

PREGLED DOSADAŠNJIH I BUDUĆIH AKTIVNOSTI NRL-a *Listeria monocytogenes*

Radionica RH NRL-a za

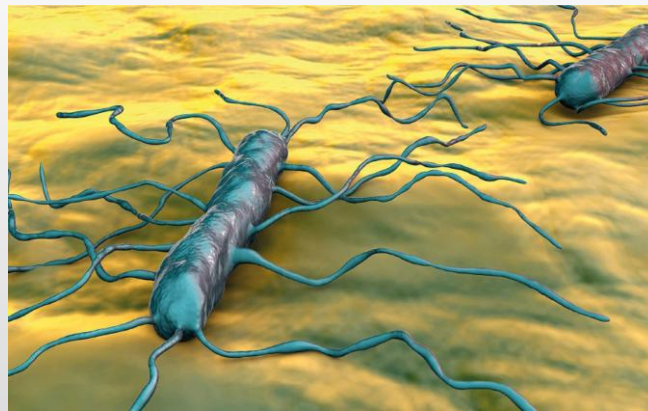
E. coli, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* i Koagulaza pozitivne stafilokoke

Lucija Hlebić, dr. med. vet.

dr. sc. Diana Brlek Gorski, dr. med. spec. mikrobiolog

Pregled

- Revizija kriterija sigurnosti hrane za *Listeria monocytogenes*
- Taksonomija – nova *Listeria* spp.
- Geno*Listeria* ILVT
- Revizija ISO standarda 11290-1:2017 i 11290-2:2017



izvor: <https://www.biomerieux.com/corp/en/education/resource-hub/food-safety-quality/scientific-library/new-listeria-species-detection-methods.html>

Listeria monocytogenes

- Patogena i ubikvitarna bakterija – listerioza
- Kontaminacija hranom (od proizvodnje, prerade do distribucije hrane) – stalan rizik za sigurnost hrane i ljudsko zdravlje
- Porast slučajeva listerioze u EU
- Peta najčešće prijavljena zoonoza u EU (EFSA i ECDC 2023)
- Jedna od najsmrtonosnijih zoonoza (EFSA i ECDC 2023)
- Serotipovi: 1/2a, 1/2b i 4b – 95% oboljenja u ljudi

Izmjena Uredbe (EZ) br. 2073/2005 u pogledu bakterije *Listeria monocytogenes*

- Uredba komisije (EU) 2024/2895 od 20. studenog 2024.
- Sva gotova hrana koja pogoduje rast bakterije *L.monocytogenes*, osim hrane za dojenčad i hrane za posebne medicinske potrebe
- Razina zaštite potrošača
- Kriterij sigurnosti hrane: „*Listeria monocytogenes* nije ustanovljena prisutnost u **25g**” – proizvodi stavljeni na tržište tijekom njihovog roka trajanja i za koju subjekt u poslovanju sa hranom ne može na zadovoljavajući način dokazati nadležnom tijelu da granica od 100 cfu/g *L.monocytogenes* neće premašiti tijekom roka trajanja te hrane
- **Primjena: 01. srpnja 2026. godine**

Prilog II. Uredbe (EZ) br. 2073/2005

- Matematički modeli
- Challenge test (prema **EN ISO 20976**)
- Shelf life studije



Uredba komisije (EU) 2025/179



- Prikupljanje i prijenos molekularnih analitičkih podataka – epidemiološka istraživanja (brži izvještaji o izbijanju bolesti)
- **WGS (Whole Genome Sequencing)** omogućuje brzo prepoznavanje klastera mikroorganizama
 - Praćenje bakterijskih sojeva
 - Povezivanje izolata patogena koji se prenose hranom iz različitih izvora (ljudi, hrane, životinja, hrane za životinje i okoliša)
 - Prepoznavanje izvora kontaminacije
- **Države članice:**
 - Prikupljanje izolata od subjekata u poslovanju s hranom i službenih kontrola
 - WGS za **jedan izolat po serovaru/biotipu/molekularnom tipu**
- **Preporuka:** države članice dijele podatke o *L. monocytogenes* sa **EFSA One Health WGS**
→ brži izvještaji o izbijanju bolesti
- Omogućuje **pravovremene korektivne mjere** u tvornicama s kontaminiranim proizvodima
- Primjena: **od 23. kolovoza 2026.**
- Troškovi?

Uredba Komisije 2024/2463



- Uredba omogućuje primjenu **alternativnih analitičkih metoda** u službenim kontrolama hrane radi provjere sukladnosti s mikrobiološkim kriterijima iz **Uredbe (EZ) 2073/2005**, pod uvjetom da su te metode:
 - **validirane** u odnosu na referentnu metodu prema **EN ISO 16140-2** (ili ekvivalentnom standardu)
 - **jednako učinkovite i pouzdane** kao referentne metode
- u slučaju **komercijalnih metoda**, dodatno **certificirane od neovisnog tijela**, uz redovitu **reviziju svakih 5 godina**.
- Uredba omogućuje uporabu **bržih i modernijih metoda** (npr. real-time PCR), čime se povećava **fleksibilnost službenih laboratorija**, uz očuvanje **znanstvene i regulatorne pouzdanosti**
- **Primjena: 3. listopada 2024.**

New *Listeria* spp.

Listeria sensu stricto (10 vrsta)

- Vrlo slične *L. monocytogenes*
- Primjeri: *L. marthii*, *L. swaminathanii*, *L. cossartiae*
- Dijele slična fenotipska i metabolička svojstva
- Mogu se nalaziti u prehrambenim pogonima i okolišu

Listeria sensu lato (18 vrsta)

- Genotipski i fenotipski **različite od *L. monocytogenes***
- Bakterije okoliša (tlo, voda, biljni materijal)
- Nisu patogene, ali mogu ukazivati na **uvjete pogodne za rast *L. monocytogenes* → rizik za sigurnost hrane**
- **3 nova roda:** Mesolisteria, Paenilisteria i Murraya

Identifikacija i biokemija

- Potrebno **ažurirati metode identifikacije** – uključiti nove vrste *Listeria sensu lato*
- Time se smanjuje rizik od:
 - **Lažno pozitivnih** rezultata (ako nepatogene vrste reagiraju u testovima)
 - **Lažno negativnih** rezultata (ako metode nisu usmjerene na virulencijske gene *L. monocytogenes*)
- Ključni virulencijski geni: *hly*, *prfA*, *actA*, *inlA*

Značaj za sigurnost hrane

- prisutnost *Listeria spp.* u okolišu = indikator **povoljnih uvjeta za rast *L. monocytogenes***
- Redovito praćenje okoliša i prehrambenih pogona → ključna mjera u prevenciji kontaminacije hrane

GenoListeria

- Validacija metode kroz suradnju sa EURL-*Listeria monocytogenes*
- Multiplex PCR
- 2 triplex PCR reakcije (Lmo0737, prs, plcA i Lmo1118, ORF2110, ORF2819)
- 30 klonalnih kompleksa



Validacija ISO standarda 11290-1:2017



- Međulaboratorijsko testiranje
- 10 službenih laboratorija
- 2 medija (testiranje novog medija i usporedba sa Half Fraser-om)
- Troškovi dopreme uzoraka?
- Sir od sirovog mlijeka, hrana za dojenčad
- Uzorak 25g
- Broj uzoraka?
- Početak i završetak analize

EURL - Lex



- Uredba Komisije (EU) 2024/2895 od 20. studenoga 2024. o izmjeni Uredbe (EZ) br. 2073/2005 u pogledu bakterije *Listeria monocytogenes*

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/ALL/?uri=CELEX:32024R2895>

- Provedbena uredba Komisije (EU) 2025/179 od 31. siječnja 2025. o prikupljanju i prijenosu molekularnih analitičkih podataka u okviru epidemioloških istraživanja izbijanja bolesti koje se prenose hranom, u skladu s Direktivom 2003/99/EZ Europskog parlamenta i Vijeća

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/ALL/?uri=CELEX:32025R0179>

- Provedbena uredba Komisije (EU) 2024/2463 od 12. rujna 2024. o utvrđivanju analitičkih metoda koje se primjenjuju na službene kontrole koje se provode radi verifikacije sukladnosti subjekata u poslovanju s hranom s Uredbom (EZ) br. 2073/2005

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX%3A32024R2463>

Hvala na pažnji!



Kontakti:

humski@veinst.hr

stojevic@veinst.hr

hlebic@veinst.hr

peinovic@veinst.hr

diana.brlek-gorski@hzjz.hr

ivana.perkovic@hzjz.hr