

Ocena skuteczności promieniowej jonizacji katalitycznej w inaktywacji pałeczek *Listeria monocytogenes* z żywności i powierzchni kontaktujących się z żywnością

Krzysztof Skowron, Katarzyna Grudlewska, Agnieszka Krawczyk, Eugenia Gospodarek-Komkowska

Katedra i Zakład Mikrobiologii, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

1. Wprowadzenie

L. monocytogenes jest krótką, Gram-dodatnią, pleomorficzną, nieprzetrwalnikującą pałeczką (Murray i wsp. 2013, Gezali i wsp. 2016). Bakterie są względnie beztlenowcami. Namnażają się w szerokim zakresie temperatury (0-45°C) oraz pH (4,5-9,0). Znoszą także wysokie zasolenie środowiska (do 10% NaCl). Pałeczki *L. monocytogenes* występują powszechnie w glebie, wodach słodkich i słonych oraz ściekach. Mogą zanieczyszczać roślinność, pasze i kiszonki. Stąd, na drodze zależności pokarmowych trafiają do przewodu pokarmowego licznych gatunków ssaków, m.in., bydła, owiec, zwierząt futerkowych, a także ptaków domowych i dzikich (Murray i wsp. 2013). Mogą także kolonizować przewód pokarmowy człowieka. Ze względu na powszechne występowanie w środowisku naturalnym, istnieje ryzyko kontaminacji surowców pochodzenia roślinnego i zwierzęcego pałeczkami *L. monocytogenes* (Szarapińska-Kwaszewska i Kwaszewska 2013).

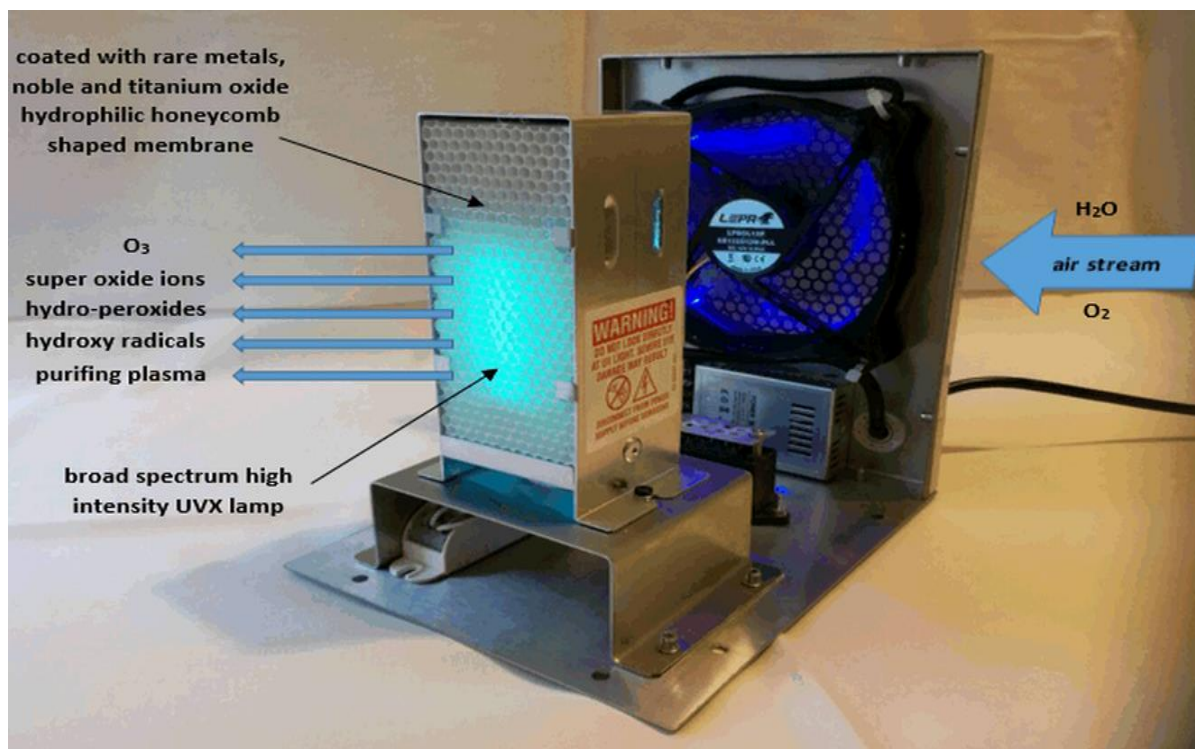
Główną drogą rozprzestrzeniania się pałeczek *L. monocytogenes* jest spożycie zanieczyszczonej żywności (EFSA, 2016). Pomimo, możliwej pierwotnej kontaminacji materiałów pochodzenia zwierzęcego i roślinnego, to etap przetwórczy oraz sposób przechowywania produktów końcowych decydują, w większości przypadków, o osiągnięciu dawki chorobotwórczej *L. monocytogenes* (Kramarenko i wsp. 2013). Prowadzone w ostatnich latach badania wskazują, że częstość występowania drobnoustroju w artykułach finalnych jest znacząco wyższa w porównaniu z surowcami pierwotnymi. Ponadto, wyniki analiz wskazują na krzyżową kontaminację produktów. Szczepy izolowane z powierzchni produkcyjnych, a także produktów finalnych prezentują inne genotypy, niż szczepy izolowane z surowców przed procesem technologicznym (Kathariou 2002, Jemmi i Stephan 2006). Główną przyczyną wtórnej kontaminacji produktów spożywczych jest biofilm bakteryjny tworzący się na wielu, wykonanych z różnych materiałów, powierzchniach procesowych (zbiorniki, taśmy przenośnikowe, powierzchnie tnące), a także na ścianach czy sufitach zakładów przemysłowych (Pan i wsp. 2006, Swaminathan i Gerner-Smidt 2007, Capentier i

Cerf 2011). Powstająca w środowisku przetwórczym błona biologiczna *L. monocytogenes* obejmuje najbardziej patogenne serotypy tych pałeczek: 1/2a, 1/2b i 4b. Jednak mechanizm promujący tę tendencję nie został, jak dotąd, poznany (Kramarenko i wsp. 2013). Drobnoustroje tworzące biofilm wykazują wyższą oporność na działanie niekorzystnych czynników zewnętrznych, a także środków dezynfekcyjnych, antybiotyków oraz surfaktantów, w porównaniu z drobnoustrojami pozostającymi w postaci planktonu (Czaczyk i Myszka 2007b, Flemming i Wingender 2010). Horyzontalna wymiana genów zachodząca w obrębie biofilmu i przekazywanie plazmidów, przyczynia się do rozprzestrzenienia oporności na leki i środki dezynfekcyjne. Ponadto, wykazano, że oporność komórek bakteryjnych tworzących biofilm zależy w dużej mierze od specyfiki powierzchni, na której została ona wytworzona oraz jej zanieczyszczenia (Simoes i wsp. 2010).

W celu zapewnienia bezpieczeństwa mikrobiologicznego, podczas produkcji żywności stosowane są różnorodne metody eliminacji pałeczek *L. monocytogenes* ze środowiska zakładów przetwórczych. Wśród nich wyróżnia się metody fizyczne, chemiczne i biologiczne.

Technologia usuwania zanieczyszczeń ze środowiska z wykorzystaniem fotokatalizy heterogenicznej jest przedmiotem badań od niemal 50 lat. Po wprowadzeniu innowacji strukturalnych, mających na celu zwiększenie efektywności procesu, technologię zdefiniowano jako promieniową jonizację katalityczną (Radiant Catalytic Ionization, RCI) (Space Foundation 2014).

Komórka RCI posiada strukturę zoptymalizowaną pod kątem przepływu oczyszczanego powietrza (ryc. 1). Składa się z matrycy wydłużonych komponentów tubularnych wykonanych z poliwęglanu, ułożonych równoległe w układzie przypominającym plaster miodu. Powłoka elementów bazowych matrycy wykazuje właściwości hydrofilowe i zawiera substancje jak: dwutlenek tytanu, rod, srebro, miedź. Przeciwnie do układu znajduje się źródło promieniowania ultrafioletowego o szerokim spektrum. Lampa UV wykorzystuje gaz argonowy z rtęcią i włókna karbidowe o spektrum widmowym 100 i 367 nm. W rezultacie utleniania katalitycznego, stymulowanego promieniowaniem UV, na granicy heterogennych faz (gaz - ciało stałe) powstają reaktywne formy tlenu: rodniki hydroksylowe, jony nadadtlenkowe, jony wodorotlenkowe. Wytwarzana jest również niewielka ilość ozonu (Grinshpun i wsp. 2007, Małecka i Borowski 2011).



Ryc. 1. Schemat budowy i funkcjonowania urządzenia RCI

Promieniowa jonizacja katalityczna jest definiowana jako aktywna technologia oczyszczania powietrza. Urządzenia generujące zjawisko RCI przeznaczone są do instalacji w systemach ogrzewania, wentylacji i klimatyzacji bądź użytkowania w formie wolnostojącej, niezależnej od istniejących systemów. Wykazano, że powstające w procesie reaktywne formy tlenu oraz cząsteczki ozonu zmniejszą poziom nieprzyjemnych zapachów i dymów oraz eliminują zanieczyszczenia mikrobiologiczne. Emitowane reaktywne formy tlenu generują uszkodzenia oksydacyjne wirusowego materiału genetycznego, a także upośledzają funkcjonalność białek kapsydów. W przypadku komórek bakteryjnych dochodzi do oksydacji cząsteczek koenzymu A, skutkującej inhibicją szlaków oddychania komórkowego, oksydacji nienasyconych fosfolipidów i zniszczenia błony zewnętrznej oraz kumulacji szkodliwych zmian DNA lub RNA (Grinshpun i wsp. 2007). Cząsteczki nieożywione są usuwane z powietrza na drodze wytracania elektrostatycznego, wzbudzanego procesem jonizacji (Małecka i Borowski 2011).

W 2007 roku opublikowano pierwsze badania opisujące inaktywację różnych gatunków bakterii (w tym *L. monocytogenes*) z powierzchni stali nierdzewnej z wykorzystaniem technologii RCI, które prognozują potencjalne wykorzystanie metody w celu dezynfekcji powierzchni w sektorze przemysłowym, usługowym oraz opieki medycznej (Ortega i wsp. 2007).

Celem pracy była ocena skuteczności promieniowej jonizacji katalitycznej w inaktywacji pałeczek *L. monocytogenes* w postaci komórek planktonicznych oraz wytworzonego biofilmu na wybranych produktach spożywczych i powierzchniach kontaktujących się z żywnością.

2. Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło 6 szczepów *L. monocytogenes* izolowanych z różnych rodzajów żywności: 2 szczepy pochodziły z mrożonych mieszanek wielowarzywnych (V1 i V2), 2 szczepy - ze świeżych filetów z łososia (S1 i S2) oraz 2 szczepy - z sera miękkiego typu Camembert (CH1 i CH2). Wykorzystane izolaty pochodziły z kolekcji Katedry i Zakładu Mikrobiologii Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

2.1. Przygotowanie badanych powierzchni

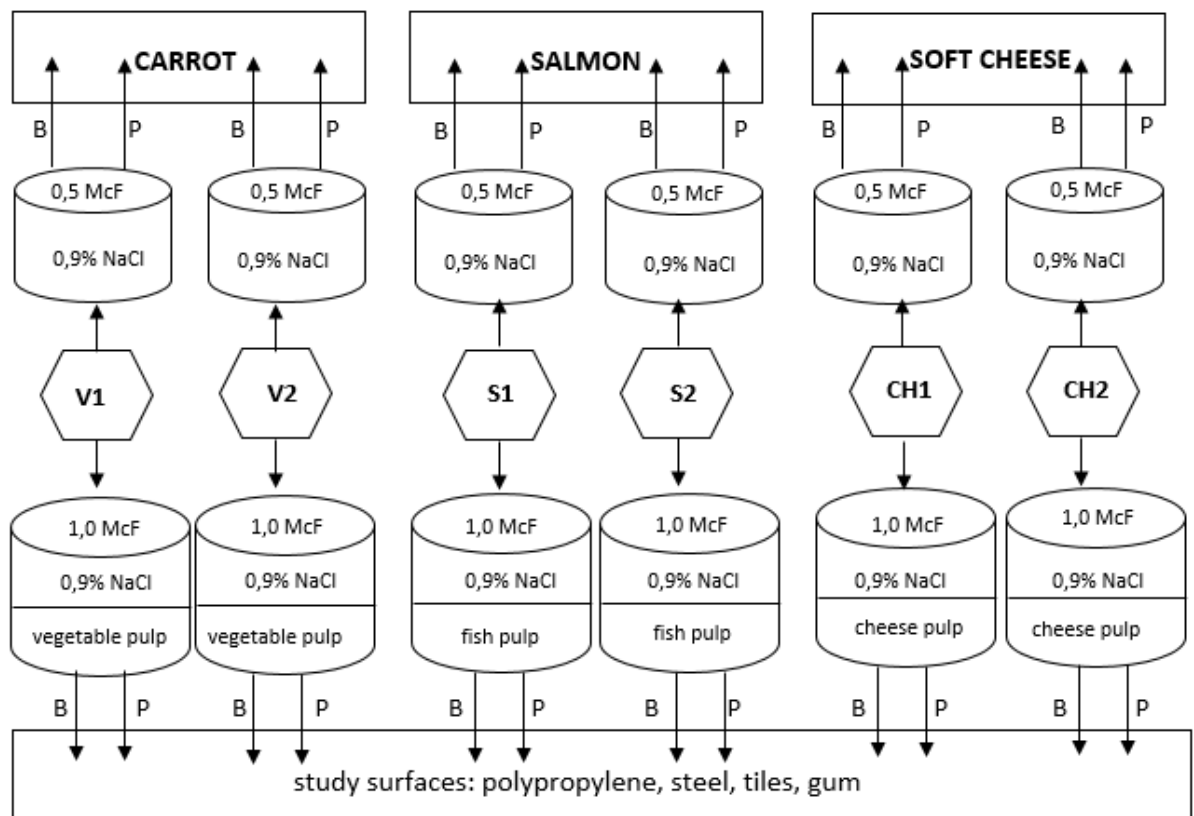
W badaniu użyto próbki różnych rodzajów żywności, dostępnych w obrocie detalicznym: surowej marchwi, mrożonych filetów z łososia, sera miękkiego typu Camembert.

Próbki żywności pocięto w plastry o powierzchni około 1 cm x 2 cm oraz grubości 2 – 3 mm. Plastry poddano dezynfekcji w roztworze etanolu 96% przez 5 minut, a następnie wyjaławianiu za pomocą promieniowania ultrafioletowego typu C (UV-C), emitowanego przez lampę Philips TUV 36W/G36 T8, padającego przez 15 minut na każdą stronę próbki żywności. W kolejnym etapie próbki poszczególnych artykułów podzielono na dwie części, które umieszczono w odrębnych sterylnych woreczkach z zamknięciem strunowym. Z jednej części wykonano pulpy – odpowiednio warzywną, rybną i serową – w 100 ml zbuforowanego roztworu soli fizjologicznej (PBS) (Avantor). Przygotowane pulpy odpipetowano do jałowych probówek. Druga część materiału posłużyła jako powierzchnie badane w kolejnych etapach doświadczenia.

W badaniu wykorzystano dodatkowo fragmenty czterech rodzajów powierzchni powszechnie stosowanych w zakładach przetwórstwa spożywczego oraz miejscach przechowywania żywności – stal nierdzewną AISI 304, gumę, gres, polipropylen. Wszystkie powierzchnie zostały umyte, osuszone i wyjałowione w autoklawie.

2.2. Przygotowanie zawiesin bakteryjnych i kontaminacja powierzchni

Dla każdego ze szczepów *L. monocytogenes* wykonano 2 rodzaje zawiesin bakteryjnych w jałowej soli fizjologicznej: pierwszą – o gęstości optycznej 0,5 w skali McFarland’a (McF), drugą – o gęstości 1,0 McF. Każdą z zawiesin bakteryjnych o gęstości 1,0 McF zmieszano następnie z odpowiednią pulpą w stosunku objętościowym 1:1. Dla szczepów pochodzących z mrożonych mieszanek wielowarzywnych wykorzystano pulpę warzywną, dla szczepów wyizolowanych z filetów z łososia – pulpę rybną, dla izolatów z sera miękkiego typu Camembert – pulpę serową (ryc. 2). Zawiesiny bakteryjne o gęstości 0,5 McF wykorzystano do kontaminacji powierzchni produktów spożywczych, a o gęstości 1,0 McF zmieszane z pulpą do skażenia badanych powierzchni abiotycznych.



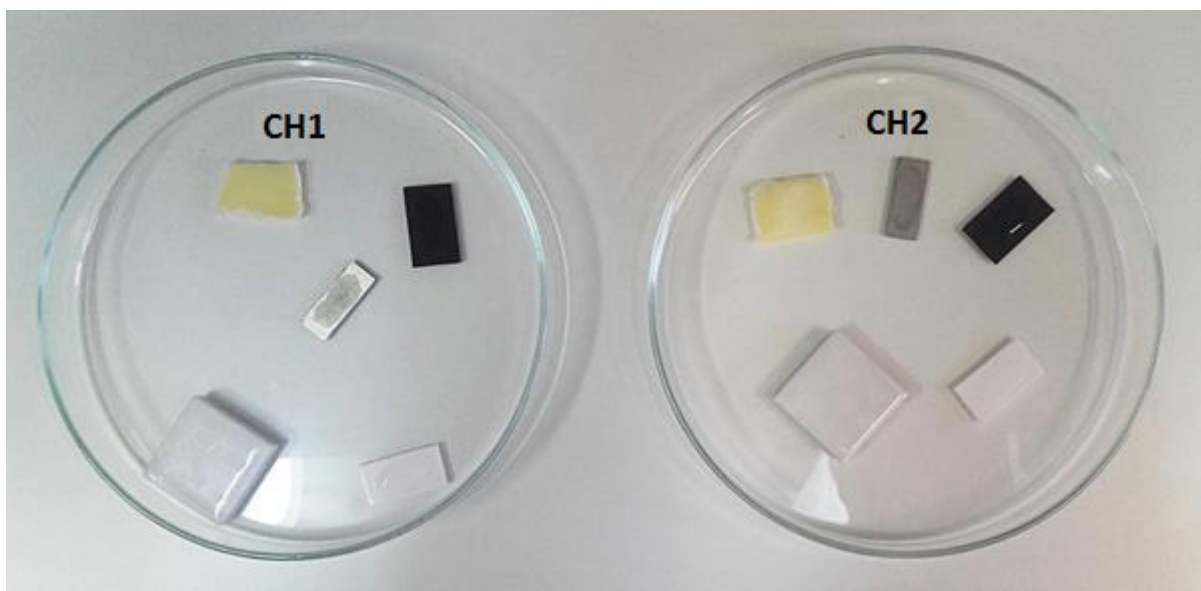
B – komórki w biofilmie, P – komórki planktonowe

Ryc. 2. Sposób tworzenia zawiesin bakteryjnych i nanoszenia ich na żywność oraz badane powierzchnie

Doświadczenie przeprowadzono w dwóch wariantach – dla komórek planktonicznych luźno związanych z powierzchniami i biofilmu pałeczek *L. monocytogenes*.

Celem uzyskania form planktonicznych bakterii, na przygotowane próbki żywności naniesiono po 50 μ l uprzednio sporządzonej zawiesiny bakteryjnej *L. monocytogenes* w soli fizjologicznej o gęstości 0,5 McF. Każdy ze szczepów posłużył do kontaminacji 4 próbek

odpowiedniego rodzaju artykułu spożywczego – szczepy V1 i V2 do kontaminacji marchwi, szczepy S1 i S2 – łososia, szczepy CH1 i CH2 – sera miękkiego. Równocześnie na badane powierzchnie abiotyczne naniesiono po 50 μ l zawiesiny bakteryjnej *L. monocytogenes* wykonanej w mieszaninie soli fizjologicznej i odpowiedniego rodzaju pulpy. Każdą z przygotowanych zawiesin bakteryjnych z dodatkiem pulpy naniesiono na 4 pojedyncze fragmenty wszystkich badanych materiałów: stali, gumy, gresu, polipropylenu. Próby pozostawiono do wyschnięcia w temperaturze pokojowej. W rezultacie otrzymano 4 identyczne zestawy prób dla każdego ze szczepów składające się z: 1 plastra żywności, 1 fragmentu stali, 1 fragmentu gumy, 1 fragmentu gresu i 1 fragmentu polipropylenu (ryc. 3).



Ryc. 3. Zestawy badanych próbek dla szczepów *L. monocytogenes* CH1 i CH2 (zawiesina naniesiona w formie komórek planktonicznych na fragmenty żywności i powierzchni)

Celem wytworzenia biofilmu przez pałeczki *L. monocytogenes* na badanych powierzchniach, próbki żywności i fragmenty powierzchni abiotycznych umieszczono bezpośrednio w przygotowanych zawiesinach i poddano inkubacji w temperaturze 37°C przez 24 godziny. W każdej z zawiesin bakteryjnych o gęstości 0,5 McF w soli fizjologicznej pozostawiono po 4 próbki odpowiedniego rodzaju produktu spożywczego; dla szczepów V1 i V2 – plastry marchwi, S1 i S2 – fragmenty filetów z łososia, CH1 i CH2 – kawałki sera. Z kolei w każdej mieszaninie zawiesiny w soli fizjologicznej i odpowiedniej pulpy umieszczono

po 4 pojedyncze fragmenty wszystkich badanych materiałów: stali, gumy, gresu, polipropylenu. Podobnie jak w przypadku naniesienia bakterii w formie planktonicznej otrzymano 4 identyczne zestawy próbek dla każdego ze szczepów składające się z: 1 plastra żywności, 1 fragmentu stali, 1 fragmentu gumy, 1 fragmentu gresu i 1 fragmentu polipropylenu.

W przypadku naniesienia komórek w formie planktonicznej na badane powierzchnie, dwa z czterech przygotowanych w tym wariantcie zestawów posłużyły jako badane próbki (poddane działaniu urządzenia RCI), pozostałe dwa stanowiły próby kontrolne dodatnie. Analogicznie – dwa z czterech zestawów próbek, w których pałeczki *L. monocytogenes* wytworzyły biofilm, poddano ekspozycji RCI, pozostałe dwa posłużyły jako próby kontrolne dodatnie. Próbę ujemną stanowiły fragmenty badanych powierzchni nieskażone zawiesinami bakteryjnymi.

2.3. Poddanie materiału działaniu urządzenia RCI

Wszystkie zestawy badanych próbek wystawiono na działanie urządzenia Induct 750 generującego zjawisko promieniowej jonizacji katalitycznej. Ekspozycję prowadzono przez 30 minut w zamkniętej komorze, gwarantującej ograniczenie możliwości dodatkowego skażenia powierzchni innymi drobnoustrojami. Badane materiały znajdowały się w odległości około 20 cm od urządzenia. Próbki kontrolne nie zostały poddane działaniu urządzenia RCI.

2.4. Ustalenie liczby pałeczek *Listeria monocytogenes* w próbkach kontrolnych i badanych

W kolejnym etapie badania wszystkie fragmenty żywności oraz powierzchni umieszczono pojedynczo w jałowych pojemnikach zawierających 25 ml zbuforowanego roztworu soli fizjologicznej (PBS) (Avantor), a następnie poddano 20-minutowej sonikacji w sonikatorze Ultrasonic DU-4 (Nickel-Electro) oraz 10-minutowemu wytrząsaniu z prędkością 400 rpm w celu uwolnienia obecnych na powierzchniach komórek bakteryjnych do roztworu. Z uzyskanych w pojemnikach zawiesin wykonano szereg 10-krotnych rozcieńczeń do 10^{-5} o objętości 9 ml w zbuforowanym roztworze soli fizjologicznej (PBS) (Avantor). Z każdego rozcieńczenia wykonano posiew powierzchniowy zawiesiny o objętości 100 μ l na podłożu Columbia Agar z 5,0% krwią baranią (bioMérieux). Przygotowane hodowle inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37°C.

Po inkubacji zliczono wyrosłe kolonie *L. monocytogenes* i wyrażono je jako liczbę jednostek tworzących kolonie (j.t.k.) bakterii w przeliczeniu na 1 cm² powierzchni.

Na podstawie uzyskanego w posiewach wzrostu pałeczek *L. monocytogenes* pochodzących z badanych próbek (poddanych działaniu RCI) oraz próbek kontrolnych (niepoddanych działaniu RCI) wyliczono procentowy wskaźnik redukcji liczebności bakterii (PWR) dla wszystkich badanych szczepów na różnych zastosowanych w badaniu materiałach według wzoru:

$$PWR [\%] = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

gdzie: a - liczba drobnoustrojów w próbie kontrolnej

b - liczba drobnoustrojów w próbie badanej

2.5. Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki dotyczące liczby bakterii izolowanych z badanych powierzchni oraz wyliczone PWR poddano analizie statystycznej w programie STATISTICA 13.0 PL (StatSoft).

Dla każdego z badanych szczepów, zarówno dla liczby, jak i PWR, wyliczono średnią arytmetyczną oraz odchylenie standardowe z dwóch powtórzeń wykonanych dla takich samych powierzchni oraz tego samego sposobu naniesienia drobnoustrojów

Dla wyliczonych wartości PWR przeprowadzono wieloczynnikową analizę wariancji, traktując jako zmienne niezależne: szczep, jego pochodzenie, rodzaj powierzchni oraz sposób naniesienia drobnoustrojów. W oparciu o test post-hoc Tukey'a, uwzględniając powyższe zmienne, sprawdzono istotność różnic pomiędzy wartościami PWR przy poziomie istotności $\alpha=0,05$.

3. Wyniki

Uzyskane wyniki pozwoliły wykazać skuteczność RCI w inaktywacji zarówno form planktonicznych, jak i biofilmowych badanych szczepów *L. monocytogenes* na wszystkich powierzchniach (tab. 1-3).

W przypadku wszystkich wariantów kontrolnych, dla form planktonicznych, najmniej pałeczek *L. monocytogenes* izolowano z marchwi - $2,15 \times 10^5$ j.t.k. \times cm⁻² (szczep izolowany z mrożonych mieszanek wielowarzywnych) (tab. 1). Najwięcej *L. monocytogenes* izolowano natomiast ze stali - $1,84 \times 10^7$ j.t.k. \times cm⁻² dla form planktonicznych (szczep z łososia, tab. 2). Z kolei z biofilmu wytworzonego na badanych powierzchniach w wariantach kontrolnych

najmniej pałeczek izolowano z kawałka sera dla szczepu izolowanego z sera ($3,13 \times 10^6$ j.t.k. \times cm⁻²), (tab. 3). Natomiast najwięcej pałeczek w wariancie kontrolnym reizolowano z powierzchni polipropylenu dla szczepu pochodzącego z łososia ($6,85 \times 10^7$ j.t.k. \times cm⁻²), (tab. 2). Wyliczony procentowy wskaźnik redukcji dla komórek planktonicznych był najwyższy dla szczepu pochodzącego z mrożonych mieszanek wielowarzywnych naniesionego na powierzchnię gumy (99,97%), (tab. 1). Najniższy PRR dla komórek planktonicznych odnotowano dla szczepu izolowanego z łososia naniesionego na powierzchnię filetu z łososia (18,19%), (tab. 2). W przypadku biofilmu dla wszystkich badanych izolatów, skuteczność RCI była wyraźnie niższa w porównaniu z formami planktonicznymi. Najniższą skuteczność RCI odnotowano dla szczepu wyosobnionego z łososia naniesionego na powierzchnię łososia (3,92%), (tab. 2). Najwyższą skuteczność RCI wykazano dla szczepu izolowanego z mrożonych mieszanek wielowarzywnych naniesionego na stal (70,10%), (tab. 1). Przeprowadzone badania pozwoliły wykazać pewne różnice w podatności szczepów wyhodowanych z warzyw, łososia i sera miękkiego na technologie RCI. Wartości PRR na niektórych badanych powierzchniach różniły się istotnie statystycznie pomiędzy szczepami (tab. 1-3). Największy odzysk drobnoustrojów z badanych powierzchni, w wariancie kontrolnym, odnotowano w przypadku szczepów pochodzących z łososia, niezależnie czy występowały w formie planktonicznej, czy biofilmu (tab. 1-3).

Tabela 1. Wpływ promieniowej jonizacji katalitycznej na inaktywację pałeczek *L. monocytogenes* na powierzchni marchwi i badanych materiałów.

Szczepy	FORMA PLANTONICZNA			BIOFILM		
	Liczba bakterii [j.t.k.×cm ⁻²]		PRR [%]	Liczba bakterii [j.t.k.×cm ⁻²]		PRR [%]
	Kontrola pozytywna	Próbka badana		Kontrola pozytywna	Próbka badana	
MARCHEW						
V1	2,15×10 ⁵ (± 2,12×10 ⁴)	2,58×10 ⁴ (± 1,13×10 ³)	87,97 ^d (± 0,66)	1,24×10 ⁷ (± 6,36×10 ⁵)	9,60×10 ⁶ (± 4,24×10 ⁵)	22,25 ^f (± 0,57)
V2	2,75×10 ⁵ (± 3,54×10 ⁴)	1,76×10 ⁴ (± 2,55×10 ³)	93,61 ^b (± 0,10)	1,91×10 ⁷ (± 3,46×10 ⁶)	1,11×10 ⁷ (± 1,48×10 ⁶)	41,74 ^a (± 2,80)
GUMA						
V1	1,95×10 ⁶ (± 2,83×10 ⁵)	7,85×10 ⁴ (± 4,95×10 ⁴)	95,95 ^c (± 0,33)	6,00×10 ⁷ (± 2,83×10 ⁶)	2,69×10 ⁷ (± 3,32×10 ⁶)	55,33 ^{b,c,d} (± 3,43)
V2	1,69×10 ⁶ (± 2,62×10 ⁵)	5,75×10 ² (± 8,13×10 ²)	99,97 ^a (± 0,04)	2,68×10 ⁷ (± 1,98×10 ⁶)	1,34×10 ⁷ (± 1,56×10 ⁶)	50,08 ^{a,b,c} (± 2,12)
POLIPROPYLEN						
V1	6,08×10 ⁵ (± 9,55×10 ⁴)	2,80×10 ³ (± 4,24×10 ²)	99,53 ^a (± 0,14)	5,25×10 ⁷ (± 2,47×10 ⁷)	2,76×10 ⁷ (± 1,33×10 ⁷)	47,57 ^{a,b} (± 0,61)
V2	1,62×10 ⁶ (± 1,63×10 ⁵)	8,68×10 ⁴ (± 1,52×10 ⁴)	94,55 ^{b,c} (± 1,49)	1,61×10 ⁷ (± 4,10×10 ⁶)	9,50×10 ⁶ (± 1,41×10 ⁶)	40,17 ^a (± 6,46)
STAL						
V1	1,35×10 ⁶ (± 4,88×10 ⁵)	8,35×10 ² (± 1,20×10 ²)	99,94 ^a (± 0,01)	3,00×10 ⁷ (± 1,48×10 ⁶)	8,95×10 ⁶ (± 2,12×10 ⁵)	70,10 ^e (± 0,77)
V2	1,53×10 ⁶ (± 3,89×10 ⁵)	6,70×10 ² (± 2,40×10 ²)	99,96 ^a (± 0,01)	3,53×10 ⁷ (± 1,01×10 ⁷)	9,55×10 ⁶ (± 3,04×10 ⁶)	72,99 ^e (± 0,28)
GRES						
V1	4,98×10 ⁵ (± 3,89×10 ⁴)	1,14×10 ³ (± 1,91×10 ²)	99,77 ^a (± 0,06)	2,63×10 ⁷ (± 1,77×10 ⁶)	1,06×10 ⁷ (± 9,90×10 ⁵)	59,65 ^{c,d} (± 1,05)
V2	1,71×10 ⁶ (± 6,43×10 ⁵)	6,75×10 ² (± 2,47×10 ²)	99,96 ^a (± 0,01)	2,66×10 ⁷ (± 4,24×10 ⁶)	9,45×10 ⁶ (± 1,77×10 ⁶)	64,55 ^{d,e} (± 0,99)

Tabela 2. Wpływ promieniowej jonizacji katalitycznej na inaktywację pałeczek *L. monocytogenes* na powierzchni łososia i badanych materiałów.

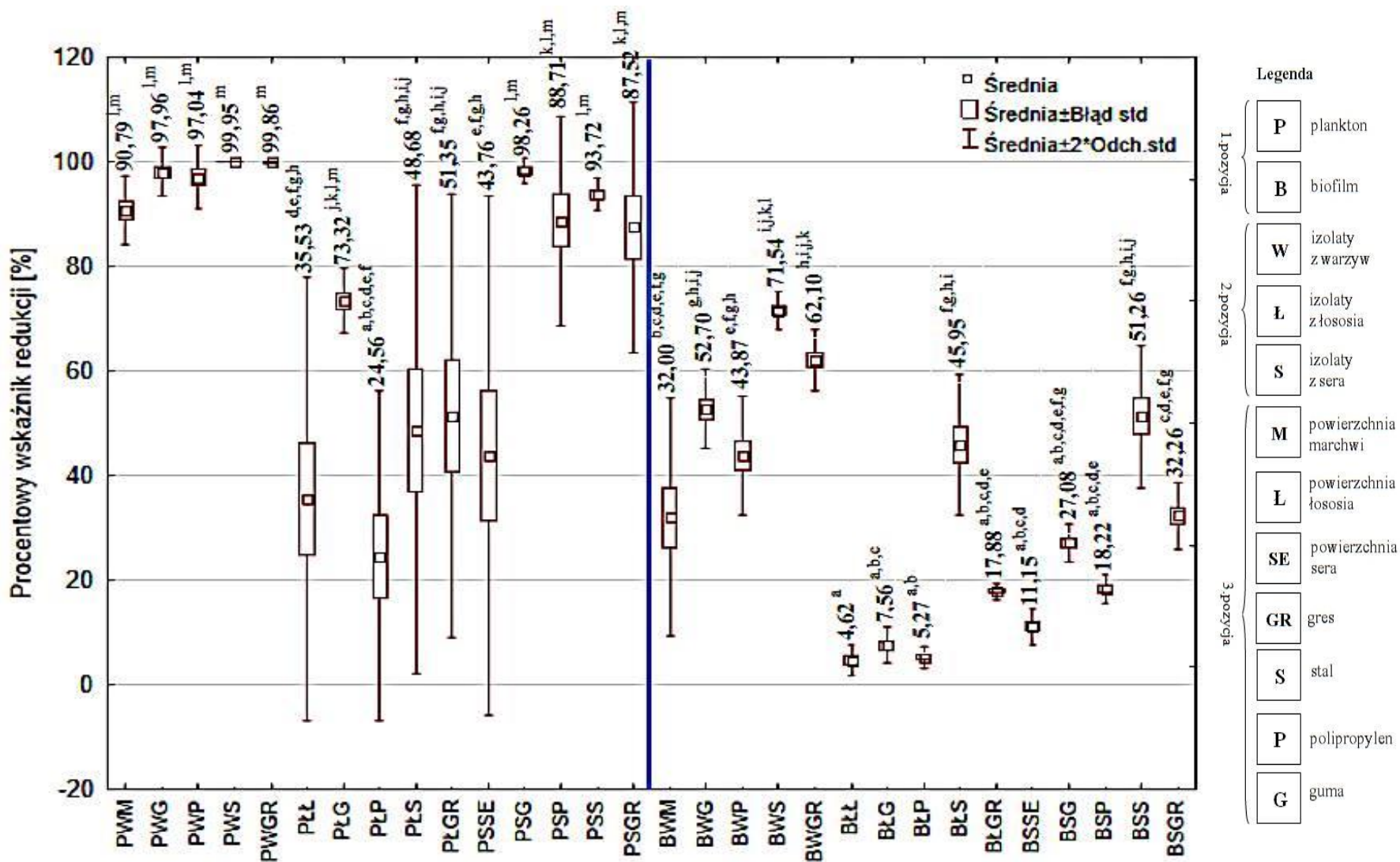
Szczepy	FORMA PLANTONICZNA			BIOFILM		
	Liczba bakterii [j.t.k.×cm-2]		PRR [%]	Liczba bakterii [j.t.k.×cm-2]		PRR [%]
	Kontrola pozytywna	Próbka badana		Kontrola pozytywna	Próbka badana	
ŁOSOŚ						
S1	$2,90 \times 10^6$ ($\pm 1,41 \times 10^5$)	$1,38 \times 10^6$ ($\pm 3,89 \times 10^5$)	52,86 ^a ($\pm 11,11$)	$4,65 \times 10^7$ ($\pm 7,78 \times 10^6$)	$4,40 \times 10^7$ ($\pm 7,07 \times 10^6$)	5,32 ^a ($\pm 0,63$)
S2	$1,56 \times 10^6$ ($\pm 2,26 \times 10^5$)	$1,27 \times 10^6$ ($\pm 9,90 \times 10^4$)	18,19 ^c ($\pm 5,52$)	$3,90 \times 10^7$ ($\pm 2,83 \times 10^6$)	$3,75 \times 10^7$ ($\pm 3,54 \times 10^6$)	3,92 ^a ($\pm 2,10$)
GUM						
S1	$8,65 \times 10^6$ ($\pm 4,95 \times 10^5$)	$2,49 \times 10^6$ ($\pm 3,75 \times 10^5$)	71,35 ^b ($\pm 2,69$)	$6,05 \times 10^7$ ($\pm 3,54 \times 10^6$)	$5,60 \times 10^7$ ($\pm 2,83 \times 10^6$)	7,42 ^a ($\pm 0,74$)
S2	$6,93 \times 10^6$ ($\pm 1,17 \times 10^6$)	$1,73 \times 10^6$ ($\pm 4,60 \times 10^5$)	75,30 ^b ($\pm 2,48$)	$4,70 \times 10^7$ ($\pm 8,49 \times 10^6$)	$4,35 \times 10^7$ ($\pm 9,19 \times 10^6$)	7,71 ^a ($\pm 2,90$)
POLIPROPYLEN						
S1	$7,70 \times 10^6$ ($\pm 1,13 \times 10^6$)	$5,65 \times 10^6$ ($\pm 2,62 \times 10^6$)	28,35 ^c ($\pm 23,45$)	$6,85 \times 10^7$ ($\pm 6,36 \times 10^6$)	$6,45 \times 10^7$ ($\pm 4,95 \times 10^6$)	5,77 ^a ($\pm 1,53$)
S2	$9,65 \times 10^6$ ($\pm 4,95 \times 10^5$)	$7,68 \times 10^6$ ($\pm 1,52 \times 10^6$)	20,77 ^c ($\pm 11,69$)	$8,40 \times 10^7$ ($\pm 4,24 \times 10^6$)	$8,00 \times 10^7$ ($\pm 4,24 \times 10^6$)	4,77 ^a ($\pm 0,24$)
STAL						
S1	$1,84 \times 10^7$ ($\pm 4,38 \times 10^6$)	$5,73 \times 10^6$ ($\pm 7,42 \times 10^5$)	68,47 ^{a,b} ($\pm 3,48$)	$3,31 \times 10^7$ ($\pm 2,62 \times 10^6$)	$1,97 \times 10^7$ ($\pm 1,63 \times 10^6$)	40,55 ^c ($\pm 0,21$)
S2	$7,90 \times 10^6$ ($\pm 8,49 \times 10^5$)	$5,65 \times 10^6$ ($\pm 1,20 \times 10^6$)	28,89 ^{c,d} ($\pm 7,58$)	$2,83 \times 10^7$ ($\pm 3,11 \times 10^6$)	$1,37 \times 10^7$ ($\pm 2,83 \times 10^5$)	51,35 ^d ($\pm 4,35$)
GRES						
S1	$1,49 \times 10^7$ ($\pm 4,03 \times 10^6$)	$5,33 \times 10^6$ ($\pm 8,13 \times 10^5$)	63,54 ^{a,b} ($\pm 4,42$)	$3,95 \times 10^7$ ($\pm 2,12 \times 10^6$)	$3,25 \times 10^7$ ($\pm 2,12 \times 10^6$)	17,75 ^b ($\pm 0,95$)
S2	$8,40 \times 10^6$ ($\pm 8,49 \times 10^5$)	$5,00 \times 10^6$ ($\pm 1,76 \times 10^6$)	39,17 ^d ($\pm 27,10$)	$2,97 \times 10^7$ ($\pm 4,24 \times 10^5$)	$2,44 \times 10^7$ ($\pm 6,36 \times 10^5$)	18,02 ^b ($\pm 0,97$)

Tabela 3. Wpływ promieniowej jonizacji katalitycznej na inaktywację pałeczek *L. monocytogenes* na powierzchni sera miękkiego i badanych materiałów.

Szczepy	FORMA PLANTONICZNA			BIOFILM		
	Liczba bakterii [j.t.k.×cm ⁻²]		PRR [%]	Liczba bakterii [j.t.k.×cm ⁻²]		PRR [%]
	Kontrola pozytywna	Próbka badana		Kontrola pozytywna	Próbka badana	
SER MIEKKI						
CH1	1,81×10 ⁶ (±1,63×10 ⁵)	6,70×10 ⁵ (± 4,24×10 ⁴)	62,84 ^b (± 1,00)	3,13×10 ⁶ (± 9,12×10 ⁵)	2,74×10 ⁶ (± 7,99×10 ⁵)	12,48 ^a (± 0,02)
CH2	1,69×10 ⁶ (± 7,99×10 ⁵)	1,19×10 ⁶ (± 2,69×10 ⁵)	24,69 ^c (± 19,77)	4,72×10 ⁶ (± 3,04×10 ⁵)	4,25×10 ⁶ (± 2,12×10 ⁵)	9,82 ^a (± 1,32)
GUM						
CH1	1,98×10 ⁶ (± 8,13×10 ⁵)	1,31×10 ⁴ (± 1,34×10 ³)	99,26 ^a (± 0,37)	5,64×10 ⁶ (± 6,58×10 ⁵)	4,15×10 ⁶ (± 3,54×10 ⁵)	26,22 ^{b,c,d} (± 2,34)
CH2	6,43×10 ⁵ (± 1,45×10 ⁵)	1,79×10 ⁴ (± 5,44×10 ³)	97,25 ^a (± 0,23)	3,51×10 ⁶ (± 5,52×10 ⁵)	2,53×10 ⁶ (± 3,46×10 ⁵)	27,95 ^{b,c,d} (± 1,45)
POLIPROPYLEN						
CH1	9,15×10 ⁵ (± 7,78×10 ⁴)	1,83×10 ⁵ (± 3,18×10 ⁴)	80,13 ^{a,b} (± 1,79)	6,55×10 ⁶ (± 4,95×10 ⁵)	5,43×10 ⁶ (± 4,60×10 ⁵)	17,20 ^{a,b} (± 0,76)
CH2	6,00×10 ⁵ (± 2,83×10 ⁴)	1,65×10 ⁴ (± 1,23×10 ⁴)	97,30 ^a (± 1,92)	5,40×10 ⁶ (± 2,83×10 ⁵)	4,36×10 ⁶ (± 1,84×10 ⁵)	19,24 ^{a,b,c} (± 0,83)
STAL						
CH1	4,95×10 ⁵ (± 1,06×10 ⁵)	2,47×10 ⁴ (± 6,65×10 ³)	95,04 ^a (± 0,28)	6,95×10 ⁶ (± 3,54×10 ⁵)	3,70×10 ⁶ (± 4,24×10 ⁵)	46,85 ^c (± 3,40)
CH2	2,55×10 ⁵ (± 7,78×10 ⁴)	1,92×10 ⁴ (± 4,45×10 ³)	92,40 ^a (± 0,57)	5,95×10 ⁶ (± 2,12×10 ⁵)	2,65×10 ⁶ (± 5,16×10 ⁵)	55,67 ^c (± 7,10)
GRES						
CH1	4,80×10 ⁵ (± 1,13×10 ⁵)	1,15×10 ⁴ (± 2,12×10 ³)	97,59 ^a (± 0,13)	4,50×10 ⁶ (± 4,24×10 ⁵)	2,94×10 ⁶ (± 3,82×10 ⁵)	34,78 ^d (± 2,34)
CH2	1,79×10 ⁵ (± 3,04×10 ⁴)	3,95×10 ⁴ (± 2,12×10 ³)	77,44 ^{a,b} (± 5,03)	3,29×10 ⁶ (± 4,17×10 ⁵)	2,31×10 ⁶ (± 3,25×10 ⁵)	29,74 ^{c,d} (± 0,98)

Średnie procentowe wskaźniki redukcji liczebności pałeczek *L. monocytogenes* dla szczepów o różnym pochodzeniu w zależności od zastosowanej w badaniu formy kontaminacji różnych powierzchni ujmuje ryc. 4. Wartość wskaźnika PWR dla komórek naniesionych na powierzchnie w formie planktonicznej kształtowała się na poziomie 24,56% (izolaty z łososia na polipropylenie) – 99,95% (izolaty z mrożonych mieszanek wielowarzywnych na stali). Z kolei dla pałeczek tworzących biofilm wynosiła od 4,62% (izolaty z łososia na filecie z łososia) do 71,54% (izolaty z warzyw na stali). W większości przypadków efektywność inaktywacji drobnoustrojów naniesionych na badane powierzchnie w formie komórek planktonicznych była istotnie statystycznie wyższa w porównaniu z tymi samymi szczepami na analogicznych powierzchniach, tworzącymi biofilm (ryc. 4).

Pochodzenie szczepów *L. monocytogenes* oraz związany z nim rodzaj pulpy dodawany do zawiesiny bakteryjnej znacznie wpływały na oporność badanych pałeczek na działanie technologii RCI. Wśród komórek bakteryjnych, zarówno naniesionych w formie planktonu, jak i tworzących biofilm, najwyższe odsetki eliminacji uzyskano dla izolatów pochodzących z mrożonych mieszanek wielowarzywnych, natomiast najniższe dla izolatów z filetów łososia. Wartości PWR dla form planktonicznych szczepów izolowanych z warzyw osiągnęły poziom od 90,79% (izolaty z warzyw na marchwi) do 99,95% (izolaty z mrożonych mieszanek wielowarzywnych na stali), natomiast dla formujących biofilm – od 32,00% (izolaty z mrożonych mieszanek wielowarzywnych na marchwi) do 71,54% (izolaty z mrożonych mieszanek wielowarzywnych na stali) (ryc. 4). Wśród izolatów pochodzących z filetów łososia, naniesionych na badane powierzchnie wskaźnik redukcji kształtował się od 24,56% (izolaty z łososia na polipropylenie) do 73,32% (izolaty z łososia na gumie), natomiast dla tych szczepów tworzących biofilm - od 4,62% (izolaty z łososia na filecie z łososia) do 45,95% (izolaty z łososia na stali) (ryc. 4). Stwierdzone różnice w wartościach PWR pomiędzy obiema grupami szczepów, w większości przypadków, były istotne statystycznie (ryc. 4).



Ryc. 4. Procentowy wskaźnik redukcji liczebności *L. monocytogenes* dla wszystkich prób badanych (a,b,c,... - wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie ($p \leq 0,05$))

W grupach szczepów bakteryjnych pochodzących z tego samego rodzaju żywności i naniesionych identycznym sposobem na materiały badane (jako plankton lub biofilm) różnice w inaktywacji w zależności od typu powierzchni nie były istotne statystycznie (ryc. 4). Analiza wartości PWR pozwoliła wykazać jednak pewne tendencje. Wśród większości szczepów *L. monocytogenes* efektywność inaktywacji komórek bakteryjnych pod wpływem promieniowej jonizacji katalitycznej była najniższa na powierzchniach badanych fragmentów żywności – odpowiednio 90,79% (plankton) i 32,00% (biofilm) dla izolatów z mieszanek wielowarzywnych; 4,62% (biofilm) dla izolatów z filetów łososia oraz 43,76% (plankton) i 11,15% (biofilm) dla izolatów z sera miękkiego. Wyjątek stanowiły formy planktoniczne szczepów *L. monocytogenes* pochodzących z łososia, wśród których najniższa wartość wskaźnika PWR została osiągnięta na powierzchni polipropylenu (24,56%) (ryc. 4). Wśród drobnoustrojów naniesionych na badane powierzchnie abiotyczne w formie zawiesin, proces eliminacji pałeczek przebiegał najskuteczniej na powierzchniach gumy (dla izolatów pochodzących z filetów łososia i sera) oraz stali (dla izolatów z mrożonych mieszanek wielowarzywnych), zaś najmniej efektywnie na powierzchni polipropylenu (ryc. 4). W grupie szczepów tworzących biofilm na powierzchniach abiotycznych najwyższą efektywność inaktywacji pałeczek *L. monocytogenes* uzyskano na powierzchniach stali (45,95-71,54%), a następnie gresu (17,88-62,10%), natomiast najniższą na powierzchni polipropylenu (5,27-43,87%) (ryc. 4).

4. Dyskusja

Komórkowe mechanizmy odpowiedzi na czynniki stresowe oraz zdolność tworzenia biofilmu pozwala *L. monocytogenes* na utrzymywanie się w środowisku naturalnym, jak i przetwórczym, oraz przetrwanie procesów konserwacji żywności, a także dezynfekcji urządzeń i pomieszczeń produkcyjnych oraz przechowalniczych. Stąd, poszukiwanie w ostatnich latach nowych, skutecznych metod sterylizacji i dezynfekcji zapewniających bezpieczeństwo i higienę produkcji.

Skuteczność procesu fotokatalitycznej oksydacji heterogenicznej z wykorzystaniem dwutlenku tytanu w inaktywacji zanieczyszczeń mikrobiologicznych została po raz pierwszy udokumentowana przez Matsunaga i wsp. (1985). W 2007 roku Grinshpun i wsp. (2007) opublikowali wyniki doświadczeń oceniających skuteczność przenośnych urządzeń generujących zjawisko promieniowej jonizacji katalitycznej, stosowanych w technologii

aktywnego oczyszczania powietrza. Wcześniejsze wyniki badań własnych (Skowron i wsp. 2017) również dowodzą skuteczności działania RCI na drobnoustroje znajdujące się w powietrzu. Pełną eliminację drobnoustrojów z powietrza uzyskano w przypadku *Escherichia coli* i *Candida albicans*.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że zjawisko promieniowej jonizacji katalitycznej generowane przez przenośne urządzenie Induct 750 wywołuje inaktywację pałeczek *L. monocytogenes* znajdujących się na powierzchni żywności oraz tworzyw abiotycznych rzędu 4,62 - 99,95% w zależności od pochodzenia badanego szczepu, właściwości zanieczyszczanej powierzchni oraz formy kontaminacji. Ortega i wsp. (2007) odnotowali ponad 90% redukcję pałeczek *L. monocytogenes*, naniesionych w formie komórek planktonicznych na fragmenty powierzchni stali nierdzewnej, po 2-godzinnej ekspozycji na działanie urządzenia emitującego RCI w zamkniętej komorze o kontrolowanym przepływie powietrza. Badania własne (Skowron i wsp. 2017) potwierdziły skuteczność RCI wobec wielu gatunków drobnoustrojów, w tym *L. monocytogenes*, naniesionych w formie planktonicznej na abiotyczne powierzchnie. Skuteczność fotooksydacji wobec *L. monocytogenes* na powierzchni stali wykazali również Saini i wsp. (2014) (4,37 log j.t.k./kupon stalowy po 15 minutach ekspozycji).

W dostępnym piśmiennictwie brak danych dotyczących skuteczności RCI wobec komórek w postaci biofilmu. Uzyskane w doświadczeniu wyniki wskazują na znacząco wyższą oporność na eliminacyjne działanie RCI komórek *L. monocytogenes* zgrupowanych w postaci biofilmu na badanych materiałach, w porównaniu do komórek bakteryjnych naniesionych w formie planktonicznej.

Zaobserwowana w pracy własnej zależność koresponduje z wynikami otrzymanymi w badaniach porównujących oporność pałeczek *L. monocytogenes* w formie biofilmu oraz planktonu na chemiczne środki dezynfekcyjne. Robbins i wsp. (2005) wykazali skuteczność bakteriobójczą ozonu, chloru oraz nadtlenu wodoru wobec do pałeczek *L. monocytogenes*, zarówno tworzących biofilm na powierzchni stali nierdzewnej, jak i naniesionych w formie komórek planktonicznych, jednak bakterie tworzące strukturę błony biologicznej wykazywały znacząco wyższą oporność w stosunku do każdego z zastosowanych środków. Podobne wyniki notowali Amalaradjou i wsp. (2009), uzyskując zwiększoną oporność biofilmu *L. monocytogenes* w porównaniu do komórek planktonicznych na eliminacyjne działanie chlorowodoru oktenidyny na powierzchni stali nierdzewnej oraz polistyrenu. Zwiększona oporność pałeczek *L. monocytogenes*, tworzących strukturę biofilmu na badanych materiałach, wobec bakteriobójczego działania RCI wynika najprawdopodobniej z obecności

pozakomórkowej substancji polimerycznej (EPS, extracellular polymeric substances) na powierzchni biofilmu, która fizycznie ogranicza dyfuzję generowanych jonów do wnętrza układu, chroniąc komórki bakteryjne przed inaktywacją.

Otrzymane w doświadczeniu wyniki wskazują dodatkowo na występowanie zależności między stopniem inaktywacji pałeczek *L. monocytogenes* pod wpływem działania RCI, a właściwościami zastosowanych tworzyw abiotycznych. Efektywność inaktywacji pałeczek *L. monocytogenes* z tworzyw abiotycznych była najwyższa na powierzchni stali, gumy i gresu, zaś najniższa na powierzchni polipropylenu. Wśród komórek tworzących biofilm stopień inaktywacji drobnoustrojów na poszczególnych powierzchniach był podobna, niezależnie od pochodzenia szczepów. Wśród komórek w postaci planktonicznej maksymalne współczynniki redukcji bakterii różniły się nieznacznie wśród szczepów wykazujących inne pochodzenie. Podobne wyniki otrzymali Krysiński i wsp. (1991), badając wpływ różnych środków dezynfekcyjnych oraz czyszczących na biofilm *L. monocytogenes* utworzony na powierzchniach, wykorzystywanych w zakładach przetwórstwa żywności. Badacze wykazali, iż oporność biofilmu pałeczek *Listeria* spp. jest uzależniona od właściwości kontaminowanych powierzchni. Oporność drobnoustrojów na standardowo użytkowane dezynfektanty oraz środki czyszczące, jak chlor, jodoform, kwas nadoctowy, była wyższa na powierzchni polistyrenu i poliuretanu w porównaniu do oporności obserwowanej na powierzchni stali nierdzewnej. Ponadto, Krysiński i wsp. (1991) wykluczyli różnice morfologiczne między zastosowanymi materiałami, jak obecność mikroszczelin, które mogłyby stanowić dodatkowe schronienie dla mikroorganizmów przed szkodliwym działaniem środków dezynfekcyjnych, co wskazuje na obecność innych czynników determinujących obserwowaną zależność.

Odnotowany w badaniu stopień inaktywacji pałeczek *L. monocytogenes* pod wpływem działania promieniowej jonizacji katalitycznej na powierzchni żywności był znacząco niższy w porównaniu do poziomu redukcji pałeczek na powierzchni zastosowanych w doświadczeniu tworzyw abiotycznych. Różnice wynikają najprawdopodobniej z całkowicie odmiennych właściwości artykułów spożywczych, które umożliwiają penetrację bakterii zawieszonych w roztworze wodnym w głąb surowca, a tym samym ochronę przed działaniem bakteriobójczych jonów generowanych w trakcie trwania zjawiska promieniowej jonizacji katalitycznej. Saini i wsp. (2014) wykazali skuteczność działania fotooksydacji wobec *L. monocytogenes* umieszczonych na fragmentach żywności. Wykazali oni redukcje liczby pałeczek *L. monocytogenes* o 1,39 i 1,63 log j.t.k./próbka po 120 s oraz o 2,16 i 2,52 log

j.t.k./próbka po 5 minutach ekspozycji, odpowiednio na serze amerykańskim i indyku gotowym do spożycia.

W przeprowadzonym doświadczeniu zaobserwowano różnice stopnia inaktywacji *L. monocytogenes* w zależności od pochodzenia badanych szczepów. Efektywność inaktywacji pałeczek *Listeria* spp. była najwyższa dla szczepów izolowanych z mrożonych mieszanek wielowarzywnych, znajdujących się w środowisku pulpy marchwiowej, zaś najniższa – dla szczepów pochodzących z filetów łososia znajdujących się w otoczeniu pulpy rybnej. Odnotowane różnice wydają się być wynikiem odmiennych właściwości fizycznych każdego z zastosowanych środowisk rozpraszających. Pulpa marchwiowa charakteryzowała się najniższą gęstością oraz stopniem rozdrobnienia fragmentów surowca; pulpa rybna – wprost przeciwnie – przedstawiała najwyższą gęstość oraz koncentrację rozdrobnionych cząstek produktu. Pulpa serowa wykazywała właściwości pośrednie. Zwiększona gęstość zawiesiny obciążającej oraz wysoka koncentracja cząstek surowca wydają się działać ochronnie na zawieszony w niej komórki *L. monocytogenes*, częściowo uniemożliwiając penetrację jonów emitowanych w trakcie trwania zjawiska promieniowej jonizacji katalitycznej, a w konsekwencji ograniczając inaktywację mikroorganizmów.

Podsumowując wyniki przeprowadzonych badań, można stwierdzić, że zjawisko RCI wywołuje inaktywację pałeczek *L. monocytogenes* na powierzchni żywności oraz tworzyw sztucznych, wykorzystywanych w przemyśle przetwórczym, w stopniu zróżnicowanym, zależnym od sposobu kontaminacji powierzchni, właściwości kontaminowanych materiałów, a także pochodzenia szczepu i właściwości otaczającego środowiska rozpraszającego, w którym zawieszony były mikroorganizmy. Oporność pałeczek *L. monocytogenes* tworzących biofilm na zastosowanych w badaniu powierzchniach procesowych, na działanie RCI koresponduje z wynikami analiz oporności badanego drobnoustroju na inne metody dezynfekcji. Skuteczność RCI w inaktywacji pałeczek *L. monocytogenes* pochodzących z żywności jest determinowana w znacznym stopniu przez właściwości fizyczne organicznego środowiska rozpraszającego, którego zwiększona gęstość i koncentracja działają ograniczająco na bakteriobójcze działanie metody.

Piśmiennictwo

1. Amalaradjou M.A.R., Norris C.E., Venkitanarayanan K., Effect of octenidine hydrochloride on planktonic cells and biofilms of *Listeria monocytogenes*, *Applied and Environmental Microbiology* 2009; 75 (12) 4089-4092.
2. Capentier B., Cerf O., Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and permisses, *International Journal of Food Microbiology* 2011; 145, 1-8.
3. Czaczyk K., Myszka K., Mechanizmy warunkujące oporność biofilmów bakteryjnych na czynniki antymikrobiologiczne, *Biotechnologia* 2007b; 1 (76) 40-52.
4. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015, European Food Safety Authority, EFSA Journal 2016; 14(12): 4634.
5. Flemming H.C., Wingender J., The biofilm matrix, *Nature Reviews Microbiology* 2010; 8, 623–633.
6. Gezali A., Feyissa B., Kula J., Listeriosis and Its Public Health Importance: A Review, *Global Veterinaria* 2016; 17 (1) 52-62.
7. Grinshpun S.A., Adhikari A., Honda T., Kim K.Y., Toivola M., Rao K.S.R., Reponen T., Control of aerosol contaminants in indoor air: combining the particle concentration reduction with microbial inactivation, *Environ. Sci. Technol.* 2007; 41, 606-612.
8. Jemmi T., Stephan R., *Listeria monocytogenes*: food-borne pathogen and hygiene indicator, *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 2006; 25 (2) 571-580
9. Kathariou S., *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective, *Journal of Food Protection* 2002; 65 (11) 1811-1829.
10. Kramarenko T., Roasto M., Maremae K., Kuningas M., Poltsama P., Elias T., *Listeria monocytogenes* prevalence and serotype diversity in various foods, *Food control* 2013; 30, 24-29.
11. Krysinski E.P., Brown L.J., Marchisello T.J., Effect of cleaners and sanitizers on *Listeria monocytogenes* attached to product contact surfaces, *Journal of Food Protection* 1992; 55 (4) 246-251.
12. Małecka I., Borowski G., Dezynfekcja powietrza promieniami UV i promieniową jonizacją katalityczną w instalacjach wentylacyjnych, *Zeszyty Naukowe – Inżyniera Łądowa i Wodna w Kształtowaniu Środowiska* 2011; 3, 25-30.

13. Matsunaga T., Tamoda R., Nakajima T., Wake H., *FEMS Microbiol Lett.* 1985; 29, 211-214.
14. Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A., *Listeria i Erysipelothrix*, Mikrobiologia Lekarska, Red. Przondo-Mordarska A., Martirosian G., Szkaradkiewicz A., Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2013, 249-254.
15. Ortega M.T., Franken L.J., Hatesohl P.R., Marsden J.L., Efficacy of ecoquest radiant catalytic ionization cell and breeze at ozone generator at reducing microbial populations of stainless steel surfaces, *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology* 2007; 15, 359-368.
16. Pan Y., Breidt F., Kathariou Jr., Kathariou S., Resistance of *Listeria monocytogenes* biofilm to sanitizing agents in simulated food processing environment, *Applied and Environmental Microbiology* 2006; 72 (12) 7711-7717.
17. Robbins J.B., Fisher C.W., Moltz A.G., Martin S.E., Elimination of *Listeria monocytogenes* biofilms by ozone, chlorine, and hydrogen peroxide, *Journal of Food Protection* 2005; 68 (3) 494-498.
18. Saini J.K., Marsden J.L., Getty K.J., Fung D.Y. Advanced oxidation technology with photohydroionization as a surface treatment for controlling *Listeria monocytogenes* on stainless steel surfaces and ready-to-eat cheese and turkey. *Foodborne Pathog. Dis.*, 11 (4) (2014), pp. 295-300, DOI:10.1089/fpd.2013.1512
19. Simoes M., Simoes L.C., Vieira M.J., A review of current and emergent biofilm control strategies, *LWT-Food Science and Technology* 2010; 43, 573–583.
20. Skowron K., Grudlewska K., Kwiecińska-Piróg J., Gryń G., Śrutek M., Gospodarek-Komkowska E. Efficacy of radiant catalytic ionization to reduce bacterial populations in air and on different surfaces. *Sci Total Environ.* 2017, 610–611: 111-120. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.032> [Epub ahead of print]
21. Space Foundation, Radiant Catalytic Ionization Air & Water Purification, <http://www.spacefoundation.org/programs/space-certification/certified-products/space-technology/radiant-catalytic-ionization-air>, data wejścia 10.02.2017.
22. Swaminathan B., Gerner-Smidt P., The epidemiology of human listeriosis, *Microbes and Infections* 2007; 9, 1236-1243.
23. Szarapińska-Kwaszewska J., Kwaszewska A., Pałeczki Gramdodatnie - *Listeria* i inne, Diagnostyka bakteriologiczna, Red. Szewczyk E., Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2013, 70-77.