

LISTERIA MONOCYTOGENES **EN ELS GELATS**

Xavier Segura Turmo

Tutora: Lourdes Abarca

Treball fi de grau CTA

Índex

1.	Introducció.....	3
2.	Què és un gelat?	4
3.	Criteris microbiològics dels gelats.....	5
4.	Característiques de <i>Listeria monocytogenes</i>	7
5.	Principals fonts de contaminació i mesures preventives	9
6.	Supervivència de <i>Listeria monocytogenes</i> en els gelats.....	11
7.	Conclusions	13
8.	Bibliografia.....	15

1. Introducció

Listeria monocytogenes és un bacil gram positiu que pertany al grup dels microorganismes psicòtrops, i per tant, pot sobreviure en un ampli rang de temperatures, que poden anar des de -20°C fins a -1°C (Gandhi i Chikindas, 2007). Aquest bacteri, és a més, ubiqüitari i el podem trobar molt distribuït per la natura, com per exemple en el terra, superfícies o en aliments com el gelat. És l'agent causant de la listeriosi, una malaltia invasiva que afecta tant a humans com a animals (Gougouli *et al.*, 2008).

La listeriosi es considera una zoonosi d'origen alimentari, és a dir, una malaltia que es pot transmetre de forma natural entre els animals vertebrats i les persones. Generalment es contrau en menjar aliments que contenen el bacteri *Listeria monocytogenes*, com peix, carns fredes, formatges, etc. Els aliments llestos per a consum són sovint la font d'infecció més important, ja que el seu llarg període de conservació afavoreixen el desenvolupament bacterià i, a més a més, aquests aliments se solen consumir sense cap tractament culinari addicional.

Un estudi recent realitzat a Suècia conclou que els casos de listeriosi a la Unió Europea van augmentar un 19% l'any 2009 en referència a l'any 2008 (Thisted *et al.*, 2012). Tot i que fins al moment els gelats no han estat directament relacionats amb brots de listeriosi en humans, molts estudis han demostrat que els gelats contenen *Listeria monocytogenes*. En ser un aliment altament consumit en el món, i sobretot per un sector de la població molt vulnerable a les infeccions, com són els nens, s'han fet diferents estudis cercant *Listeria monocytogenes* en els gelats (Ben *et al.*, 2013, Gougouli *et al.*, 2008; Miettinen *et al.*, 1999; Ozturk *et al.*, 2010).

En el darrer informe de l' EFSA (*European Food and Safety Authority*), es publiquen les dades de l'estudi realitzat durant els anys 2010-2011 en mostres de països europeus on s'indica que *Listeria monocytogenes* es va trobar en un 10,3% en mostres de peix, el 2,1% de les mostres d'origen carni i en el 0,5% de les mostres de formatges; totes recollides en supermercats i botigues. No obstant això, el límit de seguretat alimentària fixat per la UE (100UFC/g) només va ser superat en el 1,7% de les mostres de peix, el 0,4% en les de derivats carnis i en el 0,06% de les mostres de formatge (EFSA, 2013).

2. Què és un gelat?

Segons el Real Decret 618/1998, del 17 d'abril, (Anònim, 1998) que aprova la reglamentació técnico-sanitària per a l'elaboració, circulació i comerç dels gelats i mescles envasades per congelar, els gelats són aquells preparats alimenticis que s'han portat a l'estat sòlid, semisòlid o pastós per una congelació simultània o posterior a la mescla de les matèries primeres posades en la producció i que han de mantenir el grau de plasticitat i congelació suficient fins al moment de la venda. Segons les seves característiques podem diferenciar diferents tipus de gelats:

- a) Gelat de crema: aquesta denominació està reservada per a un producte que, d'acord amb la definició general, conté en massa com a mínim un 8% de matèria grassa exclusivament d'origen lacti i com a mínim un 2,5 % de proteïnes exclusivament d'origen lacti.
- b) Gelat de llet: aquesta denominació està reservada per a un producte que, d'acord amb la definició general, conté en massa com a mínim un 2,5% de matèria grassa exclusivament d'origen lacti i com a mínim un 6% d'extracte sec magre lacti.
- c) Gelat de llet desnatada: aquesta denominació està reservada per a un producte que, d'acord amb la definició general, conté en massa com a màxim un 0,30% de matèria grassa exclusivament d'origen lacti i com a mínim un 6% d'extracte sec magre lacti.

Els principals components dels gelats segons Clarke (2012), a més de l'aigua, són:

Greix: dóna riquesa d'aromes, és responsable de l'estructura escumosa, de la suavitat i cremositat per lubricació, ajuda a donar cos al gelat que es deu a la desestabilització del glòbul greixós i responsable de les propietats de fusió del gelat. Algunes fonts de greix poden ser la nata, la mantega, lípids vegetals, ous i derivats. Les limitacions de l'adició de greix són el preu del gelat, la disminució de la capacitat de batuda, descens del consum per el seu elevat valor calòric.

Sòlids lactis no greixosos: Són la lactosa, caseïnes, proteïnes del sèrum i minerals. Milloren la textura del gelat degut a la funcionalitat de les proteïnes, aporten cos i resistència al producte acabat ja que incrementen l' *overrun* i són una font barata de proteïnes, especialment la proteïna del sèrum.

Les seves limitacions poden ser els sabors desagradables provinents d'alguns dels productes, l'excés de lactosa que pot conduir a una textura sorrosa i un excessiu descens del punt de congelació a nivells no acceptables.

Sucres: Poden ser la sacarosa, fructosa, glucosa, sucres invertits, xarops de blat de moro, etc. En general una barreja d'aquests. Milloren la textura i palatabilitat dels gelats, potencien els aromes, són la font més barata de sòlids solubles, aporten un sabor dolç als gelats, contribueixen a deprimir el punt de congelació i limiten la cristal·lització de la lactosa.

Els principals additius emprats són:

Estabilitzants: són polisacàrids (goma de garrofi, goma de xanthana, etc) que aporten viscositat a la mescla, reten l'aigua en la fase continua, redueixen la formació de grans cristalls de gels, disminueixen la recrystal·lització, contribueixen a la estabilització de la estructura col·loïdal del gelat i contribueixen al cos i textura del gelat.

Emulgents: grup de components que ajuden a desenvolupar la estructura dels gelats i aconseguir una correcta distribució de l'aire.

3. Criteris microbiològics dels gelats

Els gelats, en ser aliments que no han de patir cap tractament tèrmic en ser consumits els englobem dins dels aliments llestos per a el consum o RTE (*ready-to-eat*), que són aquells aliments destinats al consum humà directe sense necessitat de ser cuinat o altre tipus de transformació eficaç per eliminar, a un nivell acceptable, els microorganismes perillosos, segons la definició que apareix en el Reglament CE 1441/2007 (Anònim 2007).

Segons les característiques de l'aliment llest per al consum, la legislació vigent (Anònim, 2007) pot exigir uns criteris microbiològics o uns altres, segons si l'aliment va destinat a l'alimentació per a lactants o usos mèdics especials, o si pot afavorir o no el creixement de *Listeria monocytogenes*.

En el cas que siguin aliments destinats a l'alimentació per a lactants o usos mèdics especials el criteri és el següent: absència en 25g en 10 mostres.

En el cas que es tracti d'un aliment que afavoreix el desenvolupament de *L. monocytogenes* el criteri és el següent: límit màxim de 100UFC/g en mostres durant tota la seva vida útil i absència en 25g en 5 mostres abans que l'aliment hagi deixat el control immediat de l'explotador de l'empresa alimentària que l'ha produït.

Els gelats poden tenir un pH molt variat segons el tipus que escollim, i una activitat d'aigua inferior a 0.92. En ser aliments que s'han de conservar en congelació (-18°C), no permeten el creixement i desenvolupament de *Listeria monocytogenes*. Per tant, englobem els gelats en els aliments llestos per al consum que no permeten el creixement de *Listeria monocytogenes*, i tal i com ens indica el reglament CE 1441/2007 els criteris a considerar són els que s'indiquen a continuació (Taula 1):

Taula1. Criteris microbiològics de *Listeria monocytogenes* en aliments llestos per al consum (Anònim, 2007).

Categoria d'aliments	Microorganismes, toxines i metabòlits	Pla de mostreig		Límits		Mètode analític de referència	Fase en què s'aplica el criteri
		N	c	m	M		
Aliments llestos pel consum que no puguin afavorir el desenvolupament de <i>L. monocytogenes</i> , que no siguin destinats als lactants ni per usos mèdics especials) (8)	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100ufc/g		EN/ISO 11290-2	Productos comercialitzats durant la vida útil

(8) Es considera automàticament que pertanyen a aquesta categoria els productes amb $\text{pH} \leq 4,4$ o $\text{aw} \leq 0,92$, productes amb $\text{pH} \leq 5,0$ i $\text{aw} \leq 0,94$, i els productes amb una vida útil inferior a 5 dies. Altres categories de productes també poden pertànyer a aquesta categoria, sempre que es justifiqui científicament.

En els gelats, a part de *Listeria monocytogenes*, també s'exigeix absència de *Salmonella* en 25g en 5 mostres, però aquest control només es farà en aquells gelats que continguin ingredients d'origen lacti (Anònim, 2007).

A part dels criteris microbiològics, en el reglament CE 1441/2007 trobem també els criteris d'higiene en gelats i postres lactis congelades. Aquest criteri ens indica que s'ha de buscar enterobacteris en 5 mostres(n), on en un màxim de dues mostres (c), podem trobar un valor màxim de 100UFC/g(M) i un valor mínim de 10UFC/g (m). En aquest cas només es requereix realitzar aquesta anàlisi quan el gelat conté ingredients d'origen lacti. (Anònim, 2007).

4. Característiques de *Listeria monocytogenes*

En el gènere *Listeria* s'accepten actualment 10 espècies. *Listeria monocytogenes* és l'agent etiològic de la listeriosi en humans i en els animals.

Listeria monocytogenes és un bacil gram positiu, no formador d'espores, no àcid-alcohol resistent, catalasa positiu i oxidasa negatiu. És anaerobi facultatiu i el seu pH òptim es troba en la neutralitat (7,0) encara que pot sobreviure fins a un pH entre 3,3-4,2. Pot tolerar ambients salins i la seva temperatura òptima de creixement és entre 30-37°C, tot i que pot sobreviure a temperatures de -18°C. Pel que fa a l'activitat d'aigua, el creixement òptim és a 0,99, encara que pot sobreviure a activitats d'aigua <0,90 (Taula 2).

Aquest bacteri és ubiqüitari, i per tant el podem trobar en el terra, plantes, aigua i en els aliments. El reservori de *Listeria* spp. pot ser animal o humà. Els remugants domèstics i salvatges, i també les aus de corral, tenen probablement un paper fonamental en el manteniment de *Listeria* spp. en el medi rural per mitjà d'un cicle fecal-oral continu. (Generalitat de Catalunya, 2007).

La principal via de contaminació amb aquest patògen és consumir aliments contaminats, tot i que també es pot donar pel contacte amb animals o humans infectats (Ozturk *et al.*, 2010).

La cocció dels aliments a temperatures superiors a 65°C destrueix el bacteri. Tot i això, pot produir una recontaminació dels aliments després de la seva producció, per exemple en l'envasament, i aquest seria un dels principals motius pel qual s'hauria de buscar aquest patògen en els aliments llestos per al consum, com poden ser els gelats.

Podem trobar diferents serovars dins de *L. monocytogenes* (1/2a, 1/2b, 1/2c, etc). El més important d'aquests serovars i el més freqüent en casos d'intoxicacions alimentàries és el 2b (Generalitat de Catalunya, 2007).

Taula 2. Alguns factors que influeixen en el creixement i supervivència de *Listeria monocytogenes* (Iñigo i Jiménez, 2012)

Pot créixer				
Factors	Límit inferior	Òptim	Límit superior	Pot sobreviure* (però no créixer)
pH**	4,2 a 4,3	7,0	9,4 a 9,5	3,3 a 4,2
Temperatura (°C)	-1,5 a +3,0	30,0 a 37,0	45,0	-18,0
Activitat d'aigua (Aw)	0,90 a 0,93	0,99	>0,99	<0,90
Concentració de sal (%) ***	<0,5	0,7	12-16	≥20
Atmosfera	Anaerobi facultatiu (pot créixer en presència i absència d'oxigen)			
Tractament tèrmic durant l'elaboració	Es requereix una combinació de temps/temperatura de 70°C durant 2 minuts per a una reducció D=6 del nombre de cèl·lules de <i>L. monocytogenes</i> . Altres combinacions temps/temperatura també ho poden aconseguir.			

* El període de supervivència variarà depenent de la naturalesa de l'aliment i d'altres factors.

** La inhibició de *L. monocytogenes* dependrà del tipus d'àcid present.

*** Basat en el percentatge de clorur sòdic, fase aquosa.

La listeriosi és una malaltia que s'adquireix per la ingestió del microorganisme *Listeria monocytogenes* present en productes alimentaris contaminats, és una malaltia greu que pot provocar avortaments en embarassades i la mort en molts casos en nens, ancians i pacients immunodeprimits. El període d'incubació és variable i oscil·la entre 3 i 70 dies després de la ingesta de l'aliment contaminat, amb una mitjana de 21 dies. Els símptomes van des de nàusees, vòmits i diarrees fins a meningitis, endocarditis, etc (Generalitat de Catalunya, 2007).

5. Principals fonts de contaminació i mesures preventives

Algunes de les principals fonts o causes de contaminació microbiana en els gelats són les persones vehiculitzadores del microorganisme (malaltes o portadores), una insuficient refrigeració, l'absència o deficiència d'escalfament de la mescla, perllongats temps de repòs de la barreja (refredament no immediat), i les matèries primeres contaminades (llet, mantega, ous, fruits secs, xocolata o cacau, sucre contaminat, etc).

La contaminació també pot ser deguda a l'aigua d'esbandida o als estris emprats per a la fabricació del gelat.

Si la mescla de gelats està contaminada, la correcta pasteurització elimina els microorganismes. No obstant això, pot produir-se, amb poca freqüència, la recontaminació amb baixes concentracions de *Listeria monocytogenes*, durant el procés de mescla, congelat i/o envasat. Cal tenir present també la possible introducció del bacteri en el producte a través d'ingredients addicionals com fruits secs, xocolata o fruita.

El control de *Listeria monocytogenes* en els gelats, via Anàlisi de Perills i Punts de Control Crítics, està centrat en la selecció de llet crua de bona qualitat i un exigent control del procés, empaquetament, distribució i condicions d'emmagatzematge (Gougouli *et al.*, 2008).

El Reglament (CE) 852/2004 del Parlament Europeu i del Consell, de 29 d'abril de 2004, relatiu a la higiene dels productes alimentaris obliga als operadors d'empresa alimentària que creïn, apliquin i mantinguin un procediment basat en l'anàlisi de perills i punts de control crític (APPCC) (Anònim, 2004).

Els estadis crítics són: l'etapa de maduració del mix emmagatzemat en temperatures de refrigeració i el transport i emmagatzematge del producte final on pot patir canvis bruscs de temperatura, com per exemple en descarregar el producte dels camions.

Una mala pasteurització de la mescla també podria ser l'origen de la contaminació en el producte acabat, ja que aquest punt es tracta d'un punt de control crític (PCC), on s'haurien d'eliminar tots els microorganismes presents en el producte.

Tot i que el patogen està controlat amb l'etapa de pasteurització, la seva presència en el producte final és deguda a una contaminació post-pasteurització, que es pot donar en les següents etapes, com la distribució o emmagatzematge (Kozak *et al.*, 1996).

Una altra font de contaminació a tenir en compte és la maquinària que s'utilitza en la indústria alimentària per a la fabricació de gelats. En una planta de gelats es van analitzar diferents mostres (ambientals, equips, matèria prima, producte no acabat i gelats) i es va detectar que el 5,1% de les mostres obtingudes dels equips de la planta i les mostres ambientals contenen *Listeria monocytogenes*. En les mostres de matèries primeres i en els gelats es va detectar *Listeria monocytogenes* en un 0,6%, molt inferior a les mostres dels equips i ambientals (Miettinen *et al.*, 1999).

Deixant de banda la indústria, també trobem algunes fonts de contaminació en la venda al detall. Un problema comú que trobem en aquests establiments i que és de molta importància, el constitueixen els draps de neteja utilitzats per netejar els llocs de treball, màquines o estris. Si aquests draps no es desinfecten després de cada utilització, l'única cosa que s'aconsegueix és distribuir microorganismes uniformement. En aquests draps s'han trobat prop de 200 milions de bacteris per cm². Si els draps només es renten amb aigua calenta i es retorcen enèrgicament no s'aconsegueix una disminució considerable en el nombre de microorganismes (Catalina, 2012).

Un altre punt a considerar és el de les culleres servidores de gelat. L'òptim seria tenir una cullera per a cada tipus per evitar mantenir-la en aigua, ja que, si aquesta aigua no es renova contínuament, es poden assolir recomptes de microorganismes de l'ordre de 10⁷ per mil·lilitre (Catalina, 2012).

Moltes vegades s'utilitza una solució d'àcid cítric al 5% diluïda en aigua. L'àcid cítric és un potent bacteriostàtic i d'aquesta manera sempre tenim la cullera servidora neta i desinfectada. A més a més, l'àcid cítric no té cap mena de sabor, i per tant, no es modificarien les qualitats sensorials del producte (Pelayo, 2012).

La prevenció i el control han d'incloure estratègies adreçades a reduir la quantitat de microorganismes a l'aliment, i a prevenir-ne la presència en els establiments de processament, tenint en compte que *L. monocytogenes* pot créixer en productes envasats en condicions adverses i presenta un risc de recontaminació un cop el producte és llest per al consum. Així, doncs, la correcta higiene en la producció i l'adopció de mesures correctores a temps poden prevenir riscos i evitar la comercialització de productes perillosos (Generalitat de Catalunya, 2001).

6. Supervivència de *Listeria monocytogenes* en els gelats

La vida útil dels aliments s'allarga disminuint la seva temperatura, d'aquesta manera es redueixen els processos metabòlics dels microorganismes associats als aliments. No obstant, els bacteris psicrotròfs tenen proteïnes i lípids de membrana adaptats al fred, les quals els faciliten que puguin créixer i reproduir-se en baixes temperatures (Rusell, 2002).

Un dels principals objectius de la congelació, és la reducció de la velocitat dels processos metabòlics dels microorganismes en els aliments, augmentant així la seva vida útil.

S'ha vist que *Listeria monocytogenes* és capaç de sobreviure en els gelats tot i que estiguin congelats a la temperatura que indica el reglament, és a dir, -18°C. Per aquest motiu s'han desenvolupat altres mètodes per a limitar la supervivència de *Listeria monocytogenes* en els gelats. Diversos estudis demostren com, depenent de la composició que tinguin els gelats, això pot afectar la supervivència de *Listeria monocytogenes*, disminuint la població final en l'aliment.

Mastronicolis *et al.* (2011) van demostrar que depenent de la formulació dels gelats emprats en l'estudi, s'observen variacions en la població de *Listeria monocytogenes*, tal que s'observa a la Taula 3 i la Figura 1.

Taula 3. Composició de les mostres dels gelats on s'inocula *Listeria monocytogenes* (Mastronicolis *et al.*, 2011).

Mostra	Estabilitzant	Emulsionant	Sacarosa	Diferents edulcorants	Oli	Llet en pols	Crema de llet	Aigua
Control	0,20	0,20	16,00	-	-	9,46	28,57	45,57
Overrun 10%	0,20	0,20	16,00	-	-	9,46	28,57	45,57
Fructosa syrup	0,20	0,20	13,60	3,00 (xarop de fructosa)	-	9,46	28,57	44,97
Corn syrup	0,20	0,20	13,60	3,00 (xarop de blat de moro)	-	9,46	28,57	44,97
Sesame paste 10%	0,20	0,20	15,61	-	1,69 (pasta de sèsam)	9,36	25,71	47,92
Sesame paste 30%	0,20	0,20	14,83	-	5,08 (pasta de sèsam)	9,06	20,00	50,63
Sesame oil 50%	0,20	0,20	16,00	-	5,00 (oli de sèsam)	10,23	14,29	54,08

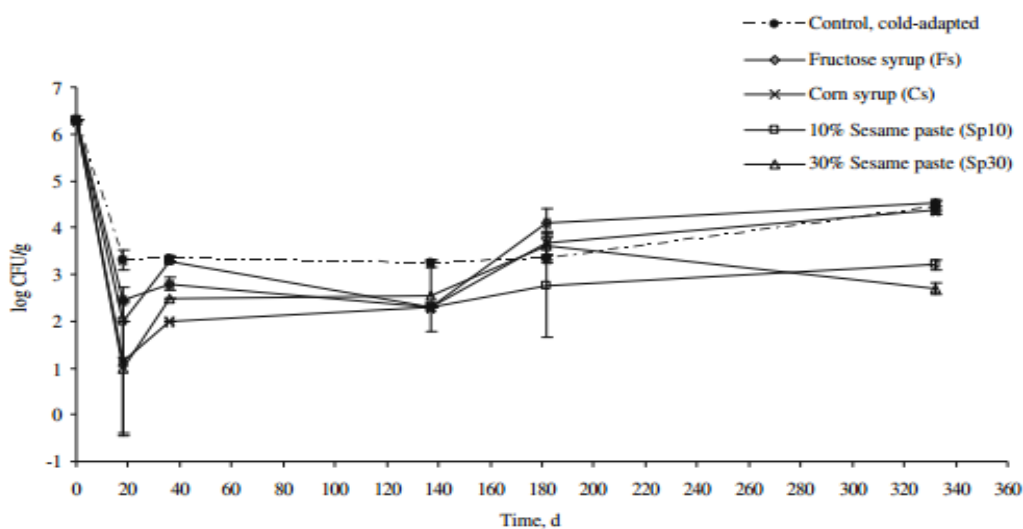


Figura 1. Població de *Listeria monocytogenes* depenent de la composició del gelat (Mastronicolis *et al.*, 2011).

Ozturk *et al.* (2010) van realitzar un estudi similar, incorporant té d'herbes a diferents mostres de gelats on s'havia inoculat *Listeria monocytogenes*, i van obtenir reduccions en els recomptes microbians a mesura que avançava el temps d'emmagatzematge.

Igual que en els gelats, en unes mostres de maduixes inoculades amb *Listeria monocytogenes* i emmagatzemades a -20°C van presentar variacions en la concentració del microorganisme al llarg del temps i es va observar una reducció de una unitat logarítmica ja en les primeres 24 hores de l'emmagatzematge (Flessa *et al.*, 2005).

Un altre aspecte interessant seria reduir l'expressió dels diferents gens de virulència (*hlyA*, *iap*, *fri*, etc.) de *Listeria monocytogenes* mitjançant la congelació. Ben *et al.*, (2010) van estudiar l'efecte de la congelació a -20°C durant un període de 6 mesos sobre l'expressió dels diferents gens de virulència de *Listeria monocytogenes*. Tot i que es va observar una lleugera reducció respecte a l'expressió inicial, després d'aquest període de temps en congelació tots els gens se seguien expressant.

La data de consum preferent fa referència al temps en què el producte manté intactes les seves propietats, sense que ingerir-lo suposi un risc per a la salut i sense que perdi alguna de les seves característiques organolèptiques (olor, sabor, etc). A l'etiqueta apareix la llegenda "consumir preferentment abans del ..." seguida de la data amb dia i mes, mes i any o només any. En el cas dels gelats és entre un i dos anys, depenent de les característiques que presentin.

7. Conclusions

Listeria monocytogenes és capaç de sobreviure en els gelats, tot i estar congelats a -18°C, durant un llarg període de temps. És per aquest motiu, que s'ha de controlar la manipulació per tal d'evitar recontaminacions després del procés de pasteurització del producte. S'han de realitzar correctament els tractaments tèrmics per eliminar els microorganismes presents en el producte, mantenir sempre una correcta neteja de les instal·lacions i aplicar un correcte sistema d'anàlisi de perills i punts de control crítics.

Tot i que *Listeria monocytogenes* és capaç de sobreviure durant més d'un any com han demostrat Gougouli *et al.*,(2008) i Mastronicolis *et al.*,(2011) en els seus respectius estudis, realitzant un petit treball de camp he pogut veure que les dates de consum preferent dels gelats oscil·len entre un i dos anys. D'aquesta manera podem concloure que la data de consum preferent dels gelats no la delimita la contaminació microbiana sinó la pèrdua de la estructura del gelat i per tant la pèrdua de les seves propietats organolèptiques.

Tot i que diferents estudis demostren la presència de *Listeria monocytogenes* en els gelats, fins al moment no han estat directament relacionats amb els casos de listeriosi. Com que *L. monocytogenes* no pot multiplicar-se en congelació, el nombre de cèl·lules del microorganisme en els gelats no és suficient per causar malaltia.

8. Bibliografia

- ANÒNIM. 1998. Real Decret del 17 d'abril del 1998. Reglamentació tècnico-sanitària per a la elaboració, circulació i comerç de gelats y mescles envasades per congelar (BOE). 14113-14124
- ANÒNIM. 2004. Reglament CE del 29 d'abril del 2004. Higiene dels productes alimentaris (DOUE). 139-193
- ANÒNIM. 2007. Reglament CE del 5 de desembre del 2007. Criteris microbiològics aplicables als productes alimentaris (DOUE). 12-29
- ANÒNIM. 2013. Real Decret de 8 de març del 2013. Es deroguen totalment o parcialment determinades reglamentacions tecnico-sanitàries i normes de qualitat referides a productes alimentaris (BOE). 24494-24505
- BEN SLAMA, R., MILADI, H., CHAIEB, K., 2013, Survival of *Listeria monocytogenes* Cells and the Effect of Extended Frozen Storage (-20°C) on the Expression of Its Virulence Gene, *Appl Biochem Biotechnol*, 170: 1174-1183.
- CLARKE, C. Ice cream ingredients. *The science of ice cream*. 2º edició. RSCPublishing. 38-59, 2012
- EFSA, 2014, Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat in the UE, 2010-2011, *EFSA Journal*, 11(6):3241.
- ELLNER, R., UTZINGER, D., GARCÍA, V., 1991, Aislamiento de *Listeria spp* de diversos alimentos en Costa Rica, *Revista costarricense de ciencias médicas*, 12: 9-33
- FAO, WHO. 2004. Risk assesment of *Listeria monocytogenes* in ready-to.eat foods: Technical report.
- FLANDERS, K.J., DONELLY, C.W., 1994, Injury, Resuscitation and detection of *Listeria spp.* from frozen environments, *Food Microbiology*, 11: 473-480.

- FLESSA, S., LUSK, D.M., HARRIS, L.J., 2005, Survival of *Listeria monocytogenes* on fresh and frozen strawberries, *International Journal of Food Microbiology*, 101: 255-262.
- GANDHI, M., CHIKINDAS, M.L., 2007, Listeria: A foodborne pathogen that knows how to survive, *International Journal of Food Microbiology*, 113: 1-15.
- GENERALITAT DE CATALUNYA, 2007, Informe de les zoonosis transmeses pels aliments i de la resistència antimicrobiana a Catalunya.
- GENERALITAT DE CATALUNYA. 2001. La listeriosi d'origen alimentari.
- GOUGOULI, M., ANGELIDIS, A.S., Koutsoumanis, K., 2008, A Study on the Kinetic Behaviour of *Listeria monocytogenes* in Ice Cream Stored Under Static and Dynamic Chilling and Freezing Conditions, *American Dairy Association*, 91: 523-530.
- IÑIGO, S., JIMÉNEZ, A., 2012, Guía de estudios de vida útil para *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para consumo, *Documentos Técnicos de Higiene y Seguridad Alimentaria*, 6.
- KAMAT, A., WARKE, R., KAMAT, M., THOMAS, P., 2000, Low-dose irradiation as a measure to improve microbial quality of ice cream, *International Journal of Food Microbiology*, 62: 27-35.
- KOTZEKIDOU, P., 2013, Microbiological examination of ready-to-eat and ready-to-bake frozen pastries from university canteens, *Food Microbiology*, 34: 337-343.
- LAMBERTZ, S.T., NILSSON, C., BRÄDENMARK, A., SYLVÉN, S., JOHANSSON, A., JANSSON, L.M., LINDBLAD, M., 2012, Prevalence and Level of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Sweden 2010, *International Journal of Food Microbiology*, 160: 24-31.
- MASTRONICOLIS, S.K., DIAKOIANNIS, I., BERBERI, A., BISBIROULAS, P., SOUKOULIS, C., TZIA, C., 2011, Effect of cold adaptation on the survival of *Listeria monocytogenes* in ice-cream formulations during long-term frozen storage, *Ann Microbiol*, 61: 931-937.

- MIETTINEN, M.K., BJÖRKROTH, K.J., KORKEALA, H.J., 1999, Characterization of *Listeria monocytogenes* from an ice cream plant by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis, *International Journal of Food Microbiology*, 46: 187-192.
- OZTURK, I., GOLEC, A., KARAMAN, S., SAGDIC, O., KAYACIER, A., 2010, Evaluation of *Listeria monocytogenes* survival in ice cream mixes flavored with herbal tea using taguchi method, *Foodborne Pathogens and disease*, 7: 1263-1268.
- PANAGOU, E.Z., NYCHAS, G.J.E., 2008, Dynamic Modelin of *Listeria monocytogenes* Growth in Pasteurized Vanill Cream after Postprocessing Contamination, *Journal of Food Protection*, 71: 1828-1834. Pelayo, M. 28 de juliol de 2011.
- PELAYO, M. Helados industriales y caseros más seguros. Disponible a:<http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2011/07/28/202091.php>
- RAHIMI, E., SHAKERIAN, A., RAISY, M., 2012, Prevalence of *Listeria monocytogenes* species in fresh and frozen fish and shrimp in Iran, *Ann Microbiol*, 62: 37-40.
- RODRÍGUEZ, M.C. 6 de setembre de 2012. Los riesgos microbiológicos del helado. Disponible a: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2004/05/26/12510.php>
- RUSSELL, N.J., 2002, Bacterial membranes: the effects of chill storage and food processing. An overview., *International Journal of Food Microbiology*, 79: 27-34.
- WONG, W.C., PUI, C.F., TUNUNG, R., CHEAH, Y.K., NAKAGUCHI, Y., NISHIBUCHI, M., SON, R., 2012, Prevalence of *Listeria monocytogenes* in frozen burger patties in Malaysia, *International Food Research Journal*, 19(4): 1751-1756.