καλύτερα στο υδάτινο περιβάλλον από άλλα στελέχη. Συνολικά συλλέχθηκαν 400 δείγματα από εξωτερικό περιβάλλον, σφαγεία ψαριών, ιχθυοκαλλιέργειες και καπνιστήριο. Το *L. monocytogenes* δεν ανιχνεύθηκε σε γλυκό νερό, αλλά ο επιπολασμός αυξήθηκε με τον βαθμό της ανθρώπινης δραστηριότητας: 2% σε ιχθυοτροφεία θαλασσινού νερού, 10% σε ιχθυοτροφεία γλυκού νερού, 16% σε σφαγεία ψαριών και 68% σε καπνιστήριο ψαριών. Τα ιχθυοτροφεία και τα σφαγεία επεξεργάζονταν τη δανική ιριδίζουσα πέστροφα, ενώ το καπνιστήριο χρησιμοποιήθηκε για νορβηγικό σολομό που εκτρέφονταν σε μονάδα. Δεν παρατηρήθηκε διακύμανση με την εποχή. Μέσα στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας, το μοτίβο των τυχαία ενισχυμένων τύπων πολυμορφικού DNA (RAPD) ήταν ομοιογενές, αλλά υπήρχε μεγαλύτερη ποικιλομορφία μεταξύ των απομονώσεων από το εξωτερικό περιβάλλον. Ο τύπος RAPD που κυριαρχεί στο εσωτερικό του καπνιστηρίου ψαριών βρέθηκε μόνο σποραδικά σε εξωτερικά περιβάλλοντα. Για να εξεταστεί η επιβίωση σε διαφορετικά περιβάλλοντα, τα στελέχη *L. monocytogenes* ή *Listeria innocua* εμβολιάστηκαν σε μικροποσότητες γλυκού και αλμυρού νερού. Οι αριθμοί παθογόνων μειώθηκαν με την πάροδο του χρόνου στο Instant Ocean και παρέμειναν σταθεροί στο αλατούχο διάλυμα ρυθμισμένο με φωσφορικά. Αντίθετα, οι μετρήσεις μειώθηκαν γρήγορα στο φυσικό θαλασσινό νερό και στο γλυκό νερό. Η μείωση του αριθμού ήταν πολύ πιο αργή όταν τα φυσικά νερά αποστειρώθηκαν σε αυτόκλειστο ή φιλτράρονταν (μέγεθος πόρων 0,2 μm), υποδεικνύοντας ότι η μείωση του παθογόνου στα φυσικά νερά αποδόθηκε σε έναν βιολογικό μηχανισμό, π.χ. στη βόσκηση των πρωτοζώων. Ένας χαμηλός επιπολασμός του *L. monocytogenes* βρέθηκε στο εξωτερικό περιβάλλον και τα βακτήρια δεν επιβίωσαν καλά σε φυσικά περιβάλλοντα. Ως εκ τούτου, το *L. monocytogenes* στο

εξωτερικό περιβάλλον που σχετίζεται με τη δανική επεξεργασία ψαριών είναι πιθανώς δευτερεύουσας σημασίας για το περιβάλλον μέσα σε μια μονάδα παραγωγής ψαριών.

Στην μελέτη των Li et al. (2019), η ανάπτυξη των *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* και *L. monocytogenes* ήταν 19,0% (613/3226), 3,4% (110/3226), 3,8% (124/3226) και 2,5% (80/32), αντίστοιχα. Το μέσο φορτίο στα θετικά δείγματα *V. Parahaemolyticus* που βρέθηκαν στο συσκευαστήριο ήταν 0,64 log CFU/g. Τα αποτελέσματα αυτής της ολοκληρωμένης έρευνας έδειξαν μόλυνση από τέσσερα παθογόνα σε ψάρια γλυκού νερού και οστρακοειδή στην Κίνα για πρώτη φορά. Η μελέτη έδειξε την ανάγκη για σωστό χειρισμό, αποθήκευση και μαγείρεμα ψαριών και οστρακοειδών του γλυκού νερού. Απαιτείται περαιτέρω αξιολόγηση και εφαρμογή μείωσης του κινδύνου για τη μείωση των τροφιμογενών ασθενειών στην Κίνα.

Οι Wiczorek & Osek (2017) εντόπισαν 57 από τα 301 (18,9%) δείγματα φρέσκων και καπνιστών ψαριών ως θετικά για *Listeria monocytogenes* στη μονάδα εκτροφής τους. Τα βακτήρια εντοπίστηκαν συχνότερα στον φρέσκο και καπνιστό σολομό (32,0% και 33,8% αντίστοιχα) καθώς και στον φρέσκο μπακαλιάρο (31,8%). Η μέση μόλυνση ήταν 3,66 logCFU/. Τα ληφθέντα αποτελέσματα παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με τη μόλυνση των ψαριών με *L. monocytogenes* που μπορεί να έχει επιπτώσεις στη δημόσια υγεία.

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, αρκετές μελέτες έχουν αξιολογήσει τη δυναμική ανάπτυξης του *L. monocytogenes* σε ελαφρώς επεξεργασμένα και έτοιμα προς κατανάλωση αλιευτικά προϊόντα που καταναλώνονται κυρίως στις σκανδιναβικές ευρωπαϊκές χώρες κατά την επεξεργασία τους στην μονάδα εκτροφής τους. Άλλα είδη ψαριών από την παραγωγή υδατοκαλλιέργειας παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω των σχετικών καταναλωτικών προτύπων και της προστιθέμενης αξίας τους στις

μεσογειακές χώρες, όπως η τσιπούρα και το λαβράκι. Στην παρούσα μελέτη των Bolívar et al. (2018), η ανάπτυξη του *L. monocytogenes* αξιολογήθηκε σε χυμό με βάση το ψάρι (FBJ) μέσω μετρήσεων οπτικής πυκνότητας (OD) σε ένα εύρος θερμοκρασίας 2–20°C υπό διαφορετικές συνθήκες ατμόσφαιρας (δηλαδή μειωμένο οξυγόνο και αερόβια) προσομοιώνοντας τις συνθήκες επεξεργασίας στη μονάδα εκτροφής. Το μοντέλο Baranyi και Roberts χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης (μ_{max}) από τις παρατηρούμενες καμπύλες ανάπτυξης. Τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν επικυρώθηκαν χρησιμοποιώντας πειραματικά δεδομένα ανάπτυξης για το *L. monocytogenes* σε φιλέτα τσιπούρας και λαβράκι αποθηκευμένα υπό στατικές και δυναμικές συνθήκες θερμοκρασίας. Συνολικά, τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν στο FBJ παρείχαν ασφαλείς προβλέψεις για την ανάπτυξη του *L. monocytogenes*. Το μοντέλο που δημιουργήθηκε υπό συνθήκες μειωμένου οξυγόνου, παρουσιάζει καλή απόδοση για την επαρκή πρόβλεψη της ανάπτυξης του *L. monocytogenes* σε προϊόντα ψαριών της Μεσογείου σε μονάδες εκτροφής.

Η μελέτη των Ganesh et al. (2010) διεξήχθη για την παρακολούθηση των συνολικών ετερότροπων βακτηρίων που υπάρχουν σε διαφορετικές Ημέρες Καλλιέργειας (DOC). Η παρουσία συγκεκριμένων ανθρώπινων παθογόνων ειδών *Vibrio* χρησιμεύει ως δείκτης ασφάλειας της δημόσιας υγείας του νερού και των τροφίμων που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση. Έτσι μια αξιολόγηση του *Vibrio* spp. διεξήχθη για να αξιολογηθεί η ποιότητα και η ασφάλεια της μονάδας εκτροφής ψαριών. Οι πληθυσμοί *Vibrio cholerae* στο ίζημα είναι υψηλοί $2,3 \times 10^7$ CFU/g στο 150η DOC και χαμηλοί σε $1,9 \times 10^7$ CFU/g στην 25η DOC. Το *Vibrio parahaemolyticus* στα ιζήματα ήταν υψηλό ($5,5 \times 10^7$ CFU/gm) στην 150η DOC και χαμηλό ($1,3 \times 10^7$ CFU/g) στην 25η DOC.

Τέσσερις μονάδες επεξεργασίας καπνιστών ψαριών χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπο σύστημα για τον χαρακτηρισμό των προτύπων μόλυνσης από *Listeria monocytogenes* σε περιβάλλοντα παραγωγής έτοιμων προς κατανάλωση τροφίμων. Κάθε μία από τις τέσσερις μονάδες επεξεργασίας δειγματοληπτόταν κάθε μήνα για περίπου 1 χρόνο από τους Thimothe et al. (2004). Σε κάθε δειγματοληψία, συλλέχθηκαν τέσσερα έως έξι ωμά ψάρια και τέσσερα έως έξι δείγματα τελικού προϊόντος από αντίστοιχες παρτίδες. Επιπλέον, συλλέχθηκαν 12 έως 14 περιβαλλοντικά δείγματα σφουγγαριών αρκετές ώρες μετά την έναρξη της παραγωγής σε περιοχές που επιλέχθηκαν ως πιθανές πηγές μόλυνσης. Δοκιμάστηκαν συνολικά 234 ωμά ψάρια, 233 τελικά προϊόντα και 553 περιβαλλοντικά δείγματα. *Listeria* spp. απομονώθηκε από το 16,7% των δειγμάτων ακατέργαστου ψαριού, το 9,0% των δειγμάτων τελικού προϊόντος και το 27,3% των περιβαλλοντικών δειγμάτων. Το *L. monocytogenes* απομονώθηκε από το 3,8% των δειγμάτων ακατέργαστου ψαριού (0 έως 10%, ανάλογα με το φυτό), το 1,3% των δειγμάτων τελικού προϊόντος (0 έως 3,3%) και το 12,8% των περιβαλλοντικών δειγμάτων (0 έως 29,8). %. Μεταξύ των περιβαλλοντικών δειγμάτων, το *L. monocytogenes* βρέθηκε στο 23,7% των δειγμάτων που ελήφθησαν από αποχετεύσεις, στο 4,8% των δειγμάτων που ελήφθησαν από επιφάνειες που έρχονται σε επαφή με τρόφιμα, στο 10,4% των δειγμάτων που ελήφθησαν από επιφάνειες επαφής των εργαζομένων (ποδιές, χέρια και χερούλια πόρτας) και το 12,3% των δειγμάτων που ελήφθησαν από άλλες επιφάνειες που δεν έρχονται σε επαφή με τρόφιμα. Συνολικά, ο επιπολασμός του *L. monocytogenes* στο φυτικό περιβάλλον έδειξε μια στατιστικά σημαντική ($P < 0,0001$) θετική σχέση με τον επιπολασμό αυτού του οργανισμού σε δείγματα τελικού προϊόντος. Οι μέθοδοι μοριακής υποτυποποίησης μπορούν να βοηθήσουν στον εντοπισμό των οδών μόλυνσης του *L. monocytogenes* ειδικά για τα φυτά και έτσι να παρέχουν τη γνώση που

απαιτείται για την εφαρμογή βελτιωμένων στρατηγικών ελέγχου του *L. monocytogenes*.

Πίνακας 3 Μελέτες σχετικά με τις περιοχές που ανιχνεύθηκαν τα *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια, Μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων)

Log CFU/g	Συσκευαστήρια	Καπνιστήρια	Μονάδες εκτροφής	Πηγή	Χώρα
<i>Listeria monocytogenes</i>	2.6		2.4	Abdallah-Ruiz et al. (2022)	ΗΠΑ
	1.1		1	Correia Peres Costa et al. (2020)	Ισπανία
	5.8	5	5.8	Li et al. (2018)	Σιγκαπούρη
	5.6	5.5	5.2	Hansen et al. (2006)	Δανία
	4.8	4.56		Eklund et al., 1995	ΗΠΑ
	4.6		3.66	Wieczorek & Osek (2017)	Πολωνία
	5.22		4.02	Bolívar et al. (2018)	Ισπανία

		4.85	4.01	Thimothe et al. (2004)	ΗΠΑ
		1.15	1.65	Tey et al. (2015)	Ταϊβάν
<i>Vibrio cholerae</i>	0.5	0.5	1	Sanjee & Karim (2016)	Μπαγκλαντές
		1.25	7	Ganesh et al. (2010)	Ινδία
<i>Vibrio vulnificus</i>		0.5	1	Tey et al. (2015)	Ταϊβάν
		4.9	2.6	Tey et al. (2015)	Ταϊβάν
<i>Vibrio</i>		0.5	2	Herrera et al. (2006)	Ισπανία
<i>parahaemolyticys</i>		0.64	2	Li et al. (2019)	Κίνα
	0.5	0.5	1	Correia Peres Costa et al. (2020)	Ισπανία

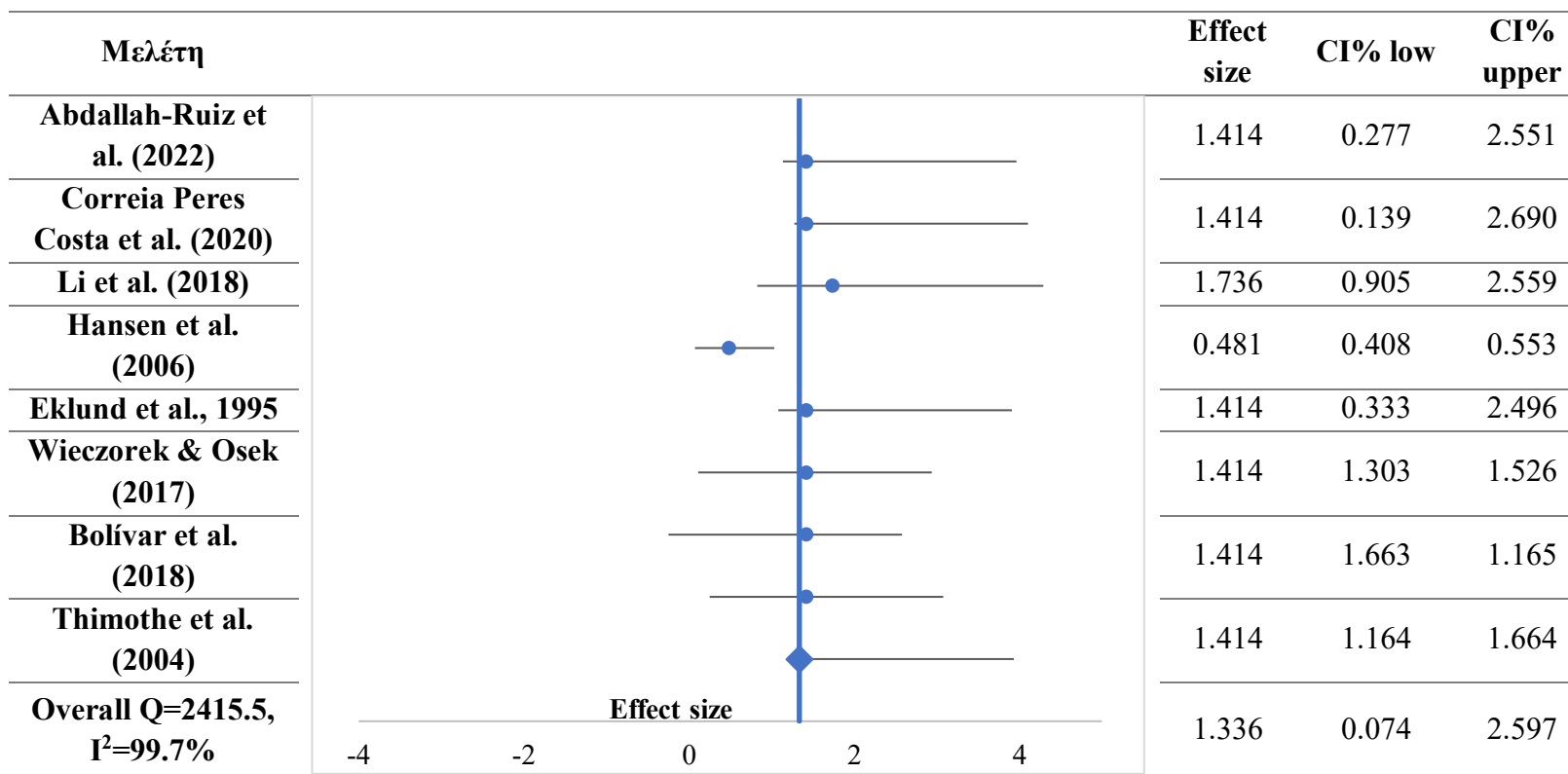
	2.48	0.88	7.39	Ganesh et al. (2010)	Ινδία
<i>Vibrio anguillarum</i>	2.5	0.65	5.56	Tapia-Cammas et al. (2011)	Χιλή
	0,5			Sanjee & Karim (2016)	Μπαγκλαντές
<i>Salmonella spp</i>			1	Correia Peres Costa et al. (2020)	Ισπανία

3.1.1 Μετα-ανάλυση για τη συγκέντρωση του συνολικού φορτίου του *L. monocytogenes* στις περιοχές που ανιχνεύθηκε

Σύμφωνα με τα παραπάνω άρθρα, η συγκέντρωση του συνολικού φορτίου (log CFU/g) του παθογόνου μικροοργανισμού *Listeria monocytogenes* καταγράφηκε από τις περιοχές που ανιχνεύθηκε όπως τα συσκευαστήρια, τα καπνιστήρια, και μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων.

Σε αυτήν την μετα-ανάλυση το συνολικό φορτίο που βρέθηκε στα συσκευαστήρια και στα καπνιστήρια θεωρήθηκε ως ένας μέσος όρος λόγω του περιορισμένου αριθμού των μελετών που εντοπίστηκαν και συγκρίθηκαν ως προς το φορτίο που ανιχνεύθηκε στις μονάδες εκτροφής των ιχθυηρών. Τα αποτελέσματα ανίχνευσης του *L. monocytogenes* προσδιορίστηκαν στις μελέτες που συμπεριλήφθηκαν (Πίνακας 3). Η συνολική εκτίμηση του μεγέθους της επίδρασης (effect size) για το *L. monocytogenes* στις περιοχές που ανιχνεύθηκε όπως συσκευαστήρια, καπνιστήρια, και μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων είναι 1,336 (95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI]: 0,074–2,594). Για τον έλεγχο της ετερογένειας, υπολογίστηκαν τα ακόλουθα στατιστικά στοιχεία: Τιμή Cochran Q ($Q = 2415,5$), $p < 0,001$ και $I^2 = 99,7\%$. Το Forest Plot δίνει τη γραφική παρουσίαση του αποτελέσματος και ο Πίνακας 4 συνοψίζει τις στρατηγικές αποτελεσμάτων μετα-ανάλυσης.

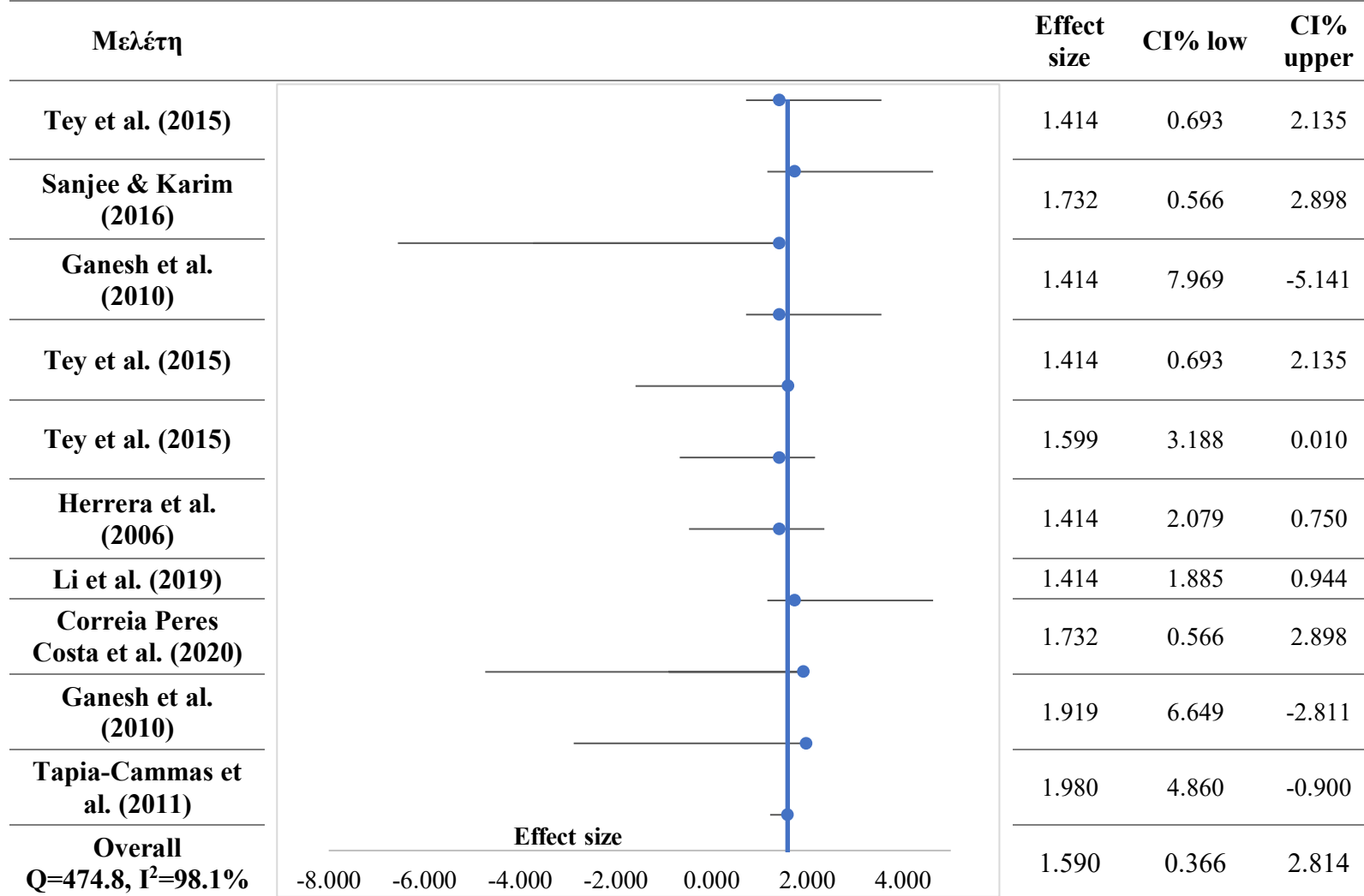
Πίνακας 4 Forest plot μετα-ανάλυσης του *L. monocytogenes* σχετικά με τις περιοχές που ανιχνεύθηκε (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια, Μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων)



3.1.2 Μετα-ανάλυση για τη συγκέντρωση του συνολικού φορτίου του *Vibrio* spp. στις περιοχές που ανιχνεύθηκε

Σύμφωνα με τα παραπάνω άρθρα, η συγκέντρωση του συνολικού φορτίου (log CFU/g) του παθογόνου μικροοργανισμού *Vibrio* spp. με ποιο συχνά το *V. cholerae*, *V. Vulnificus*, *V. Parahemolyticus* και *Vibrio anguillarum*, καταγράφηκε από τις περιοχές που ανιχνεύθηκε όπως τα συσκευαστήρια, τα καπνιστήρια, και μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων.

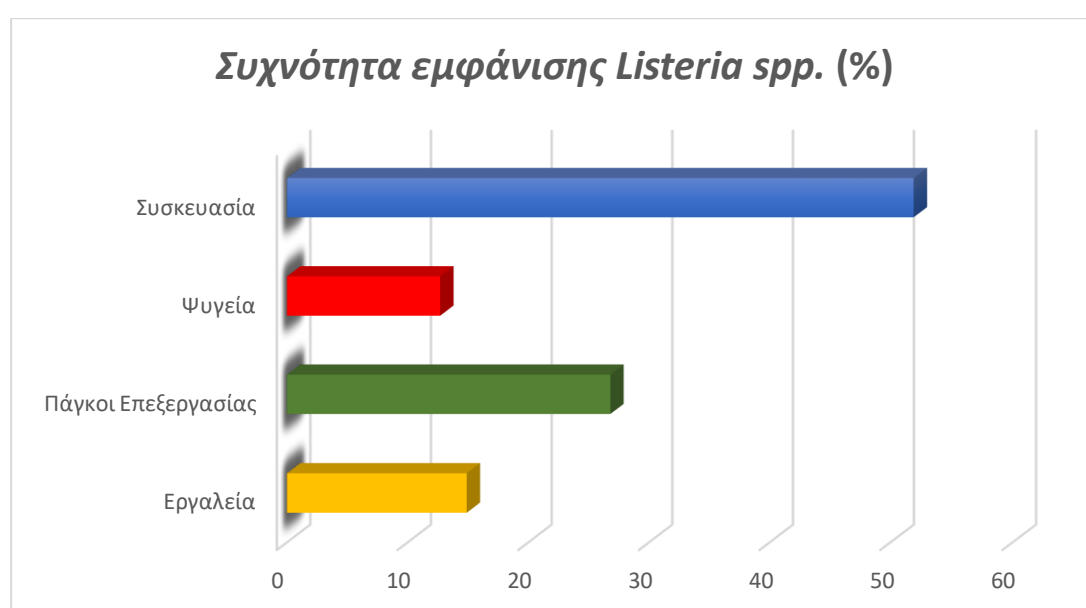
Σε αυτήν την μετα-ανάλυση το συνολικό φορτίο που βρέθηκε στα συσκευαστήρια και στα καπνιστήρια θεωρήθηκε ως ένας μέσος όρος λόγω του περιορισμένου αριθμού των μελετών που εντοπίστηκαν και συγκρίθηκαν ως προς το φορτίο που ανιχνεύθηκε στις μονάδες εκτροφής των ιχθυηρών. Τα αποτελέσματα ανίχνευσης του *Vibrio* spp. προσδιορίστηκαν στις μελέτες που συμπεριλήφθηκαν (Πίνακας 3). Η συνολική εκτίμηση του μεγέθους της επίδρασης (effect size) για το *Vibrio* spp. στις περιοχές που ανιχνεύθηκε όπως συσκευαστήρια, καπνιστήρια, και μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων 1,590 (95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI]: 0,366–2,814). Για τον έλεγχο της ετερογένειας, υπολογίστηκαν τα ακόλουθα στατιστικά στοιχεία: Τιμή Cochran Q ($Q=474.8$), $p < 0,001$ και $I^2 = 98,1\%$. Το Forest Plot δίνει τη γραφική παρουσίαση του αποτελέσματος και ο Πίνακας 5 συνοψίζει τις στρατηγικές αποτελεσμάτων μετα-ανάλυσης.



Πίνακας 5 Forest plot μετα-ανάλυσης του *Vibrio* spp. σχετικά με τις περιοχές που ανιχνεύθηκε (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια, Μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων)

3.2 Συστηματική ανασκόπηση για τις πηγές που ανιχνεύθηκαν τα *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp

Σύμφωνα με τη πληροφορία που συλλέχθηκε από ερευνητικά άρθρα παρατηρήθηκε ότι, εκτός από τα ιχθυηρά και το περιβάλλον που βρίσκονται (μονάδες εκτροφής, συσκευαστήρια, καπνιστήρια), υπάρχουν και άλλες πηγές μόλυνσης όπως τα εργαλεία, οι πάγκοι επεξεργασίας, τα ψυγεία – χώροι αποθήκευσης και οι συσκευασίες με τις οποίες να ξεπερνούν το 10% της επιμόλυνσης από *Listeria monocytogenes* (Provincial et al. 2013 & Herrera et al. 2006)). Στον πίνακα 6 παρουσιάζονται τα ποσοστά της συχνότητας εμφάνισης του παθογόνου μικροοργανισμού *Listeria* spp. στις πηγές που προαναφέρθηκαν.



Πίνακας 6 Πηγές προέλευσης και συχνότητα εμφάνισης *Listeria monocytogenes*.

Στη μελέτη των Zarei et al. (2012), η πολυμερής αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), ως ταχεία και οικονομικά αποδοτική μέθοδος, χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του επιπολασμού αυτών των παθογόνων σε 245 δείγματα ωμά/φρέσκα, κατεψυγμένα και έτοιμα προς κατανάλωση (RTE) προϊόντα θαλασσινών που διατίθενται στο Ιράν. Ο επιπολασμός του *L. monocytogenes* σε δείγματα ωμού/φρέσκου ψαριού ήταν 1,4%, ενώ το 2,9% των ωμών/φρέσκων ψαριών και το 7,1% των δειγμάτων γαρίδας ήταν μολυσμένα με *V. parahaemolyticus*. Δεν βρέθηκε μόλυνση με *L. monocytogenes* και *V. parahaemolyticus* σε κατεψυγμένα και RTE προϊόντα θαλασσινών. Επιπλέον, τα ευρήματα έδειξαν ότι το 2,9% των δειγμάτων ψαριών, το 4,3% των δειγμάτων γαρίδας και το 1,5% των δειγμάτων RTE ήταν μολυσμένα με *Salmonella* spp. Λόγω του δυνητικού κινδύνου αυτών των παθογόνων βακτηρίων, η multiplex PCR μπορεί να προσφέρει μια γρήγορη και οικονομικά αποδοτική μέθοδο για την επιτήρηση αυτών των παθογόνων στα προϊόντα θαλασσινών.

Οι Shin et al. (2004) εξέτασαν την αποτελεσματικότητα του αντιμικροβιακού πάγου στη μείωση των τροφιμογενών παθογόνων στην επιφάνεια των ψαριών. Αντιμικροβιακός πάγος που περιέχει διοξείδιο του χλωρίου (ClO₂) χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο των τροφιμογενών παθογόνων σε εργαστηριακά μέσα και στο δέρμα των ψαριών. Τα στελέχη *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium* και *Listeria monocytogenes* υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με αντιμικροβιακό πάγο για 120 λεπτά σε δέρμα ψαριού σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια επώαστηκαν για απαρίθμηση. Όταν εφαρμόστηκε αντιμικροβιακός πάγος (100 ppm ClO₂) σε δέρμα ψαριού για 120 λεπτά, παρατηρήθηκε ολική μείωση του *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium* και *L. monocytogenes* κατά 4,8, 2,6 και 3,3 log, αντίστοιχα. Επομένως, το αρχικό φορτίο των τροφιμογενών παθογόνων μειώθηκε με αντιμικροβιακό πάγο και

το χαμηλότερο μικροβιακό επίπεδο διατηρήθηκε κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Η εφαρμογή αντιμικροβιακού πάγου είναι μια απλή και αποτελεσματική μέθοδος για την ασφαλή συντήρηση των ψαριών που θα μπορούσε η βιομηχανία να λάβει υπόψη της.

Οι Herrera et al. (2006) ερευνήσαν την παρουσία τροφιμογενών βακτηριακών παθογόνων παραγόντων στις εκτεθειμένες προσυσκευασμένες μερίδες φρέσκων θαλάσσιων ψαριών. Διεξήχθη έρευνα σε 50 διαφορετικά δείγματα φρέσκων θαλάσσιων ψαριών (κονγκέρ, ξιφία, γλώσσα, σφυρίδα και νταούκι) σε διάστημα 5 μηνών. Δίσκοι με φιλέτα ελήφθησαν σε επίπεδο λιανικής και δοκιμάστηκαν για παρουσία τροφιμογενών βακτηριακών παθογόνων. Δεν ανιχνεύθηκαν *Vibrio cholerae* και *Salmonella*. Δύο δείγματα (4%) έδωσαν στελέχη *Vibrio* που έφεραν ένα θραύσμα DNA ειδικό για το *Vibrio parahaemolyticus*. Η παρουσία της *Listeria monocytogenes* ήταν 10% με μέσο φορτίο 2 log CFU/g. Γενικά οι συσκευασίες ωμού ψαριού έφεραν βακτήρια που μπορούν να προκαλέσουν τροφιμογενείς ασθένειες. Αυτή η μελέτη αποκάλυψε ότι τα ωμά ψάρια που πωλούνται στην Ισπανία θα μπορούσαν να είναι πηγή τροφιμογενών βακτηριακών παθογόνων. Απαιτούνται βελτιώσεις στον χειρισμό και την επεξεργασία για να ελαχιστοποιηθεί ο επιπολασμός των παθογόνων βακτηρίων.

Σε μία άλλη μελέτη διερευνήθηκε η επίδραση της σύνθεσης αερίου εργασίας (GC), του χρόνου επεξεργασίας (TT) και του χρόνου μετα-επεξεργασίας (PTT) του πλάσματος υψηλής τάσης ψυχρής ατμοσφαιρικής πίεσης (HVCAP) στην αντιβακτηριακή αποτελεσματικότητα έναντι των μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοίωση (Olatunde et al., 2019). Το GC δεν είχε σημαντική επίδραση στις αντιβακτηριακές ιδιότητες του HVCAP έναντι των *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* και *Escherichia coli* ($p>0,05$). Από την άλλη πλευρά, το TT και το PTT επηρέασαν σημαντικά τις αντιβακτηριακές ιδιότητες του HVCAP ($p<0,05$). Όταν τα φιλέτα ασιατικού

λαβρακίου υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με HVCAP που δημιουργήθηκε με χρήση αργού και οξυγόνου (90:10) για διάφορους χρόνους (2,5–10 λεπτά), ο συνολικός αριθμός βιώσιμων μειώθηκε κατά 1,0 logCFU/g. Το φορτίο των *Vibrio parahaemolyticus* και *Listeria monocytogene* μειώθηκε κατά 0.5 logCFU/g μετά από επεξεργασία 1 ώρας με HVCAP. Έτσι, η επεξεργασία HVCAP θα μπορούσε να παρατείνει τη διάρκεια ζωής των φιλέτων ιχθυηρών.

Οι οδοί μόλυνσης της *Listeria monocytogenes* σε εργοστάσια επεξεργασίας σολομού ψυχρού καπνίσματος διερευνήθηκαν από τους Fonnesbech Vogel et al., (2001) αναλύοντας 3.585 δείγματα από διαφορετικά προϊόντα και περιβάλλοντα επεξεργασίας. Το επίπεδο μόλυνσης του προϊόντος στο εργοστάσιο I κυμαινόταν από 31 έως 85%, και δεν εντοπίστηκε *L. monocytogenes* σε ωμό ψάρι (30 ψάρια λήφθηκαν δείγματα). Στη μονάδα II, τα επίπεδα τόσο του ωμού ψαριού όσο και της μόλυνσης του προϊόντος κυμαίνονταν από 0 έως 25% (16 από 185 δείγματα ωμού ψαριού και 59 από 1.000 δείγματα προϊόντος ήταν θετικά για *L. monocytogenes*). Συνολικά 429 στελέχη *L. monocytogenes* συγκρίθηκαν στη συνέχεια με τυχαία ενισχυμένο πολυμορφικό DNA (RAPD) και βρέθηκαν 55 διαφορετικοί τύποι RAPD. Οι τύποι RAPD που εντοπίστηκαν στα προϊόντα ήταν πανομοιότυποι με τους τύπους που βρέθηκαν στον εξοπλισμό επεξεργασίας και στο περιβάλλον επεξεργασίας, υποδηλώνοντας ότι η μόλυνση του τελικού προϊόντος (σολομός ψυχρού καπνίσματος) και στα δύο εργοστάσια (αλλά κυρίως στο εργοστάσιο I) οφειλόταν σε μόλυνση κατά τη διάρκεια επεξεργασία και όχι μόλυνση από ωμό ψάρι. Ωστόσο, δεν μπορούσε να αποκλειστεί η πιθανότητα ότι το ωμό ψάρι ήταν σημαντική πηγή μόλυνσης του εξοπλισμού επεξεργασίας και του περιβάλλοντος. Μόλυνση του προϊόντος σημειώθηκε και σε συγκεκριμένες περιοχές (τις περιοχές άλμης και τεμαχισμού). Στο εργοστάσιο I, ο ίδιος τύπος RAPD (τύπος RAPD 12) βρέθηκε σε μια περίοδο 4 ετών, υποδεικνύοντας ότι

μια εγκατεστημένη χλωρίδα παρέμεινε και δεν εξαλείφθηκε με συνήθεις διαδικασίες υγιεινής. Στο εργοστάσιο II, όπου ο επιπολασμός του *L. monocytogenes* ήταν πολύ χαμηλότερος, κανένας τύπος RAPD δεν παρέμεινε για μεγάλες χρονικές περιόδους και απομονώθηκαν αρκετοί διαφορετικοί τύποι RAPD *L. monocytogenes*. Αυτό δείχνει ότι οι επίμονες καταπονήσεις μπορούν να αποφευχθούν με τον αυστηρό καθαρισμό και την υγιεινή.

Το *Listeria* spp. και η μόλυνση από *Listeria monocytogenes* του κρύου καπνιστού σολομού (n=125) και του περιβάλλοντος επεξεργασίας του (n=522) αξιολογήθηκαν κατά τη διάρκεια ερευνών των Gudmundsdóttir et al. (2005) που πραγματοποιήθηκαν το 1997-1998 και το 2001 καθώς και σε δείγματα τελικών προϊόντων που αναλύθηκαν το 2001. Οι συνολικές συχνότητες *Listeria* spp. και *L. monocytogenes* σε δείγματα από όλες τις πηγές ήταν 15,1% και 11,3%, αντίστοιχα, αλλά η συχνότητα εμφάνισης της *L. monocytogenes* στα τελικά προϊόντα σολομού ψυχρού καπνίσματος ήταν μόνο 4%. Συνολικά 201 απομονωμένα στελέχη *L. monocytogenes* χαρακτηρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση γέλης παλμικού πεδίου (PFGE) προκειμένου να εντοπιστεί η μόλυνση από *L. monocytogenes* στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η πρώτη ύλη, τα δάπεδα και οι αποχετεύσεις είναι πιθανές πηγές του *L. monocytogenes* που βρίσκεται σε προϊόντα σολομού ψυχρού καπνίσματος. Αυτό υπογραμμίζει την ανάγκη επανεξέτασης του σχεδιασμού και του καθαρισμού των εγκαταστάσεων και του εξοπλισμού μεταποίησης και της συμπεριφοράς του προσωπικού. Η παρεμπόδιση της εισαγωγής και εξάπλωσης του οργανισμού μέσω του περιβάλλοντος επεξεργασίας είναι απαραίτητη για να αποφευχθεί η διακύβευση της ασφάλειας του τελικού προϊόντος.

Οι Provincial et al. (2013) μελέτησαν την επίδραση της συσκευασίας φρέσκων φιλέτων τσιπούρας σε διαφορετικές τροποποιημένες ατμόσφαιρες (υψηλά επίπεδα CO₂

σε συνδυασμό με N₂) στη συμπεριφορά της *Listeria monocytogenes* και της *Salmonella Enteritidis*. Δύο διαφορετικά στελέχη από κάθε παθογόνο απλώθηκαν πάνω από τα φιλέτα τσιπούρας που αποθηκεύτηκαν είτε στους 0°C είτε στους 4°C για 16 ημέρες υπό τυπικές συνθήκες φωτισμού σούπερ μάρκετ (14 ώρες την ημέρα). Οι ατμόσφαιρες που ερευνήθηκαν ήταν 60% CO₂/40% N₂, 70% CO₂/30% N₂, 80% CO₂/20% N₂ και αέρας ως έλεγχος. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι όλες οι συγκεντρώσεις CO₂ που χρησιμοποιήθηκαν ευνόησαν τον έλεγχο των παθογόνων βακτηρίων, σε σύγκριση με τις συνθήκες αέρα ειδικά, όταν συνδυάζονται με αποθήκευση στους 0 °C. Και οι δύο θερμοκρασίες αποθήκευσης (0 °C και 4 °C) οδήγησαν σε μείωση του αριθμού της σαλμονέλας. Τα αποτελέσματα ήταν πιο σημαντικά για τα στελέχη *Listeria*, επειδή κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης στους 4 °C ο αριθμός *Listeria* αυξήθηκε σε όλες τις παρτίδες, ενώ για δείγματα που αποθηκεύτηκαν στους 0 °C παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στο μικροβιακό φορτίο εκτός από την παρτίδα ελέγχου.

Διερευνήθηκε από τους Papaioannou et al. (2018) η προοδευτική ικανότητα ενός μίγμα έξι στελεχών *L. monocytogenes* να σχηματίζει βιοφίλμ σε ανοξείδωτο χάλυβα (SS) που εντοπίζεται σε μεταλλικούς πάγκους και εργαλεία υπό συνθήκες προσομοίωσης επεξεργασίας ψαριών, μαζί με την ανοχή στα βιοκτόνα των αναπτυγμένων κοινοτήτων. Για να γίνει αυτό, τα παθογόνα βακτήρια αφέθηκαν να σχηματίσουν βιομεμβράνες σε κουπόνια SS που επωάστηκαν στους 15 °C, για έως και 240 ώρες, σε περιοδικά ανανεώσιμο υπόστρωμα ψαριών, που παρασκευάστηκε με υδρόβια εκχύλιση σάρκας τσιπούρας σε κατάλληλες συνθήκες. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης εφαρμόστηκε επίσης για την παρακολούθηση της δυναμικής σχηματισμού βιοφίλμ και των βιοκτόνων ενεργειών κατά του βιοφίλμ. Ο μέγιστος πληθυσμός βιοφίλμ του *L. monocytogenes* (περίπου 6 log CFU/g) επιτεύχθηκε στις 192

ώρες επώασης, ενώ υπό την παρουσία *Pseudomonas* spp., ο σχηματισμός βιοφίλμ του είτε παρεμποδίστηκε ελαφρά είτε ευνοήθηκε, ανάλογα με την ημέρα επώασης. Ωστόσο, όταν υπήρχε όλη η ιθαγενής μικροχλωρίδα των ψαριών, ο σχηματισμός βιοφίλμ από το παθογόνο παρεμποδίστηκε σε μεγάλο βαθμό και δεν ξεπέρασε ποτέ τα 3 log CFU/g μέχρι το τέλος του πρώτες 96 ώρες επώασης. Όλες οι θεραπείες απολύμανσης που δοκιμάστηκαν εδώ, αποτελούμενες από δύο κοινά βιοκτόνα της βιομηχανίας τροφίμων που εφαρμόστηκαν σταδιακά για 15 έως 30 λεπτά, ήταν ανεπαρκείς έναντι των κοινοτήτων βιοφίλμ ενός είδους *L. monocytogenes*, με την αντίσταση του τελευταίου να αυξάνεται σημαντικά από την 3η έως την 7η ημέρα επώασης. Ωστόσο, όλες αυτές οι θεραπείες δεν οδήγησαν σε ανιχνεύσιμα κύτταρα *L. monocytogenes* κατά την εφαρμογή τους έναντι των κοινοτήτων μικτής καλλιέργειας που περιέχουν επίσης την αυτόχθονη μικροχλωρίδα των ψαριών, κάτι που πιθανώς σχετίζεται με το χαμηλό επίπεδο προσκολλημένου πληθυσμού αυτών των παθογόνων κυττάρων πριν από την απολύμανση ($< 10^2$ CFU/ g) υπό τέτοιες συνθήκες μικτής καλλιέργειας. Συνολικά, όλα αυτά τα αποτελέσματα διευρύνουν τις γνώσεις μας τόσο για τη δυναμική του πληθυσμού όσο και για την αντοχή των κυττάρων βιοφίλμ *L. monocytogenes* υπό συνθήκες που μοιάζουν με αυτές που συναντώνται στη βιομηχανία θαλασσινών και θα πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά το σχεδιασμό και την εφαρμογή αποτελεσματικών στρατηγικών κατά του βιοφίλμ.

Ο στόχος της εργασίας των Costa et al. (2019) ήταν η ποσοτική αξιολόγηση της επίδρασης του *Lactobacillus sakei* CTC494 (βιοπροστατευτικό στέλεχος που παράγει σακασίνη) έναντι της *Listeria monocytogenes* στο χυμό ψαριών και η εφαρμογή και επικύρωση τριών μοντέλων μικροβιακής αλληλεπίδρασης με φιλέτα τσιπούρας (*Sparus aurata*) σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας αποθηκευμένα σε ισοθερμικές και μη ισοθερμικές συνθήκες. Το *L. sakei* CTC494 ανέστειλε την

ανάπτυξη του *L. monocytogenes* όταν ήταν ταυτόχρονα παρόν στη μήτρα (χυμός ψαριού και φιλέτα ψαριού) σε διαφορετικές αναλογίες παθογόνου:βιοπροστατευτή (δηλ. 1:1, 1:2 και 1:3). Όσο υψηλότερη είναι η αναλογία, τόσο ισχυρότερη είναι η αναστολή της ανάπτυξης του *L. monocytogenes* με αρχικό μέσο πλυθισμό σε συσκευασμένο ψάρι 5,68 log cfu/g, με την αναλογία 1:3 να μην αποδίδει ανάπτυξη του παθογόνου. Η μέγιστη πυκνότητα πληθυσμού (N_{max}) ήταν η πιο επηρεασμένη παράμετρος για το *L. monocytogenes* σε όλες τις αναλογίες εμβολιασμού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μικροβιολογικής και οργανοληπτικής ανάλυσης, ένα αρχικό επίπεδο εμβολιασμού 4 log cfu/g για το *L. sakei* CTC494 θα ήταν μια κατάλληλη βιοπροστατευτική στρατηγική χωρίς να διακυβεύεται η οργανοληπτική ποιότητα του ψαριού. Έτσι, υποστηρίζεται ο σχεδιασμός και η βελτιστοποίηση στρατηγικών βιοπροστατευτικής καλλιέργειας έναντι του *L. monocytogenes* σε ελάχιστα επεξεργασμένα προϊόντα ψαριών κατά τη συσκευασία τους.

Διερευνήθηκε από τους Masniyom et al. (2006) η επίδραση του πυροφωσφορικού (PP) σε συνδυασμό με τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) (80% CO₂, 10% O₂ και 10% N₂) στην επιβίωση της *Listeria monocytogenes* που εμβολιάστηκε σε φιλέτα λαβράκι αποθηκευμένα στους 4 °C. Η προεπεξεργασία PP έδειξε τη συνεργιστική επίδραση στη μικροβιολογική αναστολή με το MAP, όπως αποδεικνύεται από τους μειωμένους αριθμούς TVC και LAB, σε σύγκριση με τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στον αέρα και αυτά που διατηρήθηκαν υπό MAP. Οι μικροβιολογικές αλλαγές των φιλέτων λαβρακίου που εμβολιάστηκαν με διαφορετικά επίπεδα *L. monocytogenes* (10³ και 10⁵ cfu/g) παρακολουθήθηκαν κατά την αποθήκευση. Η προκαταρκτική αγωγή με PP επέκτεινε τη φάση υστέρησης του *L. monocytogenes*. Ως εκ τούτου, το MAP σε συνδυασμό με την προεπεξεργασία PP όχι

μόνο καθυστέρησε τη μικροβιολογική φθορά των φιλέτων λαβρακίου αλλά επίσης μείωσε ή αδρανοποίησε ορισμένα παθογόνα βακτήρια σε κάποιο βαθμό.

Η μελέτη των Woraprayote et al. (2018) είχε ως στόχο να αναπτύξει μια αντιμικροβιακή βιοδιασπώμενη συσκευασία τροφίμων για τον έλεγχο των παθογόνων παραγόντων στα φιλέτα ψαριού pangasius, ένα από τα πιο καταναλωτικά ψάρια γλυκού νερού στον κόσμο. Το Bacteriocin 7293 (Bac7293), μια νέα βακτηριοσίνη από την *Weissella hellenica* BCC 7293, επικαλύφθηκε με διάχυση σε βιοσύνθετο φιλμ σωματιδίων πολυ (γαλακτικού οξέος)/πριονιδιού (PLA/SP) με τη μέγιστη ποσότητα $19,54 \pm 2,87$ $\mu\text{g}/\text{cm}$. Σύμφωνα με την τυπική μέθοδο δοκιμών JIS Z 2801:2000, η παραγόμενη μεμβράνη PLA/SP εμποτισμένη με Bac7293 (PLA/SP + Bac7293) ανέστειλε αποτελεσματικά τόσο τα θετικά κατά Gram (*Listeria monocytogenes* και *Staphylococcus aureus*) όσο και τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια (*Pseudomonas*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* και *Salmonella Typhimurium*) που έχουν θεωρηθεί ως λόγος για την απόρριψη των φιλέτα ψαριού pangasius. Αυτό το αντιμικροβιακό φιλμ ανέστειλε την ανάπτυξη των μικροοργανισμών-στόχων κατά περίπου $2-5 \log \text{CFU}/\text{g}$, ανάλογα με τα βακτηριακά στελέχη, σε σύγκριση με τον έλεγχο, τόσο in vitro όσο και σε φιλέτα ψαριού pangasius μέσω δοκιμασίας πρόκλησης. Επομένως μπορεί να προταθεί η εφαρμογή του PLA/SP + Bac7293 ως καλή αντιμικροβιακή συσκευασία για φιλέτα ψαριού pangasius.

Δώδεκα παρτίδες φρέσκων φιλέτα ιριδίζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) και 10 παρτίδες φρέσκου σολομού κομμένα σε φέτες (*Salmo salar*) και προσυσκευασμένα σε δίσκους τυλιγμένους με διαπερατή από οξυγόνο μεμβράνη ελήφθησαν αμέσως μετά τη συσκευασία από δύο μονάδες παραγωγής που διαθέτουν εγκαταστάσεις συσκευασίας στο εργοστάσιο από τους González-Rodríguez et al. (2002). Κατά την αποθήκευση στους 3°C , το *Listeria innocua* ανιχνεύθηκε σε οκτώ

παρτίδες φιλέτα πέστροφας μετά από αποθήκευση 4 ημερών. Το *L. monocytogenes* ανακτήθηκε από μία παρτίδα επίσης μολυσμένη με *L. innocua*. Οι αρχικοί αριθμοί μονάδων *L. monocytogenes* ήταν σημαντικά ($p<0,05$) χαμηλότεροι στα φιλέτα πέστροφας ($3,35\pm0,62 \log \text{ cfu g}^{-1}$) από ότι στις φέτες σολομού ($4,20\pm0,89 \log \text{ cfu g}^{-1}$). Και στα δύο προϊόντα ψαριών, αυτά τα βακτήρια αυξήθηκαν σημαντικά ($p<0,05$) μέχρι να αλλοιωθούν.

Πίνακας 7 Μελέτες σχετικά με τις πηγές που ανιχνεύθηκαν τα *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp (μαχαίρια- εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικοί πάγκοι, συσκευασίες, ψυγεία)

Log CFU/g	Εργαλεία	Πάγκοι Επεξ.	Ψυγεία	Συσκευασία	Αναφορά	Χώρα
<i>Listeria monocytogenes</i>	2.4	2.5	2.4	2.4	Abdallah-Ruiz et al. (2022)	ΗΠΑ
		2.4		2.6	Zarei et al. (2012)	Ιράν
		5.5		5.9	Shin et al. (2004)	ΗΠΑ
		2.4		2	Herrera et al. (2006)	Ισπανία
		5.58		6.23	Olatunde et al., 2019	Ταϊλάνδη
	2.6	2.65	2.7	2.8	Fonnesbech Vogel et al., (2001)	Δανία
	2.5	2.6	2.9	2.4	Gudmundsdóttir et al. (2005)	Ισλανδία

		3.5	3.8	Eklund et al., 1995	ΗΠΑ
		2.8	6.6	Provincial et al. (2013)	Ισπανία
6	6		5.8	Papaioannou et al. (2018)	Ελλάδα
6	6		5.68	Costa et al. (2019)	Ισπανία
		2.6	3	Masniyom et al. (2006)	Ταϊλάνδη
2.4	2.4		5	Masniyom et al. (2006)	Ταϊλάνδη
		2.5	4.78	Woraprayote et al. (2018)	Ταϊλάνδη
2.4	2.4		3.78	González- Rodríguez et al. (2002)	Ισπανία
		2.5	2.88	Thimothe et al. (2004)	ΗΠΑ

<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2.5	Zarei et al. (2012)	Ιράν
	2,0	Herrera et al. (2006)	Ισπανία
	6,0	Olatunde et al., 2019	Ταϊλάνδη
<i>Salmonella spp</i>	1,8	Zarei et al. (2012)	Ιράν
	4,2	Shin et al. (2004)	ΗΠΑ
	6,3	Provincial et al. (2013)	Ισπανία
	3.03	Woraprayote et al. (2018)	Ταϊλάνδη

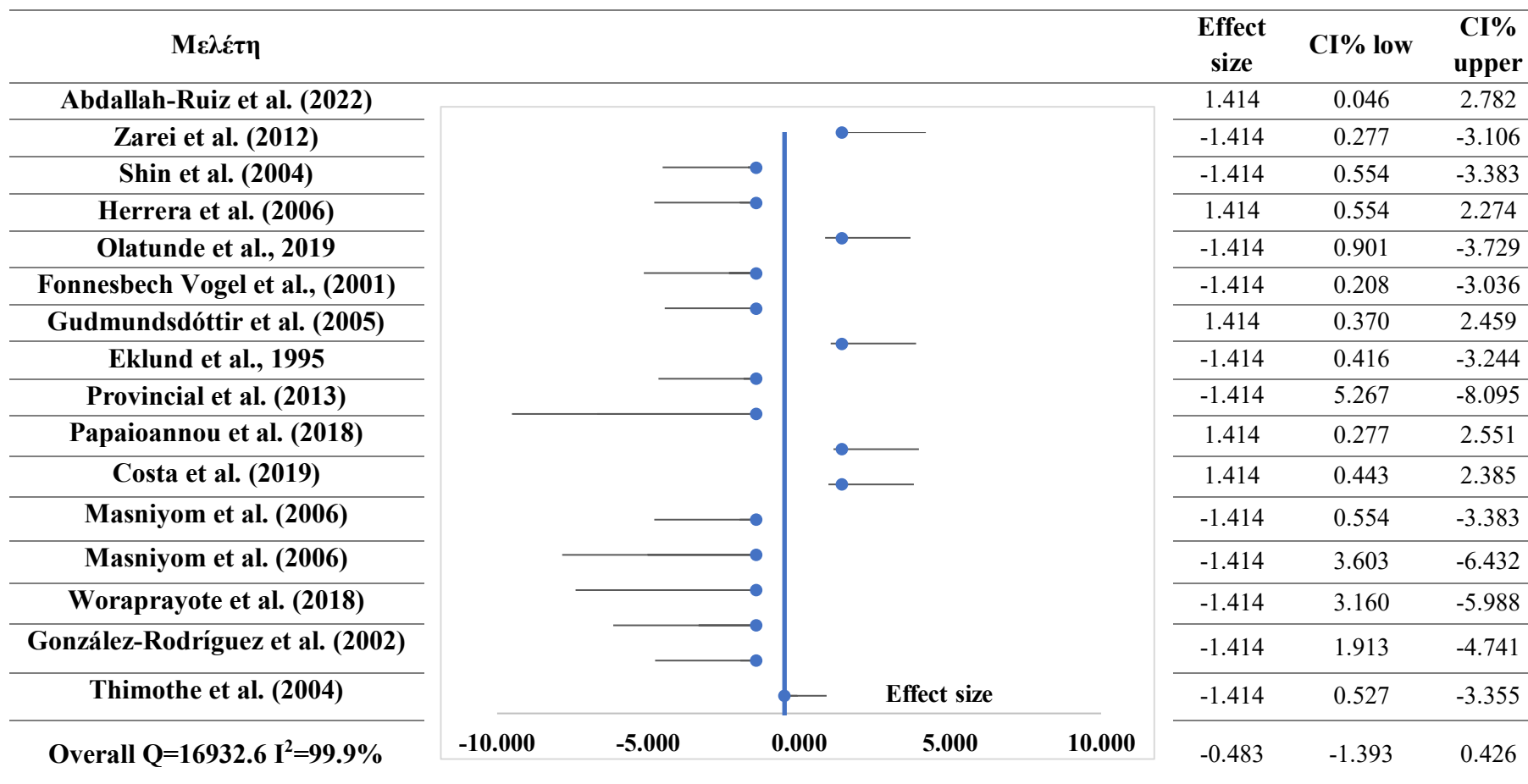
3.2.1 Μετα-ανάλυση για τη συγκέντρωση του συνολικού φορτίου του *L. monocytogenes* στις πηγές που ανιχνεύθηκε

Σύμφωνα με τα παραπάνω άρθρα, η συγκέντρωση του συνολικού φορτίου (log CFU/g) του *L. monocytogenes* καταγράφηκε από τις πηγές που ανιχνεύθηκε όπως μαχαίρια-εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικοί πάγκοι επεξεργασίας και μεταποίησης ιχθυηρών, συσκευασίες, στολές – ενδυμασίες, ψυγεία, κ.α..

Σε αυτήν την μετα-ανάλυση το συνολικό φορτίο που βρέθηκε στα μαχαίρια-εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικούς πάγκους και ψυγεία θεωρήθηκε ως ένας μέσος όρος λόγω του περιορισμένου αριθμού των μελετών που εντοπίστηκαν και συγκρίθηκαν ως προς το φορτίο που ανιχνεύθηκε στις συσκευασίες των ιχθυηρών. Τα αποτελέσματα ανίχνευσης του *L. monocytogenes* για προσδιορίστηκαν στις μελέτες που συμπεριλήφθηκαν (Πίνακας 7). Η συνολική εκτίμηση του μεγέθους της επίδρασης (effect size) για το *L. monocytogenes* στις περιοχές που ανιχνεύθηκε όπως μαχαίρια-εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικοί πάγκοι, συσκευασίες, στολές – ενδυμασίες, ψυγεία στις μονάδες εκτροφής και παραγωγής ήταν -0,483 (95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI]: -1,393–0,426). Για τον έλεγχο της ετερογένειας, υπολογίστηκαν τα ακόλουθα στατιστικά στοιχεία: Τιμή Cochran Q ($Q=16932.6$), $p < 0,001$ και $I^2 = 99,9\%$. Το Forest Plot δίνει τη γραφική παρουσίαση του αποτελέσματος και ο Πίνακας 8 συνοψίζει τις στρατηγικές αποτελεσμάτων μετα-ανάλυσης.

Ο αριθμός των μελετών για το *Vibrio* spp. ήταν περιορισμένος για τις πηγές που ανιχνεύτηκε και δε μπορούσε να πραγματοποιηθεί περαιτέρω μετα-ανάλυση εκτός από τη συστηματική ανασκόπηση που έχει ήδη πραγματοποιηθεί και παρουσιάζεται σε προηγούμενες υποενότητες.

Πίνακας 8 Forest plot μετα-ανάλυσης του *L. monocytogenes* σχετικά με τις πηγές που ανιχνεύθηκε (μαχαίρια- εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικοί πάγκοι, ψυγεία, συσκευασίες)



3.3 Χώρες που ανιχνεύθηκαν τα *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp (Μόνο Ευρώπη)

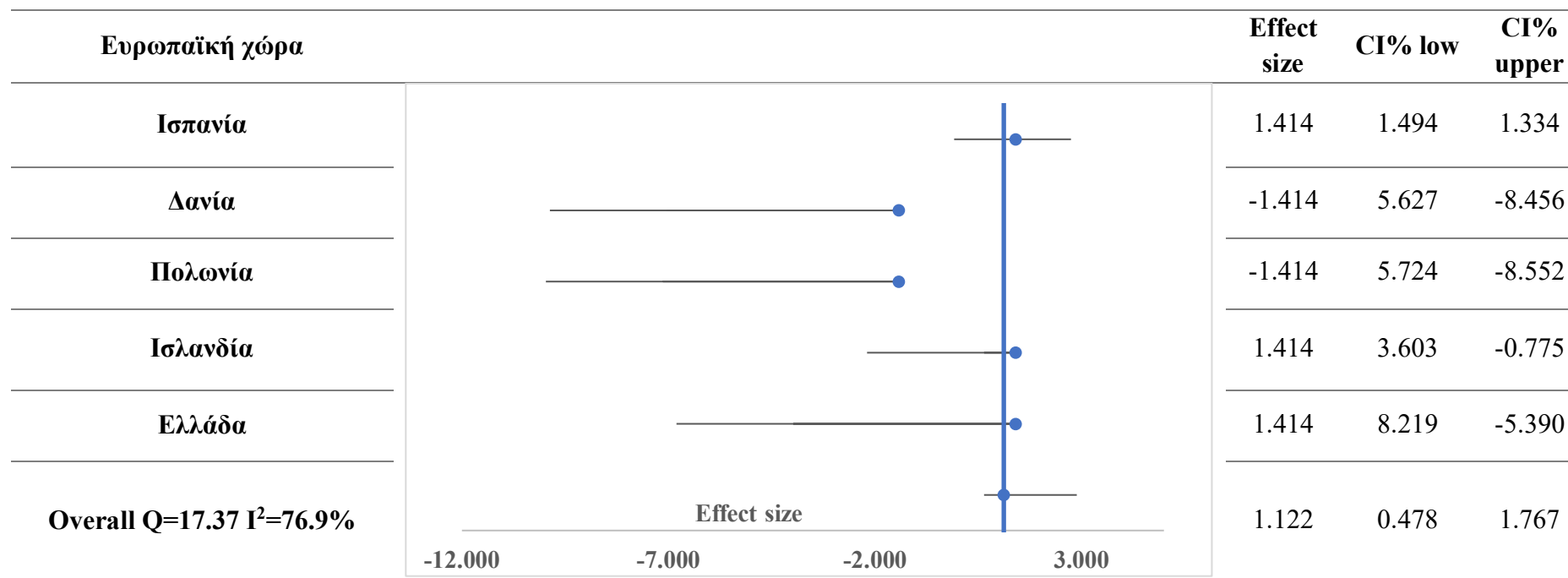
Σε αυτήν την μετα-ανάλυση το συνολικό φορτίο που βρέθηκε στις διάφορες περιοχές εντοπίστηκαν και συγκρίθηκαν ως προς το φορτίο που ανιχνεύθηκε στις διάφορες πηγές για τις Ευρωπαϊκές χώρες. Τα αποτελέσματα ανίχνευσης του *L. monocytogenes* προσδιορίστηκαν σε μελέτες που συμπεριλήφθηκαν (Πίνακες 3 και 7) που αντιστοιχούν σε 5 Ευρωπαϊκές χώρες. Η συνολική εκτίμηση του μεγέθους της επίδρασης (effect size) για το *L. monocytogenes* στις Ευρωπαϊκές χώρες που ανιχνεύθηκε όπως Ισπανία, Δανία, Πολωνία, Ισλανδία και Ελλάδα ήταν 1.122 (95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI]: 0.478–1.767). Για τον έλεγχο της ετερογένειας, υπολογίστηκαν τα ακόλουθα στατιστικά στοιχεία: Τιμή Cochran Q ($Q=17.37$), $p < 0,001$ και $I^2 = 76.9\%$. Το Forest Plot δίνει τη γραφική παρουσίαση του αποτελέσματος και ο Πίνακας 9 συνοψίζει τις στρατηγικές αποτελεσμάτων μετα-ανάλυσης.

Σε επίπεδο χώρας, αυτή η μελέτη αποκάλυψε ότι το υψηλότερο μέγεθος της επίδρασης της μετα-ανάλυσης βρέθηκε στη Δανία και την Πολωνία. Ωστόσο, το μέγεθος της επίδρασης και από τις άλλες χώρες της Ευρώπης ήταν επίσης σχετικά υψηλό, επιβεβαιώνοντας περαιτέρω ότι το *L. monocytogenes* είναι εξαιρετικά διαδεδομένο στις Ευρωπαϊκές χώρες. Άλλοι πιθανοί λόγοι μπορεί να περιλαμβάνουν διακύμανση μεγέθους δείγματος, διαφορές στις μεθόδους αναγνώρισης ή εποχιακή μεταβλητότητα. Ωστόσο, είναι σημαντικό να δηλωθεί ότι η μετα-ανάλυση χαρακτηρίζεται από υψηλή ετερογένεια. Κάτι που δείχνει ότι οι παράγοντες που αξιολογήθηκαν στην ανάλυση της χώρας δεν εξηγούσαν πλήρως την παρατηρούμενη ετερογένεια. Ωστόσο, η μονομεταβλητή ανάλυση δείχνει ότι η τοποθεσία της μελέτης (χώρα) μπορεί να εξηγήσει την παρατηρούμενη διακύμανση στη μετα-ανάλυση. Άλλοι πιθανοί λόγοι για την παρατηρούμενη ετερογένεια μπορεί να οφείλονται σε ορισμένες

συμμεταβλητές που δεν εμπίπτουν στο πεδίο εφαρμογής αυτής της ανάλυσης. Τέτοιοι παράγοντες μπορεί να περιλαμβάνουν, αλλά δεν περιορίζονται σε αυτές τη μόλυνση του δείγματος, τον τρόπο μεταφοράς του δείγματος και τις μεθόδους και τις συνθήκες αποθήκευσης δειγμάτων.

Ο αριθμός των μελετών για το *Vibrio* spp. ήταν περιορισμένος για τις Ευρωπαϊκές χώρες και δε μπορούσε να πραγματοποιηθεί περαιτέρω μετα-ανάλυση εκτός από τη συστηματική ανασκόπηση που έχει ήδη πραγματοποιηθεί και παρουσιάζεται σε προηγούμενες υποενότητες.

Πίνακας 9 Forest plot μετα-ανάλυσης του *L. monocytogenes* σχετικά με τις χώρες (Ευρώπη) που ανιχνεύθηκε.



4. Συζήτηση

Τα παθογόνα βακτήρια *Listeria* spp. και *Vibrio* spp. είναι δύο σημαντικοί παράγοντες που μπορούν με την επιμόλυνση να επηρεάσουν την αλυσίδα παραγωγής μιας υδατοκαλλιέργειας και είναι δυνατό να μεταφερθούν μέσω διάφορων οδών από περιοχές (εγκαταστάσεις εκτροφής και επεξεργασίας ιχθυηρών, στα συσκευαστήρια και στα καπνιστήρια) και από πηγές (μεταφορά μέσω εργαλείων επεξεργασίας, μεταλλικούς πάγκους επεξεργασίας, ενδυμασίες εργαζόμενων, συσκευασίες και ψυγεία) (Abdallah-Ruiz et al., 2022; Hansen et al. 2006; Wieczorek & Osek 2017; Li et al. 2019; Provincial et al. 2013; Papaioannou et al. 2018). Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή έγινε μια συλλογή αλλά και στατιστική ανάλυση δεδομένων που αφορούν την ανίχνευση του *Listeria* spp. και *Vibrio* spp στο περιβάλλον επεξεργασίας και παραγωγής αλιευτικών προϊόντων από άρθρα σε διεθνώς αναγνωρισμένες βάσεις δεδομένων, καθώς και σε χώρες της Ευρώπης που παρατηρήθηκαν σε μεγάλα ποσοστά τα παθογόνα αυτά βακτήρια.

Το *Listeria* spp αποδείχθηκε να αποτελεί το πιο κοινό και μελετημένο παθογόνο βακτήριο που συναντάται στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας αλιευμάτων με τα συσκευαστήρια, το τμήμα φιλετοποίησης, οι πάγκοι επεξεργασίας αλλά και οι συσκευασίες να είναι οι περιοχές και οι πηγές με τα πιο υψηλά ποσοστά συχνότητας εμφάνισής του (Hunt et al., 2018; Zarei et al., 2012; Wieczorek & Osek, 2017; Abdallah-Ruiz et al., 2022; Li et al., 2018; Hansen et al., 2006; Bolívar et al., 2018; Masniyom et al., 2006; Fonnesbech Vogel et al., 2001; Provincial et al., 2013). Όσον αφορά το παθογόνο βακτήριο *Vibrio* spp., παρατηρήθηκε να αποτελεί γνωστό και συχνά δεδομένο στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας ιχθυηρών και συσκευαστήρια, με υψηλή συχνότητα εμφάνισης.

Ωστόσο, η μετα-ανάλυσή του σε πηγές (πάγκοι επεξεργασίας, συσκευασίες, εργαλεία και ψυγεία) δεν ήταν τόσο αποτελεσματική λόγω έλλειψης δεδομένων (Ganesh et al., 2010; Li et al., 2019; Sanjee & Karim, 2016; Tey et al., 2015; Tapia-Cammas et al., 2011; Herrera et al., 2006).

Το *L. monocytogenes* βρέθηκε να αποτελεί ο πιο κοινός παθογόνος μικροοργανισμός και σε πολλές χώρες παγκοσμίως. Στην Ασία και συγκεκριμένα σε Ινδία (Μονάδες εκτροφής), Σιγκαπούρη (Μονάδες εκτροφής, Καπνιστήρια, Συσκευαστήρια) και Ταϊβάν (Καπνιστήρια) παρατηρήθηκαν τα μεγαλύτερα ποσοστά *Listeria* spp. στο περιβάλλον επεξεργασίας και παραγωγής αλιευτικών προϊόντων με ακόλουθη τις εγκαταστάσεις σε ΗΠΑ (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια) (Abdallah-Ruiz et al., 2022; Li et al., 2018; Eklund et al., 1995; Ganesh et al., 2010; Olatunde et al., 2019). Κύριες πηγές από τις οποίες μπορούν να επιμολυνθούν τα αλιευτικά προϊόντα από το *L. monocytogenes* είναι οι συσκευασίες και οι πάγκοι επεξεργασίας στην Ταϊλάνδη και στο Ιράν, ενώ στις ΗΠΑ παρατηρήθηκαν οι πάγκοι επεξεργασίας, οι συσκευασίες και τα ψυγεία (Abdallah-Ruiz et al., 2022; Zarei et al., 2012; Shin et al., 2004; Olatunde et al., 2019; Eklund et al., 1995; Masniyom et al., 2006; Woraprayoteet al., 2018; Thimothe et al., 2004). Όσον αφορά στην Ευρώπη, το *L. monocytogenes* ανιχνεύθηκε σε πολλές χώρες όπως την Ισπανία, Δανία, Πολωνία, Ισλανδία και την Ελλάδα. Η μελέτη αποκάλυψε ότι το υψηλότερο μέγεθος της επίδρασης της μετα-ανάλυσης για το περιβάλλον επεξεργασίας και παραγωγής αλιευτικών προϊόντων βρέθηκε στη Δανία (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια, Μονάδες εκτροφής) ακολούθησε η Ισπανία (Συσκευαστήρια, Μονάδες εκτροφής) και τέλος η Πολωνία (Συσκευαστήρια, Μονάδες εκτροφής) (Hansen et al., 2006; Wiczorek & Osek, 2017; Correia Peres Costa et al., 2020; Bolívar et al., 2018; Provincial et al., 2013; Fonnesbech Vogel et al., 2001). Οι βασικές πηγές επιμόλυνσης των αλιευτικών

προϊόντων σε εγκαταστάσεις ιχθυηρών κρίθηκαν οι πάγκοι επεξεργασίας, τα εργαλεία και οι συσκευασίες στην Ισπανία, όπως και στην Ελλάδα. Στην Δανία και στην Ισλανδία παρατηρήθηκαν μεγάλα ποσοστά συχνότητας *L. monocytogenes* σε πάγκους επεξεργασίας, εργαλεία, συσκευασίες και ψυγεία αλιευτικών προϊόντων (Herrera et al., 2006; Fonnesbech Vogel et al., 2001; Gudmundsdóttir et al., 2005; Provincial et al., 2013; Papaioannou et al., 2018; Costa et al., 2019; González-Rodríguez et al., 2002; Olatunde et al., 2019). Όσον αφορά τη μετά – ανάλυση του παθογόνου βακτηρίου *Vibrio* spp. σε χώρες της Ευρώπης, δεν πραγματοποιήθηκε λόγω έλλειψης δεδομένων.

Το *Vibrio* spp είναι ένας σημαντικός παθογόνος μικροοργανισμός που έχει ερευνηθεί σε περιοχές επεξεργασίας αλιευμάτων. Πιο συγκεκριμένα, το *Vibrio parahaemolyticus* αποδείχθηκε ότι είναι το πιο συχνά διαδεδομένο παθογόνο βακτήριο σε όλο το κόσμο με ακόλουθο το *Vibrio cholerae* (Ganesh et al., 2010; Zarei et al., 2012; Herrera et al., 2006; Olatunde et al., 2019). Λόγω έλλειψης δεδομένων για τις χώρες της Ευρώπης, όπως προαναφέρθηκε παραπάνω, δεν πραγματοποιήθηκε η μετά – ανάλυσή του αλλά αξίζει να σημειωθούν οι χώρες και οι πηγές της πιο συχνής εμφάνισής του παγκοσμίως. Οι περιοχές με τη συχνότερη εμφάνιση του *Vibrio* spp απαντώνται σε χώρες της Ασίας. Πιο συγκεκριμένα στην Ινδία και Ταιβάν παρατηρήθηκαν πολύ μεγάλα ποσοστά στις Μονάδες εκτροφής, ακολούθησε μικρότερη εμφάνιση στα Καπνιστήρια, ενώ στα συσκευαστήρια μη υπολογίσιμη (Tey et al., 2015; Ganesh et al., 2010). Στις ίδιες περιοχές παρατηρήθηκαν στο Μπαγκλαντές (Μονάδες εκτροφής, Καπνιστήρια), ενώ σε δεδομένα από έρευνες της Κίνας ο παθογόνος αυτός μικροοργανισμός παρατηρήθηκε κυρίως σε Συσκευαστήρια (Sanjee & Karim, 2016; Li et al., 2019). Στην Χιλή και στην Ισπανία οι Μονάδες εκτροφής ήταν η βασική περιοχή εμφάνισης του *Vibrio* spp. (Herrera et al., 2006; Correia Peres Costa et al., 2020; Tapia-Cammas et al., 2011).

Όσον αφορά τις πηγές εμφάνισης, το υψηλότερο ποσοστό *Vibrio* spp παρατηρήθηκε σε Συσκευασίες ιχθυηρών στην Ταϊλάνδη, με ακόλουθες το Ιράν και την Ισπανία (Zarei et al., 2012; Herrera et al., 2006; Olatunde et al., 2019).

Τέλος, πρέπει να αναφερθεί και ένας άλλος σημαντικός παθογόνος μικροοργανισμός που παρατηρήθηκε και καταγράφηκε στην μετά – ανάλυση για τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας ιχθυηρών. Το πιο υπολογίσιμο αλλά και συχνά διαδεδομένο σε θαλασσινά προϊόντα είναι το *Salmonella* spp. και οι περιοχές εμφάνισης που παρατηρήθηκε ήταν σε Συσκευαστήρια και Μονάδες εκτροφής στην Ισπανία και στο Μπαγκλαντές. Στις πηγές εμφάνισης καταγράφηκαν ποσοστά μόνο σε Συσκευασίες ιχθυηρών με την Ισπανία και τις ΗΠΑ να έχουν τα υψηλότερα και στην Ασία σε Ταϊλάνδη και Ιράν (Sanjee & Karim, 2016; Correia Peres Costa et al., 2020; Woraprayote et al., 2018; Provincial et al., 2013; Shin et al., 2004; Zarei et al., 2012).

5. Συμπεράσματα

Σε αυτή τη μελέτη, εξετάστηκε η εφαρμογή και τα αποτελέσματα των μελετών μετα-ανάλυσης στην αλυσίδα παραγωγής της υδατοκαλλιέργειας όπως στις περιοχές (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια, Μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων) και τις πηγές (μαχαίρια- εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικοί πάγκοι, συσκευασίες, στολές – ενδυμασίες, ψυγεία) που ανιχνεύτηκαν τα παθογόνα βακτήρια *Listeria monocytogenes* και *Vibrio spp.* Δόθηκε έμφαση στις Ευρωπαϊκές χώρες και παρουσιάστηκε και μία συνολική μετα-ανάλυση της ανίχνευσης αυτών των παθογόνων στην αλυσίδα παραγωγής της υδατοκαλλιέργειας.

Ως αναπόσπαστο εργαλείο για τους ερευνητές υδατοκαλλιέργειας από τα τέλη της δεκαετίας του 1990, η μετα-ανάλυση μπορεί να καθοδηγήσει τη μελλοντική έρευνα και διαχείριση στην επιστήμη της υδατοκαλλιέργειας. Παρατέθηκαν τα ποσοτικά ευρήματα για την ανίχνευση των παθογόνων βακτηρίων στις περιοχές (Συσκευαστήρια, Καπνιστήρια, Μονάδες εκτροφής και επεξεργασίας ιχθύων) και τις πηγές (μαχαίρια- εργαλεία επεξεργασίας, μεταλλικοί πάγκοι, συσκευασίες, ψυγεία) της αλυσίδας εκτροφής ιχθυηρών και παραγωγής προϊόντων ιχθυηρών. Οι ανακαλύψεις που προέκυψαν από την ανάλυση της μετα-ανάλυσης μεταμορφώνουν πολλούς τομείς έρευνας. Αν και η επίσημη μετα-ανάλυση έχει καθιερωθεί σε πολλούς κλάδους, είναι ανώριμοι στον τομέα της υδατοκαλλιέργειας. Υπάρχουν πολλές προκλήσεις στη μετα-ανάλυση στην αλυσίδα εκτροφής ιχθυηρών και παραγωγής προϊόντων ιχθυηρών. Οι προκλήσεις συνοψίζονται ως υψηλή ετερογένεια σε ένα σύνθετο περιβάλλον, πηγές δεδομένων, μεροληπτικές πληροφορίες και μη αυτοματοποιημένη συμπερίληψη δεδομένων βιβλιογραφίας.

Η αντιμετώπιση των προκλήσεων των αναδυόμενων παθογόνων παραγόντων απαιτεί δια τομεακή συνεργασία, συντονισμό και επικοινωνία. Η χρήση αυτής της προσέγγισης της μετα-ανάλυσης σε αυτή τη μελέτη παρείχε τις επιθυμητές πληροφορίες για την αντιμετώπιση των προκλήσεων που θέτουν να ανιχνεύτηκαν τα παθογόνα βακτήρια *Listeria monocytogenes* και *Vibrio* spp. στην αλυσίδα εκτροφής ιχθυηρών και παραγωγής προϊόντων ιχθυηρών. Γνωρίζουμε με αυτήν την προσέγγιση ότι τα παθογόνα αυτά βακτήρια είναι ιδιαίτερα διαδεδομένα στις εγκαταστάσεις εκτροφής και παραγωγής ιχθυηρών. Επιπλέον, γνωρίζουμε πλέον τα τρόφιμα υψηλού κινδύνου, και τις συχνά χρησιμοποιούμενες μεθόδους ταυτοποίησης για το *L. monocytogenes* και το *Vibrio* spp. Ομοίως, υπάρχει ανάγκη για περαιτέρω έρευνα για την ανθρώπινη προέλευση του παθογόνου στην υποπεριοχή. Επίσης, απαιτούνται περισσότερες μελέτες από χώρες που δεν έχουν αναφερθεί μελέτες.

Η μετα-ανάλυση παίζει σημαντικό ρόλο στην κατανόηση της δυνατότητας απόδοσης στην αλυσίδα παραγωγής της υδατοκαλλιέργειας. Ο αριθμός των μελετών μετα-ανάλυσης στην υδατοκαλλιέργεια αυξάνεται ραγδαία τις δύο τελευταίες δεκαετίες. Τα ερευνητικά θέματα έχουν επεκταθεί σε ολόκληρη την αλυσίδα παραγωγής και διαχείρισης των ιχθυηρών και των προϊόντων τους. Στο μέλλον, προηγμένα στατιστικά ή meta-regression analysis, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εξερεύνηση πιο περίπλοκων δομών δεδομένων. Η ταχεία ανάπτυξη τεχνικών σε έξυπνους αισθητήρες, μηχανική μάθηση και τεχνητή νοημοσύνη θα ενισχύσει την αποτελεσματικότητα στη συλλογή δεδομένων και την ευρωστία των αποτελεσμάτων για μελέτες μετα-ανάλυσης στην αλυσίδα εκτροφής ιχθυηρών και παραγωγής προϊόντων ιχθυηρών αλλά και σε άλλους τομείς.

Βιβλιογραφία

- Abdallah-Ruiz, A., Wood, L. S., Kim, T., Schilling, W., White, S. B., Chen, B.-Y., Durango-Villadiego, A., & Silva, J. L. (2022). Microbial Indicators and Possible Focal Points of Contamination during Production and Processing of Catfish. *Foods*, 11(18), 2778. <https://doi.org/10.3390/foods11182778>
- Adgamov, R. R., Timchenko, N. F., Zaitseva, E. A., Pushkareva, V. I., Kolbasov, D. V., Egorova, I. Y., Pukhovskaya, N. M., Musatov, Y. S., Ivanov, L. I., & Ermolaeva, S. A. (2013). Ecological and genetic mechanisms of development of epidemiologically significant strains of sapronosis causative agents. *Biology Bulletin Reviews*, 3(2), 125–138. <https://doi.org/10.1134/S2079086413020023>
- Basha, K. A., Kumar, N. R., Das, V., Reshmi, K., Rao, B. M., Lalitha, K. V., & Joseph, T. C. (2019). Prevalence, molecular characterization, genetic heterogeneity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* associated with fish and fishery environment in Kerala, India. *Letters in Applied Microbiology*, 69(4), 286–293. <https://doi.org/10.1111/lam.13205>
- Bolívar, A., Costa, J. C. C. P., Posada-Izquierdo, G. D., Valero, A., Zurera, G., & Pérez-Rodríguez, F. (2018). Modelling the growth of *Listeria monocytogenes* in Mediterranean fish species from aquaculture production. *International Journal of Food Microbiology*, 270, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.005>
- Buchanan, R. L., Gorris, L. G. M., Hayman, M. M., Jackson, T. C., & Whiting, R. C. (2017). A review of *Listeria monocytogenes* : An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food Control*, 75, 1–13.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.016>

Capita, R., & Alonso-Calleja, C. (2013). Antibiotic-Resistant Bacteria: A Challenge for the Food Industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(1), 11–48.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2010.519837>

Colombo, F. M., Cattaneo, P., Confalonieri, E., & Bernardi, C. (2018). Histamine food poisonings: A systematic review and meta-analysis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(7), 1131–1151.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1242476>

Correia Peres Costa, J. C., Floriano, B., Bascón Villegas, I. M., Rodríguez-Ruiz, J. P., Posada-Izquierdo, G. D., Zurera, G., & Pérez-Rodríguez, F. (2020). Study of the microbiological quality, prevalence of foodborne pathogens and product shelf-life of Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) from aquaculture in estuarine ecosystems of Andalusia (Spain). *Food Microbiology*, 90, 103498. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103498>

Costa, J. C. C. P., Bover-Cid, S., Bolívar, A., Zurera, G., & Pérez-Rodríguez, F. (2019). Modelling the interaction of the sakacin-producing *Lactobacillus sakei* CTC494 and *Listeria monocytogenes* in filleted gilthead sea bream (*Sparus aurata*) under modified atmosphere packaging at isothermal and non-isothermal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 297, 72–84. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.03.002>

Daskalov, H. (2006). The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. *Food Control*, 17(6), 474–483. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.02.009>

Diler, O., Altun, S., Calikusu, F., & Diler, A. (2000). A study on qualitative and quantitative bacterial flora of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) living in

- different fish farms. *Turk J Vet Anim Sci* 24: *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 24, 251–259.
- Eklund, M. W., Poysky, F. T., Paranjpye, R. N., Lashbrook, L. C., Peterson, M. E., & Pelroy, G. A. (1995). Incidence and Sources of *Listeria monocytogenes* in Cold-Smoked Fishery Products and Processing Plants. *Journal of Food Protection*, 58(5), 502–508. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-58.5.502>
- Fonnesbech Vogel, B., Huss, H. H., Ojeniyi, B., Ahrens, P., & Gram, L. (2001). Elucidation of *Listeria monocytogenes* Contamination Routes in Cold-Smoked Salmon Processing Plants Detected by DNA-Based Typing Methods. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(6), 2586–2595. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.6.2586-2595.2001>
- Ganesh, E. A., Das, S., Chandrasekar, K., Arun, G., & Balamurugan, S. (2010). Monitoring of total heterotrophic bacteria and *Vibrio* spp. in an aquaculture pond. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 2(1), 48–52.
- Givens, C. E., Bowers, J. C., DePaola, A., Hollibaugh, J. T., & Jones, J. L. (2014). Occurrence and distribution of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* – potential roles for fish, oyster, sediment and water. *Letters in Applied Microbiology*, 58(6), 503–510. <https://doi.org/10.1111/lam.12226>
- González-Rodríguez, M. ., Sanz, J. ., Santos, J. ., Otero, A., & García-López, M. . (2002). Foodborne pathogenic bacteria in prepackaged fresh retail portions of farmed rainbow trout and salmon stored at 3 °C. *International Journal of Food Microbiology*, 76(1–2), 135–141. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00011-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00011-9)
- Gudmundsdóttir, S., Gudbjörnsdóttir, B., Lauzon, H. L., Einarsson, H., Kristinsson, K.

- G., & Kristjánsson, M. (2005). Tracing *Listeria monocytogenes* isolates from cold-smoked salmon and its processing environment in Iceland using pulsed-field gel electrophoresis. *International Journal of Food Microbiology*, 101(1), 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.08.023>
- Hansen, C. H., Vogel, B. F., & Gram, L. (2006). Prevalence and Survival of *Listeria monocytogenes* in Danish Aquatic and Fish-Processing Environments. *Journal of Food Protection*, 69(9), 2113–2122. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.9.2113>
- He, Y., Yuan, Q., Mathieu, J., Stadler, L., Senchi, N., Sun, R., & Alvarez, P. J. J. (2020). Antibiotic resistance genes from livestock waste: occurrence, dissemination, and treatment. *Npj Clean Water*, 3(1), 4. <https://doi.org/10.1038/s41545-020-0051-0>
- Herrera, F. C., Santos, J. A., Otero, A., & Garcia-Lopez, M.-L. (2006). Occurrence of foodborne pathogenic bacteria in retail prepackaged portions of marine fish in Spain. *Journal of Applied Microbiology*, 100(3), 527–536. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02848.x>
- Huehn, S., Eichhorn, C., Urmersbach, S., Breidenbach, J., Bechlars, S., Bier, N., Alter, T., Bartelt, E., Frank, C., Oberheitmann, B., Gunzer, F., Brennholt, N., Böer, S., Appel, B., Dieckmann, R., & Strauch, E. (2014). Pathogenic vibrios in environmental, seafood and clinical sources in Germany. *International Journal of Medical Microbiology*, 304(7), 843–850. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.07.010>
- Hunt, K., Blanc, M., Álvarez-Ordóñez, A., & Jordan, K. (2018). Challenge Studies to Determine the Ability of Foods to Support the Growth of *Listeria monocytogenes*. *Pathogens*, 7(4), 80. <https://doi.org/10.3390/pathogens7040080>

- Jami, M., Ghanbari, M., Zunabovic, M., Domig, K. J., & Kneifel, W. (2014). *Listeria monocytogenes* in Aquatic Food Products-A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), 798–813. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12092>
- Kovačević, J., F. McIntyre, L., B. Henderson, S., & Kosatsky, T. (2012). Occurrence and Distribution of *Listeria* Species in Facilities Producing Ready-to-Eat Foods in British Columbia, Canada. *Journal of Food Protection*, 75(2), 216–224. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-300>
- Kuebutornye, F. K. A., Wang, Z., Lu, Y., Abarike, E. D., Sakyi, M. E., Li, Y., Xie, C. X., & Hlordzi, V. (2020). Effects of three host-associated *Bacillus* species on mucosal immunity and gut health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and its resistance against *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 97, 83–95. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.046>
- Kumar, G., Menanteau-Ledouble, S., Saleh, M., & El-Matbouli, M. (2015). *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. *Veterinary Research*, 46(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0238-4>
- Li, X., Kim, M.-J., Bang, W.-S., & Yuk, H.-G. (2018). Anti-biofilm effect of 405-nm LEDs against *Listeria monocytogenes* in simulated ready-to-eat fresh salmon storage conditions. *Food Control*, 84, 513–521. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.09.006>
- Li, Y., Pei, X., Yan, J., Liu, D., Zhang, H., Yu, B., Li, N., & Yang, D. (2019). Prevalence of foodborne pathogens isolated from retail freshwater fish and shellfish in China. *Food Control*, 99, 131–136. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.12.024>

- Mahmud, Z. H., Wright, A. C., Mandal, S. C., Dai, J., Jones, M. K., Hasan, M., Rashid, M. H., Islam, M. S., Johnson, J. A., Gulig, P. A., Morris, J. G., & Ali, A. (2010). Genetic Characterization of *Vibrio vulnificus* Strains from Tilapia Aquaculture in Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(14), 4890–4895. <https://doi.org/10.1128/AEM.00636-10>
- Masniyom, P., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2006). Synergistic antimicrobial effect of pyrophosphate on *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157 in modified atmosphere packaged and refrigerated seabass slices. *LWT - Food Science and Technology*, 39(3), 302–307. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.01.007>
- Novoslavskij, A., Terentjeva, M., Eizenberga, I., Valciņa, O., Bartkevičs, V., & Bērziņš, A. (2016). Major foodborne pathogens in fish and fish products: a review. *Annals of Microbiology*, 66(1), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1102-5>
- Olatunde, O. O., Benjakul, S., & Vongkamjan, K. (2019). High voltage cold atmospheric plasma: Antibacterial properties and its effect on quality of Asian sea bass slices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 52, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.01.011>
- Papaioannou, E., Giaouris, E. D., Berillis, P., & Boziaris, I. S. (2018). Dynamics of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel under mono-species and mixed-culture simulated fish processing conditions and chemical disinfection challenges. *International Journal of Food Microbiology*, 267, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.020>
- Paydar, M., Teh, C. S. J., & Thong, K. L. (2013). Prevalence and characterisation of potentially virulent *Vibrio parahaemolyticus* in seafood in Malaysia using

- conventional methods, PCR and REP-PCR. *Food Control*, 32(1), 13–18.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.034>
- Preena, P. G., Swaminathan, T. R., Kumar, V. J. R., & Singh, I. S. B. (2020). Antimicrobial resistance in aquaculture: a crisis for concern. *Biologia*, 75(9), 1497–1517. <https://doi.org/10.2478/s11756-020-00456-4>
- Provincial, L., Guillén, E., Gil, M., Alonso, V., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2013). Survival of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in sea bream (*Sparus aurata*) fillets packaged under enriched CO₂ modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, 162(3), 213–219.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.01.015>
- Rezai, R., Ahmadi, E., & Salimi, B. (2018). Prevalence and Antimicrobial Resistance Profile of *Listeria* Species Isolated from Farmed and On-Sale Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Western Iran. *Journal of Food Protection*, 81(6), 886–891. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-428>
- Sanjee, S. Al, & Karim, M. E. (2016). Microbiological Quality Assessment of Frozen Fish and Fish Processing Materials from Bangladesh. *International Journal of Food Science*, 2016, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2016/8605689>
- Senderovich, Y., Izhaki, I., & Halpern, M. (2010). Fish as Reservoirs and Vectors of *Vibrio cholerae*. *PLoS ONE*, 5(1), e8607.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008607>
- Shin, J.-H., Chang, S., & Kang, D.-H. (2004). Application of antimicrobial ice for reduction of foodborne pathogens (*Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*) on the surface of fish. *Journal of Applied Microbiology*, 97(5), 916–922. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02343.x>

- Tao, Z., Larsen, A. M., Bullard, S. A., Wright, A. C., & Arias, C. R. (2012). Prevalence and Population Structure of *Vibrio vulnificus* on Fishes from the Northern Gulf of Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(21), 7611–7618. <https://doi.org/10.1128/AEM.01646-12>
- Tapia-Cammas, D., Yañez, A., Arancibia, G., Toranzo, A., & Avendaño-Herrera, R. (2011). Multiplex PCR for the detection of *Piscirickettsia salmonis*, *Vibrio anguillarum*, *Aeromonas salmonicida* and *Streptococcus phocae* in Chilean marine farms. *Diseases of Aquatic Organisms*, 97(2), 135–142. <https://doi.org/10.3354/dao02395>
- Terentjeva, M., Eizenberga, I., Valcina, O., Novoslavskij, A., Strazdinņa, V., & Bērziņš, A. (2015). Prevalence of Foodborne Pathogens in Freshwater Fish in Latvia. *Journal of Food Protection*, 78(11), 2093–2098. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-121>
- Tey, Y. H., Jong, K.-J., Fen, S.-Y., & Wong, H.-C. (2015). Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, and *Vibrio vulnificus* in the Aquacultural Environments of Taiwan. *Journal of Food Protection*, 78(5), 969–976. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-405>
- Thimothe, J., Nightingale, K. K., Gall, K., Scott, V. N., & Wiedmann, M. (2004). Tracking of *Listeria monocytogenes* in Smoked Fish Processing Plants. *Journal of Food Protection*, 67(2), 328–341. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.2.328>
- Vaiyapuri, M., Joseph, T. C., Rao, B. M., Lalitha, K. V., & Prasad, M. M. (2019). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Seafood: Prevalence, Laboratory Detection, Clonal Nature, and Control in Seafood Chain. *Journal of Food Science*, 84(12), 3341–3351. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14915>

- Wieczorek, K., & Osek, J. (2017). Prevalence, genetic diversity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh and smoked fish in Poland. *Food Microbiology*, 64, 164–171. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.12.022>
- Woraprayote, W., Pumpuang, L., Tosukhowong, A., Zendo, T., Sonomoto, K., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2018). Antimicrobial biodegradable food packaging impregnated with Bacteriocin 7293 for control of pathogenic bacteria in pangasius fish fillets. *LWT*, 89, 427–433. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.026>
- Yukgehnaish, K., Kumar, P., Sivachandran, P., Marimuthu, K., Arshad, A., Paray, B. A., & Arockiaraj, J. (2020). Gut microbiota metagenomics in aquaculture: factors influencing gut microbiome and its physiological role in fish. *Reviews in Aquaculture*, raq.12416. <https://doi.org/10.1111/raq.12416>
- Zarei, M., Maktabi, S., & Ghorbanpour, M. (2012). Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. in Seafood Products Using Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(2), 108–112. <https://doi.org/10.1089/fpd.2011.0989>

Abstract

Meta-analysis of studies on the detection of *Listeria monocytogenes* and *Vibrio spp* in fish facilities

Listeria monocytogenes and *Vibrio spp.* are important foodborne intracellular pathogenic bacteria. These pathogenic bacteria are the main cause of the development of serious diseases that can endanger human health. The main source of human disease from these pathogens is the consumption of contaminated food products. These diseases often occur in a mild form, but severe and fatal cases, as well as outbreaks, can occur. Despite these challenges, little effort has been made to enumerate the burden of these pathogenic bacteria in fish farming and production facilities and their products on a global scale. Thus, this study investigated studies on the detection of *Listeria monocytogenes* and *Vibrio spp* in fish facilities through a systematic review and meta-analysis of the existing literature. A systematic search of online databases for relevant references such as PubMed, Scopus and Google Scholar was performed. Emphasis was placed on the areas (packaging plants, smokehouses, fish breeding and processing units) and the sources (knives - processing tools, metal counters, packaging, uniforms - clothing, refrigerators) where the pathogenic bacteria *Listeria monocytogenes* and *Vibrio spp* were detected. in fish breeding and processing facilities. Identified publications were screened and 31 studies were included in the review from which data were extracted. Regarding the pathogen detection areas, the overall effect size estimate for *L. monocytogenes* in the detection areas such as packinghouses, smokehouses, and fish farming and processing units was 1.336 (95% confidence interval [CI]: 0.074 –

2.594). To test for heterogeneity, the following statistics were calculated: Cochran Q value ($Q = 2415.5$), $p < 0.001$ and $I^2 = 99.7\%$. The overall effect size estimate for *Vibrio spp.* in areas detected such as packinghouses, smokehouses, and fish farming and processing plants 1.590 (95% confidence interval [CI]: 0.366–2.814). To test for heterogeneity, the following statistics were calculated: Cochran Q value ($Q = 474.8$), $p < 0.001$ and $I^2 = 98.1\%$.

Regarding the sources of pathogen detection, the overall estimate of the effect size (effect size) for *L. monocytogenes* in the areas detected such as knives - processing tools, metal counters, packaging, uniforms - clothing, refrigerators in the rearing and production units was -0.483 (95% confidence interval [CI]: -1.393–0.426). To test for heterogeneity, the following statistics were calculated: Cochran Q value ($Q = 16932.6$), $p < 0.001$ and $I^2 = 99.9\%$. The number of studies on *Vibrio spp.* was limited for the sources detected and no further meta-analysis could be performed apart from the systematic review already performed.

Regarding detection countries with a focus on Europe, the overall effect size estimate for *L. monocytogenes* in European countries detected such as Spain, Denmark, Poland, Iceland and Greece was 1,122 (95% confidence interval [CI]: 0.478–1.767). To test for heterogeneity, the following statistics were calculated: Cochran Q value ($Q = 17.37$), $p < 0.001$ and $I^2 = 76.9\%$.

The knowledge of the high load of the pathogenic bacteria *L. monocytogenes* and *Vibrio spp.* in fish farming and production facilities and their products is important for informed decision making by clinicians, public health professionals and policy makers.

Keywords: Meta-analysis, systematic review, *L. monocytogenes*, *Vibrio* spp., fish farming and production facilities, detection areas (Packing Houses, Smokehouses, Fish Farming and Processing Units), detection sources (knives - processing tools, metal counters, packaging, refrigerators)