

Porównanie i walidacja prognozowanego i obserwowanego tempa wzrostu *Listeria monocytogenes* w mleku pasteryzowanym i UHT

ADRIANA ŁOBACZ, JAROSŁAW KOWALIK, STEFAN ZIAJKA, MONIKA KOPEĆ

Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością Wydziału Nauki o Żywności UWM w Olsztynie,
ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn

Łobacz A., Kowalik J., Ziajka S., Kopeć M.

Comparison and validation of predicted and observed growth rates of *Listeria monocytogenes* in pasteurized and UHT milk

Summary

The growth of *Listeria monocytogenes* in pasteurized and UHT milk was evaluated under different temperatures (6, 9, 12, 15°C) during 5 days for pasteurized milk (shelf life of product) and 14 days for UHT milk. Both traditional plate count and impedimetric methods were used to enumerate colonies. DMFit 2.0 curve fitting program (Jozsef Baranyi, Institute of Food Research, Norwich, UK) was used to fit data by applying the Baranyi and Roberts model [4]. Observed growth rates were compared to predictions generated by Pathogen Modeling Program 7.0 (PMP) and Growth Predictor (GP). Graphic and mathematical validation of GP and PMP was performed, obtaining more or less acceptable values of mean square error (MSE), bias and accuracy factors. The study concluded that in order to improve the viability of predictive models to dairy products, studies with naturally contaminated products should be included in the development and validation of models with foodborne pathogens.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, predictive microbiology, model validation

Zanieczyszczenia mikrobiologiczne żywności zależą m.in. od takich czynników, jak: jakość surowca, technologiczne i organizacyjne warunki panujące w zakładzie, warunki przechowywania, a także od wiedzy i higieny personelu (16). Szczególnej ostrożności wymagają drobnoustroje chorobotwórcze, które stanowią zagrożenie dla zdrowia konsumenta już na poziomie 10^3 jtk/g, a przechowywanie w warunkach chłodniczych nie zawsze hamuje ich wzrost. Jednym z nich jest *Listeria monocytogenes*, tolerująca szeroki zakres temperatur (1-45°C), powszechnie występująca w środowisku naturalnym i stanowiąca zagrożenie już na poziomie 10^2 - 10^3 jtk/g dla osób z upośledzonym układem immunologicznym (2, 11, 21). Wybuchy epidemii związane z *Listeria monocytogenes* towarzyszyły konsumpcji takich produktów żywnościowych, jak: sery, mleko, warzywa, mięso (11).

W licznych badaniach prowadzonych w wielu krajach drobnoustroje te są dosyć często (nawet do 25%) wykrywane w mleku zbiorczym, przy czym *L. monocytogenes* w Północnej Irlandii stwierdzono nawet w 13,5% próbek (13). Epidemie mające miejsce w ostatnich latach dowodzą, iż występowanie *L. monocytogenes* w produktach spożywczych stanowi nie tylko problem sanitarny, ale także prowadzi do poważ-

nych strat ekonomicznych, zarówno w sektorze państwowym, jak i prywatnym wielu krajów (8).

W niektórych krajach (Niemcy, Holandia, Francja, Kanada) przyjęto strategię zarządzania ryzykiem, która zezwala na obecność *L. monocytogenes* w żywności na niskim poziomie pod warunkiem, że mikroorganizm ten nie namnoży się do nieakceptowanego poziomu podczas przechowywania produktu (26). W takiej sytuacji istnieje bezwarunkowa potrzeba szybkiego określania potencjalnego wzrostu *L. monocytogenes* w produktach żywnościowych. Mogą znaleźć tu zastosowanie modele matematyczne opisujące prawdopodobieństwo wzrostu *L. monocytogenes*. Opublikowano szereg specyficznych matematycznych modeli opisujących namnażanie się *L. monocytogenes* w różnych warunkach temperatury, pH, a_w , kwasów organicznych, NaNO_2 , CO_2 , radiacji, a także modeli ogólnych, takich jak Pathogen Modeling Program oraz Growth Predictor (1, 5, 11). PMP jest nieodpłatnie dostępny pod adresem internetowym <http://ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=11550>. Program został zaprojektowany w celu wyznaczenia efektu działania różnych czynników na wzrost, inaktywację i przeżywalność patogenów pochodzących z żywności. PMP zawiera modele namnażania się (w wa-

runkach tlenowych i beztlenowych), inaktywacji cieplnej, przeżywalności, inaktywacji za pomocą promieniowania jonizacyjnego (radiacja), modele oparte na czasie potrzebnym do zmetnienia czy czasie potrzebnym do wytworzenia toksyn oraz modele dla warunków chłodniczych. Większość modeli bazuje na szczegółowych badaniach laboratoryjnych prowadzonych w płynnych pożywkach bakteriologicznych, które nie odzwierciedlają warunków panujących w żywności, dlatego mało prawdopodobne jest uzyskanie prognoz identycznych jak w produktach spożywczych. Istotą PMP jest seria kwadratowych lub kubicznych równań, które były stworzone z wykorzystaniem analizy powierzchni odpowiedzi naturalnego logarytmu (\ln) parametrów funkcji Gomperta, służących do wyznaczenia takich kinetyk namnażania, jak czas generacji i okres trwania lag fazy (6). Growth Predictor (GP) jest również dostępny nieodpłatnie pod adresem internetowym <http://www.ifr.ac.uk/safety/growthpredictor/>. Program generuje zbiór modeli prognozujących odpowiedź organizmów jako funkcję czynników środowiskowych, tj. temperatura, pH, a_w . Niektóre modele ponadto uwzględniają dodatkowy, czwarty czynnik – koncentrację CO_2 lub kwasu octowego. Obecna wersja programu nie zawiera modeli przeżywalności ani inaktywacji. W odróżnieniu od PMP, Growth Predictor wykorzystuje model Baranyi (1, 4). Prognozowanie w mikrobiologii żywności wymaga dużej ilości danych doświadczalnych dotyczących namnażania drobnoustrojów. Klasyczna metoda płytkowa odznacza się dużą czasochłonnością i pracochłonnością, z tego powodu zastosowanie znalazły metody automatyczne, szybsze i charakteryzujące się mniejszym nakładem pracy i czasu. Jest to m.in. metoda oparta na pomiarze absorbancji czy też wykorzystująca zjawisko impedymetrii (8, 10, 12, 17). Impedancja jest to opór przepływu prądu zmiennego przez materiał przewodzący. Ideą tej metody jest pomiar zmian w polu jonowym pożywki w wyniku metabolizmu nienaładowanych lub słabo naładowanych substancji (polisacharydy, tłuszcze, białka) przez mikroorganizmy, co prowadzi do powstania wysoko naładowanych produktów końcowych, tj.: kwasów organicznych, kwasów tłuszczowych, aminokwasów. Następuje zmiana właściwości elektrycznych, przewodności i oporności zarówno w pożywce, jak również na powierzchni metalowych elektrod umieszczonych w modułach urządzenia pomiarowego z inokulowanym medium wzrostu. Czas detekcji (detection time – T_{det}) oznacza czas pomiędzy rozpoczęciem analizy a zmianą sygnału impedancji. W urządzeniach impedymetrycznych wykorzystywanych w celu wyznaczenia liczby mikroorganizmów T_{det} odwrotnie koreluje z liczbą bakterii w próbce, im jest ona większa, tym szybciej następuje zmiana we właściwościach elektrycznych pożywki, tym T_{det} jest krótszy. Jedną z głównych zalet urządzeń impedymetrycznych jest możliwość analizowania jednocześnie dużej liczby próbek, dlatego też znalazły one

zastosowanie w laboratoriach przemysłu spożywczego (10).

Celem badań było wyznaczenie podstawowych kinetyk wzrostu *L. monocytogenes* oraz walidacja dwóch ogólnych modeli prognostycznych (PMP, GP) z wykorzystaniem metod matematycznych i graficznych.

Materiał i metody

Przedmiotem badań było mleko pasteryzowane (2%) i UHT (2%) zakupione w sklepie detalicznym. Próbki mleka w ilości 100 ml zakażono hodowlą bulionową *L. monocytogenes* w liczbie zapewniającej koncentrację bakterii na poziomie ok. 10^3 jtk/ml mleka. Szczep użyty w badaniach został wyizolowany z mleka surowego w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności UWM w Olsztynie. Inokulum przygotowano z 24-godzinnych hodowli w selektywnym podłożu namnażającym LEB (Merck), inkubowanych w 37°C .

Zakażone próbki mleka przechowywano w inkubatorach zapewniających wysoką precyzję (Memmert), w następujących temperaturach: 6, 9, 12, 15°C . Próbki mleka poddawano badaniom w celu określenia liczby *L. monocytogenes* bezpośrednio po zakażeniu, a następnie w 1., 2., 3., 4., 5. dniu przechowywania w przypadku mleka pasteryzowanego (w terminie przydatności do spożycia); ocenę wzrostu *L. monocytogenes* w mleku UHT prowadzono przez 14 dni. Badania zostały przeprowadzone w 3 powtórzeniach, z każdego powtórzenia wykonywana była seria dziesięciokrotnych rozcieńczeń. Z każdego rozcieńczenia posiewano po 0,1 ml na 4 płytki z podłożem Oxford (Merck) w przypadku mleka pasteryzowanego. W przypadku mleka UHT zastosowano impedymetryczny system monitorujący Bactometer M64 (Biomérieux).

Równocześnie wykonano oznaczenia pH próbek mleka zanieczyszczonych *L. monocytogenes*.

Walidacja ogólnych modeli prognostycznych. Walidacja modelu może być przeprowadzona na podstawie danych laboratoryjnych, z których część została użyta do konstrukcji modelu, a pozostała część została wykorzystana w celach walidacji modelu. Jest to tak zwana walidacja wewnętrzna. Druga opcja – walidacja zewnętrzna – obejmuje użycie nowych danych pochodzących z piśmiennictwa, analiz, testów. Przeprowadza się ją w celu sprawdzenia poprawności prognoz generowanych przez model. Walidacja wyrażająca dokładność prognostyczną modeli może być wyznaczona graficznie czy też przy użyciu różnych współczynników statystycznych i matematycznych (3, 9, 11, 12).

Analiza graficzna. Wykresy przedstawiające „prognozowane vs. obserwowane tempo wzrostu” (ryc. 2) dają szybką ocenę wizualną dokładności prognozowania wzrostu drobnoustrojów przez model. Idealną zgodność przedstawia sytuacja, gdy punkty leżą na linii równości (line of equivalence) (9, 11, 12).

Analiza matematyczna. W celu oznaczenia zdolności prognostycznych modelu można wykorzystać następujące wskaźniki matematyczne:

– błąd średniokwadratowy (MSE – Mean Square Error)

$$MSE = \frac{RSS}{n} = \frac{\sum (\mu_{\text{obs}} - \mu_{\text{prog}})^2}{n}$$

gdzie:

RSS (Residual Sum of Squares) – szczytkowa/resztkowa suma kwadratów,

n – liczba stopni swobody/obserwacji,

μ_{obs} – obserwowany współczynnik tempa wzrostu (h^{-1}),
 μ_{prog} – prognozowany współczynnik tempa wzrostu (h^{-1}).

MSE, resztkowa suma kwadratów podzielona przez liczbę stopni swobody, jest miarą pozostałej zmienności, która nie jest wyjaśniona przez zmianę czynników, takich jak temperatura, pH, a_w . Tego typu zmienność może pochodzić z kilku źródeł, włączając naturalną zmienność bakterii i błąd systematyczny. Jeżeli nie ma wyznaczonych jakichkolwiek parametrów, liczba stopni swobody jest równa liczbie punktów odniesienia. Im niższy MSE, tym lepsza dokładność modelu (11).

– współczynnik odchylenia (bias factor B_f)

$$B_f = \exp \left[\frac{\sum (\ln \mu_{prog} - \ln \mu_{obs})}{n} \right]$$

gdzie: n , μ_{obs} , μ_{prog} – jak wyżej.

Współczynnik odchylenia odpowiada na pytanie: czy obserwowane wartości średnio leżą powyżej czy poniżej linii równości i o ile jednostek od niej odbiegają. Przedstawia ogólne odchylenie modelu. Współczynnik odchylenia równy 1 charakteryzuje idealną zgodność pomiędzy wartościami prognozowanymi a obserwowanymi; współczynnik < 1 wskazuje model „zabezpieczający”, tj. obserwowane tempo wzrostu jest niższe niż prognozowane, tak, aby pozostał pewien margines bezpieczeństwa; współczynnik > 1 przedstawia sytuację niebezpieczną, gdy obserwowany wzrost drobnoustrojów występuje szybciej niż prognozowany (3, 11, 20).

Współczynnik dokładności (accuracy factor A_f) oblicza średni dystans pomiędzy każdym obserwowanym punktem a linią równości, określa o ile odbiegają wartości prognozowane od obserwowanych.

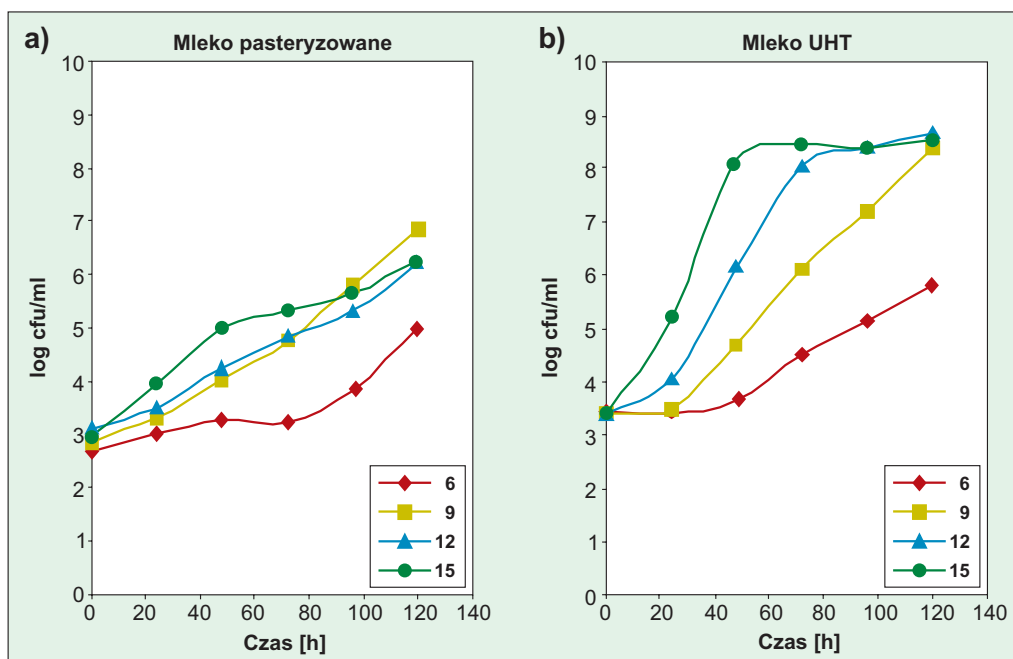
$$A_f = \exp \left[\sqrt{\frac{\sum (\ln \mu_{prog} - \ln \mu_{obs})^2}{n}} \right]$$

Im większa jest wartość współczynnika A_f , tym mniejsza jest dokładność prognozy. Wartość współczynnika równa 2 wskazuje, iż prognoza przeciętnie różni się o dwie jednostki od obserwowanych wartości (3, 11, 20).

Wyniki i omówienie

Wzrost *Listeria monocytogenes* w mleku pasteryzowanym i UHT. Wyniki przeprowadzonych dotychczas badań nad przeżywalnością *L. monocytogenes* w przetworach mlecznych wykazują znaczne różnice, w zależności od rodzaju badanego produktu, jego kwasowości, temperatury przechowywania próbek i in. (18, 24, 25). Przeżycie przez *L. monocytogenes* procesu przemysłowej pasteryzacji mleka jest mało prawdopodobne, zatem obecność tych bakterii w mleku pasteryzowanym czy jego przetworach jest przypuszczalnie wynikiem zakażeń wtórnych (24). Na podstawie badań przeprowadzonych w temperaturach 6, 9, 12, 15°C stwierdzono bardziej intensywny wzrost *L. monocytogenes* w mleku UHT niż w pasteryzowanym (ryc. 1 a, b).

Wykazano statystycznie istotne różnice ($\alpha = 0,05$) między wzrostem *L. monocytogenes* w mleku pasteryzowanym a UHT. W próbkach mleka pasteryzowanego (ryc. 1a) wzrost komórek *L. monocytogenes* był uwarunkowany temperaturą przechowywania. Stwierdzono statystycznie istotną różnicę ($\alpha = 0,05$) pomiędzy wzrostem bakterii w 6°C a pozostałymi temperaturami przechowywania (9, 12 i 15°C), różnic tych nie stwierdzono we wzroście w temperaturach 9, 12, 15°C. W przechowywanym mleku UHT (ryc. 1b) stwierdzono intensywny wzrost *Listeria monocytogenes*. W temperaturze 6°C zaobserwowano dwudniową lag fazę, w 9°C – jednodniową, natomiast w temperaturach 12°C i 15°C wzrost nastąpił bezpośrednio po inokulacji, bez fazy adaptacyjnej. Po fazie logarytmicznego wzrostu, tj. po ok. 2-4 dniach w zależności od temperatury przechowywania, bakterie osiągały fazę stacjonarną i ich liczebność utrzymywała się na poziomie niezmiennym w trakcie dalszego przechowywania (7-8 log jtk/ml). Analiza statystyczna wykazała statystycznie istotną różnicę we wzroście w poszczególnych temperaturach ($\alpha = 0,05$), z wyjątkiem temperatur 12°C i 15°C. Uzyskane wyniki badań są zgodne z rezultatami uzyskanymi przez Rosenow i wsp. (19). Badacze inkubowali autoklawowane próbki mleka (odtłuszczone, pełne, czekoladowe) skażone komórkami *Listeria monocytogenes*, w zakresie temperatur 4-35°C. W niższych temperaturach przechowywania podobnie występowała krótka lag faza, natomiast w wyższych komórki bezpośrednio po inokulacji zaczynały inten-

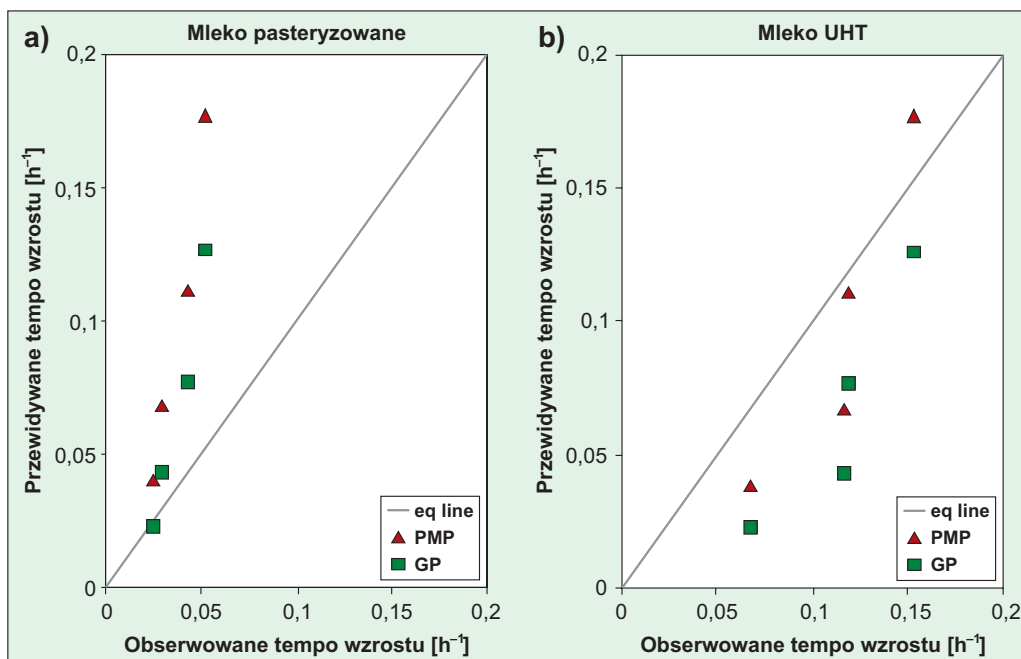


Ryc. 1. Wzrost *Listeria monocytogenes* w mleku pasteryzowanym (a) i UHT (b)

sywnie się namnażać. Pomiar pH zanieczyszczonych próbek mleka nie wykazały statystycznie istotnych różnic ($\alpha = 0,05$) podczas przechowywania. Na podstawie licznych badań stwierdzono, iż temperatura jest podstawowym czynnikiem wpływającym na wzrost *L. monocytogenes*, mimo iż jest to drobnoustroj psychrotrofowy (7, 17, 22). Głównym parametrem charakteryzującym wzrost drobnoustrojów jest współczynnik tempa wzrostu (μ), będący funkcją czynników środowiska, które są niezależnymi zmiennymi (3). Faza logarytmicznego wzrostu charakteryzuje się intensywnym namnażaniem komórek. Maksymalne nachylenie krzywej wzrostu drobnoustrojów wyznacza tempo wzrostu mikroorganizmów w danym środowisku. Tabela 1 przedstawia wartość tego współczynnika podczas przechowywania próbek mleka pasteryzowanego i UHT. Stwierdzono intensywniejszy wzrost patogenu w mleku UHT, wartość tego współczynnika jest parokrotnie wyższa, a ponadto wykazano silną zależność pomiędzy jego wartością a temperaturą przechowywania.

Analiza modeli prognostycznych

Analiza graficzna. Dzięki wykresom „obserwowane tempo wzrostu vs. prognozowane” (ryc. 2) łatwo uzyskać wizualną ocenę modelu. Zasada jest następująca: im naniesione punkty leżą bliżej linii równości, tym modele lepiej prognozują wzrost drobnoustrojów, różnica pomiędzy naniesionym punktem a linią równości jest miarą niedokładności modelu (3). Linia równości obrazuje sytuację idealną, gdy obserwowane i prognozowane wartości są równe. Wyznacza ponadto obszar „bezpiecznej prognozy”, czyli obserwowany wzrost drobnoustrojów w produktach spożywczych nie wystąpi szybciej niż prognozowany (zapewniony margines bezpieczeństwa). Jak już było wspomniane, modele prognostyczne konstruowane są na pożywkach mikrobiologicznych, nie uwzględniających wszystkich czynników, które mogłyby zakłócić lub zintensyfikować wzrost bakterii. Z tego powodu uzyskane prognozy często odbiegają od rezultatów uzyskanych w wyniku badań na produktach spożywczych (3, 9, 12). Rycina 2 przedstawia graficzną metodę walidacji, przeprowadzoną dla mleka pasteryzowanego i UHT w oparciu o badania własne oraz prognozy programów PMP i GP. W przypadku mleka pasteryzowanego (ryc. 2a) można stwierdzić, iż programy dają progno-



Ryc. 2. Porównanie obserwowanego i prognozowanego tempa wzrostu μ (h^{-1}) z wykorzystaniem programów Pathogen Modeling Program (PMP) i Growth Predictor (GP) w mleku pasteryzowanym i UHT

zę „bezpieczną”, tzn. prognozowane tempo wzrostu nie jest szybsze niż obserwowane. Inaczej jest w przypadku mleka UHT (ryc. 2b), gdzie tempo wzrostu występuje znacznie szybciej w porównaniu do prognozowanego.

Analiza matematyczna. Zestawienie wskaźników matematycznych charakteryzujących dokładność szacowania wzrostu *Listeria monocytogenes* przez PMP i GP przedstawia tab. 2. Interpretując pierwszy wskaź-

Tab. 1. Porównanie współczynnika tempa wzrostu μ (h^{-1}) w mleku pasteryzowanym i mleku UHT w różnych temperaturach przechowywania

Temp. (°C)	Wsp. tempa wzrostu μ (h^{-1})	
	PAST	UHT
6	0,025	0,068
9	0,029	0,116
12	0,043	0,119
15	0,052	0,154

Tab. 2. Ocena ogólnych modeli prognozujących wzrost *L. monocytogenes* na podstawie wskaźników matematycznych: PMP-Pathogen Modeling Program i GP-Growth Predictor

Produkt	Współczynnik	Model	
		PMP	GP
Mleko UHT	MSE	0,005	0,047
	B_f	0,964	0,897
	A_f	1,075	1,122
Mleko pasteryzowane	MSE	0,082	0,019
	B_f	1,154	1,072
	A_f	1,186	1,100

nik – błąd średniokwadratowy (MSE) – można stwierdzić w wielkim uproszczeniu, iż Growth Predictor (GP) lepiej prognozuje wzrost drobnoustrojów w przypadku mleka pasteryzowanego, natomiast dla mleka UHT lepsze prognozy daje Pathogen Modeling Program (PMP). Potwierdzają to również pozostałe wskaźniki – odchylenia i dokładności, które są najlepszymi parametrami do ogólnej oceny zdolności prognostycznych modelu (3, 12). Wartość współczynnika odchylenia (B_1) mniejsza od jedności wskazuje na to, iż model jest „zabezpieczający”. Większość ogólnych modeli prognostycznych, takich jak GP czy PMP, przeszacowują prognozowany wzrost drobnoustrojów, co ma na celu uzyskanie wyników na tyle bezpiecznych, aby wyeliminować szybszy wzrost drobnoustrojów w danych warunkach środowiskowych niż w uzyskanej prognozie. W przypadku, gdy walidacja modelu dokonywana jest w oparciu o badania przeprowadzone na produktach żywnościowych, uważa się, iż wartość tego współczynnika powinna wahać się w przedziale 0,6-3,99. W przypadku współczynnika odchylenia wartości prognozowane i obserwowane mogą się wzajemnie znosić (21), dlatego współczynnik dokładności (A_1) również był obliczony. Zakłada się, iż współczynnik dokładności na poziomie 1,16 obrazuje wysoką korelację pomiędzy obserwowanym a prognozowanym tempem wzrostu, natomiast poniżej 0,5 wskazuje na bardzo niską precyzję – model, który średnio 2-krotnie przeszacowuje tempo wzrostu (12, 20, 21). Wartość tego współczynnika uzyskana w wyniku walidacji modelu na różnych produktach spożywczych ma zakres 1,37-4,25, natomiast współczynnika odchylenia 0,24-2,28, w zależności od rodzaju środka spożywczego (11). W produktach rybnych odnotowano wartość współczynnika odchylenia i dokładności w granicach 1,0-4,0 (9). Analiza graficzna i matematyczna nie określają jednoznacznie, który z analizowanych modeli – GP czy PMP jest bardziej dokładny. W takich przypadkach należy rozpatrzyć także inne czynniki mogące mieć wpływ na rozwój *Listeria monocytogenes*, jak ewentualne interakcje z naturalną mikroflorą (mleko pasteryzowane – drobnoustroje, które przeżyły proces pasteryzacji), konkurencja w pozyskiwaniu składników odżywczych.

Podsumowanie

Do tej pory nie opublikowano jednoznacznego zestawu wskaźników, dzięki którym można oceniać/podać walidacji dany model prognozujący wzrost drobnoustrojów. W niniejszej pracy oceny dokonano przy wykorzystaniu trzech współczynników, które są zalecane i najczęściej wykorzystywane przy szacowaniu zdolności prognostycznych modeli (3, 11, 20). Jednocześnie przy porównywaniu obserwowanego i prognozowanego tempa wzrostu zaleca się stosowanie metody graficznej. Wykorzystując programy prognostyczne, takie jak Growth Predictor czy Pathogen Modeling Program, możemy prognozować wzrost różnych

drobnoustrojów w zróżnicowanych warunkach środowiskowych. Jednakże użytkownik powinien rozumieć i być świadom ograniczeń powyższych programów. Modele mogą być bardzo pomocne przy podejmowaniu decyzji, projektowaniu i przeprowadzaniu doświadczeń, można je określić mianem „partnera do dyskusji”, wskazują kierunek, ale nie są również nieomyłne (11, 12).

Piśmiennictwo

1. Anon.: Growth Predictor for food microbiology. Institute of Food Research, Norwich 2003.
2. Baraniak A.: Znaczenie kliniczne zakażeń wywołanych przez *Listeria monocytogenes*. Nowa Medycyna – Medycyna Zakażeń 1999, 99, 37-40.
3. Baranyi J., Pin C., Ross T.: Validating and comparing predictive models. Int. J. Food Microbiol. 1999, 48, 159-166.
4. Baranyi J., Roberts T. A.: A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. Int. J. Food Microbiol. 1994, 23, 277-294.
5. Buchanan R. L.: Developing and distributing user-friendly application software. J. Ind. Microbiol. 1993, 12, 251-255.
6. Buchanan R. L.: Using spreadsheet software for predictive microbiology applications. J. Food Safety 1991, 11, 123-134.
7. Buchanan R. L., Stahl H. G., Whiting R. C.: Effects and interactions of temperature, pH, atmosphere, sodium chloride, and sodium nitrite on the growth of *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. 1989, 52, 844-851.
8. Carrasco E., Garcia-Gimeno R., Seselovsky R., Valero A., Perez F., Zurera G., Todd E.: Predictive model of *Listeria monocytogenes* growth rate under different temperatures and acids. Food Sci. Tech. Int. 2006, 12, 47-56.
9. Dalgaard P., Jorgensen L. V.: Predicted and observed growth of *Listeria monocytogenes* in seafood challenge tests in naturally contaminated cold-smoked salmon. Int. J. Food Microbiol. 1998, 40, 105-115.
10. Farkas J.: Rapid detection of microbial contamination (in foods using instrumental methods). Hungarian Scientific Society for the Food Industry, Hungary 2003.
11. Giffel M. C., Zwietering M. H.: Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*. Int. J. Food Microbiol. 1999, 46, 135-149.
12. Huss H. H., Ababouch L., Gram L.: Assessment and management of seafood safety and quality. Food and Agriculture of the United Nations, Rome 2003.
13. Klossowska A., Malinowski E.: Drobnoustroje patogenne dla człowieka w mleku zbiorczym. Medycyna Wet. 2001, 57, 28-31.
14. Kot B., Jakubczak A., Bukowski K.: Antagonistyczne działanie bakterii fermentacji mlekowej w stosunku do wybranych drobnoustrojów. Medycyna Wet. 2000, 56, 53-57.
15. Koterska B., Czarnocka B., Śliwińska W., Oberbek A.: Selection of *Lactococcus lactis* strains producing bacteriocins active against pathogenic bacteria. Polish J. Food Nutri. Sci. 1998, 48, 723-732.
16. Kowalik J., Tarczyńska A. S., Łobacz A., Ziajka S.: Prediction *Listeria monocytogenes* growth in milk – comparison with Pathogen Modeling Program 7.0. Polish J. Food Nutri. Sci. 2006, 56, 107-112.
17. Kowalik J., Ziajka S.: Ocena wzrostu *Listeria monocytogenes* w mleku na podstawie programu PMP 7.0 oraz badań własnych. Medycyna Wet. 2005, 61, 940-942.
18. Rola J., Kwiatek K., Wojtoń B., Michalski M. M.: Występowanie *Listeria monocytogenes* w mleku surowym i produktach mleczarskich. Medycyna Wet. 1996, 50, 323-325.
19. Rosenow E. M., Marth E. H.: Growth of *Listeria monocytogenes* in skim, whole and chocolate milk, and in whipping cream during incubation at 4, 8, 13, 21 and 35°C. J. Food Prot. 1987, 50, 452-459.
20. Ross T.: Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. J. Appl. Bacteriol. 1996, 81, 501-508.
21. Ross T., Dalgaard P., Tienungoon S.: Predictive modeling of the growth and survival of *Listeria* in fishery products. Int. J. Food Microbiol. 2000, 62, 231-245.
22. Ryser E. T., Marth E. H.: *Listeria*, Listeriosis and Food Safety. University of Wisconsin-Madison 1991.
23. Sip A., Grajek W.: Aktywność antylisteryjna diwercyny i tradycyjnych konserwantów żywności. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2003, 2, 5-15.
24. Stańczak B., Szczawiński J.: Ciepłooporność *Listeria monocytogenes* w mleku i śmietance o różnej zawartości tłuszczu. Medycyna Wet. 1996, 52, 389-391.
25. Stańczak B., Szczawiński J., Pęczonek J.: Przeżywalność *Listeria monocytogenes* w serze twarogowym terminowanym. Medycyna Wet. 2000, 56, 251-254.
26. Tienungoon S., Ratkowsky D. A., McMeekin T. A., Ross T.: Growth limits of *Listeria monocytogenes* as a function of temperature, pH, NaCl, and lactic acid. App. Environ. Microbiol. 2000, 66, 4979-4987.

Adres autora: mgr inż. Adriana Łobacz, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn; e-mail: adriana.lobacz@uwm.edu.pl