ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΕΘΝΙΚΗΣ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΕΠΕΑΕΚ
ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΝΩΣΗ
ΣΥΓΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΤΑΜΕΙΟ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Η ΠΑΙΔΕΙΑ ΣΤΗΝ ΚΟΡΥΦΗ
Επιχειρησιακό Πρόγραμμα
Εκπαίδευσης και Αρχικής
Επαγγελματικής Κατάρτισης

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ

ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ - ΥΔΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Χαρακτηρισμός της μικροβιακής χλωρίδας και επίδρασή της στην ασφάλεια και στο χρόνο ζωής των μεταποιημένων καλλιεργούμενων σαλιγκαριών»

ΠΑΡΛΑΠΑΝΗ ΦΩΤΕΙΝΗ

ΒΟΛΟΣ 2009

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

«Χαρακτηρισμός της μικροβιακής χλωρίδας και επίδρασή της στην ασφάλεια και στο χρόνο ζωής των μεταποιημένων καλλιεργούμενων σαλιγκαριών»

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

- **Ιωάννης Μποζιάρης,** Επίκουρος Καθηγητής Υγιεινής και Συντήρησης Ιχθυηρών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Επιβλέπων.**
- **Χρήστος Νεοφύτου**, Καθηγητής Ιχθυολογίας - Υδροβιολογίας, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**.
- **Μαριάνθη Χατζηιωάννου**, Διδάκτορας, Π.Δ 407/80, Εκτροφή Γαστεροπόδων Αμφιβίων και Ερπετών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Ιχθυολογίας - Υδροβιολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Το αντικείμενο μελέτης ήταν ο χαρακτηρισμός της μικροβιακής χλωρίδας και η επίδρασή της στην ασφάλεια και στο χρόνο ζωής των μεταποιημένων εκτρεφόμενων σαλιγκαριών.

Η πραγματοποίηση της συγκεκριμένης μελέτης απαιτούσε τη βοήθεια και τη συμβολή ορισμένων ανθρώπων τους οποίους εκτιμώ ιδιαίτερα και θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινές μου ευχαριστίες στα πρόσωπά τους.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της εργασίας αυτής Επίκουρο Καθηγητή κ. Ι. Μποζιάρη για την πολύτιμη βοήθειά του και την υποστήριξή του κατά τη διάρκεια των διαλέξεων του Π.Μ.Σ.

Ειδικές ευχαριστίες επιθυμώ να απευθύνω στην κα Μαριάνθη Χατζηιωάννου, μέλος της εξεταστικής επιτροπής, διδάσκουσα με το Π.Δ 407/80, για την άριστη συνεργασία της μαζί μου, την προθυμία της και τις τόσο σημαντικές της υποδείξεις.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή κ. Χρήστο Νεοφύτου για τις συμβουλές του και τις παρεμβάσεις του κατά τη συγγραφή της εργασίας.

Επιπροσθέτως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Αναστάσιο Υψηλάντη, ο οποίος μας παρείχε δείγματα σαλιγκαριών εκτροφής τα οποία προορίζονταν για κατανάλωση, από τη μονάδα εκτροφής σαλιγκαριών στη περιοχή Ομορφοχώρι, Νομού Λάρισας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επίκουρο Καθηγήτρια του τμήματος Βιολογίας του Α.Π.Θ. κα Αλεξάνδρα Στάικου για το πολύτιμο συγγραφικό υλικό που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της συγγραφής της εργασίας μου.

Επίσης, ευχαριστώ τη φίλη και συνεργάτιδα Άννα – Παναγιώτα Δεσποτοπούλου για την πολύτιμη συνεργασία μας στο Πρόγραμμα «Υγιεινή και ασφάλεια νωπών και μεταποιημένων σαλιγκαριών» της Επιτροπής Ερευνών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με αντικείμενο «δειγματοληψίες και προσδιορισμός μικροβιολογικής ποιότητας νωπών εμπορεύσιμων σαλιγκαριών» καθώς και για την επίσης πολύτιμη βοήθεια που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της εργασίας μου.

Τέλος, τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου επιθυμώ να εκφράσω στους δύο ανθρώπους που με τόση αγάπη ανέχονται όλα αυτά τα χρόνια την κάθε απροσδόκητη σκέψη και πράξη μου, τους γονείς μου.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της συγκεκριμένης έρευνας ήταν ο προσδιορισμός του αρχικού μικροβιακού πληθυσμού στα νωπά σαλιγκάρια των ειδών *Helix aspersa* και *Helix lucorum* που προορίζονται για μεταποίηση και επιπλέον η διερεύνηση της επίδρασης της επεξεργασίας στο μικροβιακό φορτίο και στον εμπορικό χρόνο ζωής των μεταποιημένων αποθηκευμένων σε ψύξη εκτρεφόμενων σαλιγκαριών του είδους *Helix aspersa.*

Τα νωπά σαλιγκάρια καθώς και όλα τα δείγματα που πάρθηκαν από τα στάδια επεξεργασίας μελετήθηκαν ως προς την ποιότητα και ασφάλεια με χρησιμοποίηση των μικροοργανισμών δεικτών όπως είναι η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (ΟΜΧ) και το *Escherichia coli* για ποιότητα και ασφάλεια αντίστοιχα. Τα μεταποιημένα συντηρούμενα υπό ψύξη και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σαλιγκάρια μελετήθηκαν γενικότερα ως προς την ποιότητά τους με την καταμέτρηση της ΟΜΧ.

Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι η περιεκτικότητα των σπλάχνων σε μικροοργανισμούς ήταν υψηλότερη από αυτή των ποδιών για όλους τους πληθυσμούς σαλιγκαριών που μελετήθηκαν. Τα σπλάχνα περιείχαν επίπεδα πληθυσμού της ΟΜΧ της τάξεως των 8,4 log cfu/g για τα άγρια ζώα *H. lucorum,* 7,6 για τα άγρια *H. aspersa* και 8,7 log cfu/g για τα *H. aspersa* εκτροφής. Τα πόδια περιείχαν επίπεδα πληθυσμού της τάξεως των 7,0 log cfu/g, 6,1 και 7,1 log cfu/g για τα άγρια *H. lucorum,* τα άγρια *H. aspersa* και τα *H. aspersa* εκτροφής, αντίστοιχα.

Οι συγκεντρώσεις των βακτηρίων της οικογένειας Enterobacteriaceae αποτελούσαν μεγάλο ποσοστό της ΟΜΧ. Η μεγαλύτερη τιμή που σημειώθηκε σε σπλάχνα ήταν της τάξεως των 7,9 log cfu/g και ανήκε στο άγριο *H.*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

lucorum, ενώ στα πόδια ήταν της τάξεως των 5,6 log cfu/g και ανήκε στα ζώα εκτροφής του *H. aspersa*. Ο υψηλότερος πληθυσμός βακτηρίων *E. coli* που ανιχνεύθηκε σε σπλάχνα και πόδι ανήκε στους άγριους πληθυσμούς του είδους *H. aspersa* και ήταν της τάξεως των 5,0 και 3,8 log cfu/g, αντίστοιχα, ενώ η μικρότερη βρέθηκε στα ζώα εκτροφής του *H. aspersa*, στα οποία καταμετρήθηκε και η μεγαλύτερη συγκέντρωση σε Ζύμες – Μύκητες (5,8 και 4,0 log cfu/g σε σπλάχνα και πόδι, αντίστοιχα).

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης έδειξαν ότι υπήρχε στατιστικά σημαντική **διαφορά** ($P<0,05$) μεταξύ των δύο άγριων σαλιγκαριών *H. aspersa* και *H. lucorum,* καθώς και μεταξύ των άγριων και εκτροφής ζώων του είδους *H. aspersa* ως προς τη συγκέντρωσή τους σε όλες τις κατηγορίες μικροοργανισμών που καταμετρήθηκαν σε σπλάχνα και πόδι.

Το αρχικό φορτίο της ΟΜΧ, των Enterobacteriaceae, *E. coli* και Ζυμών-Μυκήτων σε πόδι και σπλάχνα των σαλιγκαριών εκτροφής *H. aspersa* μειώθηκε με την εφαρμογή θερμικής επεξεργασίας. Συγκεκριμένα κατά τα στάδια επεξεργασίας των ποδιών, από την παραλαβή έως και το βρασμό, η ΟΜΧ μειώθηκε από 7,1 στους 1,4 log cfu/g, τα Enterobacteriaceae από 5,6 σε 1,5 log cfu/g, ενώ του *E. coli* παρέμενε κάτω του ορίου ανίχνευσης των 2 λογαρίθμων και τέλος ο πληθυσμός των Ζυμών-Μυκήτων μειώθηκε από το επίπεδο των 4,0 log cfu/g σε κάτω από το όριο ανίχνευσης των 2 λογαρίθμων.

Τα αποθηκευμένα υπό ψύξη μεταποιημένα (βρασμένα) πόδια διατήρησαν χαμηλό το φορτίο της ΟΜΧ για αρκετές ημέρες σε αντίθεση με το προϊόν που αποθηκεύθηκε στους 20 ^{o}C. Ο πληθυσμός της ΟΜΧ στους 20 ^{o}C αυξήθηκε από το αρχικό επίπεδο 2,1 log cfu/g στους 4,5 log cfu/g εντός των δύο πρώτων ημερών αποθήκευσης, ενώ έφτασε στους 7,2 log cfu/g την έκτη

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

ημέρα ενώ την ίδια ημέρα ο πληθυσμός της ΟΜΧ των αποθηκευμένων υπό ψύξη ποδιών άρχισε να αυξάνει σε πληθυσμούς πάνω του ορίου ανίχνευσης των 2,1 log cfu/g.

Τα προοριζόμενα για κατανάλωση σαλιγκάρια περιέχουν σχετικά υψηλούς πληθυσμούς μικροοργανισμών σε πόδι και σπλάχνα ο οποίος όμως είναι δυνατό να μειωθεί με την εφαρμογή κατάλληλης θερμικής επεξεργασίας και με τη τήρηση των κανόνων Ορθής Υγιεινής Πρακτικής σε αποδεκτά επίπεδα, έτσι ώστε το τελικό προϊόν να είναι υψηλής υγιεινής στάθμης και στη συνέχεια η συντήρησή του να γίνεται στις κατάλληλες θερμοκρασίες.

Λέξεις Κλειδιά : *Helix aspersa*, *Helix lucorum,* μικροβιακοί δείκτες, ποιότητα τροφίμων – σαλιγκαριών, υγιεινή και ασφάλεια τροφίμων – σαλιγκαριών.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ 1

1.1 Το εδώδιμο σαλιγκάρι 1

1.2 Περιγραφή των ειδών 2

1.2.1 Εξωτερική μορφολογία 2

1.2.2 Εσωτερική μορφολογία 4

1.2.3 Γεωγραφική εξάπλωση – Βιότοπος 5

1.3 Η χημική τους σύσταση 7

1.4 Στοιχεία Μικροβιολογίας 10

1.4.1 Μικροοργανισμοί και τρόφιμα 10

1.4.2 Στοιχεία μικροβιολογίας σαλιγκαριών 12

1.4.2.1 Μικροβιολογία ζωντανών σαλιγκαριών 13

1.4.2.2 Μικροβιολογία επεξεργασμένων σαλιγκαριών 22

1.4.2.3 Θερμική επεξεργασία σαλιγκαριών 22

1.5 Ποιοτικός έλεγχος 23

1.5.1 Υγιεινή και ποιότητα τροφίμων 23

1.5.1.1 Ποιοτικός Έλεγχος σαλιγκαριών 25

1.5.1.2 Υγιεινή Σαλιγκαριών 26

1.5.3.1 Μικροβιολογικοί Δείκτες Υγιεινής και Ασφάλειας 27

1.5.3.1.1 Οικογένεια Enterobacteriaceae 29

1.5.3.1.2 Κολοβακτηριοειδή (coliforms) 29

1.6 Μεταποίηση σαλιγκαριών 31

1.7 Νομοθεσία 32

1.7.1 Υγιεινή τροφίμων 32

1.7.2 Σαλιγκάρια και δημόσια υγεία 34

1.8 Αντικείμενο και στόχοι της μεταπτυχιακής διατριβής 37

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ 38

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

2.1 Προέλευση σαλιγκαριών 38

2.2 Προετοιμασία των Δειγμάτων ζωντανών σαλιγκαριών 39

2.3 Προσομοίωση σταδίων επεξεργασίας 40

2.4 Αποθήκευση βρασμένων σαλιγκαριών υπό ψύξη 41

2.5 Μικροβιολογικές αναλύσεις 41

2.6 Στατιστική επεξεργασία 43

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 44

3.1 Μικροβιακός πληθυσμός ζωντανών σαλιγκαριών 44

3.1.1 Σύγκριση των άγριων πληθυσμών *H. aspersa* και *H. lucorum* 48

3.1.2 Σύγκριση του άγριου *Helix aspersa* με το εκτροφής 49

3.2 Μεταβολές μικροβιακών πληθυσμών κατά την επεξεργασία 51

3.2.1 Σύγκριση μεταξύ των σταδίων επεξεργασίας 54

3.3 Αποθήκευση 56

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ 58

4.1 Μικροβιακό φορτίο ζωντανών σαλιγκαριών 58

4.2 Μικροβιακό φορτίο εκτρεφόμενων σαλιγκαριών κατά τα στάδια επεξεργασίας 71

4.3 Μικροβιακό φορτίο των μεταποιημένων αποθηκευμένων υπό ψύξη και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σαλιγκαριών 76

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 79

5.1 ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 79

5.2 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 90

5.3 ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 92

6. ABSTRACT 94

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Το εδώδιμο σαλιγκάρι

Στις μέρες μας το σαλιγκάρι αποτελεί τρόφιμο το οποίο καταναλώνεται από εκατομμύρια ανθρώπους σε ολόκληρο τον κόσμο (Jess and Marks, 1998: Murphy, 2001 : Milinsk *et al.,* 2006). Η εντατική του κατανάλωση ξεκίνησε από τα τέλη του 19^{ου} αιώνα, εξαιτίας κυρίως της μεγάλης προβολής των γαστρονομικών του προσόντων. Οι πιο σημαντικοί καταναλωτές του είναι οι κάτοικοι της Ευρώπης με κυριότερη τη Γαλλία (Ogozul *et al.,* 2005).

Τα είδη των εδώδιμων σαλιγκαριών που διαβιούν ελεύθερα στην Ευρώπη είναι περίπου δώδεκα και μόνο τέσσερα έως πέντε είναι εμπορεύσιμα, από τα οποία: το *Helix aspersa* καλύπτει το 40% του εμπορίου, το *Helix pomatia* (σαλιγκάρι της Βουργουνδίας ή Ρωμαϊκό σαλιγκάρι ή εδώδιμο σαλιγκάρι) καλύπτει το 28% του εμπορίου, το *Helix lucorum* (Μαύρο ή τούρκικο) καλύπτει το 22% και τέλος το είδος *Eobania vermiculata* που καλύπτει το υπόλοιπο 8,5% του εμπορίου και είναι κοινό σε όλη την Ελλάδα (Overview of the European Community, 1993).

Τα σαλιγκάρια εξάγονται ζωντανά, ημιεπεξεργασμένα, επεξεργασμένα ή κονσερβοποιημένα. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία πρέπει να προέρχονται από μονάδες (εγκαταστάσεις) οι οποίες είναι υποχρεωμένες να τηρούν τους κανονισμούς έτσι ώστε να αποφεύγεται το ενδεχόμενο κινδύνου για την κατανάλωση των προϊόντων αυτών από τον άνθρωπο (Απόφαση 96/340/ΕΚ).

Τα σημαντικότερα πιο εμπορεύσιμα είδη εδώδιμων σαλιγκαριών στην Ελλάδα είναι πέντε: *Helix pomatia, Helix lucorum, Helix aspersa, Helix*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

melanostoma και *Eobania vermiculata* (Λαζαρίδου και Κάττουλας, 1985) από τα οποία εξάγει κυρίως τα δύο, ***Helix aspersa*** Müller, 1774 και ***Helix lucorum*** (Linnaeus, 1758) (Μαρκάκης, 1990),(Εικ. 1.1).

Εικόνα 1.1: Σαλιγκάρια του είδους *Helix lucorum* Β. Ελλάδας (αριστερά) και σαλιγκάρια του είδους *Helix aspersa* Κρήτης (δεξιά) (Συλλογή Εργαστηρίου Ιχθυολογίας- Υδροβιολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας).

1.2 Περιγραφή των ειδών

1.2.1 Εξωτερική μορφολογία

Helix aspersa

Το είδος ***Helix aspersa*** (κοινώς «κοκκωειδές» ή «ζαρωμένο» ή «χοντρό», οι Γάλλοι το αποκαλούν «Petit-gris» ή «escargot» ενώ οι Έλληνες «Κρητικό κοχλιό») (Εικ.1.2), είναι αρκετά μικρότερο από το *Helix lucorum* με ελαφρά κωνικό κέλυφος. Συνήθως, είναι κιτρινοκαστανό και παρεμβάλλονται σκούρες ζωνώσεις που ποικίλουν σε αριθμό και πλάτος (Dekle and Fasulo,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

2002). Το κέλυφός τους μπορεί να φθάσει τα 30 mm ύψος και τα 40 mm διάμετρο (Lazaridou-Dimitriadou *et al.,*1983: Madec *et al.*, 2003).

Εικόνα 1.2: Σαλιγκάρια του είδους ***Helix aspersa*** (Συλλογή Εργαστηρίου Ιχθυολογίας- Υδροβιολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας).

Helix lucorum

Το είδος ***Helix lucorum*** (κοινώς «μαυροσαλίγκαρο» ή «σαλιγκάρι των δασών» ή «Τούρκικο») (Εικ.1.3), χαρακτηρίζεται από σφαιρικό σχεδόν κωνικό κέλυφος συνήθως με ζωνώσεις που έχουν πολύ έντονο σκούρο χρώμα (καφέ). Ο ομφαλός των ώριμων ατόμων είναι συνήθως τελείως σκεπασμένος, ουσιαστικά δε φαίνεται. Η διάμετρος του κελύφους των ώριμων ατόμων κυμαίνεται μεταξύ 35 και 50 mm (Staikou *et al.,* 1988).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Εικόνα 1.3: Σαλιγκάρια του είδους ***Helix lucorum*** (Συλλογή Εργαστηρίου Ιχθυολογίας- Υδροβιολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας).

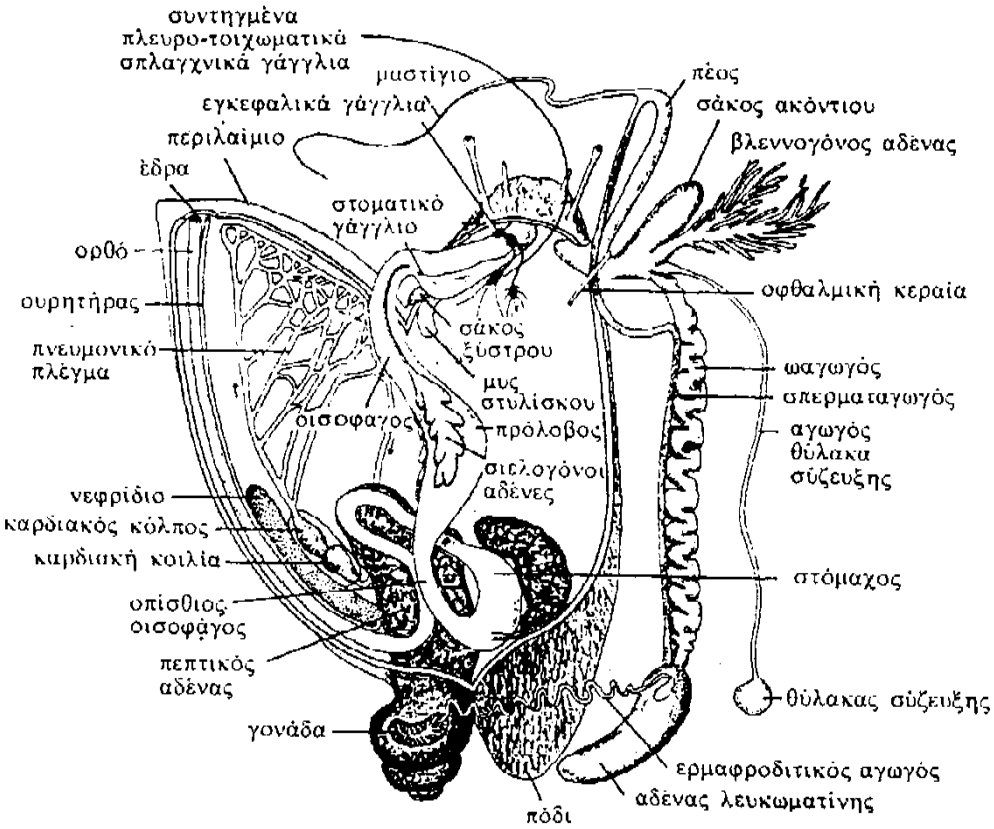
1.2.2 Εσωτερική μορφολογία

Το σώμα των Πνευμονοφόρων γαστεροπόδων είναι δυνατό να διακριθεί σε τέσσερα τμήματα:

1. στην **κεφαλή,** η οποία είναι καλά αναπτυγμένη και φέρει το στόμα και δύο ζεύγη κεραιών από τα οποία στο άκρο του πρώτου βρίσκονται τα μάτια.
2. στο **πόδι,** το οποίο αποτελεί σαρκώδη μάζα και καθορίζει την κίνηση του ζώου.
3. στο **μανδύα**, δηλαδή μια πτύχωση του δέρματος. Ο μανδύας περιβάλλει την σπλαγχνική μάζα και εκκρίνει το κέλυφος.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

4. στη **σπλαγχνική μάζα,** η οποία περιλαμβάνει το πεπτικό, κυκλοφορικό, γεννητικό, αναπνευστικό και απεκκριτικό σύστημα και βρίσκεται τοποθετημένη μέσα στο κέλυφος.



Εικόνα 1.4: Εσωτερική ανατομία χερσαίου γαστεροπόδου (Χατζηιωάννου, 2007).

1.2.3 Γεωγραφική εξάπλωση – Βιότοπος

Το ***Helix aspersa*** είναι είδος γηγενές των παράκτιων περιοχών της Μεσογείου και των περιοχών πάνω από τις ακτές της Ισπανίας και της Γαλλίας. Στις αρχές της δεκαετίας του 1850 οι Γάλλοι το μετέφεραν στην Καλιφόρνια και στις μέρες μας αποτελεί κοινό είδος σε κάθε σημείο των Η.Π.Α. Αργότερα, πραγματοποιήθηκαν εισαγωγές και σε άλλες περιοχές όπως η Ν. Αφρική, η Ν.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Ζηλανδία, το Μεξικό και η Αργεντινή (Thompson, 1996). Οι περισσότερες εισαγωγές του είδους σχεδόν παγκοσμίως έγιναν τυχαία με την μεταφορά φυτών από περιοχή σε περιοχή και από χώρα σε χώρα (Dekle and Fasulo, 2002).

Το είδος αυτό αφθονεί στις μεσογειακές χώρες και στα ατλαντικά παράλια της Ευρώπης όπως Ελλάδα, Γιουγκοσλαβία, Ιταλία, Πορτογαλία, Ενωμένο Βασίλειο, στις Κάτω Χώρες, αλλά και στην Κύπρο, στην Αίγυπτο, στη Λιβύη, στο Μαρόκο, στη Δ. Αφρική, στις Η.Π.Α., στο Μεξικό, στη Ν. Αμερική και στην Αυστραλία (Chevallier, 1976). Στον Ελλαδικό χώρο βρίσκεται στην Κρήτη και στην Πελοπόννησο αλλά ζει και στη Στερεά Ελλάδα καθώς και στη Θεσσαλία μέχρι το Βόλο (Μαρκάκης, 1990).

Γενικά, προτιμά υγρές περιοχές με ήπιο κλίμα, ελαφρύ έδαφος και χαμηλό υψόμετρο, αν και μερικές φορές συναντάται και σε υψόμετρο 1000 m (INPN, 2007 : Δεσποτοπούλου, 2008). Ειδικότερα, βρίσκεται κυρίως στους αγρούς, σε δάση, σε αναρριχώμενα φυτά και σε κήπους (Thompson, 1996).
Επίσης, είναι είδος φυτοφάγο το οποίο τρέφεται τη νύχτα κυρίως με οργανική ύλη που υπάρχει στο έδαφος, με τους φλοιούς των δέντρων και με λαχανικά και ταυτόχρονα αποτελεί παράσιτο αρκετών ειδών λαχανικών, δέντρων, σιτηρών, θάμνων και λουλουδιών (Dekle and Fasulo, 2002).

Το ***Helix lucorum*** αφθονεί στις βόρειες και δυτικές περιοχές της Τουρκίας, στα παράλια της Μαύρης θάλασσας, στη Βουλγαρία, στη Ν. Γιουγκοσλαβία, στην Αλβανία, στην Ιταλία (Chevallier, 1976) αλλά βρίσκεται επίσης στην Κριμαία και στο Ρωσικό Καύκασο (Χατζηιωάννου, 2007). Επίσης,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

ζει σε όλη την ηπειρωτική Ελλάδα αλλά αφθονεί στην Πελοπόννησο, στη Θράκη και στη Μακεδονία.

1.3 Η χημική σύσταση

Η σάρκα του σαλιγκαριού αντιπροσωπεύει ανάλογα με το είδος το 50 με 80% του συνολικού του βάρους (Λαζαρίδου και Κάττουλας, 1985). Σύμφωνα με τον Murphy (2001), το σώμα των σαλιγκαριών του είδους ***H. aspersa*** εμπεριέχει χαμηλά λιπαρά και είναι πλούσιο σε θρεπτικά απαραίτητα για την ανθρώπινη υγεία. Στα πλαίσια της ίδιας δημοσίευσης αναφέρεται σύμφωνα με στοιχεία της data bank in France, ότι όσον αφορά τα φρέσκα σαλιγκάρια εκτροφής του είδους αυτού η χημική σύνθεση του σώματός τους 100g, είναι η παρακάτω:

- Ενέργεια (kcal) 80,5.
- Πρωτεΐνες (g) 16.
- Νερό (g) 79.
- Φυτικές ίνες (g) 0.
- Λιπαρά (g) 1.
- Άμυλο (g) 2.
- Μαγνήσιο (mg) 250.
- Ασβέστιο (mg) 170.
- Σίδηρο (mg) 3,5.
- Βιταμίνη Α 1,5%
- Βιταμίνη C 1,5%
- Ιχνοστοιχεία όπως ψευδάργυρος, χαλκός, κάλιο και ιώδιο.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- Το σώμα των σαλιγκαριών περιέχει 9 με 10 αμινοξέα απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό.

Η χημική σύσταση των σαλιγκαριών δεν είναι σταθερή αλλά μεταβάλλεται με το είδος, την ηλικία, τη διατροφή, τη φάση του βιολογικού κύκλου αλλά και τις καιρικές συνθήκες (Gomot, 1998). Στον παρακάτω πίνακα (Πίν. 1.1) φαίνονται οι διαφορές στη χημική σύσταση μεταξύ των δύο ειδών που αφορούν την παρούσα μελέτη.

Πίνακας 1.1 Χημική σύσταση της σάρκας των χερσαίων σαλιγκαριών *Helix aspersa* και *Helix lucorum.*

ΕΙΔΟΣ	**ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ (σε g)**	**ΛΙΠΗ (σε g)**	**ΝΕΡΟ (%)**	**ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ**
H. aspersa	14.56	0.69	79.46	Grandi and Panella (1978)
H. lucorum	12.94	0.63	80.59	
H. aspersa (Εκτροφής)	10.40	0.85	76.79	Νεοφύτου και Χατζηϊωάννου (2008)
H. aspersa (Άγριοι πληθυσμοί)	12.10	1.47	78.82	
H. aspersa	16.00	1.00	79.00	Murphy (2001)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Επίσης, οι Vildirim *et al*. (2004) αναφέρουν ότι η χημική σύσταση του σώματος των σαλιγκαριών διαφέρει από τα υπόλοιπα «κρέατα» διότι περιέχει περισσότερο νερό και υδατάνθρακες, λιγότερες πρωτεΐνες και λίπη (Πίν. 1.2).

Πίνακας 1.2 Σύγκριση της διατροφικής αξίας του κρέατος των σαλιγκαριών με το κρέας από μοσχάρι, κοτόπουλο και ψάρι (Vildirim *et al.,* 2004).

	ΣΑΛΙΓΚΑΡΙ	**ΜΟΣΧΑΡΙ**	**ΚΟΤΟΠΟΥΛΟ**	**ΨΑΡΙ**
ΛΙΠΗ (%)	0.5-0.8	11.5	12	1.5
ΘΕΡΜΙΔΙΚΗ ΑΞΙΑ / 100 gr	60 - 80	163	120	70
ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ(%)	13.5	22.1	8.5	15
ΝΕΡΟ (%)	83.8	72	70.6	81
ΑΛΛΑ (%)	1.9	0.9	0.8	25

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

1.4 Στοιχεία Μικροβιολογίας

1.4.1 Μικροοργανισμοί και τρόφιμα

Η κυριότερη λειτουργία των μικροοργανισμών στη φύση είναι η διαιώνιση του είδους τους. Κατά τη διεκπεραίωση αυτής της βασικής λειτουργίας οι ετερότροφοι μικροοργανισμοί διεξάγουν την ακόλουθη γενική αντίδραση (Jay, 2005):

Οργανική Ύλη

(Πρωτεΐνες, λίπη, υδατάνθρακες κ.λπ.)

↓

Ενέργεια + Ανόργανες ενώσεις

(αζωτούχες, θειούχες, κ.λπ.)

Παρά την απλότητα της δομής τους σε σύγκριση με τους ανώτερους οργανισμούς, οι μικροοργανισμοί μπορούν να διεξάγουν πολύπλοκες χημικές αντιδράσεις οι οποίες είναι απαραίτητες για τη διαιώνισή τους. Για να το επιτύχουν αυτό λαμβάνουν θρεπτικά συστατικά από την οργανική ύλη, ένα μέρος της οποίας αποτελούν τα τρόφιμα (Κοτζεκίδου- Ρουκά, 2000).

Αρκετές μικροβιολογικές αναλύσεις πολλών εργαστηρίων έχουν δείξει ότι οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή των τροφίμων περιέχουν έναν ποικίλο αριθμό βακτηρίων, ζυμών και μυκήτων. Τέτοιου είδους αναλύσεις έχουν πραγματοποιηθεί κυρίως σε:

- Κρέας και κρεατοσκευάσματα (Iacumin *et al*., 2007: Rodríguez *et al,.* 2007: Ruby *et al.,* 2007)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- Πουλερικά (Mead *et al,.* 1993: Cason *et al,.* 2004: Hutchison *et al.,* 2006)
- Αλιεύματα (Ripabelli *et al.,* 1999: Eklund *et al.,* 2004: Fernandez *et al.*, 2007)
- Φρούτα και Λαχανικά (El-Samahy *et al.,* 2000: Beuchat *et al.,* 2001: Arthur *et al.,* 2007)

Για την παραγωγή καλής ποιότητας τροφίμων πρέπει να υπάρχει αριθμός παθογόνων μικροοργανισμών κάτω του ανώτερου επιτρεπτού ορίου για λόγους δημόσιας υγείας, ενώ ο συνολικός αριθμός των μικροοργανισμών θα πρέπει να διατηρείται σε χαμηλό επίπεδο για τη δυνατότητα συντήρησης του τροφίμου για όσο το δυνατό μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Ο αριθμός και τα είδη των μικροοργανισμών που υπάρχουν σε ένα τρόφιμο επηρεάζεται από τους εξής παράγοντες (Κοτζεκίδου – Ρουκά 2000) :

1. Το περιβάλλον από το οποίο προέρχονται οι πρώτες ύλες του τροφίμου
2. Την ποιότητα των πρώτων υλών από μικροβιολογική άποψη
3. Τις συνθήκες υγιεινής που επικρατούν στο χώρο επεξεργασίας
4. Την καταλληλότητα του υλικού συσκευασίας και των συνθηκών αποθήκευσης του τροφίμου ώστε να διατηρηθεί ο πληθυσμός της μικροχλωρίδας του σε χαμηλό επίπεδο.

Ο αριθμός των μικροοργανισμών ενός τροφίμου αντανακλά συνολικά όλους τους παραπάνω παράγοντες, ενώ μία γενική εικόνα όλων αυτών των παραμέτρων δίνει ο προσδιορισμός της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (ΟΜΧ) του τροφίμου.

Οι μικροοργανισμοί οι οποίοι ευθύνονται για την μικροβιακή αλλοίωση στα τρόφιμα είναι κυρίως αυτοί της αρχικής χλωρίδας του τροφίμου και αυτοί οι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

οποίοι προέρχονται από επιμόλυνση. Αν και η σάρκα των υγιών ζώων θεωρείται απαλλαγμένη από μικροοργανισμούς, αυτή μπορεί να μολυνθεί από το δέρμα, το τρίχωμα, τα σκεύη και εργαλεία επεξεργασίας, από το προσωπικό, το νερό, τον αέρα και γενικότερα το περιβάλλον, κατά τα στάδια επεξεργασίας αλλά και κατά την αποθήκευση (Frazier and Westhoff, 1988: Dubal *et al.,* 2004).

Ως αλλοίωση τροφίμου αναφέρεται η υποβάθμιση της ποιότητάς του όσον αφορά τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Ένα τρόφιμο θεωρείται αλλοιωμένο όταν έχουν πραγματοποιηθεί αλλαγές σε αυτό οι οποίες το καθιστούν μη αποδεκτό για ανθρώπινη κατανάλωση. Η αλλοίωση είναι δυνατόν να προέλθει από μικροβιακή δράση, χημικές αντιδράσεις, δράση ενδογενών ενζύμων του τροφίμου, προσβολή από έντομα, τρωκτικά κ.ά. Περίπου το ένα τέταρτο της παγκόσμιας παραγωγής «χάνεται» λόγω μικροβιακής αλλοίωσης ή προσβολών. Στις αναπτυγμένες χώρες η αλλοίωση των τροφίμων οφείλεται κυρίως σε βακτήρια και ζύμες – μύκητες και επιτυγχάνεται σε σχετικά υψηλούς αριθμούς βακτηρίων (10^7- 10^8 cfu/g). Οι μικροοργανισμοί οι οποίοι αποτελούν την κύρια αιτία αλλοίωσης των τροφίμων ονομάζονται ειδικοί αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί (SSOs) (Huis in't Veld, 1996).

1.4.2 Στοιχεία μικροβιολογίας σαλιγκαριών

Οι μικροοργανισμοί προκαλούν τις περισσότερες αλλοιώσεις στα τρόφιμα και σε ορισμένες περιπτώσεις τα καθιστούν επικίνδυνα για την υγεία του καταναλωτή (FAO/WHO, 2001). Οι μικροοργανισμοί αποτελούν το κύριο αίτιο τροφικής δηλητηρίασης, είτε από την κατανάλωση τροφίμων που φέρουν μικροοργανισμούς οι οποίοι προσβάλουν τον εντερικό σωλήνα του ανθρώπου

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

(τροφολοίμωξη), είτε από την κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν τοξίνες, οι οποίες είναι προϊόντα μεταβολισμού των μικροοργανισμών (τροφοτοξίνωση). Το σαλιγκάρι, όπως ήδη αναφέρθηκε, αποτελεί οργανισμό εδώδιμο με ευρεία κατανάλωση αλλά με ελάχιστες πληροφορίες για την υγιεινολογική του κατάσταση στην παγκόσμια βιβλιογραφία.

1.4.2.1 Μικροβιολογία ζωντανών σαλιγκαριών

Ο αριθμός και το είδος των μικροοργανισμών που ανευρίσκονται στα ζωντανά σαλιγκάρια εξαρτάται από το είδος και τον πληθυσμό της μικροβιακής χλωρίδας του περιβάλλοντος στο οποίο ζουν, από τη φάση του βιολογικού τους κύκλου και από τις συνθήκες υγιεινής που επικρατούν κατά τη συλλογή, τη μεταφορά και την εμπορία τους.

Το μικροβιακό φορτίο των ζωντανών σαλιγκαριών προέρχεται από τη χλωρίδα που υπάρχει φυσιολογικά σε αυτά και από τη χλωρίδα επιμόλυνσης που προέρχεται από το περιβάλλον στο οποίο ζουν καθώς και από τη χλωρίδα των φυτών (Πιν.1.5) και του εδάφους (Πιν.1.6) που καταναλώνουν (Τσιγουρή, 1983).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Πίνακας 1.5 Η συνήθης χλωρίδα των φυτών (Τσιγουρή, 1983).

Βακτήρια των γενών			
Pseudomonas	*Xanthomonas*	*Achromobacter*	*Flavobacterium*
Alcaligenes	*Aerobacter*	*Micrococcus*	*Streptococcus*
Leuconostoc	*Lactobacillus*	*Chromobacterium*	*Sarcina*
Bacillus	*Clostridium*	*Streptomyces*	*Mycobacterium*
Ζύμες των γενών			
Rhodotorula		*Sporobolomyces*	
Μύκητες των γενών			
Aspergillus	*Cladosporium*	*Penicilium*	*Trichoderma*

Πίνακας 1.6 Η εδαφική χλωρίδα (Τσιγουρή, 1983).

Βακτήρια των γενών			
Pseudomonas	*Achromobacter*	*Flavobacterium*	*Alcaligenes*
Aerobacter	*Escherichia*	*Proteus*	*Micrococcus*
Streptococcus	*Lactobacillus*	*Leuconostoc*	*Corynebacterium*
Chromobacterium	*Bacillus*	*Clostridium*	*Streptomyces*
Acetobacter	*Sarcina*	*Arthrobacter*	
Μύκητες των γενών			
Aspergillus	*Cladosporium*	*Penicilium*	*Trichoderma*
Fuzarium	*Rhizoctonia*	*Papulaspora*	*Gliocladium*
Rhizopus		*Cephalosporum*	

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Βιβλιογραφικά δεδομένα

Σύμφωνα με τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα (Andrews *et al.,* 1975: Emanuel *et al.,* 1975: Cantoni *et al.,* 1976: Rossi and Virgiani, 1977: Parisi – Bianco, 1978: Caracappa *et al.,* 1980: Gallo and Caracappa, 1980: Pisanu and Leoni, 1980: Tiecco *et al.* 1980):

α) Τα σαλιγκάρια που βρίσκονται σε νάρκη και έχουν σχηματίσει επίφραγμα εμφανίζουν μικρότερο μικροβιακό φορτίο.

β) Όταν τα σαλιγκάρια δεν τρέφονται τότε το μικροβιακό φορτίο ελαττώνεται.

γ) Όταν το περιβάλλον είναι μολυσμένο τότε τα κελύφη μολύνονται περισσότερο από τα σώματα.

δ) Το πεπτικό και γεννητικό σύστημα των σαλιγκαριών έχουν μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο από τα άλλα συστήματα.

Οι μικροοργανισμοί που έχουν ανιχνευθεί τις τελευταίες δεκαετίες από τις οποίες είχαν προκύψει και τα παραπάνω συμπεράσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίν. 1.7).

Πίνακας 1.7 Μικροοργανισμοί οι οποίοι έχουν ανιχνευθεί στα ζωντανά σαλιγκάρια έως σήμερα.

ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ	ΕΙΔΟΣ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (cfu/g)	ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ
	Helix pomatia	10^6 - 10^7 (60%) 10^5 – 10^6 (33,8%) 10^4 – 10^5 (6,2%)	Cantoni *et al.* (1976)
	Helix pomatia (εκτροφής)	1 έως 10^7 (πεπτικό > γεννητικό > πόδι > πνεύμονας – καρδιά – νεφρός)	Parisi – Bianco (1978)
	Helix aspersa *H. vermiculata* *H. aperta*	70 * 10^4 έως 130 * 10^5 (μετά πλυσίματος και	Pisanu and Leoni (1980)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (ΟΜΧ)		αφαίρεσης κελύφους)	
	Διάφορα είδη από έξι διαφορετικές περιοχές της Ιταλίας	65 * 10^5 έως 87 * 10^7	Tiecco *et al.* (1980)
	Helix pomatia	6,85 log	Temelli *et al.* (2006)
	Eobania vermiculata	10^4 (με επίφραγμα) 10^7 (χωρίς επίφραγμα) 10^5 (χωρίς επίφραγμα αλλά μετά από αρκετό πλύσιμο)	Gallo and Caracappa (1980)
	Helix και *Achatina fulica*	10^6 - 10^7 (ολόκληρο) 10^7 – 10^9 (πεπτικό και γονάδα)	Τσιγουρή (1983)
	Helix aspersa από τρεις φάρμες (Ε) στη Γαλλία	(Ζώα ηλικίας 6 - 7 μηνών) E_1 : 4,2 cfu/g E_2 : 2,9 * 10^6 cfu/g E_3 : 9,1 * 10^6 cfu/g (Ζώα με επίφραγμα ηλικίας 9 – 10 μηνών) E_1 : 39,6 * 10^6 cfu/g E_2 : 1,7 * 10^6 cfu/g E_3 : 23,9 * 10^6 cfu/g *** **<u>Ταυτοποίηση</u>**: όλα τα βακτήρια της ΟΜΧ άνηκαν στα Gram αρνητικά.	Kiebre- Toe *et al.* (2003)
		10 – 10^3 (74%)	Cantoni *et al.*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Enterobacteriaceae	*Helix pomatia*	10^3 – 10^4 (6%)	(1976)
		4.84 log cfu/g	Temelli *et al.* (2006)
	Helix aspersa *H. vermiculata* *H. aperta*	75 * 10^3 έως 55 * 10^5 (μετά πλυσίματος και αφαίρεσης κελύφους)	Pisanu and Leoni (1980)
	Eobania vermiculata	10^1 (με επίφραγμα) 10^3 (χωρίς επίφραγμα) 10^2 (χωρίς επίφραγμα αλλά μετά από αρκετό πλύσιμο)	Gallo and Caracappa (1980)
	Διάφορα είδη από έξι διαφορετικές περιοχές της Ιταλίας	18 * 10^5 έως 13 * 10^6	Tiecco *et al.* (1980)
	Helix pomatia (εκτροφής)	1 έως 10^7 (πόδι > γεννητικό > πεπτικό > πνεύμονας – καρδιά – νεφρός)	Parisi – Bianco (1978)
	Helix aspersa από τρεις φάρμες (Ε) στη Γαλλία	(Ζώα ηλικίας 6 - 7 μηνών) E_1 : 4,2 E_2 : 1,3 * 10^6 E_3 : 7,6 * 10^6 (Ζώα με επίφραγμα, ηλικίας 9 – 10 μηνών) E_1 : 4,6 * 10^6 E_2 : 1,5 * 10^6 E_3 : 23 * 10^6	Kiebre - Toe *et al.* (2003)
	Helix και *Achatina fulica*	10^4 – 2,1 * 10^6 (ολόκληρο) 10^5 έως 2,4 * 10^6 (πεπτικό και γονάδα)	Τσιγουρή (1983)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Coliforms	*Helix pomatia*	2,77 log MPN/g	Temelli *et al.* (2006)
	Helix και *Achatina fulica*	10^2 – 10^5 (ολόκληρο) 10^3 έως 10^6 (ηπατοπάγκρεας με γονάδα) 10^4 έως 10^6 (πεπτικό)	Τσιγουρή (1983)
E. coli	*Helix pomatia*	0 – 10 (74%) 10 – 10^3 (6%)	Cantoni *et al.* (1976)
	Helix pomatia (εκτροφής)	0 έως 10^3 (πεπτικό > γεννητικό > πόδι > πνεύμονας –καρδιά – νεφρός)	Parisi – Bianco (1978)
	Helix pomatia	2,56 log MPN/g	Temelli *et al.* (2006)
	Helix aspersa *H. vermiculata* *H. aperta*	10 (40%)	Pisanu and Leoni (1980)
	Eobania vermiculata	10 (με επίφραγμα) 10^2 (χωρίς επίφραγμα) 10 (χωρίς επίφραγμα αλλά μετά από αρκετό πλύσιμο)	Gallo and Caracappa (1980)
	Helix και *Achatina fulica*	10 – 10^4 (ολόκληρο) 10 έως 10^5 (ηπατοπάγκρεας με γονάδα) 10 έως 10^5 (πεπτικό)	Τσιγουρή (1983)
	Helix pomatia	10^3 – 10^4(31%) 0 – 10 (6.2%) 10 – 10^3 (6.2%)	Cantoni *et al.* (1976)
	Helix aspersa	10^2 (10%)	Pisanu and Leoni

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Streptococcus spp.	*H. vermiculata* *H. aperta*	10 (30%)	(1980)
	Eobania vermiculata	10^1 (με επίφραγμα) 10^2 (χωρίς επίφραγμα) 10 (χωρίς επίφραγμα αλλά μετά από αρκετό πλύσιμο)	Gallo and Caracappa (1980)
	Helix pomatia (εκτροφής)	0 έως 10^3 (πεπτικό > γεννητικό > πόδι > πνεύμονας –καρδιά – νεφρός)	Parisi – Bianco (1978)
	Helix και *Achatina fulica*	10^2 – 10^5 (ολόκληρο) 10^5 έως 1.4 * 10^8 (ηπατοπάγκρεας με γονάδα) 10^5 έως 1.4 * 10^8 (πεπτικό)	Τσιγουρή (1983)
Θειοαναγωγικά κλωστηρίδια	*Helix pomatia*	10 – 10^3 (38%) 0 – 10 (6.2%)	Cantoni *et al*. (1976)
	Helix aspersa *H. vermiculata* *H. aperta*	10 (20%)	Pisanu and Leoni (1980)
	Eobania vermiculata	0 (με επίφραγμα) 10^1 (χωρίς επίφραγμα) 0 (χωρίς επίφραγμα αλλά μετά από αρκετό πλύσιμο)	Gallo and Caracappa (1980)
	Helix και *Achatina fulica*	5 έως 1,3 * 10^4 (ολόκληρο, ηπατοπάγκρεας με γονάδα, πεπτικό)	Τσιγουρή (1983)
	Helix aspersa	Ανιχνεύθηκε στο 31,11% των	Andrews *et al.* (1975)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

		δειγμάτων (σαλιγκάρι από το Μαρόκο)	
Salmonella	*Eobania vermiculata*	Έως 90% στα όργανα του ζώου (90% στο πεπτικό, 70% στο ηπατοπάγκρεας, 45 % στο πόδι, 20 % στους νεφρούς)	Caracappa *et al.* (1980)
Staphylococcus	*Eobania vermiculata*	0 (με επίφραγμα) 10^2 (χωρίς επίφραγμα) 10 (χωρίς επίφραγμα αλλά μετά από αρκετό πλύσιμο)	Gallo and Caracappa (1980)
	Helix pomatia (εκτροφής)	0 έως 10^5 (πεπτικό > πνεύμονας –καρδιά – νεφρός > γεννητικό > πόδι)	Parisi – Bianco (1978)
	Helix pomatia	3,96 log cfu/g.	Temelli *et al.* (2006)
	Helix και *Achatina fulica*	έως 7 MPN /g (σώμα χωρίς ηπατοπάγκρεας & γονάδα) έως 15 MPN /g (πεπτικό)	Τσιγουρή (1983)
Listeria spp.	*Helix pomatia*	Ανιχνεύθηκε	Temelli *et al.* (2006)
	Helix pomatia	5,63 log cfu/g	Temelli *et al.* (2006)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Ζύμες και Μύκητες	*Helix* και *Achatina fulica*	10^4 – 10^6 (ολόκληρο) 10^5 έως 1,1 * 10^7 (πεπτικό και γονάδα)	Τσιγουρή (1983)
Aeromonadaceae	*Helix aspersa* από τρεις φάρμες (Ε) στη Γαλλία	(Ζώα ηλικίας 6 - 7 μηνών) E_1 : 0 E_2 : 0,6 * 10^6 E_3 : 0,5 * 10^6 (Ζώα με επίφραγμα, ηλικίας 9 – 10 μηνών) E_1 : 34 * 10^6 E_2 : 0,21 * 10^6 E_3 : 0,9 * 10^6	Kiebre- Toe *et al.* (2003)
Pseudomonadaceae	*Helix aspersa* από τρεις φάρμες (Ε) στη Γαλλία	(Ζώα ηλικίας 6 - 7 μηνών) E_1 : 0 E_2 : 0,02 * 10^6 E_3 : 1 * 10^6 (Ζώα με επίφραγμα, ηλικίας 9 – 10 μηνών) E_1 : 1 * 10^6 E_2 : 0 E_3 : 0	Kiebre- Toe *et al.* (2003)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

1.4.2.2 Μικροβιολογία επεξεργασμένων σαλιγκαριών

Το μικροβιακό φορτίο των σαλιγκαριών που έχουν υποστεί κάποιου είδους επεξεργασία προέρχεται από τη χλωρίδα των ίδιων των ζώων, των προσθέτων υλικών όπως καρυκεύματα και αλάτι, καθώς και από τη χλωρίδα επιμόλυνσης από την επαφή των επεξεργασμένων ζώων με τις διάφορες επιφάνειες και εργαλεία επεξεργασίας, με τα χέρια του προσωπικού, με τα κελύφη κ.τλ. (Adams and Moss, 1995: Jay, 2005).

Το προσωπικό είναι δυνατόν να επιμολύνει το προϊόν ανάλογα με το αν τηρεί ή όχι τους κανόνες ορθής υγιεινής πρακτικής. Η ρινική κοιλότητα, ο φάρυγγας, οι πληγές στα χέρια και οι θηλές των τριχών στους ανθρώπους φιλοξενούν παθογόνους σταφυλόκοκκους ενώ το είδος *E.coli* βρίσκεται στον εντερικό σωλήνα. Έτσι, χωρίς την τήρηση υγιεινής από το προσωπικό (π.χ. πλύσιμο των χεριών), τα είδη αυτά είναι αρκετά εύκολο να φθάσουν και να επιμολύνουν το προοριζόμενο προϊόν (EC-ASEAN Economic Cooperation Programme on Standards, Quality & Conformity Assessment, 2005).

1.4.2.3 Θερμική επεξεργασία σαλιγκαριών

Η θερμική επεξεργασία είναι ο πιο κλασσικός τρόπος μείωσης ή εξάλειψης του μικροβιακού πληθυσμού στα τρόφιμα.

Στις βιομηχανίες τροφίμων, συνήθως, μετά τη θέρμανση ακολουθεί η αποθήκευση σε χαμηλές θερμοκρασίες (ψύξη, κατάψυξη). Η μείωση της θερμοκρασίας συνεπάγεται τη μείωση του ρυθμού των βιοχημικών αντιδράσεων που συμβαίνουν στα κύτταρα των μικροοργανισμών και βαθμιαία τη μείωση της δράσης τους (Κοτζεκίδου- Ρουκά, 2000).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Τα ζωντανά σαλιγκάρια φιλοξενούν στο σώμα τους μεγάλους πληθυσμούς ΟΜΧ και κολοβακτηριοειδών (Cantoni *et al.,* 1976: Τσιγουρή, 1983). Τα κολοβακτηριοειδή και αρκετά είδη της ΟΜΧ ενώ είναι μεσόφιλοι μικροοργανισμοί και αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες ψύξης, ταυτόχρονα ανήκουν στα Gram αρνητικά βακτήρια τα οποία είναι ευαίσθητα στις θερμοκρασίες αυτές.

1.5 Ποιοτικός έλεγχος

1.5.1 Υγιεινή και ποιότητα τροφίμων

Η έννοια της ποιότητας όπως αυτή δόθηκε το 1986 από το Διεθνή Οργανισμό Τυποποίησης (International Standard Organization), αναφέρεται στο σύνολο των ιδιοτήτων και των χαρακτηριστικών ενός προϊόντος τα οποία του προσδίδουν τη δυνατότητα να ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις του καταναλωτή είτε αυτές εκφράζονται με συγκεκριμένη μορφή, είτε απλώς υπονοούνται.

Οι ιδιότητες και τα χαρακτηριστικά των τροφίμων επηρεάζονται από ορισμένες παραμέτρους που έχουν ως στόχο να ικανοποιήσουν και συγχρόνως να προφυλάξουν τον καταναλωτή. Οι παράμετροι αυτές είναι α) η ασφάλεια των τροφίμων, β) η εμφάνιση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους, γ) η θρεπτική-διαιτητική αξία τους, δ) η νομοθεσία των τροφίμων, ε) το κόστος παραγωγής και στ) η προσαρμογή στο νέο προφίλ των τροφίμων.

Η πιο σημαντική απαίτηση για τα τρόφιμα είναι η ασφάλεια. Σύμφωνα με τον Codex Alimentarius, ασφάλεια στα τρόφιμα σημαίνει εξασφάλιση του ότι το τρόφιμο δε θα προκαλέσει βλάβη στον καταναλωτή όταν ετοιμαστεί ή και καταναλωθεί σύμφωνα με την προοριζόμενη χρήση του.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Υπάρχουν τρεις τύποι κινδύνων οι βιολογικοί, οι χημικοί και οι φυσικοί, οι οποίοι είναι δυνατό να μολύνουν ένα τρόφιμο πριν ή κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας ή της αποθήκευσής του (Rooney and Wall, 2003). Οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι και άμεσοι για την υγεία του καταναλωτή, ιδιαίτερα στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, είναι οι μικροβιολογικοί κίνδυνοι και κυρίως τα παθογόνα βακτήρια.

Τα τρόφιμα αποτελούν οικοσυστήματα για τους μικροοργανισμούς και φέρουν μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο από ότι οι άλλες μορφές οργανικής ύλης διότι οι ύλες που χρησιμοποιεί ο άνθρωπος για τροφή είναι εξίσου θρεπτικές και για τους μικροοργανισμούς. Διάφοροι παθογόνοι και αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί είναι δυνατόν να εισαχθούν στη σάρκα των ζώων που προορίζονται για κατανάλωση κατά τη διάρκεια της σφαγής και των περαιτέρω διαδικασιών προκαλώντας γρήγορη αλλοίωση με αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου ζωής του τροφίμου, υποβαθμίζοντας την πρωτεϊνική του αξία και πολλές φορές επιδρώντας στην υγεία του καταναλωτή (Dubal *et al.,* 2004).

Οι κυριότεροι μικροοργανισμοί οι οποίοι χρησιμοποιούνται από τις βιομηχανίες τροφίμων ως δείκτες της Ποιότητας και της Ασφάλειας των τροφίμων είναι το *E.coli,* τα κολοβακτηριοειδή, οι Εντερόκοκκοι και η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (Odumeru and Belvedere, 2002). Ειδικότερα, τα συνολικά κολοβακτηριοειδή και το *E.coli* χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της πιθανότητας ύπαρξης παθογόνων κοπρανώδους προέλευσης (Jay, 1992: AOAC International, 1995), ενώ η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα για τον προσδιορισμό του χρόνου ζωής των τροφίμων (ICMSF, 1986a,b).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Επίσης, σύμφωνα με πιο πρόσφατες μελέτες (Gram and Dalgaard, 2002), οι μικροοργανισμοί οι οποίοι χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του χρόνου ζωής των τροφίμων είναι οι Ειδικοί Αλλοιογόνοι Μικροοργανισμοί (ΕΑΜ). Αρχικά, οι ΕΑΜ μπορεί να βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα και να αποτελούν ένα μικρό μέρος της μικροβιακής χλωρίδας. Κατά τη διάρκεια της συντήρησης, οι ΕΑΜ αναπτύσσονται με πιο μεγάλο ρυθμό από ότι η υπόλοιπη μικροβιακή χλωρίδα και παράγουν αυτούς τους μεταβολίτες που είναι υπεύθυνοι για τη δημιουργία δυσάρεστων οσμών κι επομένως την οργανοληπτική απόρριψη (Huis in't Veld, 1996).

1.5.1.1 Ποιοτικός Έλεγχος σαλιγκαριών

Ο ποιοτικός έλεγχος των σαλιγκαριών περιλαμβάνει το μακροσκοπικό και τον εργαστηριακό έλεγχο.

Ο μακροσκοπικός είναι ο έλεγχος που πραγματοποιείται στα ζωντανά σαλιγκάρια με σκοπό τη διαπίστωση του είδους και της κατάστασης στην οποία βρίσκονται π.χ. ζωντανά ή νεκρά, άρρωστα, ετοιμοθάνατα ή σε κατάσταση σήψης. Τα άρρωστα σαλιγκάρια είναι ακίνητα με το κεφάλι μέσα στο κέλυφος, το κιτρινωπό πόδι απλωμένο κατά ατελή τρόπο και δεν αντιδρούν στα ερεθίσματα. Τα ετοιμοθάνατα παραμένουν μέσα στο κέλυφός τους, έχουν χρώμα γκριζωπό και αποβάλουν μεγάλη ποσότητα βλέννας. Τα σαλιγκάρια που βρίσκονται σε κατάσταση σήψης είναι συρρικνωμένα στο βάθος του κελύφους, σχηματίζουν μια μαύρη μάζα που εύκολα εξάγεται από το κέλυφος ενώ το κύριο χαρακτηριστικό τους είναι η έντονη κακοσμία.

Ο εργαστηριακός έλεγχος περιλαμβάνει τον μικροβιολογικό έλεγχο και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

πραγματοποιείται αμέσως μετά τη θανάτωση των ζωντανών σαλιγκαριών αλλά και κατά τη διάρκεια της μετέπειτα επεξεργασίας τους (μεταποίηση) με σκοπό την αναζήτηση της υγιεινολογικής τους κατάστασης, όπως των παθογόνων βακτηρίων και των μικροοργανισμών που επιδρούν στον χρόνο ζωής των ζωντανών αλλά και των επεξεργασμένων σαλιγκαριών.

1.5.1.2 Υγιεινή Σαλιγκαριών

Τα τρόφιμα θεωρούνται υγιεινά και ασφαλή όταν είναι απαλλαγμένα από παθογόνους μικροοργανισμούς ή όταν ο αριθμός των παθογόνων μικροοργανισμών είναι χαμηλότερος ενός ορίου ασφαλείας. Σε αρκετές περιπτώσεις όπου ενδιαφέρει η εξασφάλιση της απουσίας γενικότερα παθογόνων και όπου είναι σχετικά μη-λειτουργικό η διενέργεια αναλύσεων πληθώρας παθογόνων μικροοργανισμών συνιστάται η καταμέτρηση των μικροοργανισμών δεικτών.

Όπως ήδη αναφέρθηκε παραπάνω, η χλωρίδα επιμόλυνσης στα σαλιγκάρια προέρχεται από την χλωρίδα των φυτών, του εδάφους, την επαφή των μαγειρεμένων ζώων με τις διάφορες επιφάνειες, με τα χέρια του προσωπικού και με τα κελύφη. Έτσι, με τον τρόπο αυτό είναι πιθανή η μόλυνση του προοριζόμενου προϊόντος από παθογόνους μικροοργανισμούς.

Ο μικροβιολογικός έλεγχος των ζωντανών αλλά και των επεξεργασμένων σαλιγκαριών περιλαμβάνει την αναζήτηση των μικροβιολογικών δεικτών.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

1.5.1.3 Μικροβιολογικοί Δείκτες Υγιεινής και Ασφάλειας

Μικροβιολογικοί δείκτες είναι ομάδες ή είδη μικροοργανισμών των οποίων η παρουσία όταν ξεπερνά ορισμένα προκαθορισμένα όρια για κάθε είδος τροφίμου, θεωρείται ένδειξη ελλιπούς ασφάλειας κατά τους χειρισμούς, παραμονής του τροφίμου σε συνθήκες στις οποίες είναι πιθανή η μόλυνσή του από παθογόνους μικροοργανισμούς ή ευνοείται η ανάπτυξη των παθογόνων (Mossel *et al*., 1995).

Τα βακτήρια αυτά συναντώνται στον εντερικό σωλήνα και στα κόπρανα ανθρώπων και ζώων. Ορισμένα από αυτά, όπως τα Faecal coliforms, *E.coli* (επικρατέστερο της ομάδας των κοπρανωδών κολοβακτηριδίων) και το *Enterococcus* spp. χρησιμοποιούνται ως δείκτες υγιεινής (Frahm and Obst, 2003).

Οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται ως δείκτες υγιεινής διαφέρουν από χώρα σε χώρα και από περιοχή σε περιοχή διότι δεν υπάρχουν γενικοί σταθερότυποι που να ορίζουν ποιοι δείκτες είναι πιο χρήσιμοι ή ποιοι είναι απαραίτητο να μετρηθούν (Samakupa *et al.*, 2003).

Οι πιο κοινοί δείκτες σήμερα είναι τα κολοβακτηριοειδή (Total coliforms), το *Enterococcus* spp. και τα κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή (Faecal coliforms) (Noble *et al*., 2003). Επειδή, όμως, το μεγαλύτερο ποσοστό των κοπρανωδών κολοβακτηριδίων αποτελείται από το είδος *E. coli* και είναι αναμφισβήτητο το γεγονός αν τα υπόλοιπα βακτήρια των ειδών *Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella* κατά πόσο θα μπορούσαν να είναι δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης, η U.S. Environmental Protection Agency το 1986 πρότεινε ως πιο αξιόπιστο δείκτη κοπρανώδους μόλυνσης το είδος *E. coli* (Kessel *et al*., 2007).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Η παρουσία των μικροοργανισμών δεικτών στα τρόφιμα σε πληθυσμό που ξεπερνά ένα προκαθορισμένο όριο σε cfu/g τροφίμου δε συνεπάγεται την ύπαρξη παθογόνων αλλά καθιστά πιθανή την παρουσία τους (Κοτζεκίδου – Ρουκά, 2000).

Οι μικροοργανισμοί δείκτες της υγιεινής και ασφάλειας των τροφίμων πρέπει να πληρούν τα παρακάτω κριτήρια (Jay, 2005):

- Να υπάρχουν στο τρόφιμο όταν υπάρχει ο παθογόνος μικροοργανισμός για την παρουσία του οποίου αποτελούν ένδειξη.
- Να απουσιάζουν από τα τρόφιμα όταν αυτά δε φέρουν παθογόνους μικροοργανισμούς ή να υπάρχουν σε πολύ μικρό αριθμό.
- Ο πληθυσμός τους στο τρόφιμο να βρίσκεται σε συσχέτιση με τον πληθυσμό του παθογόνου μικροοργανισμού.
- Να έχουν απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά και ρυθμό ανάπτυξης παρόμοια με τον παθογόνο.
- Ο ρυθμός καταστροφής τους να είναι τουλάχιστον όμοιος με του παθογόνου και σε ιδανικές περιπτώσεις να είναι ελαφρά ανθεκτικότεροι από τον παθογόνο.

Οι μικροοργανισμοί δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης των τροφίμων πρέπει επιπλέον (Jay, 2005):

- Να απαντώνται μόνο στον εντερικό σωλήνα.
- Να βρίσκονται σε αρκετά υψηλούς πληθυσμούς στα κόπρανα ώστε να είναι δυνατό να καταμετρηθούν ακόμη και σε μεγάλες αραιώσεις.
- Να παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στο περιβάλλον του υπό εξέταση τροφίμου.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- Να μπορούν εύκολα να προσδιορισθούν ακόμη και όταν απαντώνται σε χαμηλό πληθυσμό.

1.5.3.1.1 Οικογένεια Enterobacteriaceae

Η οικογένεια Enterobacteriaceae είναι μία μεγάλη ομάδα η οποία αποτελείται από είδη βακτηρίων με παρόμοια φυσιολογικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά (Cowan and Steel, 1993 : Finney *et al.,* 2003). Τα μέλη της είναι σχήματος ραβδίου, προαιρετικά αναερόβια με δυνατότητα ζυμωτικού και οξειδωτικού μεταβολισμού. Επίσης, παράγουν οξέα και αέριο από τη ζύμωση της γλυκόζης.

1.5.3.1.2 Κολοβακτηριοειδή (coliforms)

Τα κολοβακτηριοειδή αποτελούν ετερογενή ομάδα της οικογένειας Enterobacteriaceae (όπως *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, lactose positive biotypes of *Citrobacter*, *Serratia* και *Hafnia*). Η διαφορά τους από τα υπόλοιπα είδη της οικογένειας αυτής είναι ότι έχουν την δυνατότητα να ζυμώνουν και τη λακτόζη στους 37^0C.

Ένας μεγάλος αριθμός των ειδών αυτών προέρχεται από το έδαφος ή το νερό ενώ κάποια συναντώνται σε μολυσμένα κόπρανα (Schmidt – Lorenz and Spillmann, 1988). Έτσι, χρησιμοποιούνται ως μικροοργανισμοί δείκτες για την ανίχνευση κοπρανώδους μόλυνσης και για την πιθανή παρουσία παθογόνων μικροβίων στα τρόφιμα. Τα κολοβακτηριοειδή δεν ανήκουν στα παθογόνα βακτήρια αλλά η παρουσία τους στα τρόφιμα συνεπάγεται την πιθανότητα ύπαρξης παθογόνων (Cakir *et al.,* 2002).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Απαντώνται σε μεγάλους αριθμούς στον εντερικό σωλήνα ανθρώπων και ζώων κι έτσι μέσω των κοπράνων μεταφέρονται στο περιβάλλον και κυρίως στους υδατικούς αποδέκτες (Rompre´ *et al.,* 2002).

Escherichia coli

Το *E.coli* Nissle 1917 (Rembacken *et al.,* 1999: Peran *et al.,* 2007) είναι γνωστό ως βακτήριο με ορισμένα παθογόνα στελέχη τα οποία προκαλούν τροφογενή νοσήματα στον άνθρωπο (Kaper *et al.*, 2004). Το 1885 ο Theodore Escherich πρότεινε το είδος αυτό, το οποίο ονομαζόταν τότε *Bacillus coli*, ως δείκτη κοπρανώδους μόλυνσης (Buckalew *et al.,* 2006).

Το *E.coli* είναι προαιρετικά αναερόβιος μικροοργανισμός ο οποίος βρίσκεται στον εντερικό σωλήνα του ανθρώπου και των θερμόαιμων ζώων και αποτελεί εξειδικευμένο δείκτη κοπρανώδους μόλυνσης των τροφίμων από τα κολοβακτηριοειδή κοπράνων. Χρησιμοποιείται μαζί με τα ολικά κολοβακτηριοειδή και την ολική μεσόφιλη χλωρίδα ως δείκτης ποιότητας και ασφάλειας στις βιομηχανίες τροφίμων (Odumeru and Belvedere, 2002).

Ορισμένα στελέχη του προκαλούν τροφικές δηλητηριάσεις (Bredie and Boer, 1992) και κατατάσσονται σε τέσσερις ομάδες: εντεροπαθογόνα, εντεροτοξιγενή, εντεροδιεισδυτικά, εντεροαιμορογικά (Huss, 1993). Τα εντεροπαθογενικά *E.coli* (EPEC) είναι αυτά που παράγουν ένα είδος τοξίνης στον πεπτικό σωλήνα και προκαλούν διάρροια κυρίως στα νήπια. Τα εντεροτοξικά *E.coli* (ETEC) παράγουν τοξίνες στο έντερο, παρόμοια με την τοξίνη της χολέρας και ευθύνονται για τον τύπο της «διάρροιας των ταξιδιωτών». Τα εντεροδιεισδυτικά *E.coli* (EIEC) προκαλούν διάρροια και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

επιπλέον εισβάλλουν στα επιθηλιακά κύτταρα του παχέως εντέρου με επακόλουθη εκδήλωση συμπτωμάτων σιγκέλωσης και τέλος τα εντεροαιμορογικά *E.coli* (EHEC ή VTEC *E.coli*) τα οποία προκαλούν αιμμοραγική κολίτιδα και αιμολυτικό ουρικό σύνδρομο όταν προσκολληθούν στο τοίχωμα του εντερικού σωλήνα με σημαντικότερο ορολογικό τύπο των στελεχών EHEC τον O157.

1.6 Μεταποίηση σαλιγκαριών

Τα σαλιγκάρια αποτελούν αντικείμενο σημαντικού εξωτερικού και εσωτερικού εμπορίου. Η ζήτηση των σαλιγκαριών στις αγορές κυρίως του εξωτερικού – Καναδά και Ευρώπη: Γαλλία, Ιταλία, Δ. Γερμανία, Βέλγιο κ.α.-, αυξήθηκε σε τέτοιο βαθμό όπου η φυσική παραγωγή ήταν αδύνατο να καλύψει αυτές τις απαιτήσεις με συνέπεια την ανάπτυξη της σαλιγκαροτροφίας (Μαρκάκης, 1990). Το είδος του οποίου η εκτροφή πραγματοποιήθηκε με επιτυχία σύμφωνα με την παγκόσμια βιβλιογραφία, παρά τις προσπάθειες για εκτροφή των υπόλοιπων εμπορεύσιμων ειδών έως σήμερα, είναι το *H. aspersa* (Begg and Mcinness, 2003).

Σύμφωνα με την **απόφαση 96/340/ΕΚ** στις 10 Μαΐου 1996 της Επιτροπής των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων τα αποκελυφωμένα, μαγειρεμένα ή διατηρημένα σαλιγκάρια μπορούν να αποτελούν αντικείμενο εμπορίου, με σκοπό την κατανάλωση από τον άνθρωπο, μόνο εφόσον προέρχονται από μονάδα (εγκατάσταση). Πριν από αρκετές δεκαετίες άρχισαν να λειτουργούν διάφορες μονάδες επεξεργασίας και μεταποίησης σαλιγκαριών στην Ελλάδα με αποτέλεσμα να εξάγονται ζωντανά, ημιεπεξεργασμένα, επεξεργασμένα ή

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

κονσερβοποιημένα (Λαζαρίδου και Κάττουλας, 1985: Overview of the European Community, 1993).

1.7 Νομοθεσία

1.7.1 Υγιεινή τροφίμων

Οι μικροβιολογικοί κίνδυνοι στα τρόφιμα αποτελούν μία από τις κυριότερες πηγές τροφιμογενών ασθενειών στον άνθρωπο (**ΕΚ αριθ. 2073/2005)**.

Τα τρόφιμα δεν πρέπει να περιέχουν μικροοργανισμούς ή τις τοξίνες τους ή τους μεταβολίτες τους σε ποσότητες που παρουσιάζουν απαράδεκτο κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία (**ΕΚ αριθ. 2073/2005**). Όμως, επειδή ορισμένα τρόφιμα ενδέχεται να παρουσιάζουν ιδιαίτερους κινδύνους απαιτούν τη θέσπιση ειδικών κανόνων υγιεινής προκειμένου να εξασφαλισθεί η ασφάλεια τους.

Το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και το συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης με τον **Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 852/2004** για την υγιεινή των τροφίμων έχουν ορίσει τα ακόλουθα:

Πρωτογενής Παραγωγή – Διατάξεις περί υγιεινής

Οι υπεύθυνοι επιχειρήσεων τροφίμων

- στο μέτρο του δυνατού, πρέπει να εξασφαλίζουν ότι τα πρωτογενή προϊόντα προστατεύονται από τη μόλυνση, λαμβάνοντας υπόψη οποιαδήποτε επεξεργασία πρόκειται να υποστούν στη συνέχεια τα πρωτογενή προϊόντα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- πρέπει να τηρούν τις κατάλληλες κοινοτικές και εθνικές διατάξεις που αφορούν τον έλεγχο των πηγών κινδύνου στην πρωτογενή παραγωγή και τις συναφείς εργασίες, συμπεριλαμβανομένων:
    i. των μέτρων ελέγχου της μόλυνσης από τον αέρα, το έδαφος, το νερό, τις ζωοτροφές, τα λιπάσματα, τα κτηνιατρικά προϊόντα, τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα και τα βιοκτόνα, και από την αποθήκευση, το χειρισμό και την διάθεση των αποβλήτων,
    ii. των μέτρων που αφορούν την υγεία και την καλή διαβίωση των ζώων τα οποία έχουν επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία.

Οι υπεύθυνοι επιχειρήσεων τροφίμων οι οποίες εκτρέφουν, συλλέγουν ή κυνηγούν ζώα ή παράγουν πρωτογενή προϊόντα ζωικής προέλευσης λαμβάνουν τα κατάλληλα μέτρα, ανάλογα με την περίπτωση, ώστε:

- οι χώροι που χρησιμοποιούνται για την πρωτογενή παραγωγή και τις συναφείς εργασίες να διατηρούνται καθαροί και όταν είναι αναγκαίο μετά τον καθαρισμό να απολυμαίνονται με τον κατάλληλο τρόπο,
- να διατηρούνται καθαρά και όταν είναι αναγκαίο μετά τον καθαρισμό να απολυμαίνονται με τον κατάλληλο τρόπο ο εξοπλισμός, τα δοχεία, τα κιβώτια, τα οχήματα,
- να χρησιμοποιούν πόσιμο νερό ή καθαρό νερό, οσάκις χρειάζεται, προς αποφυγή μόλυνσης,
- να εξασφαλίζουν ότι το προσωπικό το οποίο χειρίζεται τρόφιμα είναι υγιές και εκπαιδεύεται σε θέματα κινδύνων της υγείας,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- στο μέτρο του δυνατού, να προλαμβάνεται η μόλυνση από ζώα και επιβλαβείς οργανισμούς,
- η αποθήκευση και ο χειρισμός των αποβλήτων και των επικίνδυνων ουσιών να γίνονται έτσι ώστε να προλαμβάνεται η μόλυνση,
- να αποφεύγεται η εισαγωγή και η διάδοση μεταδοτικών νόσων που μεταδίδονται στον άνθρωπο διά της τροφής,
- να λαμβάνονται υπόψη τα αποτελέσματα των σχετικών αναλύσεων που πραγματοποιούνται σε δείγματα που λαμβάνονται από ζώα ή σε άλλα δείγματα τα οποία είναι σημαντικά για την ανθρώπινη υγεία.

1.7.2 Σαλιγκάρια και δημόσια υγεία

Η ανάγκη για την προστασία της δημόσιας υγείας οδήγησε στον προσδιορισμό ειδικών όρων έτσι ώστε να αποφεύγεται το ενδεχόμενο κινδύνου για την κατανάλωση των προϊόντων αυτών από τον άνθρωπο.

Οι ειδικοί υγειονομικοί όροι που ισχύουν για τις συναλλαγές και τις εισαγωγές σαλιγκαριών προοριζομένων για κατανάλωση από τον άνθρωπο σύμφωνα με την **απόφαση 96/340/ΕΚ** στις 10 Μαΐου 1996 της Επιτροπής των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων είναι:

- Με την επιφύλαξη των κοινοτικών, εθνικών ή διεθνών διατάξεων των σχετικών με τη διατήρηση της άγριας πανίδας, τα σαλιγκάρια που αφορά το παρόν κεφάλαιο (κεφάλαιο 3) αποτελούν χερσαία γαστερόποδα των ειδών *Helix pomatia* Linnaeus, *Helix aspersa* Müller, *Helix lucorum*, καθώς και των ειδών που ανήκουν στην οικογένεια των αχατινιδών.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- Τα κράτη μέλη φροντίζουν ώστε τα αποκελυφωμένα, μαγειρεμένα ή διατηρημένα σαλιγκάρια να αποτελούν αντικείμενο εμπορίου, με σκοπό την κατανάλωση από τον άνθρωπο, μόνο εφόσον πληρούν τις ακόλουθες προϋποθέσεις:
    1. Πρέπει να προέρχονται από μονάδα (εγκατάσταση).
    2. Πρέπει να υποβληθούν σε οργανοληπτικό έλεγχο που πραγματοποιείται με δειγματοληψία. Εάν προκύψει από την οργανοληπτική εκτίμηση ότι τα σαλιγκάρια είναι ακατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση, πρέπει να ληφθούν μέτρα απόσυρσής τους από την αγορά και μεταποίησής τους κατά τρόπον ώστε να μην μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ανθρώπινη κατανάλωση.
    3. Σχετικά με την επεξεργασία σάρκας αποκελυφωμένων σαλιγκαριών.
        i. Οι σχετικές μονάδες, ανάλογα με το μέγεθος της δραστηριότητάς τους, οφείλουν να διαθέτουν ιδιαίτερους χώρους ή ειδικά σημεία για:
            1. την αποθήκευση των συσκευασιών και περιτυλιγμάτων
            2. την παραλαβή και αποθήκευση των ζωντανών σαλιγκαριών
            3. την πλύση, το ζεμάτισμα, την αφαίρεση του κελύφους και το καθάρισμα και εξεντερισμό
            4. την αποθήκευση και ενδεχόμενα, τον καθαρισμό και την επεξεργασία των κελυφών
            5. ενδεχομένως, τη θερμική επεξεργασία των σαρκών

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

6. την πρώτη ή δεύτερη συσκευασία των σαρκών
7. την αποθήκευση των τελικών προϊόντων σε ψυκτικές εγκαταστάσεις :

ii. τα σαλιγκάρια πρέπει να ελέγχονται πριν το ζεμάτισμα. Τα νεκρά σαλιγκάρια πρέπει να αποκλείονται από την παρασκευή για κατανάλωση από τον άνθρωπο,

iii. μετά την αποκελύφωση το ήπαρ-πάγκρεας που αφαιρείται κατά τον εξεντερισμό πρέπει να αποκλείεται από την κατανάλωση από τον άνθρωπο.

4. Τα σαλιγκάρια πρέπει να συσκευάζονται σε πρώτη και δεύτερη συσκευασία, να αποθηκεύονται και να μεταφέρονται υπό τις κατάλληλες συνθήκες υγιεινής.

Επιπλέον, οι υπεύθυνοι επιχειρήσεων τροφίμων που παρασκευάζουν σαλιγκάρια που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση σύμφωνα με τον **Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 853/2004** θα πρέπει να συμμορφώνονται με τις ακόλουθες απαιτήσεις:

1. Τα σαλιγκάρια πρέπει να θανατώνονται σε εγκατάσταση που έχει κατασκευασθεί, διαρρυθμισθεί και εξοπλισθεί για το σκοπό αυτό.
2. Τα σαλιγκάρια που αποθνήσκουν χωρίς να θανατωθούν στην εγκατάσταση απαγορεύεται να χρησιμοποιούνται για ανθρώπινη κατανάλωση.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

1.8 Αντικείμενο και στόχοι της μεταπτυχιακής διατριβής

Αντικείμενο της συγκεκριμένης έρευνας ήταν ο προσδιορισμός του αρχικού μικροβιακού πληθυσμού στα νωπά σαλιγκάρια των ειδών *H. aspersa* και *H. lucorum* που προορίζονταν για μεταποίηση και επιπλέον η διερεύνηση της επίδρασης της επεξεργασίας στο μικροβιακό φορτίο και στον εμπορικό χρόνο ζωής των μεταποιημένων αποθηκευμένων σε ψύξη εκτρεφόμενων σαλιγκαριών του είδους *H. aspersa.*

Στο πλαίσιο της παρούσας έρευνας διερευνήθηκε ο μικροβιακός πληθυσμός των νωπών άγριων σαλιγκαριών *H. aspersa* και *H. lucorum*, του *H. aspersa* εκτροφής καθώς επίσης των μεταποιημένων (βρασμένων) σαλιγκαριών κατά τα στάδια επεξεργασίας και του αποθηκευμένου σε ψύξη προϊόντος. Η έρευνα αυτή είχε ως στόχο τη γνώση σχετικά με τη μικροβιολογία α) της πρώτης ύλης και β) της επεξεργασίας του τροφίμου, ενώ η καταμέτρηση της ΟΜΧ κατά την αποθήκευση του προϊόντος στους 5^0C είχε ως στόχο τον προσδιορισμό της σχέσης ολικού μικροβιακού πληθυσμού και χρόνου συντήρησης του προϊόντος.

Οι λόγοι για τους οποίους έπρεπε να πραγματοποιηθεί η παρούσα μελέτη ήταν α) Η απουσία επαρκών ερευνητικών δεδομένων, β) Η προστασία της δημόσιας υγείας, διότι όπως έχει ειπωθεί και πριν, οι μικροβιολογικοί κίνδυνοι αποτελούν το μεγαλύτερο κίνδυνο και απειλή για την υγεία των καταναλωτών, είναι οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι και άμεσοι για την υγεία του καταναλωτή και σε όλα τα στάδια παραγωγής (παραλαβή πρώτων υλών, αποθήκευση, επεξεργασία, διανομή τελικού προϊόντος).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στα ζωντανά σαλιγκάρια καθώς και σε όλα τα δείγματα που ελήφθησαν από τα στάδια επεξεργασίας, πραγματοποιήθηκαν μικροβιολογικές αναλύσεις. Ειδικότερα, καταμετρήθηκαν η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (ΟΜΧ), Ζύμες – Μύκητες, τα Enterobacteriaceae και το *E.coli*. Στα μεταποιημένα (βρασμένα) σαλιγκάρια τα οποία αποθηκεύθηκαν υπό ψύξη και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος πραγματοποιήθηκε καταμέτρηση της ΟΜΧ.

2.1 Προέλευση σαλιγκαριών

Οι **φυσικοί** πληθυσμοί σαλιγκαριών οι οποίοι μελετήθηκαν ανήκουν στα είδη *H. aspersa* και *H. lucorum*. Τα άτομα των πληθυσμών αυτών προέρχονταν από την Κρήτη και από τη Β. Ελλάδα, αντίστοιχα. Τα δείγματα των δύο αυτών ειδών πάρθηκαν από αγορές της Θεσσαλονίκης και συγκεκριμένα, το *H. aspersa* από την αγορά Μοδιάνο, ενώ το *H. lucorum* από το Καπάνι, στις αρχές Μαΐου 2008.

Τα **εκτρεφόμενα** σαλιγκάρια *H. aspersa* πάρθηκαν από τη μονάδα Αγροφάρμα Ο.Ε. η οποία βρίσκεται στην περιοχή Ομορφοχώρι Λάρισας κατά τη διάρκεια του Σεπτεμβρίου 2008.

Μεταφέρθηκαν μέσα σε διχτυωτούς σάκους στο εργαστήριο Ιχθυολογίας – Υδροβιολογίας του Τμήματος και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μέχρι να χρησιμοποιηθούν για περαιτέρω πειράματα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

2.2 Προετοιμασία των Δειγμάτων ζωντανών σαλιγκαριών

Αρχικά επιλέχθηκαν τα φυσιολογικά άτομα των δύο ειδών και τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένα δοχεία ανά είδος. Ακολούθησε προσεχτικός καθαρισμός – απολύμανση των κελυφών με οινόπνευμα 70%. Κατόπιν, υπό ασηπτικές συνθήκες απομακρύνθηκαν προσεχτικά τα κελύφη και με ιδιαίτερη προσοχή χωρίσθηκε το κάθε ζώο σε πόδι και σπλάχνα και συλλέχθηκαν σε διαφορετικούς αποστειρωμένους περιέκτες και ακολούθησε άμεσα μικροβιολογική ανάλυση.

Οι ποσότητες οι οποίες πάρθηκαν από τους άγριους – φυσικούς πληθυσμούς των ειδών *H. aspersa* και *H. lucorum* ήταν οι εξής:

- Ποσότητα ποδιού 50 g η οποία προέρχονταν από 40 άτομα του είδους *H. aspersa*
- Σπλάχνα 50 g του είδους *H. aspersa* που προέρχονταν από τα ίδια 40 άτομα
- Ποσότητα ποδιού 50 g η οποία προέρχονταν από 30 άτομα του είδους *H. lucorum*
- Σπλάχνα 50 g του είδους *H. lucorum* που προέρχονταν από τα ίδια 30 άτομα.

Οι ποσότητες οι οποίες πάρθηκαν από τη μονάδα εκτροφής ήταν:

- Ποσότητα ποδιού 30 g η οποία προέρχονταν από 30 άτομα του εκτρεφόμενου είδους *H. aspersa*
- Σπλάχνα 30 g του είδους *H. aspersa* που προέρχονταν από τα ίδια 30 άτομα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

2.3 Προσομοίωση σταδίων επεξεργασίας

Για την προσομοίωση αυτή χρησιμοποιήθηκε το *Helix aspersa* από την μονάδα εκτροφής. Τα στάδια και οι δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν ήταν οι εξής:

Παραλαβή ζωντανών σαλιγκαριών

(λήψη 1ου δείγματος)

Πλύσιμο με νερό

Άτμιση

(λήψη 2ου δείγματος)

Αποκελύφωση

Αφαίρεση πεπτικού

(λήψη 3ου δείγματος)

Βράσιμο σε νερό

(λήψη 4ου δείγματος)

Στο πρώτο στάδιο (παραλαβή) επιλέγονταν φυσιολογικά άτομα σαλιγκαριών από τα οποία λαμβάνονταν τυχαίο δείγμα το οποίο χωρίζονταν ασηπτικά σε πόδι 30g και σπλάχνα 30g. Τα υπόλοιπα ζώα μεταβιβαζόταν στο δεύτερο στάδιο κατά το οποίο πλένονταν με νερό και ακολουθούσε το στάδιο της άτμισης για πέντε λεπτά. Στο σημείο αυτό πραγματοποιούνταν η λήψη του δεύτερου δείγματος το οποίο χωρίζονταν ασηπτικά σε πόδι και σπλάχνα 30 g το καθένα. Έπειτα, αφού γίνονταν η αποχώρηση του κελύφους από το σώμα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

στα απομείναντα ζώα και η απομάκρυνση των σπλάχνων, πάρθηκε το τρίτο δείγμα (δείγμα ποδιού) 30 g. Ακολουθούσε ο βρασμός σε νερό για 20 λεπτά, μετά την ολοκλήρωση του οποίου λαμβάνονταν το τέταρτο δείγμα 30 g.

Τα τέσσερα δείγματα που πάρθηκαν, σε τρεις επαναλήψεις (n=3), οδηγούνταν αμέσως μετά τη λήψη τους στο εργαστήριο όπου πραγματοποιούνταν οι περαιτέρω αναλύσεις.

2.4 Αποθήκευση βρασμένων σαλιγκαριών υπό ψύξη

Τα βρασμένα σαλιγκάρια τοποθετούνταν σε ανοξείδωτους περιέκτες καλυμμένα με μεμβράνη και αποθηκεύονταν σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες: στους 5^0C και στους 20^0C όπου και παρέμειναν για χρονικό διάστημα οκτώ ημερών και πραγματοποιούνταν καταμέτρηση ολικού μικροβιολογικού πληθυσμού κάθε μέρα.

2.5 Μικροβιολογικές αναλύσεις

Σε κάθε δειγματοληψία λαμβάνονταν δείγμα 10g, μεταφέρονταν ασηπτικά σε αποστειρωμένες σακούλες, προσθέτονταν 90 ml Maximum Recovery Diluent (MRD-NACL 0,85% και 0,1% Peptone) και ακολουθούσε ομογενοποίηση για 2 λεπτά σε συσκευή τύπου Stomacher. Στην περίπτωση των αποθηκευμένων σαλιγκαριών λαμβάνονταν δείγμα 1g και προσθέτονταν σε δοκιμαστικό σωλήνα με 9 ml MRD και η ομογενοποίηση πραγματοποιούνταν με ανατάραξη του δείγματος για 1 λεπτό σε συσκευή Vortex. Ακολουθούσαν διαδοχικές αραιώσεις σε MRD.

Οι μικροοργανισμοί που καταμετρήθηκαν ήταν :

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

α) **Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (ΟΜΧ)**

Ο προσδιορισμός της ΟΜΧ γινόταν με τη μέθοδο της επίστρωσης σε θρεπτικό υπόστρωμα TSA (Biolife) με επιπλέον 0,3% yeast extract (Biolife). Ακολουθούσε καταμέτρηση μετά από επώαση των τρυβλίων στους 25^0C για 48 ώρες.

β) **Ζύμες και Μύκητες**

Η καταμέτρηση των ζυμών και των μυκήτων γινόταν με τη μέθοδο της επίστρωσης σε θρεπτικό υπόστρωμα RBC (Rose Bengal Chloramphenicol, -Biolife) και ακολουθούσε επώαση των τρυβλίων στους 25^0C για 3 ημέρες.

γ) **Οικογένεια Enterobacteriaceae**

Ο προσδιοριμός των Enterobacteriaceae πραγματοποιούνταν με τη μέθοδο της ενσωμάτωσης σε θρεπτικό υπόστρωμα VRBGA (violet red bile glucose agar, LAB M). Η επώαση των τρυβλίων γινόταν στους 37^0C για 24 ώρες και ακολουθούσε καταμέτρηση των αποικιών χρώματος βυσσινί με δακτύλιο

δ) ***Escherichia coli***

Η καταμέτρηση των αποικιών του είδους *E. coli* γινόταν με τη μέθοδο της επίστρωσης στο χρωμογόνο θρεπτικό υπόστρωμα TBGA (LAB M). Ακολουθούσε επώαση των τρυβλίων στους 37^0C για 24 ώρες και καταμέτρηση των κυανών αποικιών.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

2.6 Στατιστική επεξεργασία

Για τον έλεγχο των διαφορών μεταξύ των μέσων όρων του μικροβιακού φορτίου των άγριων ζώων *H. aspersa* και *H. lucorum* καθώς και μεταξύ των άγριων και εκτροφής πληθυσμών του είδους *H. aspersa* χρησιμοποιήθηκε η **δοκιμασία t** (*t-test)* με στάθμη σημαντικότητας 95%.

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις καθώς και οι παρουσιάσεις των αποτελεσμάτων σε πίνακες και διαγράμματα πραγματοποιήθηκαν με τα υπολογιστικά φύλλα Excel.

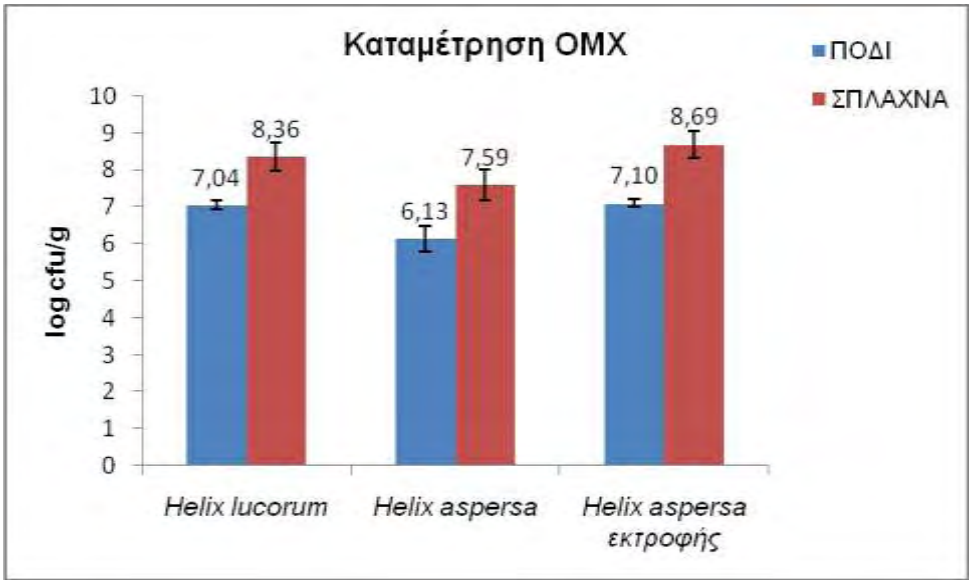
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Μικροβιακός πληθυσμός ζωντανών σαλιγκαριών

Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα

Οι μέσοι όροι (για n=5 επαναλήψεις) του μικροβιακού φορτίου της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας των ζωντανών σαλιγκαριών των άγριων ειδών *H. lucorum* και *H. aspersa* καθώς και των σαλιγκαριών *H. aspersa* από εκτροφή, παρουσιάζονται στο Σχήμα 3.1. Οι πληθυσμοί της ΟΜΧ σε πόδι και σπλάχνα βρέθηκαν στα επίπεδα των 7,04 και 8,36 log cfu/g, αντίστοιχα, για τα άγρια ζώα του είδους *H. lucorum,* 6,13 και 7,59 log cfu/g, αντίστοιχα, για τα άγρια ζώα του είδους *H. aspersa* και 7,10 και 8,69 log cfu/g, αντίστοιχα, για τα ζώα του είδους *H. aspersa* εκτροφής (Σχ. 3.1).



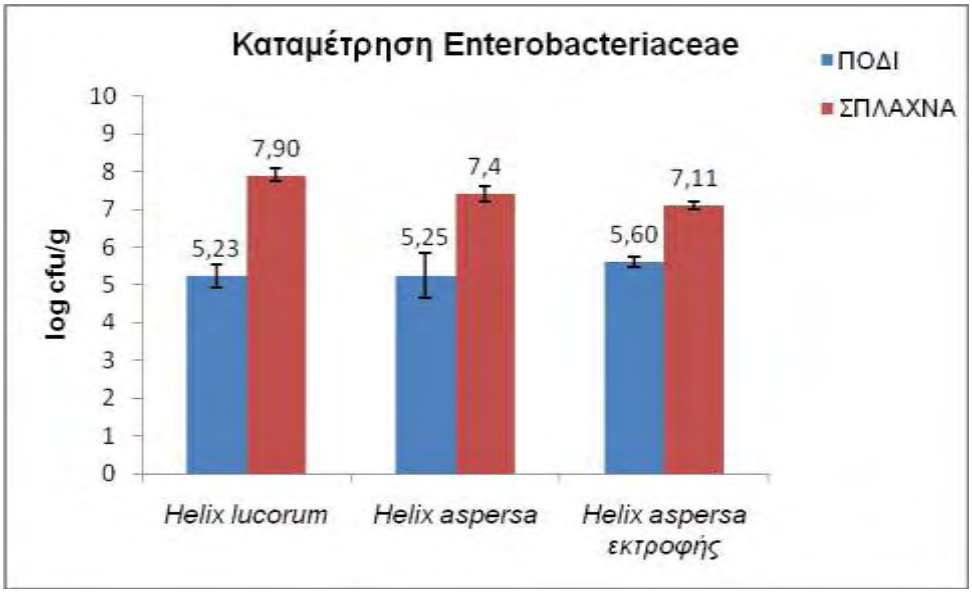
Σχήμα 3.1 : Πληθυσμοί ΟΜΧ των δύο ειδών άγριων σαλιγκαριών από αγορές της Θεσσαλονίκης και του *H. aspersa* εκτροφής σε θρεπτικό υπόστρωμα TSA Y.E. Τα errors bars αφορούν την τυπική απόκλιση πέντε (n=5) επαναλήψεων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Στο Σχήμα 3.1 φαίνεται ότι οι πληθυσμοί στα δύο άγρια είδη στα σπλάχνα και στο πόδι να διαφέρουν περίπου ένα λογάριθμο, ενώ μεγαλύτερη συγκέντρωση μικροοργανισμών παρατηρήθηκε στα ζώα του είδους *H. aspersa* που προέρχονταν από εκτροφή. Η διαφορά μικροβιακού πληθυσμού μεταξύ σπλάχνων και ποδιού για το κάθε είδος είναι λίγο μεγαλύτερη από ένα λογάριθμο. Αυτό σημαίνει ότι τα σπλάχνα περιέχουν τουλάχιστον 10 φορές περισσότερους μικροοργανισμούς από το πόδι.

***Οικογένεια* Enterobacteriaceae**

Οι μέσοι όροι (για n=5 επαναλήψεις) των βακτηρίων της οικογένειας Enterobacteriaceae που ανιχνεύθηκε στα δείγματα των άγριων ζώων του είδους *H. lucorum* υπολογίσθηκαν σε 5,23 log cfu/g για το πόδι και 7,90 για τα σπλάχνα, για το είδος *H. aspersa* 5,25 και 7,40 log cfu/g και για τα σαλιγκάρια από την εκτροφή 5,60 και 7,11 log cfu/g, αντίστοιχα (Σχ. 3.2).



Σχήμα 3.2 : Καταμέτρηση της οικογένειας *Enterobacteriaceae* των δύο ειδών άγριων σαλιγκαριών από αγορές της Θεσσαλονίκης και του *H. aspersa* εκτροφής σε VRBGA. Τα errors bars αφορούν την τυπική απόκλιση πέντε (n=5) επαναλήψεων.

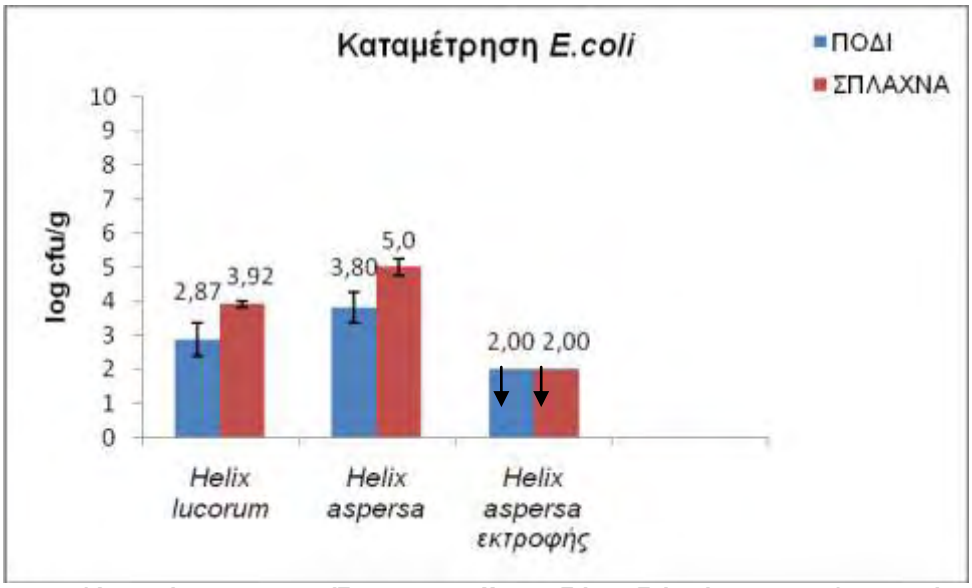
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Τόσο τα σπλάχνα όσο και τα πόδια των δύο ειδών φαίνεται να μη διαφέρουν ως προς τη συγκέντρωση σε εντεροβακτήρια. Επίσης, ο αριθμός των βακτηρίων αυτών στα πόδια είναι χαμηλότερος περίπου δύο λογαρίθμους σε σύγκριση με τα σπλάχνα και για τα δύο είδη.

Συγκρίνοντας με την ΟΜΧ φαίνεται από τα Σχήματα 3.1 και 3.2 ότι οι συγκεντρώσεις των βακτηρίων της οικογένειας Enterobacteriaceae αποτελούσαν μεγάλο ποσοστό του σε σπλάχνα και πόδι των δύο ειδών.

Escherichia coli

Ο πληθυσμός *E.coli* και για τα δύο είδη ήταν κατά μέσο όρο (για n=5 επαναλήψεις) 2,87 log cfu/g στα σπλάχνα του *H. lucorum,* 3,92 στο πόδι τους ενώ στο είδος *H. aspersa* 3,80 και 5,00 log cfu/g αντίστοιχα, ενώ για τα ζώα του *H. aspersa* που προέρχονταν από εκτροφή ήταν κάτω του ορίου ανίχνευσης των 2,0 log cfu/g (Σχ. 3.3).



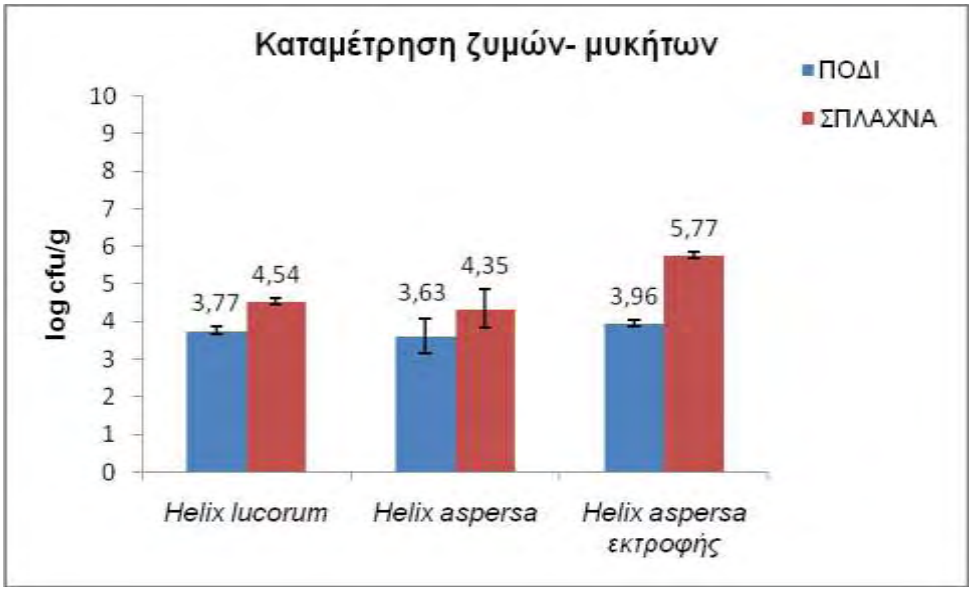
Σχήμα 3.3 : Καταμέτρηση του είδους ***E. coli*** των δύο ειδών άγριων σαλιγκαριών από αγορές της Θεσσαλονίκης και του *H. aspersa* εκτροφής σε TBGAcc3e2221w. Τα errors bars αφορούν την τυπική απόκλιση πέντε (n=5) επαναλήψεων. Το βέλος (↓)υποδεικνύει ότι ο πληθυσμός βρίσκοταν κάτω από το επίπεδο ανίχνευσης των 2 log cfu/g

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Το είδος *H. aspersa* έχει υψηλότερο αριθμό βακτηρίων *E. coli* από το *H. lucorum* σε σπλάχνα και πόδι όσον αφορά τα άγρια σαλιγκάρια. Η συγκέντρωση των μικροοργανισμών αυτών είναι χαμηλότερη στο πόδι σε σχέση με τα σπλάχνα και στα δύο είδη τουλάχιστον κατά ένα λογάριθμο. Συγκρίνοντας τα δύο παραπάνω Σχήματα 3.2 και 3.3 φαίνεται ότι το *E.coli* αποτελεί μικρό ποσοστό των Enterobacteriaceae.

Ζύμες και Μύκητες

Στο Σχήμα 3.4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την καταμέτρηση ζυμών και μυκήτων. Συγκεκριμένα, υπολογίσθηκαν κατά μέσο όρο (για n=5) 3,77 log cfu/g για το πόδι και 4,54 για τα σπλάχνα των ζώων *H. lucorum* , 3,63 και 4,35 log cfu/g, αντίστοιχα, για τα ζώα του είδους *H. aspersa* και 3,96 και 5,77 log cfu/g, αντίστοιχα, για τα σαλιγκάρια *H. aspersa* από εκτροφή.



Σχήμα 3.4 : Καταμέτρηση των ζυμών και των μυκήτων των δύο ειδών άγριων σαλιγκαριών από αγορές της Θεσσαλονίκης και του *H. aspersa* εκτροφής σε RBC. Τα errors bars αφορούν την τυπική απόκλιση πέντε (n=5) επαναλήψεων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Σύμφωνα με το Σχήμα 3.4 φαίνεται τα δύο άγρια είδη να διαφέρουν ελάχιστα ως προς τη συγκέντρωση ζυμών και μυκήτων στα σπλάχνα και στο πόδι ενώ υψηλότερος ήταν ο αριθμός τους στα ζώα *H. aspersa* της εκτροφής. Επίσης, ο αριθμός αυτών των μικροοργανισμών δείχνει να είναι χαμηλότερος στο πόδι σε σχέση με τα σπλάχνα και για τα δύο είδη τόσο για τα άγρια ζώα όσο και γι αυτά της εκτροφής.

3.1.1 Σύγκριση των άγριων πληθυσμών *H. aspersa* και *H. lucorum*

Τα αποτελέσματα της **δοκιμασίας *t (t- test)*** η οποία πραγματοποιήθηκε μεταξύ των μέσων όρων των αριθμών (log cfu/g) των μικροοργανισμών οι οποίοι καταμετρήθηκαν σε πόδι και σπλάχνα άγριων πληθυσμών *H. aspersa* και *H. lucorum* παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίν. 3.3). Για την πραγματοποίηση του ελέγχου αυτού θεωρήθηκε ως μηδενική υπόθεση (Ho) ότι οι μέσοι όροι των ομάδων για κάθε μελετώμενη παράμετρο είναι ίσοι.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Πίνακας 3.3 Σύγκριση των μέσων όρων σε σπλάχνα και πόδι μεταξύ των άγριων σαλιγκαριών *H. aspersa* και *H. lucorum.*

Μ/Ο	**ΣΠΛΑΧΝΑ**				**ΠΟΔΙ**				t_1	P_1	t_2	P_2
	H. aspersa		***H.lucorum***		***H.aspersa***		***H.lucorum***					
	μ/ο	**S.D.**	**μ/ο**	**S.D.**	**μ/ο**	**S.D.**	**μ/ο**	**S.D.**				
ΟΜΧ	7,59	0,42	8,36	0,39	6,13	0,36	7,04	0,12	2,23	<	2,18	<
Enterobacteriaceae	7,40	0,14	7,90	0,17	5,25	0,63	5,23	0,31	2,23	<	2,18	<
E. coli	5,00	0,25	3,92	0,08	3,80	0,45	2,87	0,47	2,18	<	2,14	<
Ζύμες και Μύκητες	4,35	0,50	4,54	0,08	3,63	0,46	3,77	0,10	2,45	<	2,45	<

P_1 : τιμή μικρότερη ή μεγαλύτερη του 0.05, η οποία προέκυψε από τη σύγκριση των μ.ο. μεταξύ των σπλάχνων των δύο ειδών *H. aspersa* και *H. lucorum.*
P_2 : τιμή μικρότερη ή μεγαλύτερη του 0.05, η οποία προέκυψε από τη σύγκριση των μ.ο. μεταξύ των ποδιών των δύο ειδών *H. aspersa* και *H. lucorum.*
t_1 : τιμή t κρίσιμο η οποία προέκυψε από τη σύγκριση των μ.ο. μεταξύ των σπλάχνων των δύο ειδών *H. aspersa* και *H. lucorum.*
t_2 : τιμή t κρίσιμο η οποία προέκυψε από τη σύγκριση των μ.ο. μεταξύ των ποδιών των δύο ειδών *H. aspersa* και *H. lucorum.*

Από τη σύγκριση των μέσων όρων του μικροβιακού φορτίου που καταμετρήθηκε στα σπλάχνα και τα πόδια των δύο ειδών *H. aspersa* και *H. lucorum* προέκυψε ότι υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά (P<0,05) ως προς τη συγκέντρωσή τους μεταξύ των πληθυσμών της ΟΜΧ, τα Εντεροβακτήρια, τα βακτήρια *E. coli* καθώς και των Ζυμών – Μυκήτων.

3.1.2 Σύγκριση του άγριου *Helix aspersa* με το εκτροφής

Στον παρακάτω πίνακα (Πίν. 3.4) δίνονται τα αποτελέσματα της δοκιμασίας *t (t- test)* η οποία πραγματοποιήθηκε μεταξύ των μέσων όρων των αριθμών (log cfu/g) των μικροοργανισμών οι οποίοι καταμετρήθηκαν σε πόδι και σπλάχνα μεταξύ άγριων και εκτροφής ζώων του είδους *H. aspersa.*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Πίνακας 3.4 Σύγκριση των μέσων όρων σε σπλάχνα και πόδι μεταξύ άγριων και εκτροφής σαλιγκαριών *H. aspersa.*

Μ/Ο	**ΣΠΛΑΧΝΑ**				**ΠΟΔΙ**				t_1	P_1	t_2	P_2
	ΑΓΡΙΟ		**ΕΚΤΡΟΦΗΣ**		**ΑΓΡΙΟ**		**ΕΚΤΡΟΦΗΣ**					
	μ/ο	**S.D.**	**μ/ο**	**S.D.**	**μ/ο**	**S.D.**	**μ/ο**	**S.D.**				
ΟΜΧ	7,59	0,42	8,69	0,37	6,13	0,36	7,10	0,05	2,23	<	2,14	<
Enterobacteriaceae	7,40	0,14	7,11	0,00	5,25	0,63	5,60	0,14	2,23	<	2,18	<
E. coli	5,00	0,25	≤2,00		3,80	0,45	≤2,00		2,14	<	2,18	<
Ζύμες και Μύκητες	4,35	0,50	5,77	0,11	3,63	0,46	3,96	0,07	2,30	<	2,30	<

P_1 : τιμή μικρότερη ή μεγαλύτερη του 0.05, η οποία προέκυψε από τη σύγκριση των μ.ο. των σπλάχνων μεταξύ άγριων και εκτροφής σαλιγκαριών *H. aspersa.*

P_2 : τιμή μικρότερη ή μεγαλύτερη του 0.05, η οποία προέκυψε από τη σύγκριση των μ.ο των ποδιών μεταξύ άγριων και εκτροφής σαλιγκαριών *H. aspersa.*

t_1 : τιμή t κρίσιμο η οποία προέκυψε από τη σύγκριση των μ.ο. των σπλάχνων μεταξύ άγριων και εκτροφής σαλιγκαριών *H. aspersa.*

t_2 : τιμή t κρίσιμο η οποία προέκυψε από τη σύγκριση των μ.ο. των ποδιών μεταξύ άγριων και εκτροφής σαλιγκαριών *H. aspersa.*

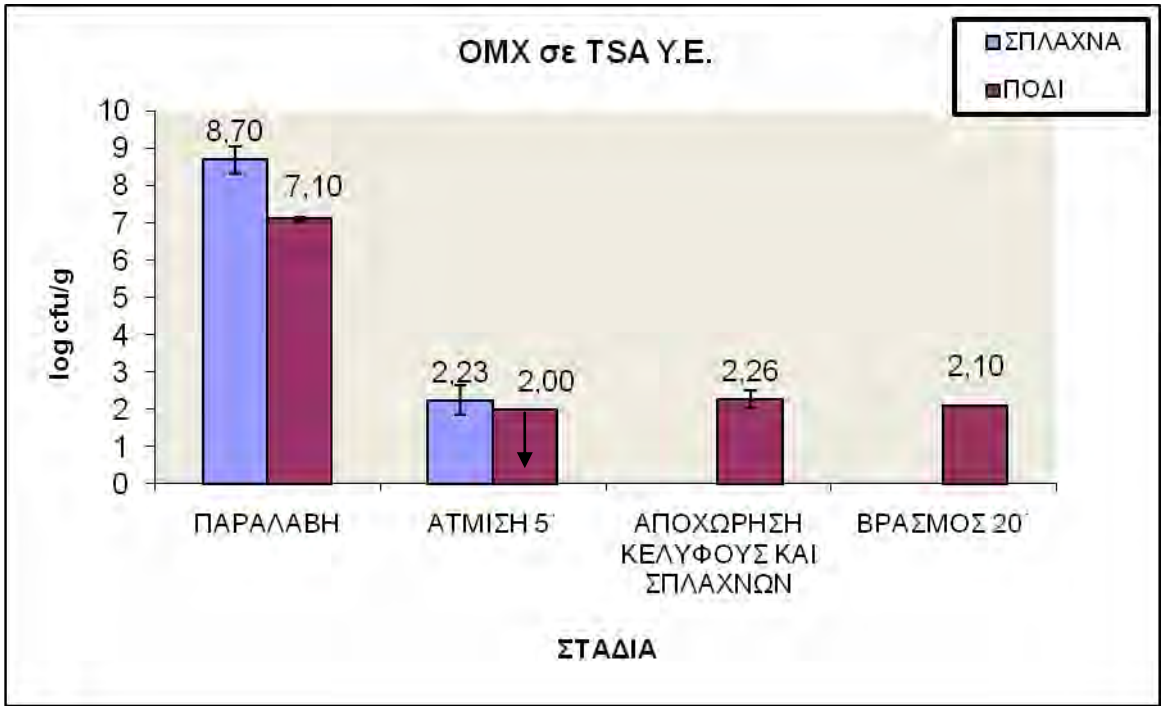
Από τη σύγκριση των μέσων όρων του μικροβιακού φορτίου που καταμετρήθηκε στα σπλάχνα και το πόδι άγριων και εκτροφής ζώων του είδους *H. aspersa* προέκυψε ότι οι πληθυσμοί αυτοί διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (P<0,05) ως προς τη συγκέντρωσή τους σε ΟΜΧ, σε βακτήρια της οικογένειας Enterobacteriaceae, *E. coli*, καθώς και σε Ζύμες – Μύκητες τόσο στα σπλάχνα όσο και στο πόδι.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

3.2 Μεταβολές μικροβιακών πληθυσμών κατά την επεξεργασία

Στα παρακάτω σχήματα (Σχ. 3.6, 3.7, 3.8 και 3.9) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα (μ.ο. για n=3) από την καταμέτρηση των ΟΜΧ, οικογένειας Enterobacteriaceae, *E.coli* και ζύμες – μύκητες κατά τα στάδια επεξεργασίας του εκτρεφόμενου είδους *H. aspersa.*

Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα



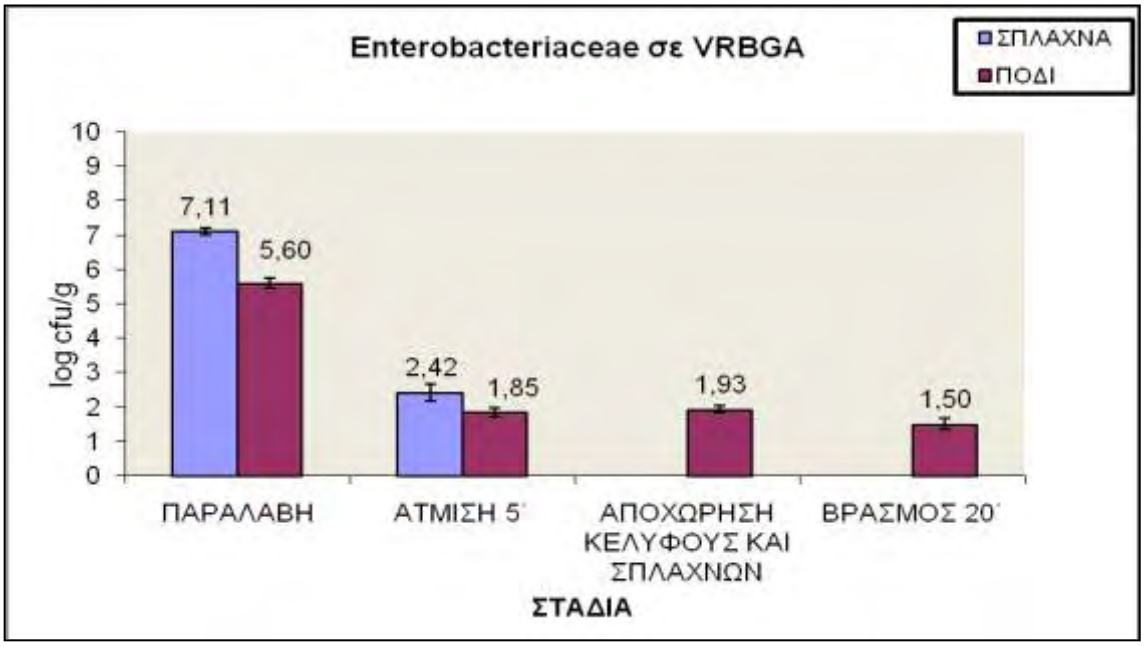
Σχήμα 3.6 : Καταμέτρηση της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας του εκτρεφόμενου είδους *Helix aspersa* κατά τα στάδια επεξεργασίας του. Το βέλος (↓)υποδεικνύει ότι ο πληθυσμός βρίσκοταν κάτω από το επίπεδο ανίχνευσης των 2 log cfu/g.

Τα ζωντανά σαλιγκάρια κατά το στάδιο της παραλαβής φαίνεται να φιλοξενούν υψηλούς αριθμούς της ΟΜΧ σε σπλάχνα και πόδι (8,69 και 7,10 log cfu/g αντίστοιχα). Ο πληθυσμός δείχνει να μειώνεται αρκετά στο στάδιο της άτμισης και συγκεκριμένα περίπου 5,5 λογάριθμους για τα σπλάχνα και περισσότερο από 5 λογάριθμους για το πόδι. Μετά την αποχώρηση του κελύφους και των

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

σπλάχνων η συγκέντρωση στο πόδι αυξάνει (2,26 log cfu/g). Ο πληθυσμός μειώνεται με το στάδιο του βρασμού στους 2,10 log cfu/g.

***Οικογένεια* Enterobacteriaceae**

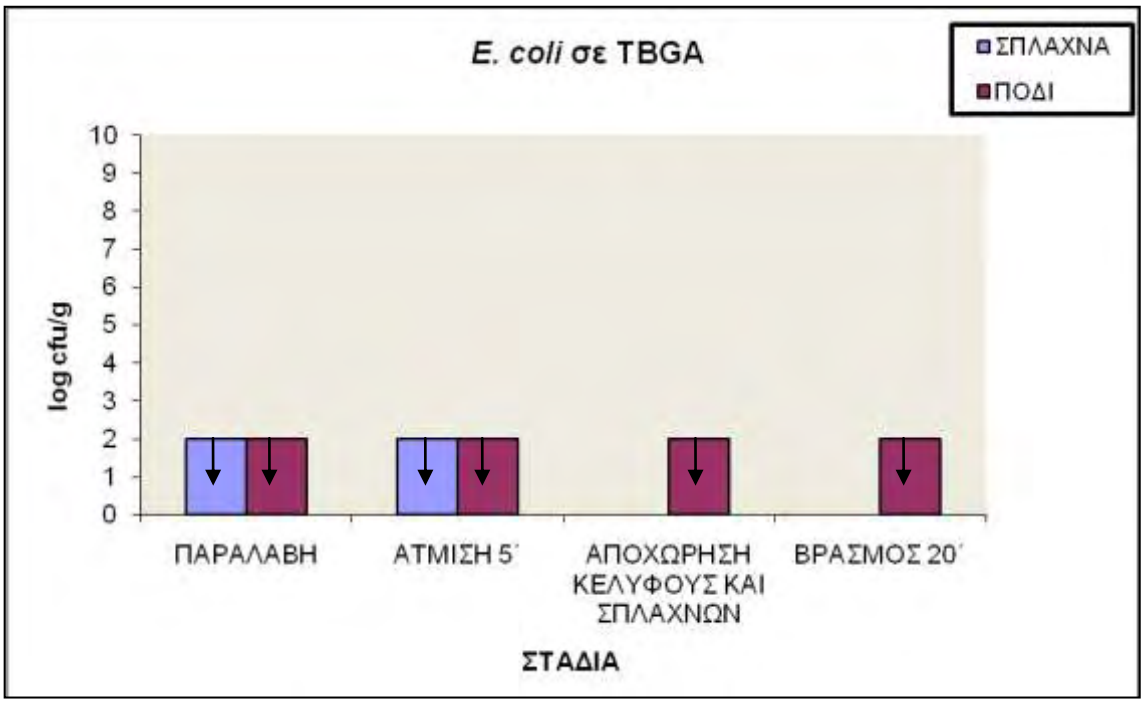


Σχήμα 3.7 : Καταμέτρηση της οικογένειας Enterobacteriaceae του εκτρεφόμενου είδους *Helix aspersa* κατά τα στάδια επεξεργασίας του.

Σύμφωνα με το παραπάνω σχήμα (Σχ. 3.7) τα ζωντανά σαλιγκάρια κατά το στάδιο της παραλαβής φαίνεται να έχουν μεγάλους αριθμούς εντεροβακτηριδίων σε πόδι και σπλάχνα (7,11 και 5,60 log cfu/g, αντίστοιχα). Ο αριθμός αυτός μειώνεται κατά πολύ (περίπου 5 λογάριθμους στα σπλάχνα και 3,5 στο πόδι) κατά το στάδιο της άτμισης. Έπειτα αυξάνει με την αποχώρηση του κελύφους και των σπλάχνων στους 1,93 log cfu/g και μειώνεται στο επόμενο στάδιο στους 1,50 log cfu/g.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Escherichia coli

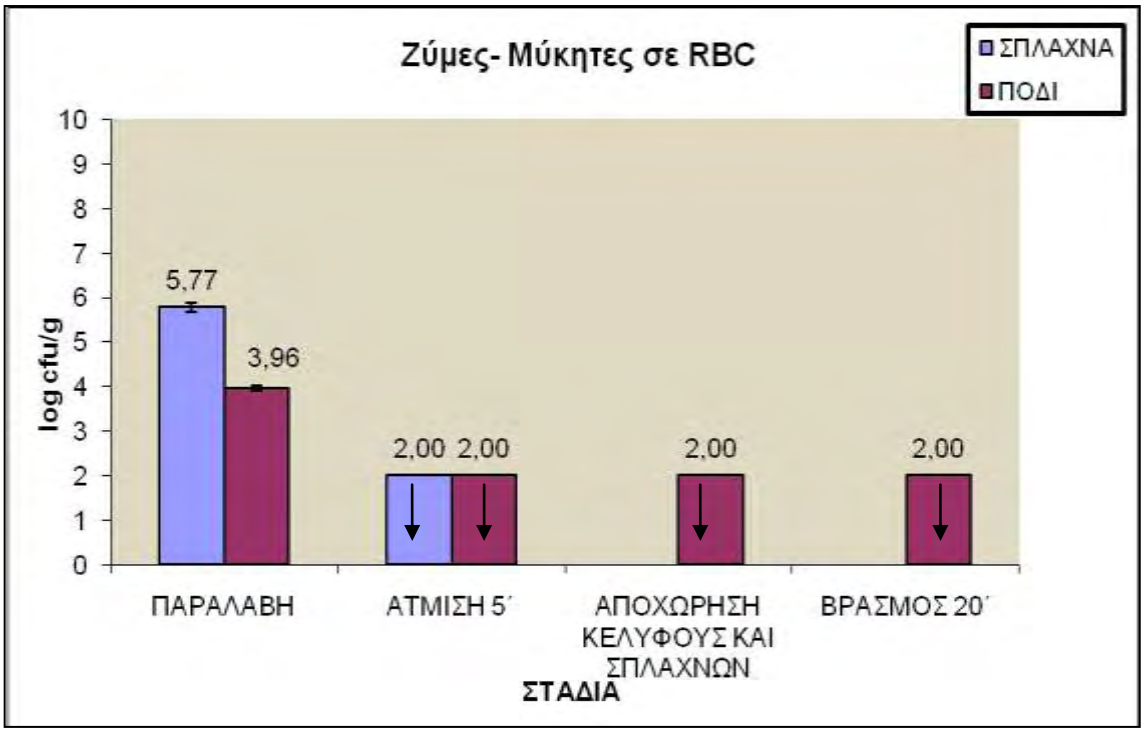


Σχήμα 3.8 : Καταμέτρηση του βακτηρίου *E.coli* του εκτρεφόμενου είδους *H. aspersa* κατά τα στάδια επεξεργασίας του. Το βέλος (↓) υποδεικνύει ότι ο πληθυσμός βρίσκοταν κάτω από το επίπεδο ανίχνευσης των 2 log cfu/g.

Δεν ανιχνεύθηκε καμία αποικία *E. coli* σε κανένα από τα στάδια επεξεργασίας του εκτρεφόμενου είδους *H. aspersa.* Το γεγονός αυτό δεν υποδηλώνει αποκλειστικά την απουσία του αλλά την πιθανή παρουσία του σε πληθυσμό κάτω από 2 log cfu/g.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Ζύμες και Μύκητες



Σχήμα 3.9 : Καταμέτρηση ζυμών και μυκήτων του εκτρεφόμενου είδους *H. aspersa* κατά τα στάδια επεξεργασίας του. Το βέλος (↓) υποδεικνύει ότι ο πληθυσμός βρίσκοταν κάτω από το επίπεδο ανίχνευσης των 2 log cfu/g

Η συγκέντρωση των ζυμών και μυκήτων φαίνεται υψηλή στο στάδιο της παραλαβής στα σπλάχνα και το πόδι με τιμές 5,77 και 3,96 log cfu/g αντίστοιχα. Μετά το στάδιο της άτμισης δεν ανιχνεύθηκε καμία αποικία.

3.2.1 Σύγκριση μεταξύ των σταδίων επεξεργασίας

Στους Πίνακες 3.5 και 3.6 φαίνονται οι μέσοι όροι των πληθυσμών των μικροοργανισμών που καταμετρήθηκαν σε πόδι και σπλάχνα καθώς και η επί της εκατό μεταβολή των τιμών αυτών ανά στάδιο επεξεργασίας. Συγκεκριμένα στον Πίνακα 3.5, το πρώτο ποσοστό (**$\%_{(1)}$**) δείχνει τη μεταβολή από την παραλαβή στην άτμιση, το δεύτερο (**$\%_{(2)}$**) από την άτμιση στον αποχωρισμό κελύφους και σπλάχνων, το τρίτο (**$\%_{(3)}$**) από τον αποχωρισμό κελύφους και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

σπλάχνων στο βρασμό και η τελευταία (**%$_{(4)}$**) από την παραλαβή έως το βρασμό. Επίσης, στον Πίνακα 3.6 δίνεται η επί της εκατό μεταβολή του πληθυσμού των μ/ο στα σπλάχνα από την παραλαβή ως την άτμιση. Τέλος, τα σύμβολα (-) και (+) που υπάρχουν μπροστά από τις μεταβολές χαρακτηρίζουν τη μείωση και την αύξηση του φορτίου των μ/ο αντίστοιχα.

Πίνακας 3.5 Ποσοστιαία επί της εκατό (%) μεταβολή του λογαρίθμου του πληθυσμού των μ/ο μεταξύ των σταδίων επεξεργασίας στο πόδι του εκτρεφόμενου ζώου ***H. aspersa.***

ΠΟΔΙ								
Μ/Ο	**ΠΑΡΑΛΑΒΗ**	**ΑΤΜΙΣΗ**	**ΑΠΟΧΩΡΙΣΜΟΣ ΚΕΛΥΦΟΥΣ ΚΑΙ ΣΠΛΑΧΝΩΝ**	**ΒΡΑΣΜΟΣ**	**% ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΑΝΑ ΣΤΑΔΙΟ**			
					%$_{(1)}$	**%$_{(2)}$**	**%$_{(3)}$**	**%$_{(4)}$**
ΟΜΧ	7,10	≤2,00	2,26	2,10	≤71,80	+12,95	- 7,00	- 70,40
Enterobacteriaceae	5,60	1,85	1,93	1,50	- 66,90	+ 4,20	- 22,20	- 73,20
E. coli	≤2,00	≤2,00	≤2,00	≤2,00	- 0-100	- 0-100	- 0-100	- 0-100
Ζύμες και Μύκητες	3,96	≤2,00	≤2,00	≤2,00	≥49,4	- 0-100	- 0-100	≥49,4

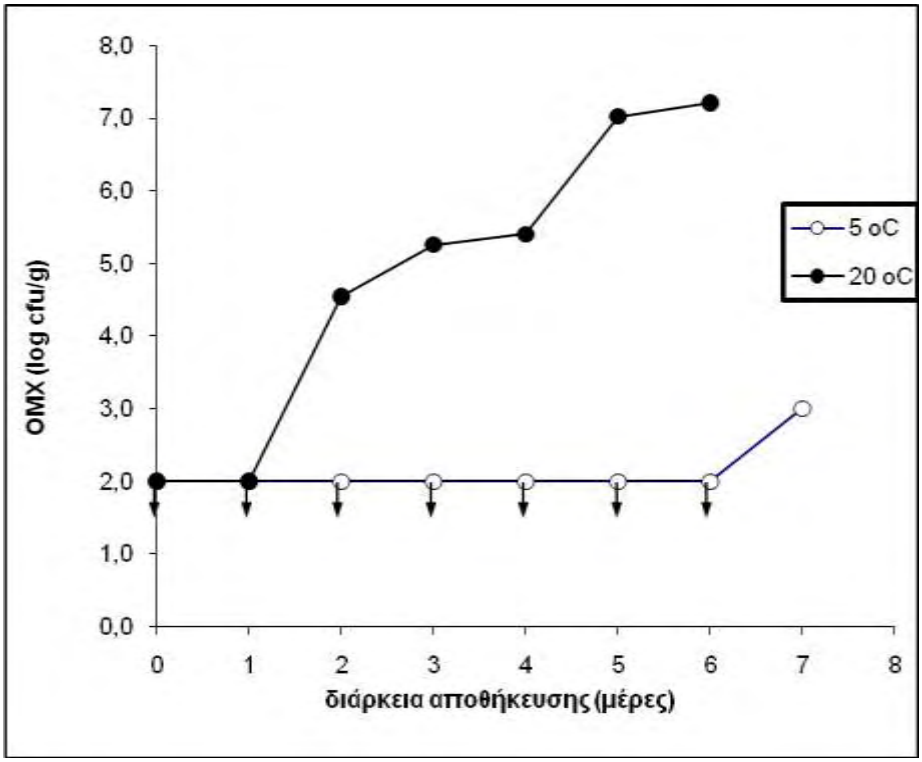
%$_{(1)}$: δείχνει τη μεταβολή λόγω άτμισης
%$_{(2)}$: δείχνει την περαιτέρω μεταβολή λόγω αποχωρισμού κελύφους και σπλάχνων
%$_{(3)}$: δείχνει την περαιτέρω μεταβολή λόγω βρασμού
%$_{(4)}$: δείχνει την συνολική μεταβολή από την παραλαβή έως το βρασμό.

Στον παραπάνω Πίνακα 3.5 φαίνεται ότι με το στάδιο της άτμισης οι πληθυσμοί όλων των μικροοργανισμών στο σώμα μειώνονται κατά μεγάλο ποσοστό. Στη συνέχεια οι πληθυσμοί αυξάνουν με τον αποχωρισμό κελύφους και σπλάχνων και έπειτα μειώνονται με το στάδιο του βρασμού.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

3.3 Αποθήκευση

Ο πληθυσμός της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας που καταμετρήθηκε κατά την αποθήκευση υπό ψύξη (5°C) των βρασμένων σαλιγκαριών δίνονται στο παρακάτω σχήμα (Σχ. 3.10).



Σχήμα 3.10 : Καταμέτρηση της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας στο πόδι του αποθηκευμένου σαλιγκαριού. . Το βέλος (↓)υποδεικνύει ότι ο πληθυσμός βρίσκοταν κάτω από το επίπεδο ανίχνευσης των 2 log cfu/g

Τα αποθηκευμένα υπό ψύξη βρασμένα πόδια φαίνεται να διατηρούν χαμηλό το φορτίο της ΟΜΧ για αρκετές ημέρες σε σύγκριση με την αποθήκευση στους 20°C. Συγκεκριμένα, τα πόδια των σαλιγκαριών που αποθηκεύθηκαν στους 5°C διέθεταν αρχικό φορτίο ΟΜΧ 2,10±0,18 log cfu/g το οποίο παρέμεινε σχεδόν σταθερό για έξι με επτά ημέρες αργότερα. Αντίθετα, στα πόδια που βρίσκονταν στους 20 ^{o}C (με αρχικό φορτίο ΟΜΧ 2,10±0,18 log cfu/g) ο πληθυσμός της ΟΜΧ αυξήθηκε απότομα δύο μέρες μετά τον βρασμό στους 4,54 log cfu/g,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

έπειτα ανέβαινε σταδιακά έως την τέταρτη ημέρα και έδειξε απότομη άνοδο την τέταρτη και πέμπτη ημέρα όπου έφτασε τους 7,02 log cfu/g.

Έξι μέρες μετά το βρασμό, το μικροβιακό φορτίο των ποδιών που βρίσκονταν στους 20 ^{o}C έφτασε τους 7,21 log cfu/g ενώ την ίδια ημέρα ο πληθυσμός της ΟΜΧ των αποθηκευμένων υπό ψύξη ποδιών άρχισε να αυξάνει σε πληθυσμούς πάνω του ορίου ανίχνευσης των 2,1 log cfu/g.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν ο προσδιορισμός του αρχικού μικροβιακού πληθυσμού στα νωπά σαλιγκάρια των ειδών *H. aspersa* και *H. lucorum* που προορίζονταν για μεταποίηση και επιπλέον η διερεύνηση της επίδρασης της επεξεργασίας στο μικροβιακό φορτίο και στον εμπορικό χρόνο ζωής των μεταποιημένων αποθηκευμένων σε ψύξη εκτρεφόμενων σαλιγκαριών του είδους *H. aspersa.*

4.1 Μικροβιακό φορτίο ζωντανών σαλιγκαριών

Από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων της καταμέτρησης της ΟΜΧ σε δείγματα άγριων και εκτροφής σαλιγκαριών που εξετάσθηκαν προέκυψε ότι οι μέσοι όροι της ΟΜΧ σε σπλάχνα και πόδι ήταν 7,59 και 6,13 log cfu/g, αντίστοιχα, για τους άγριους πληθυσμούς *H. aspersa,* 8,36 και 7,04 log cfu/g για τους άγριους πληθυσμούς *H. lucorum* καθώς 8,69 και 7,10 log cfu/g για τα ζώα εκτροφής *H. aspersa.*

Έχουν αναφερθεί μελέτες, στην παγκόσμια βιβλιογραφία, σχετικές με την Υγιεινή και Ασφάλεια των εδώδιμων σαλιγκαριών αλλά δεν υπάρχει καμία παρόμοια με την παρούσα για να γίνει απόλυτη σύγκριση.

Οι Cantoni *et al.* (1976), Pisanu and Leoni (1980), Tiecco *et al.* (1980), Gallo and Caracappa (1980), Τσιγουρή (1983), Kiebre- Toe *et al.* (2003), Temelli *et al.* (2006) εξέτασαν το μικροβιακό φορτίο σε ολόκληρο το σώμα των ζωντανών σαλιγκαριών ενώ ορισμένοι Parisi – Bianco (1978), Τσιγουρή (1983) μελέτησαν χωριστά κάποια τμήματα του ζώου.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας ήταν δυνατό να γίνει με τα αποτελέσματα της Parisi – Bianco (1978) η οποία βρήκε ότι ο πληθυσμός της ΟΜΧ στο πόδι κυμαίνονταν από 1 έως 10^7 cfu/g αλλά το μεγαλύτερο ποσοστό των δειγμάτων περιείχε 10^5 έως 10^6 cfu/g κι έτσι φαίνεται ότι τα σαλιγκάρια του παρόντος πειράματος περιείχαν κατά μέσο όρο υψηλότερες τιμές της ΟΜΧ (Πίν. 4.1).

Επίσης, η Τσιγουρή (1983) μελέτησε χωριστά κάποια τμήματα των σημαντικότερων εδώδιμων ειδών του γένους *Helix* και το είδος *Achatina fulica.* Ειδικότερα, εξέτασε την υγιεινολογική κατάσταση του πεπτικού σωλήνα, του σώματος χωρίς ηπατοπάγκρεας και γονάδα, το ηπατοπάγκρεας με τη γονάδα και βρήκε ότι οι μέσοι όροι της ΟΜΧ ήταν 10^7 – 10^9 cfu/g, 10^6 - 10^7 cfu/g και10^7 – 10^9 cfu/g, αντίστοιχα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων της διαπιστώθηκε ότι ο πεπτικός σωλήνας καθώς και το ηπατοπάγκρεας με τη γονάδα συμβάλλουν εξίσου στη διαμόρφωση του μεγέθους της μικροβιακής χλωρίδας ολόκληρου του σώματος. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας (7,59 έως 8,69 log cfu/g), φαίνεται κατά μέσο όρο να συμφωνούν με τα παραπάνω (Πίν. 4.1).

Πίνακας 4.1 Σύγκριση της ΟΜΧ που καταμετρήθηκε στην παρούσα εργασία με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητών.

ΕΙΔΟΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ	**ΕΙΔΟΣ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ**	**ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (cfu/g)**	**ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ**
	Helix aspersa (άγρια ζώα)	7,59 log (σπλάχνα) 6,13 log (πόδι)	**Παρούσα μελέτη**
	Helix aspersa (εκτροφής)	8,69 log (σπλάχνα) 7,10 log (πόδι)	
	Helix lucorum	8,36 log (σπλάχνα) 7,04 log (πόδι)	

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (ΟΜΧ)	(άγρια ζώα)		
	Helix pomatia	10^6 - 10^7 (60%) 10^5 – 10^6 (33.8%) 10^4 – 10^5 (6.2%)	Cantoni *et al.* (1976)
	Helix pomatia (εκτροφής)	1 έως 10^7 (πεπτικό > γεννητικό > πόδι > πνεύμονας – καρδιά – νεφρός)	Parisi – Bianco (1978)
	Helix aspersa *H. vermiculata* *H. aperta*	7 * 10^5 έως 1,3 * 10^7 (μετά πλυσίματος και αφαίρεσης κελύφους)	Pisanu and Leoni (1980)
	Διάφορα είδη από έξι διαφορετικές περιοχές της Ιταλίας	6,5 * 10^6 έως 8,7 * 10^8	Tiecco *et al.* (1980)
	Helix pomatia	6,85 log	Temelli *et al.* (2006)
	Eobania vermiculata	10^4 (με επίφραγμα) 10^7 (χωρίς επίφραγμα) 10^5 (χωρίς επίφραγμα αλλά μετά από αρκετό πλύσιμο)	Gallo and Caracappa (1980)
	Helix και *Achatina fulica*	10^6 - 10^7 (ολόκληρο) 10^7 – 10^9 (πεπτικό και γονάδα)	Τσιγουρή (1983)
	Helix aspersa από τρεις φάρμες (Ε) στη Γαλλία	(Ζώα ηλικίας 6 - 7 μηνών) E_1 : 4,2 * 10^6 E_2 : 2,9 * 10^6 E_3 : 9,1 * 10^6 (Ζώα με επίφραγμα, ηλικίας	Kiebre- Toe *et al.* (2003)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

		9 – 10 μηνών) E_1 : 39,6 * 10^6 E_2 : 1,7 * 10^6 E_3 : 23,9 * 10^6 *** **<u>Ταυτοποίηση</u>**: όλα τα βακτήρια της ΟΜΧ άνηκαν στα Gram αρνητικά.	

Οι μέσοι όροι των πληθυσμών της οικογένειας Enterobacteriaceae που εξετάσθηκαν στην παρούσα εργασία ήταν 7,40 και 5,25 log cfu/g για τα σπλάχνα και το πόδι των άγριων πληθυσμών *H. aspersa,* 7,90 και 5,23 log cfu/g αντίστοιχα, για τους άγριους πληθυσμούς του είδους *H. lucorum* καθώς 7,11 και 5,60 log cfu/g για τα ζώα εκτροφής *H. aspersa.*

Η Parisi – Bianco (1978) βρήκε ότι ο πληθυσμός των βακτηρίων της οικογένειας Enterobacteriaceae στο πόδι κυμαίνονταν μεταξύ 1 cfu/g έως 10^7 cfu/g με το μεγαλύτερο ποσοστό μεταξύ 10^5 και 10^6 cfu/g και τα αποτελέσματά της συμφωνούν με του παρόντος πειράματος.

Η Τσιγουρή (1983) βρήκε ότι ο πληθυσμός των βακτηρίων της οικογένειας Enterobacteriaceae στα σπλάχνα (πεπτικό σωλήνα, ηπατοπάγκρεας με τη γονάδα) ήταν από 10^5 έως 2,4 * 10^6 cfu/g ενώ στην παρούσα εργασία ήταν σχετικά υψηλότερος και κυμαίνονταν μεταξύ 10^7 και 10^8 cfu/g (Πίν. 4.2).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Πίνακας 4.2 Σύγκριση του πληθυσμού της οικογένειας Enterobacteriaceae που καταμετρήθηκε στην παρούσα εργασία με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητών.

ΕΙΔΟΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ	ΕΙΔΟΣ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (cfu/g)	ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ
Enterobacteriaceae	*Helix aspersa* (άγρια ζώα)	7,40 log (σπλάχνα) 5,25 log (πόδι)	**Παρούσα μελέτη**
	Helix aspersa (εκτροφής)	7,11 log (σπλάχνα) 5,60 log (πόδι)	
	Helix lucorum (άγρια ζώα)	7,90 log (σπλάχνα) 5,23 log (πόδι)	
	Helix pomatia	10 – 10^3 (74%) 10^3 – 10^4 (6%)	Cantoni *et al.* (1976)
		4,84 log cfu/g	Temelli *et al.* (2006)
	Helix aspersa *H. vermiculata* *H. aperta*	7,5 * 10^4 έως 5,5 * 10^6 (μετά πλυσίματος και αφαίρεσης κελύφους)	Pisanu and Leoni (1980)
	Eobania vermiculata	10^{-1} (με επίφραγμα) 10^{-3} (χωρίς επίφραγμα) 10^{-2} (χωρίς επίφραγμα αλλά μετά από αρκετό πλύσιμο)	Gallo and Caracappa (1980)
	Διάφορα είδη από έξι διαφορετικές περιοχές της Ιταλίας	1,8 * 10^6 έως 1,3 * 10^7	Tiecco *et al.* (1980)
	Helix pomatia (εκτροφής)	1 έως 10^7 (πόδι > γεννητικό > πεπτικό > πνεύμονας – καρδιά – νεφρός)	Parisi – Bianco (1978)
	Helix aspersa	(Ζώα ηλικίας 6 - 7	Kiebre - Toe *et al.*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

	από τρεις φάρμες (Ε) στη Γαλλία	μηνών) E_1 : 4,2 E_2 : 1,3 * 10^6 E_3 : 7,6 * 10^6 (Ζώα με επίφραγμα, ηλικίας 9 – 10 μηνών) E_1 : 4,6 * 10^6 E_2 : 1,5 * 10^6 E_3 : 23 * 10^6	(2003)
	Helix και *Achatina fulica*	10^4 – 2,1 * 10^6 (ολόκληρο) 10^5 έως 2,4 * 10^6 (πεπτικό και γονάδα)	Τσιγουρή (1983)

Οι μέσοι όροι των πληθυσμών του βακτηρίου *E. coli* υπολογίσθηκαν σε 5,00 και 3,80 log cfu/g για τα σπλάχνα και το πόδι των άγριων πληθυσμών *H. aspersa,* 3,92 και 2,87 log cfu/g αντίστοιχα, για τους άγριους πληθυσμούς του είδους *H. lucorum* ενώ για τα ζώα εκτροφής *H. aspersa* κυμαίνονταν από 0 έως 2 log cfu/g.

Η Parisi – Bianco (1978) βρήκε ότι ο μέσος όρος των βακτηρίων *E.coli* που καταμετρήθηκαν στο πόδι των εκτρεφόμενων σαλιγκαριών *H. pomatia* ήταν ίσος με 10 cfu/g στο μεγαλύτερο ποσοστό των δειγμάτων που εξέτασε. Από τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης φαίνεται ότι τα ζώα που προέρχονταν από εκτροφή διέθεταν φορτίο των βακτηρίων *E.coli* κάτω του ορίου ανίχνευσης των 2 λογαρίθμων (0 έως 10^2 cfu/g) πράγμα που σημαίνει ότι τα σαλιγκάρια αυτά είτε διέθεταν χαμηλό μικροβιακό φορτίο σε πληθυσμούς του *E.coli* είτε δεν είχαν καθόλου. Αντίθετα, τα ζώα που προέρχονταν από το φυσικό περιβάλλον φιλοξενούσαν υψηλότερους αριθμούς (περίπου από 10^3 έως 10^4 cfu/g).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Η Τσιγουρή (1983) καταμέτρησε στα σπλάχνα (πεπτικό σωλήνα, ηπατοπάγκρεας με τη γονάδα) των ειδών που μελέτησε πληθυσμούς του *E.coli* που κυμαίνονταν από 10 έως 10^5 cfu/g και τα αποτελέσματά της μπορεί να θεωρηθεί ότι συμφωνούν με των ζώων που προέρχονταν από το φυσικό περιβάλλον του παρόντος πειράματος (10^4 έως 10^5 cfu/g) (Πίν. 4.3).

Πίνακας 4.3 Σύγκριση του πληθυσμού του βακτηρίου *E.coli* που καταμετρήθηκε στην παρούσα εργασία με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητών.

ΕΙΔΟΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ	ΕΙΔΟΣ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (cfu/g)	ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ
E. coli	*Helix aspersa* (άγρια ζώα)	5,00 log (σπλάχνα) 3,80 log (πόδι)	**Παρούσα μελέτη**
	Helix aspersa (εκτροφής)	0 με 2 log (σπλάχνα και πόδι)	
	Helix lucorum (άγρια ζώα)	3,92 log (σπλάχνα) 2,87 log (πόδι)	
	Helix pomatia	0 – 10 (74%) 10 – 10^3 (6%)	Cantoni *et al.* (1976)
	Helix pomatia (εκτροφής)	0 έως 10^3 (πεπτικό > γεννητικό > πόδι > πνεύμονας –καρδιά – νεφρός)	Parisi – Bianco (1978)
	Helix pomatia	2,56 log MPN/g	Temelli *et al.* (2006)
	Helix aspersa *H. vermiculata* *H. aperta*	10 (40%)	Pisanu and Leoni (1980)
	Eobania vermiculata	10 (με επίφραγμα) 10^{-2} (χωρίς επίφραγμα) 10 (χωρίς επίφραγμα αλλά μετά από αρκετό	Gallo and Caracappa (1980)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

		πλύσιμο)	
	Helix και *Achatina fulica*	10 – 10^4 (ολόκληρο) 10 έως 10^5 (ηπατοπάγκρεας με γονάδα) 10 έως 10^5 (πεπτικό)	Τσιγουρή (1983)

Οι μέσοι όροι των Ζυμών και Μυκήτων που καταμετρήθηκαν σε σπλάχνα και πόδι ήταν ίσοι με 4,35 και 3,63 log cfu/g αντίστοιχα, για τους άγριους πληθυσμούς *Helix aspersa,* 4,54 και 3,77 log cfu/g για τους άγριους πληθυσμούς *H. lucorum* καθώς 5,77 και 3,96 log cfu/g για τα ζώα εκτροφής *H. aspersa.*

Τα αποτελέσματα που αφορούν την καταμέτρηση των μικροοργανισμών αυτών στα σπλάχνα των ζώων της παρούσας εργασίας κυμαίνονται μεταξύ 10^4 και 10^6 cfu/g και οι τιμές φαίνεται να είναι λίγο χαμηλότερες σε σύγκριση με την Τσιγουρή (1983) η οποία βρήκε 10^5 έως 1,1 * 10^7 cfu/g (Πίν. 4.4).

Πίνακας 4.4 Σύγκριση των πληθυσμών Ζυμών και Μυκήτων που καταμετρήθηκαν στην παρούσα εργασία με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητών.

ΕΙΔΟΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ	ΕΙΔΟΣ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (cfu/g)	ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ
Ζύμες και Μύκητες	*Helix aspersa* (άγρια ζώα)	4,35 log (σπλάχνα) 3,63 log (πόδι)	**Παρούσα μελέτη**
	Helix aspersa (εκτροφής)	5,77 log (σπλάχνα) 3,96 log (πόδι)	
	Helix lucorum (άγρια ζώα)	4,54 log (σπλάχνα) 3,77 log (πόδι)	
	Helix pomatia	5,63 log	Temelli *et al.* (2006)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

	Helix και *Achatina fulica*	10^4 – 10^6 (ολόκληρο) 10^5 έως 1,1 * 10^7 (πεπτικό και γονάδα)	Τσιγουρή (1983)

Οι υπόλοιποι ερευνητές (Cantoni *et al.,* 1976: Pisanu and Leoni, 1980: Tiecco *et al.,* 1980: Gallo and Caracappa, 1980: Τσιγουρή, 1983: Kiebre- Toe *et al.,* 2003: Temelli *et al.,* 2006) που αναφέρονται στους παραπάνω πίνακες μελέτησαν, όπως ήδη αναφέρθηκε, το μικροβιακό φορτίο σε ολόκληρο το σώμα των ζωντανών σαλιγκαριών.

Συγκεκριμένα, οι Cantoni *et al.* (1976) εξέτασαν 30 δείγματα του είδους *H. pomatia* τα οποία προέρχονταν από 18 διαφορετικές περιοχές της Ιταλίας και βρήκαν ότι το 60% των δειγμάτων τους περιείχε πληθυσμούς της ΟΜΧ οι οποίοι κυμαίνονταν μεταξύ 10^6 - 10^7 cfu/g και το 33,8% μεταξύ 10^5 – 10^6 cfu/g ενώ ο πληθυσμός των βακτηρίων *E.coli* που καταμετρήθηκε ήταν μεταξύ 0 και 10 cfu/g στο 74% των δειγμάτων.

Οι Pisanu and Leoni (1980) εξέτασαν 10 δείγματα των ειδών *H. aspersa, H. aperta* και *H. vermiculata,* εφόσον έπλυναν και αποκελύφωσαν τα ζώα, βρήκαν ότι η ΟΜΧ κυμαίνονταν μεταξύ 7 * 10^5 έως 1,3 * 10^7 cfu/g, τα εντεροβακτήρια μεταξύ 7,5 * 10^4 έως 5,5 * 10^6 cfu/g και το *E.coli* στο 10^{-1} cfu/g στο 40% των δειγμάτων.

Οι Tiecco *et al.* (1980) έλαβαν δείγματα από έξι περιοχές της Ιταλίας, τα ταξινόμησαν σε έξι ομάδες σύμφωνα με την προέλευσή τους και χώρισαν την κάθε ομάδα σε δύο μέρη. Έπειτα, εξέταζαν άμεσα το πρώτο μέρος των έξι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

δειγμάτων ενώ το δεύτερο μετά την παραμονή του σε κλωβούς για 24 ώρες. Τα αποτελέσματα των δειγμάτων που εξετάζονταν άμεσα έδειξαν ότι οι μέσοι όροι της ΟΜΧ των έξι ομάδων κυμαίνονταν από 6,5 * 10^6 έως 8,7 * 10^8 cfu/g ενώ αυτών που μετρήθηκαν 24 ώρες μετά ήταν 3 * 10^6 έως 6,1 * 10^7 cfu/g και τα εντεροβακτήρια από 1,8 * 10^6 έως 1,3 * 10^7 cfu/g για το πρώτο μέρος και από 2,8 * 10^6 έως 4,9 * 10^6 cfu/g για το δεύτερο.

Η Τσιγουρή (1983) μελέτησε σαλιγκάρια του είδους *Achatina fulica* και του γένους *Helix* και βρήκε ότι ο πληθυσμός της ΟΜΧ σε ολόκληρο το σώμα κυμαίνονταν από 10^6 έως 10^9 cfu/g με μ.ο. 25 * 10^6 cfu/g, τα εντεροβακτήρια από 10^3 έως 2,1 * 10^6 cfu/g με μ.ο. 52 * 10^4 cfu/g, τα *E.coli* από <1 έως 10^5 cfu/g με μ.ο. 27 * 10^2 cfu/g και οι Ζύμες – Μύκητες από 10^4 έως 1,1 * 10^7 cfu/g με μ.ο. 66 * 10^4 cfu/g.

Οι Kiebre - Toe *et al.* (2003) μελέτησαν σαλιγκάρια εκτροφής από τρεις φάρμες της Γαλλίας σε διαφορετικά στάδια της ανάπτυξής τους. Από τα αποτελέσματά τους διαπιστώθηκε ότι οι συγκεντρώσεις των ειδών που αποτελούσαν την ΟΜΧ μεταβάλλονταν από στάδιο σε στάδιο. Συγκεκριμένα ο αριθμός των *Enterobacteriaceae* και των *Aeromonadaceae* ήταν 62 % και 25 % αντίστοιχα στα νεαρά σαλιγκάρια και άλλαζε λίγους μήνες μετά στο 80 % και 7 % αντίστοιχα. Οι μέσοι όροι των βακτηρίων της ΟΜΧ που καταμετρήθηκαν στα σώματα των σαλιγκαριών ηλικίας 6 – 7 μηνών της κάθε φάρμας ήταν 4,2 * 10^6 cfu/g, 2,9 * 10^6 cfu/g και 9,1 * 10^6 και τα εντεροβακτήρια 4,2 cfu/g ,1,3 * 10^6 cfu/g και 7,6 * 10^6 cfu/g για την πρώτη, τη δεύτερη και τη τρίτη φάρμα, αντίστοιχα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Οι Temelli *et al.* (2006) εξέτασαν σαλιγκάρια του είδους *H. pomatia* στην Τουρκία και βρήκαν ότι ο μέσος όρος της ΟΜΧ στα ζωντανά σαλιγκάρια τα οποία προορίζονταν για περαιτέρω επεξεργασία ήταν ίσος με 6,85 log cfu/g, τα βακτήρια της οικογένειας *Enterobacteriaceae* 4,84 log cfu/g, *E.coli* 2,56 log MPN/g και Ζύμες – Μύκητες 5,63 log cfu/g.

Η σύγκριση με τα αποτελέσματα των προαναφερθέντων ερευνητών είναι εφικτή εφόσον στην παρούσα εργασία μελετήθηκε το μικροβιακό φορτίο ολόκληρων των σωμάτων των σαλιγκαριών με τη διαφορά ότι ήταν χωρισμένο σε σπλάχνα και πόδι. Έτσι, η σύγκριση πραγματοποιήθηκε με τους μέσους όρους που προέκυψαν από το άθροισμα σπλάχνων και πόδι των ζώων.

Σύμφωνα με τις τιμές που προέκυψαν από την παραπάνω αναγωγή οι μέσοι όροι για τα ζώα της παρούσης εργασίας κυμαίνονταν από 10^6 έως 10^8 cfu/g για τα βακτήρια της ΟΜΧ, από 10^6 έως 10^7 cfu/g για την οικογένεια *Enterobacteriaceae,* 0 έως 10^5 cfu/g και από 10^4 έως 10^5 cfu/g για τους πληθυσμούς Ζυμών – Μυκήτων. Τα αποτελέσματα της ΟΜΧ φαίνεται να συμφωνούν με αυτά των Cantoni *et al.* (1976), Pisanu and Leoni (1980), Tiecco *et al.* (1980), Τσιγουρή (1983), Kiebre- Toe *et al.* (2003) και Temelli *et al.* (2006), της οικογένειας *Enterobacteriaceae* μόνο με τους Kiebre- Toe *et al.* (2003), οι πληθυσμοί Ζυμών – Μυκήτων με τους Τσιγουρή (1983) και Temelli *et al.* (2006), ενώ όσον αφορά τα βακτήρια *E.coli* φαίνεται ότι οι πληθυσμοί που καταμετρήθηκαν στα ζώα που προέρχονταν από το φυσικό περιβάλλον διέθεταν υψηλότερους αριθμούς των βακτηρίων αυτών από των άλλων ερευνητών (Cantoni *et al.,* 1976: Pisanu and Leoni, 1980: Τσιγουρή, 1983:

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Temelli *et al,.* 2006), ενώ τα αποτελέσματα από αυτά που προέρχονταν από εκτροφή συμφωνούσαν με τους προαναφερθέντες.

Οι διαφορές που προέκυψαν μεταξύ των σαλιγκαριών *H. aspersa* και *H. lucorum*, του άγριου *H. aspersa* με το εκτροφής καθώς και τα αποτελέσματα όλων αυτών σε σύγκριση με άλλων ερευνητών οφείλονται:

α) στις διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες κάθε περιοχής (Andrews *et al.,* 1975: Emanuel *et al.,* 1975: Cantoni *et al.,* 1976: Rossi and Virgiani, 1977: Parisi – Bianco, 1978: Caracappa *et al.,* 1980: Gallo and Caracappa, 1980: Pisanu and Leoni, 1980: Tiecco *et al.*,1980)

β) στις διαφορετικές πηγές τροφής - μόλυνση από την τροφή (Andrews *et al.,* 1975: Caracappa *et al.,* 1980: Τσιγουρή, 1983)

γ) στο περιβάλλον διαβίωσης (Parisi – Bianco, 1978: Tiecco *et al.,* 1980: Τσιγουρή, 1983: Kiebre- Toe *et al.*, 2003: Charrier *et al*., 2006)

δ) στην παρουσία ή απουσία επιφράγματος (Gallo and Caracappa, 1980: Parisi *et al.*, 1981)

ε) στα αναπτυξιακά στάδια που βρίσκονταν (Kiebre-Toe *et al.*, 2003)

στ) στο πλύσιμο με νερό (Gallo and Caracappa, 1980: Pisanu and Leoni, 1980)

ζ) στην εκκένωση του πεπτικού (Tiecco *et al.*, 1980).

Η μόλυνση των σαλιγκαριών από το περιβάλλον και την τροφή τους είναι αρκετά πιθανή εφόσον είναι είδος φυτοφάγο το οποίο τρέφεται κυρίως με οργανική ύλη που υπάρχει στο έδαφος, με τους φλοιούς των δέντρων και με λαχανικά και ταυτόχρονα αποτελεί παράσιτο αρκετών ειδών λαχανικών, δέντρων, σιτηρών, θάμνων και λουλουδιών (Dekle and Fasulo, 2002).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Ειδικότερα, οι Caracappa *et al.* (1980) απέδειξαν ότι τα σαλιγκάρια μολύνονται με σαλμονέλες από την τροφή τους.

Οι Gallo and Caracappa (1980) αφού χώρισαν τα δείγματά τους σε τρεις ομάδες, η πρώτη ομάδα αποτελούνταν από ζώα με επίφραγμα, η δεύτερη χωρίς επίφραγμα και η τρίτη με ζώα χωρίς επίφραγμα αλλά τα οποία ξεπλένονταν πολύ καλά με απιονισμένο νερό πριν εξετασθούν και ενώ βούρτσιζαν και ξέπλεναν πολύ καλά τα κελύφη όλων των σαλιγκαριών και των τριών ομάδων με νερό βρύσης, έδειξαν ότι τα ζώα με επίφραγμα περιείχαν αριθμούς της ΟΜΧ 2 με 3 λογαρίθμους χαμηλότερους από αυτά που δεν είχαν σχηματίσει επίφραγμα και ο πληθυσμός τους μειώνονταν επιπλέον 1 με 2 λογαρίθμους όταν τα σώματά τους ξεπλένονταν με απιονισμένο νερό.

Τα αποτελέσματα των Pisanu and Leoni (1980) έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις των μικροοργανισμών που μελέτησαν αφού έπλυναν πρώτα τα ζώα με νερό ήταν χαμηλότερες από των άλλων ερευνητών οι οποίοι δεν τα χρησιμοποίησαν νερό πριν την εξέταση.

Οι Parisi *et al.* (1981) έδειξαν ότι τα σαλιγκάρια με άθικτο καλοκαιρινό επίφραγμα παρουσίαζαν μια ικανοποιητική εικόνα από άποψη μικροβιακού φορτίου αφού οι πληθυσμοί της ΟΜΧ που εξέτασαν ήταν αρκετά χαμηλοί ενώ κολοβακτηριοειδή δεν ανιχνεύθηκαν.

Επίσης, μεγάλο ρόλο στο μικροβιακό φορτίο των ζωντανών σαλιγκαριών παίζει η εκκένωση του πεπτικού τους σωλήνα. Σύμφωνα με τους Tiecco *et al.* (1980) το μικροβιακό φορτίο των ζώων που βρίσκονται σε πλήρη δραστηριότητα ελαττώνεται όταν αφεθούν να κενώσουν τον πεπτικό τους σωλήνα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Οι Kiebre-Toe *et al.* (2003) μελέτησαν τη μικροβιακή χλωρίδα σαλιγκαριών του είδους *H. aspersa* τα οποία προέρχονταν από τρεις μονάδες εκτροφής στη Γαλλία και παρατήρησαν την ύπαρξη υψηλού πληθυσμού βακτηρίων κυρίως των οικογενειών Enterobacteriaceae και Aeromonadaceae, στα νεαρά στάδια ανάπτυξης του ζώου. Το μικροβιακό φορτίο μεταβάλλονταν στις διαφορετικές φάσεις του βιολογικού τους κύκλου.

Από όλα τα παραπάνω φαίνεται ότι ο αριθμός και το είδος των μικροοργανισμών που ανευρίσκονται στα ζωντανά σαλιγκάρια εξαρτάται από το είδος και τον πληθυσμό της μικροβιακής χλωρίδας του περιβάλλοντος στο οποίο ζουν, από τη φάση του βιολογικού τους κύκλου και από τις συνθήκες υγιεινής που επικρατούν κατά τη συλλογή, τη μεταφορά και την εμπορία τους (Τσιγουρή, 1983).

4.2 Μικροβιακό φορτίο εκτρεφόμενων σαλιγκαριών κατά τα στάδια επεξεργασίας

Η μικροβιολογική εξέταση των εκτρεφόμενων ζωντανών σαλιγκαριών κατά τα στάδια επεξεργασίας έδειξε ότι οι πληθυσμοί όλων των μικροοργανισμών μειώνονται ικανοποιητικά με την εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας ενώ το μόνο στάδιο κατά το οποίο παρατηρήθηκε αύξηση των μ/ο ήταν αυτό της αποχώρησης του κελύφους και των σπλάχνων.

Συγκεκριμένα, κατά το στάδιο της παραλαβής η ΟΜΧ σε σπλάχνα και πόδι ήταν 8,69 και 7,10 log cfu/g αντίστοιχα και ο πληθυσμός της μειώθηκε αρκετά στο στάδιο της άτμισης (περίπου 5,5 λογάριθμους για τα σπλάχνα και περισσότερο από 5 λογάριθμους για το πόδι). Μετά την αποχώρηση του

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

κελύφους και των σπλάχνων η συγκέντρωση στο πόδι αυξήθηκε στους 2,26 log cfu/g και στη συνέχεια, με το στάδιο του βρασμού, ο πληθυσμός της μειώθηκε στους 2,10 log cfu/g. Η τελική αυτή τιμή των 2,10 log cfu/g δείχνει ότι το μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού της ΟΜΧ που μετρήθηκε στο προηγούμενο στάδιο τελικά επιβίωσε έπειτα από βρασμό διάρκειας 20 λεπτών. Όμως, όπως είναι γνωστό, κανένα βακτήριο δεν είναι δυνατό να επιβιώσει ως βλαστική μορφή υπό τις συγκεκριμένες συνθήκες (Adams and Moss, 1995). Επομένως, οι μορφές αυτές που επιβίωσαν ήταν πιθανότατα οι σπόροι των σπορογόνων βακτηρίων οι οποίοι απαιτούν υψηλότερες θερμοκρασίες για την εξάλειψή τους (έως και 121^0C για 15 λεπτά).

Παρόμοια με την ΟΜΧ μειώθηκε ο αριθμός των εντεροβακτηριδίων και των ζυμών και μυκήτων στο στάδιο της άτμισης. Μετά τη λήξη του επόμενου σταδίου (της αποχώρησης του κελύφους και των σπλάχνων) μόνο ο αριθμός των εντεροβακτηρίων αυξήθηκε ενώ ο αριθμός των ζυμών και μυκήτων παρέμενε κάτω του ορίου ανίχνευσης των 2,00 log cfu/g. Τέλος, στο στάδιο του βρασμού ο αριθμός των εντεροβακτηρίων μειώθηκε στους 1,50 log cfu/g. Η επιβίωση στελεχών της οικογένειας των εντεροβακτηρίων όμως είναι αδύνατη έπειτα από τον βρασμό των ζώων για 20 λεπτά. Επομένως, οι μορφές αυτές των μ/ο που επιβίωσαν πιθανόν να ήταν σπόροι από βακτήρια τα οποία όφειλαν την ύπαρξή τους σε επιμόλυνση κατά τη διάρκεια του προηγούμενου σταδίου (της αποχώρησης του κελύφους και των σπλάχνων) και καταμετρήθηκαν στο θρεπτικό μέσο.

Σύμφωνα με τους Frazier and Westhoff (1988) και τους Dubal *et al.* (2004) η σάρκα των υγιή ζώων, αν και θεωρείται απαλλαγμένη από

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

μικροοργανισμούς, στο στάδιο της αποχώρησης του κελύφους και των σπλάχνων μπορεί να μολυνθεί από το δέρμα των ζώων, τα σκεύη και εργαλεία των τροφίμων, από το προσωπικό, το νερό και τον αέρα. Έτσι, για την αποφυγή επιμολύνσεων και για την παραγωγή τροφίμων υψηλής υγιεινής στάθμης έχουν προταθεί διάφορες μέθοδοι που αφορούν την διαχείριση της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων όπως (Huss, 2004) :

• Good Hygienic Practices (GHP) / Good Manufacturing Practice (GMP)

• Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP)

• Quality Control (QC)

• Quality Assurance (QA) / Quality Management (QM) - ISO standards

• Quality Systems

• Total Quality Management (TQM).

Τρεις από αυτές τις μεθόδους, η Ορθή Υγιεινή Πρακτική - Good Hygienic Practices (GHP), η Ορθή Βιομηχανική Πρακτική - Good Manufacturing Practice (GMP) και η εφαρμογή του Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) είναι υποχρεωτικές από το νόμο. Η Ορθή Βιομηχανική Πρακτική, όπως ο κατάλληλος μηχανολογικός εξοπλισμός, η χρησιμοποίηση των κατάλληλων πρώτων υλών, η γρήγορη και προσεκτική διαδοχή των σταδίων, η τήρηση των κανόνων Ορθής Υγιεινής Πρακτικής από το προσωπικό καθώς και η τήρηση της Ορθής Βιομηχανικής Πρακτικής από τους αρμόδιους, η διατήρηση των τροφίμων στις κατάλληλες θερμοκρασίες, η σωστή μεταφορά και όλες οι ενέργειες που απαιτούνται ώστε το προϊόν να φτάσει ασφαλές στον καταναλωτή, διατηρεί την ποιοτική και υγιεινή αξία των τροφίμων και μειώνει τους κινδύνους για τη δημόσια υγεία (FAO/WHO, 2001).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Σύμφωνα με τον ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 ο οποίος περιλαμβάνει τα όρια cfu/g των μικροοργανισμών στα επεξεργασμένα μαλάκια, ο πληθυσμός του *E.coli* δεν πρέπει να ξεπερνά τα 10 cfu/g. Επίσης, σύμφωνα με την Απόφαση 93/51/ΕΟΚ η ΟΜΧ στα βρασμένα μαλάκια δεν πρέπει να ξεπερνά τα 10^5 cfu/g. Έτσι, τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης εργασίας φαίνεται να είναι ικανοποιητικά εφόσον οι συγκεντρώσεις των βακτηρίων που βρέθηκαν στα βρασμένα σαλιγκάρια (για ασφάλεια και ποιότητα) είναι κάτω των ορίων που ορίζει η Νομοθεσία.

Η μείωση του αριθμού της ΟΜΧ σε αποδεκτά σύμφωνα με την Νομοθεσία επίπεδα παίζει σημαντικό ρόλο διότι η ΟΜΧ αποτελεί σημαντικό δείκτη Υγιεινής και Ποιότητας των τροφίμων (Temelli *et al.,* 2006). Οι μικροοργανισμοί οι οποίοι ευθύνονται για την μικροβιακή αλλοίωση στα τρόφιμα είναι κυρίως αυτοί της αρχικής χλωρίδας του τροφίμου και αυτοί οι οποίοι προέρχονται από επιμόλυνση (Dubal *et al.,* 2004). Έτσι, με τη μείωση αυτή αυξάνονται αρκετά οι πιθανότητες για την προστασία της δημόσιας υγείας καθώς και η δυνατότητα συντήρησης του τροφίμου για όσο το δυνατό μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Jay, 1992). Σημαντική είναι και η μείωση των ζυμών – μυκήτων οι οποίες αποτελούν τμήμα της ΟΜΧ αλλά οφείλουν την παρουσία τους κυρίως σε επιπλέον επιμόλυνση κυρίως από τον αέρα και τις συνθήκες υγιεινής κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παρασκευής των τροφίμων (Huss, 1997).

Επίσης, η μείωση, σε αποδεκτά επίπεδα, των βακτηρίων της οικογένειας *Enterobacteriaceae* τα οποία αποτελούν τμήμα της ΟΜΧ, είναι πολύ σημαντική διότι η οικογένεια αυτή περιλαμβάνει τα συνολικά κολοβακτηριοειδή και το *E.coli*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

τα οποία χρησιμοποιούνται ως μικροοργανισμοί δείκτες για την ανίχνευση κοπρανώδους μόλυνσης και για την πιθανή παρουσία παθογόνων μικροβίων στα τρόφιμα (Cakir *et al.,* 2002).

Το *E.coli* είναι σήμερα ο πιο κοινός προαιρετικά αναερόβιος οργανισμός στον εντερικό σωλήνα του ανθρώπου και των θερμόαιμων ζώων και αποτελεί πιο εξειδικευμένο δείκτη κοπρανώδους μόλυνσης των τροφίμων από τα κολοβακτηριοειδή κοπράνων. Η παρουσία του στα τρόφιμα μπορεί να αντιμετωπιστεί με θερμική επεξεργασία στους 68.3^0 C για 15 min (Temelli *et al.,* 2006). Όμως, στη συγκεκριμένη μελέτη, βακτήρια αυτού του είδους ανιχνεύθηκαν μόνο στα νωπά σαλιγκάρια τα οποία προέρχονταν από το φυσικό περιβάλλον. Όσον αφορά τα ζώα τα οποία προέρχονταν από την εκτροφή και τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για μεταποίηση δεν καταμετρήθηκε καμία αποικία αυτών των βακτηρίων (τόσο στα νωπά όσο και στα βρασμένα) διότι ο αριθμός τους βρίσκονταν κάτω του ορίου ανίχνευσης των 2 λογαρίθμων. Το αποτέλεσμα αυτό έχει δύο εκδοχές, είτε τα ζώα αυτά διέθεταν βακτήρια του είδους *E.coli* ο αριθμός των οποίων βρίσκονταν κάτω του ορίου ανίχνευσης των 2 λογαρίθμων είτε δεν διέθεταν καθόλου από αυτά τα βακτήρια. Εάν επικρατεί η δεύτερη εκδοχή, το βασικό συμπέρασμα το οποίο διεξάγεται είναι ότι το *E.coli* δεν αποτελεί φυσική χλωρίδα του εντερικού σωλήνα των σαλιγκαριών αλλά όταν ανιχνευθεί σε αυτά προέρχεται αποκλειστικά από επιμόλυνση. Δεν υπάρχει κάτι ανάλογο στην παγκόσμια βιβλιογραφία κι έτσι περαιτέρω έρευνες για την παραδοχή ή απόρριψη αυτού του συμπεράσματος είναι αναγκαίες.

Όσον αφορά τη σύγκριση με άλλους ερευνητές, οι Temelli *et al.* (2006) βρήκαν ότι οι πληθυσμοί των ΟΜΧ, οικογένειας *Enterobacteriaceae*, *E.coli* και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

ζυμών – μυκήτων σε σαλιγκάρια του είδους *H. pomatia* κατά το στάδιο της παραλαβής ήταν 6,85 log cfu/g, 4,84 log cfu/g, 2,56 log MPN/g και 5,63 log cfu/g αντίστοιχα. Στην έρευνά τους πραγματοποίησαν δύο βρασμούς και οι τιμές που βρήκαν μετά τον δεύτερο βρασμό είχαν μειωθεί στους 1,52 log cfu/g, 0,47 log cfu/g, <1,0 log cfu/g και <2,0 log cfu/g αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας φαίνεται να έχουν ελάχιστα υψηλότερες τιμές στο στάδιο του βρασμού σε σύγκριση με τους παραπάνω και μπορεί να θεωρηθεί ότι τα αποτελέσματα των δύο ερευνών κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα.

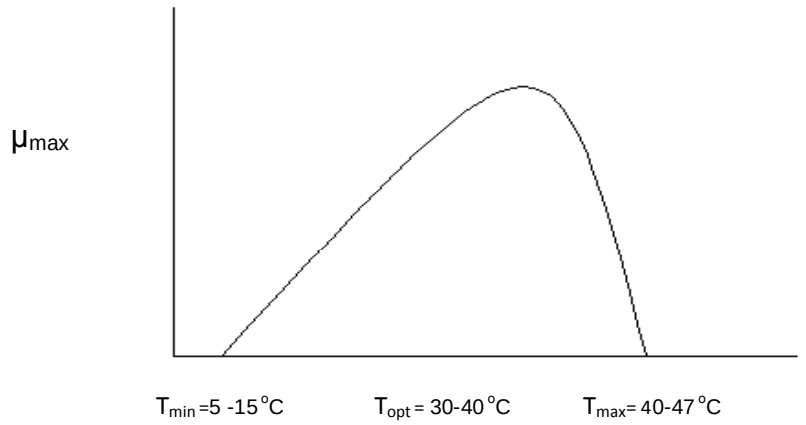
4.3 Μικροβιακό φορτίο των μεταποιημένων αποθηκευμένων υπό ψύξη και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σαλιγκαριών

Τα αποθηκευμένα υπό ψύξη βρασμένα πόδια διατηρούσαν χαμηλό το φορτίο της ΟΜΧ για αρκετές ημέρες σε σύγκριση με την αποθήκευση στους 20°C. Συγκεκριμένα, στους 5°C διέθεταν αρχικό φορτίο ΟΜΧ 2,10±0,18 log cfu/g το οποίο παρέμενε σχεδόν σταθερό για έξι με επτά ημέρες αργότερα ενώ τα πόδια που βρίσκονταν στους 20°C (με αρχικό φορτίο ΟΜΧ 2,10±0,18 log cfu/g) έφτασαν τους 7,02 log cfu/g πέντε ημέρες μετά την αποθήκευσή τους. Έξι μέρες μετά τον βρασμό το μικροβιακό φορτίο των ποδιών που βρίσκονταν στους 20 ^{o}C έφτασε τους 7,21 log cfu/g ενώ την ίδια χρονική στιγμή ο πληθυσμός της ΟΜΧ των υπό ψύξη ποδιών μόλις άρχισε να σημειώνει άνοδο φτάνοντας τους 3,00 log cfu/g.

Σύμφωνα με τους Adams και Moss (1995) η ανάπτυξη των μεσόφιλων βακτηρίων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (20°C με 25 ^{o}C) ευνοείται σε σχέση

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

με τους 5°C διότι είναι πιο κοντά στη βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξής τους ενώ οι 5°C αποτελούν την χαμηλότερη θερμοκρασία ανάπτυξής τους.



Σχήμα 4.1: Εξάρτηση του ρυθμού ανάπτυξης από τη θερμοκρασία (Adams and Moss, 1995).

Έτσι, η ανάπτυξη των μικροοργανισμών στα αποθηκευμένα υπό ψύξη ζώα ευνοείται λιγότερο από τα αποθηκευμένα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Αρκετά μεσόφιλα βακτήρια καθώς και της οικογένειας *Enterobacteriaceae* ανήκουν στα Gram αρνητικά βακτήρια για τα οποία είναι γνωστό ότι είναι ευαίσθητα σε θερμοκρασίες ψύξης (Κοτζεκίδου – Ρουκά, 2000). Οπότε, η αποθήκευση στους 5°C καθυστερεί την ανάπτυξη αυτών των βακτηρίων και η αλλοίωση επιτυγχάνεται όταν τα βακτήρια φθάσουν σε σχετικά υψηλούς αριθμούς (10^{7}- 10^{8} cfu/g) (Huis in't Veld, 1996).

Δεν βρέθηκαν ανάλογες έρευνες για να είναι δυνατή η σύγκριση αυτών των αποτελεσμάτων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τέλος, από την παρούσα εργασία συμπερασματικά διαπιστώνεται ότι:

α) Τα σαλιγκάρια που προέρχονται από το φυσικό περιβάλλον διαθέτουν υψηλότερους πληθυσμούς *E. coli* από αυτά της εκτροφής τα οποία είτε δεν έχουν καθόλου βακτήρια αυτού του είδους είτε ο αριθμός τους είναι μικρός και βρίσκεται κάτω του ορίου ανίχνευσης των 2 λογαρίθμων.

β) Ο κίνδυνος μόλυνσης από παθογόνα είναι μεγαλύτερος από την κατανάλωση σαλιγκαριών που προέρχονται από το φυσικό περιβάλλον από αυτά της εκτροφής.

γ) Η κατάλληλη θερμική επεξεργασία μειώνει ικανοποιητικά τους πληθυσμούς των βακτηρίων οι οποίοι αποτελούν δείκτες ποιότητας και ασφάλειας στα τρόφιμα και περαιτέρω μειώνεται ο κίνδυνος της μόλυνσης από παθογόνα.

δ) Η βιομηχανική πρακτική (σκεύη και εργαλεία τροφίμων, προσωπικό, αέρας) αυξάνει τους πληθυσμούς των δεικτών.

ε) Η τήρηση των κανόνων της Ορθής Βιομηχανικής Πρακτικής είναι δυνατόν να διατηρεί την ποιοτική και υγιεινή αξία των τροφίμων και να μειώνει τους κινδύνους για τη δημόσια υγεία.

στ) Η συντήρηση στους 5^0 C των θερμικά επεξεργασμένων σαλιγκαριών είναι δυνατή μέχρι και 7 ημέρες μετά όσον αφορά τη συγκέντρωση της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

5.1 ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- **Adak G.K., Meakins S.M., Yip H., Lopman B.A. and O'Brien S.J. (2005).** Disease risks from foods, England and Wales, 1996–2000. *Emerging Infectious Diseases,* **11:** 365–372.
- **Adams M.R. and Moss M.O. (1995).** Food Microbiology. The Royal Society of Chemistry.
- **Anaya I., Aguirrezabal A., Ventura M., Comellas L. and Agut M. (2008).** Survivability of *Salmonella* cells in popcorn after microwave oven and conventional cooking. *Microbiological Research*, **163:** 73—79.
- **Andrews W.H., Wilson C.R., Romero A. and Poelma P.L. (1975).** The Moroccan Food Snail, *Helix aspersa*, as a Source of *Salmonella. APPLIED MICROBIOLOGY, Mar.*, **3:** 328-330.
- **AOAC International (1995).** Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC International, Arlington, VA. Method 991.15.
- **Arthur L., Jones S., Fabri M. and Odumeru J.** (**2007).** Microbial survey of selected Ontario-grown fresh fruits and vegetables. *International Association for Food Protection,* Vol. 70, **12:** 2864-2867**.**
- **Begg S. and Mcinness P. (2003).** Farming Edible Snails - Lessons from Italy. Publication No. 03/137, *Printed by Union Offset Printing, Canberra, Australia*: 1-13.
- **Biannic M. and Dacuzan J. (1993).** COLD-HARDINESS AND FREEZING IN THE LAND SNAIL *HELIX ASPERSA* MULLER (GASTROPODA, PULMONATA). *Camp. Eiocbem. Physiol.,* ***3:*** *503-506.*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- **Bredie W. L. P. and Boer E. (1992).** Evaluation of the MPN, Anderson-Baird-Parker, Petrifilm *E. coli* and Fluorocult ECD method for enumeration of *Escherichia coli* in foods of animal origin. *International Journal of Food Microbiology,* Elsevier Science Publishers B.V., **16:** 197- 208.
- **Brock T.D., Brock K.M. and Ward D.M. (1986).** Basic Microbiology with applications. 3th edition. *Prentice Hall.* New Jersey, USA: 310-500.
- **Buckalew D. W., Hartman L. J., Grimsley G. A., Martin A. E. and Register K. M. (2006)**. A long-term study comparing membrane filtration with Colilertw defined substrates in detecting fecal coliforms and *Escherichia coli* in natural waters. *Journal of Environmental Management,* **80:** 191–197.
- **Cakir I., Douan H. B., Bappinar E., Keven F. and Halkman A. K. (2002).** The Need for Confirmation in Coliform and *E. coli* Enumeration in Foods. *Turk J Vet Anim Sci*., **26:** 1049-1053.
- **Cantoni C., Cattaneo P., Marazza V. and Persiani G. (1976).** Aspetti igienico – sanitary e normativi delle chiocciole destinate al consume. Quaderno del 1° Centro di Elicicoltura Borgo S.D., **6:** 25.
- **Caracappa S., Gallo L., Battaglia G. and Zavanella M. (1980).** Infezione sperimentale di chiocciole con ceppi di Salmonelle. Quaderni di Elicicoltura, **9:** 59 – 60.
- **Chevalier, H. (1977).** La variabilite de l’escargot Petit- Gris *Helix aspersa* Müller. Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris, Zoologie, **311:** 425-442.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- **Cowan S.T. and Steel K.J. (1993).** In: Barrow, G.I. and Feltham, R.K.A. (Eds.), Manual for the Identification of Medical Bacteria. *Cambridge Univ. Press,* UK: 128– 148.
- **Dubal Z.B. , Paturkar A.M. , Waskar V.S. , Zende R.J. , Latha C., Rawool D.B. and Kadam M. M. (2004)**. Effect of food grade organic acids on inoculated *S. aureus, L. monocytogenes, E. coli* and *S. Typhimurium* in sheep/goat meat stored at refrigeration temperature. *Meat Science,* **66:** 817–821.
- **Eberlein, V. (2007).** Hygienic status of camel milk in Dubai (United Arab Emirates) under two different milking management systems. Thesis for the attainment of the title of Doctor in Veterinary Medicine from the Veterinary Faculty Ludwig-Maximilians-Universität München. Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs der Tierärztlichen Fakultät der Universität, München.
- **El-Samahy S.K., Youssef B. M., Askar A.A. and Swailam H. M. M.** (2000). MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF IRRADIATED MANGO. *Journal of Food Safety*, **20:** 139-156.
- **Finneya M., Smullena J., Fostera H.A., Brokxb S. and Storey D.M. (2003).** Evaluation of Chromocult coliform agar for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae from faecal samples from healthy subjects. *Journal of Microbiological Methods,* **54:** 353– 358.
- **Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Health Organization (FAO/ WHO) (2001).** Codex Alimentarius

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Commission. Food Hygiene - Basic Texts - Second Edition Joint Food Standards Programme, Rome.

- **Frahm E. and Obst U. (2003).** Application of the fluorogenic probe technique (TaqMan PCR) to the detection of *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* in water samples. *Journal of Microbiological Methods*, **52:** 123-131.
- **Reuter, G. (1992).** Culture media for enterococci and group D-streptococci. *International Journal of Food Microbiology,* **17:** 101- 111.
- **Gallo L. and Caracappa S. (1980).** Carica batterica totale delle chiocciole eduli in Sicilia. Quaderni di Elicicoltura, **9:** 61 - 62.
- **Geissler K., Manafi M., Amoro I. and Alonso J.L. (2000).** Quantitative determination of total coliforms and *Escherichia coli* in marine waters with chromogenic and fluorogenic media. *Journal of Applied Microbiology*, **88:** 280–285.
- **Gomot, A. (1998).** BIOCHEMICAL COMPOSITION OF *HELIX* SNAILS: INFLUENCE OF GENETIC AND PHYSIOLOGICAL FACTORS. *J. Moll Stud.,* **64 :** 173-181.
- **Gould, G.W. (1989).** Mechanisms of Action of Food Preservation Procedures. *Elsevier Science Publishers,* Essex, UK.
- **Gounadaki A.S., Skandamisa, P.N., Drosinos E.H. and Nychas G-J.E. (2008).** Microbial ecology of food contact surfaces and products of small-scale facilities producing traditional sausages. *Food Microbiology,* **25:** 313–323.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- **Gram L. and Huss H.H** (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology,* **33:** 121-137.
- **Grandi A. and Panella F. (1978).** Composizione chimica e qualita proteica delle carni di *Helix aspersa* Mull e di *Helix lucorum* Mull. Quaderno del 1° Centro di Elicicoltura Borgo S.D., **7:** 113 - 122.
- **Huis in't Veld, J.H.J. (1996).** Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology,* **33:** 1-18.
- **Huss H.H., Reilly A. and Karim Ben Embarek P. (2000).** Prevention and control of hazard in seafood. *Food control*, **11:** 149-156.
- **Huss, H.H. (1993)**. *Assurance of seafood quality*. Food Agriculture Organisation (FAO). Fisheries Technical Paper **334**. FAO, Rome, Italy.
- **Huss, H.H. (1995).** *Quality and quality changes in fresh fish*. Food Agriculture Organisation (FAO). Fisheries Technical Paper **348**. FAO, Rome, Italy.
- **Huss, H.H. (1997).** Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood. *Food Control*, **8:** 91-98.
- **Huss, H.H. (2004).** Assessment and management of seafood safety and quaity quality. Food Agriculture Organisation (FAO). FAO, Rome, Italy.
- **Iacumin L., Cocolin L., Cantoni C. and Comi G. (2007).** Preliminary analysis of the lipase gene (gehM) expression of Staphylococcus xylosus in vitro and during fermentation of naturally fermented sausages (in situ). *International Association for Food Protection,* Vol. 70, **11:** 2665-2669.
- **International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (1986a).** Microorganisms in Foods: 1. Their Significance

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

and Methods of Enumeration, 2nd ed. University of Toronto Press, Toronto, Ontario.

- **International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (1986b).** Microorganisms in Foods: 2. Sampling for Microbiological Analysis Principles and Specific Applications. 2rd ed., University of Toronto Press, Toronto, Ontario.
- **Jay, J.M. (1992).** Indicators of food microbial quality and safety. Modern Food Microbiology, 4th ed. Chapman & Hall, New York: 413– 433.
- **Jay, J.M. (2005).** 'Modern Food Microbiology', 7rd ed., Van Nostrand Reinhold, New York, USA: 471-491.
- **Jess S. and Marks R.J. (1998).** Effect of temperature and photoperiod on growth and reproduction of *Helix aspersa* var. *maxima. Cambridge University Press. Journal of Agricultural Science*, *Cambridge*, **130:** 367-372.
- **Jordan E., Egan J., Dullea C., Ward J., McGillicuddy K., Murray G., Murphy A., Bradshaw B., Leonard N., Rafter P. and McDowell S. (2006).** *Salmonella* surveillance in raw and cooked meat and meat products in the Republic of Ireland from 2002 to 2004. *International Journal of Food Microbiology,* **112:** 66–70.
- **Kaper J. B., Nataro J. P. and Mobley H.L.T. (2004).** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol,* **2:** 123 – 140.
- **Kiebre-Toe M.B., Borges E., Maurin F., Richard Y. and Kodjo A. (2003).** Etude de la flore bactérienne aérobie à Gram négatif de

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

l'escargot d'élevage (*Helix aspersa*). *Revue Méd. Vét.,* **154**, **10 :** 605-610.

- **Lazaridou-Dimitriadou M., Kattoulas M. and Staikou A. (1983).** Searching for the Factors that Provoke Differences in Size and Weight of Snails (*Helix aspersa* Müller) from two Different Populations, One from the Island of Crete and the Other from Peloponnesos (Greece). *J. Mollus. Stud.,* **49:** 89-93.
- **Lazaridou-Dimitriadou M. and Kattoulas M. E. (1985)**. Edible and Commercialized Snails of Greece- Heliciculture. *Haliotis,* **11:** 129–137.
- **Metaxopoulos J., Kritikos D. and Drosinos E.H. (2003).** Examination of microbiological parameters relevant to the implementation of GHP and HACCP system in Greek meat industry in the production of cooked sausages and cooked cured meat products. *Food Control*, **14:** 323–332.
- **Miletic I., Miric M., Lalic Z. and Sobajic S. (1991).** Composition of Lipids and Proteins of Several Species of Molluscs, Marine and Terrestrial, from the Adriatic Sea and Serbia. *Food Chemistry,* **41:** 303-308.
- **Milinska M.C, Padrea R.G., Hayashib C., Oliveiraa C.C., Visentainera J.V., Evela´ zio de Souzaa N. and Matsushita M. (2006).** Effects of feed protein and lipid contents on fatty acid profile of snail (Helix aspersa maxima) meat. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19:** 212–216.
- **Mossel David A.A., Corry Janet E.L., Struijk Corry B. and Baird Rosamund M. (1995).** *Essentials of the Microbiology of Foods: A Textbook of Advanced Studies.* John Wiley & Sons, London.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- **Noble R.T., Moore D.F., Leecaster M.K., McGee C.D. and Weisberg S.B. (2003).** Comparison of total coliform, feacal coliform, and enterococcus bacterial indicator response for ocean recreational water quality testing. *Water Research*, **37:** 1637-1643.
- **Odumeru J.A. and Belvedere J. (2002).** Evaluation of the MicroFoss system for enumeration of total viable count, *Escherichia coli* and coliforms in ground beef. *Journal of Microbiological Methods,* **50 :** 33 – 38.
- **Ozogul Y., Ozogul F. and Ilkan Olgunoglu A. (2005).** Fatty acid profile and mineral content of the wild snail (*Helix pomatia*) from the region of the south of the Turkey**.** *Eur Food Res Technol*, **221**:547–549.
- **Parisi – Bianco E. (1978).** Isolamento di germi dai diversi apparati di Helix pomatia L. Quaderno del 1° Centro di Elicicoltura Borgo S.D., **7:** 143 - 147.
- **Peran L., Sierra S., Comalada M., Villoslada F.L., Bailon E., Nieto A., Concha A., Olivares M., Zarzuelo A., Xaus J. and Galvez J. (2007).** A comparative study of the preventative effects exerted by two probiotics, Lactobacillus reuteri and Lactobacillus fermentum, in the trinitrobenzenesulfonic acid model of rat colitis. *British Journal of Nutrition*, **97:** 96–103.
- **Pisanu S. and Leoni A. (1980).** Indagine batteriologica e aspetti idienico – sanitary delle lumache. Quaderno del 1° Centro di Elicicoltura Borgo S.D. **9:** 77 - 78.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- **Rembacken B.J., Snelling A.M., Hawkey P.M., Chalmers D.M. and Axon A.T. (1999)**. Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. *Lancet.*, **354:** 635–639.
- **Rodríguez A., Autio W.R. and McLandsborough L.A. (2007).** Effect of biofilm dryness on the transfer of Listeria monocytogenes biofilms grown on stainless steel to bologna and hard salami. *International Association for Food Protection,* Vol. 70, **11:** 2480-2484.
- **Rompré A., Servais P., Baudart J., De-Roubin R.M. and Patrick L.** (2002). Detection and Enumeration of coliforms in drinking water :current methods and emerging approaches. *Journal of Microbiological Methods*, **49:** 31-54.
- **Rooney R. and Wall P.G.** (2003). FOOD SAFETY. *Elsevier Science Ltd. All Rights Reserved,* UK *:* 2682-2688.
- **Ruby J.R., Zhu J. and Ingham S.C. (2007).** Using indicator bacteria and Salmonella test results from three large-scale beef abattoirs over an 18-month period to evaluate intervention system efficacy and plan carcass testing for Salmonella. *International Association for Food Protection.* Vol. 70, **12:** 2732-2740.
- **Samakupa A.P., Einarsson H. and Eyþórsdóttir A. (2003).** HYGIENE INDICATORS IN A FISH PROCESSING ESTABLISHMENT-A CASE STUDY IN A WHITE FISH PROCESSING ESTABLISHMENT. UNU-Fisheries Training Programme, UNITED NATIONS UNIVERSITY : 1 - 29.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- **Schmidt – Lorenz W. and Spillmann H. (1988).** Kritische Überlegungen zum Aussagewert von *E. coli*, Coliformen und Enterobacteriaceen in Lebensmitteln. *Arch. Lebensmittelhyg*, **39:** 3 – 15.
- **Selma M.V., Ibanez A.M., Cantwell M. and Suslow T. (2008).** Reduction by gaseous ozone of Salmonella and microbial flora associated with fresh-cut cantaloupe. *Food Microbiology,* **25:** 558– 565.
- **Serrano S., Medina L.M., Jurado M. and Jodral M. (2004).** Microbiological Quality of Terrestrial Gastropods Prepared for Human Consumption. *Journal of Food Protection, Vol. 67,* ***8:*** *1779–1781.*
- **Solem, A. (1978).** Classification of Land Mollusca. In Pulmonates. Vol. 2A pp 49-97. Systematic, Evolution and Ecology. (ed: by Fretter & Peake) *Academic Press,* New York.
- **Staikou A., Lazaridou-Dimitriadou, M. and Farmakis N. (1988).** Aspects of the life cycle, population dynamics, growth and secondary production of the edible snail *Helix lucorum* Linnaeus, 1758 (Gastropoda, Pulmonata) in Greece. *J. Mollus. Stud.,* **54:** 139 – 155.
- **Stanier R.Y., Ingraham J.L., Wheelis M.L. and Painter P.R. (1986).** The Microbial World, 5th ed. *Prentice Hall.* New Jersey, USA: 266-439.
- **Temelli S., Dokuzlu C. and Kurtulus Cem Sen M. (2006).** Determination of microbiological contamination sources during frozen snail meat processing stages. *Food Control*, **17:** 22–29.
- **Tiecco G., Corsalini D., Palermo D. and Brogno F. (1980).** Indagine sullo stato igienico delle chiocciole. Quaderno del 1° Centro di Elicicoltura Borgo S.D. **9:** 35- 38.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- **Tsola E. , E.H. Drosinos E.H. and Zoiopoulos P. (2008).** Impact of poultry slaughter house modernisation and updating of food safety management systems on the microbiological quality and safety of products. *Food Control,* **19:** 423–431.
- **Van Kessel J.S., Pachepsky Y.A., Shelton D.R. and Karns J.S. (2007).** Survival of *Escherichia coli* in cowpats in pasture and in laboratory conditions*. Journal of Applied Microbiology Environmental Microbial Safety Laboratory*, USDA-ARS, Beltsville, MD USA ORIGINAL ARTICLE.
- **Warnes S.L. and Keevil C. W. (2003).** Desk studies on feasibility of horizontal standard methods for detection of *Clostridium perfringens* and Enterococci. Project Horizontal, University of Southampton.
- **Yildirim M.Z. Kebapci U. and Gumus B.A. (2004).** Edible Snails (Terrestrial) of Turkey. Turk J. Zool., **28:** 329-335.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

5.2 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- **Βαφοπούλου – Μαστρογιαννάκη, Α. (2003).** ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ. Εκδόσεις ΖΗΤΗ. Θεσσαλονίκη: 280-283.
- **Γκόγκας Α., Χατζηιωάννου Μ., Εξαδάκτυλος Α., Λαζαρίδου Μ. και Νεοφύτου Χρ. (2005).** Μεταποίηση και εμπορία των εδώδιμων σαλιγκαριών στην Ελλάδα. 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο Υδροβιολογίας και Αλιείας, Βόλος.
- **Δεσποτοπούλου, Α. (2008). «**Καταγραφή του σταδίου του γεννητικού συστήματος του εδώδιμου σαλιγκαριού *Helix aspersa* που προερχόταν από μονάδα εκτροφής». ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ. Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.
- **Κοτζεκίδου – Ρουκά, Π. (2000).** Μικροβιολογία Τροφίμων. *Υπηρεσία Δημοσιευμάτων*, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη.
- **Λαζαρίδου – Δημητριάδου Μ. και Κάτουλας Μ. (1985).** Τα εδώδιμα και εμπορεύσιμα σαλιγκάρια της Ελλάδας – Σαλιγκαροτροφία. Θεσσαλονίκη : 22-35.
- **Λέκκα, Ε.Π. (2000)**. Μελέτη της επίδρασης ομομικτικών διασταυρώσεων στην αύξηση, στη γεννησιμότητα, στην ωρίμανση της γονάδας και στο ισοενζυμικό πολυμορφισμό σε άτομα 4 διαδοχικών γενεών του σαλιγκαριού *Helix aspersa* που υποβλήθηκαν σε χαλαρό βαθμό ομομιξίας. Τμήμα Βιολογίας Διπλωματική Εργασία. ΑΠΘ. Θεσσαλονίκη.
- **Μαρκάκης, Σ. (1990).** Το σαλιγκάρι και η εκτροφή του. *2η έκδοση. Χρονοπρές Α.Ε.,* Αθήνα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- **Μπλούκας, Ι.Σ (2004).** Επεξεργασία και Συντήρηση Τροφίμων. Εκδόσεις ΣΤΑΜΟΥΛΗ. Αθήνα: 25-31.
- **Παπαπετροπούλου Μ. και Μαυρίδου Α. (1995).** ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ - Βασικές Αρχές. *Εκδόσεις ΤΡΑΥΛΟΣ-ΚΩΣΤΑΡΑΚΗ*, Αθήνα.
- **Στάικου, Α.Ε. (1987).** Συνεισφορά στη μελέτη της οικοφυσιολογίας του γαστερόποδου πνευμονοφόρου *Helix lucorum* Linne". Διδακτορική Διατριβή Τμήμα Βιολογίας. Εργαστήριο Ζωολογίας. ΑΠΘ. Θεσσαλονίκη.
- **Τσιγουρή, Α.Δ.** (1983). Έρευνα της Υγιεινολογικής κατάστασης ζωντανών και επεξεργασμένων – καταψυγμένων σαλιγκαριών. Τομέας Υγιεινής και Τεχνολογίας Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Κτηνιατρικό τμήμα, Α.Π.Θ.
- **Χατζηιωάννου, Μ. (2007)**. Πανεπιστημιακές παραδόσεις του μαθήματος Εκτροφή Γαστεροπόδων Αμφιβίων και Ερπετών. Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.
- **Νεοφύτου Χρ. και Χατζηϊωάννου Μ. (2008).** Καθορισμός των ποιοτικών προδιαγραφών των εκτρεφόμενων σαλιγκαριών *Helix aspersa.* Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Πυθαγόρας ΙΙ. (Ε.Π.Ε.Α.Ε.Κ. ΙΙ).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

5.3 ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- **Απόφαση 96/340/ΕΚ (1996).** http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31996D0340:EL:HTML
- **Bank R.A., Falkner G. and Prschwitz T. (2001).** CLECOM Project-Checklist of the non-marine Molluscan Species-goup taxa of the States of Northern, Atlantic and Central Europe (CLECOM I): Heldia 4 (1/2) (2001). http://www.gnm.se/ gnm/clecom/eng clecom.asp?res=1024
- **Cheney S. (1988).** Raising Snails. United States Department of Agriculture. Maryland, The National Agricultural Library. http://www.totse. com/en/technology /science_technology/snails.html.
- **CLECOM (2001).** Check List of European Continental Mollusca. http://www.jaxshells.org/cornu.htm
- **Dekle G.W. and Fasulo T.R. (2002).** Florida Department of Agiculture and Consumer Services, Division of Plant Industry; and, University of Florida. Originally published as DPI Entomology Circular 83, Number: EENY-240. University of Florida. http://creatures.ifas.ufl.edu/misc/gastro /brown garden snail.htm
- **WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION) (2005b).** Drug-resistant *Salmonella*. *Fact Sheet*. No **139**. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/print.html
- **GBIF (2006):** The Global Biodiversity Information Facility: Data Portal Classification (based on Catalogue of Life Annual Checklist, http://newportal.gbif. org/ dataset/ provider/ 16.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

- **Murphy B. (2001).** Breeding and Growing Snails Commercially in Australia. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC Publication No. 00-188. http://www.rirdc. gov.au/reports/NAP/00-188.htm.
- **Overview of The European Community (1993).** Market Brief on Snails. ITC. Market Development. INTERNATIONAL TRADE CENTRE UNCTAD/WTO: 1-13. http://www. helixdelsur. com.ar/ web/ mercado europeo.pdf
- **Regulation(EC)No852/2004** http:www.lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:277:0 ttp:www.lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:277:00 07:0007:EL:PDF
- **Regulation(EC)No853/2004** http://www.eureuropa.eu/LexUriServ./LexUriServ.do?
- **Regulation(EC)No2073/2005** http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/site/el/consleg/2005/R/02
- **Thompson R. and Cheney S. (2007).** Raising Snails. U.S. Department of Agriculture Agricultural Research Service National Agricultural Library Beltsville, Maryland. http://www.nal.usda.gov/afsic/AFSIC_pubs/srb96-05.htm.
- **Thompson R. and Cheney S. (2005).** Raising Snails. Maryland U.S. Department of Agriculture. http://www.nal.usda.gov/afsic/ AFSICpubs/ srb96-05.htm.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

6. ABSTRACT

The aim of the present work was to determine the initial microbial load of live snails directed for processing and human consumption to what extent processing steps affect microbial survival and inactivation and finally the effect of surviving microbial load on shelf-life of cooked snails stored at refrigeration temperatures.

Live snails samples taken from various prossesing steps and microbial indicators such as Total Viable Counts (TVC) and *Escherichia coli* indicating quality and safety respectively were enumerated. The shelf-life of pre-cooked snails stored at 5oC was studied performing organoleptic assessment and TVC enumeration.

Statistical analysis showed that microbial population in intestines was higher than the one in bodies. TVC level of 8,4 log cfu/g was contained in the intestines of wild snails, *H. lucorum*, 7,6 log cfu/g in wild snails *H. aspersa* and 8,7 log cfu/g in breeding snails *H. aspersa.* Their bodies contained 7,0 log cfu/g, 6,1 και 7,1 log cfu/g respectively.

Enterobacteriaceae population constituted a great percentage of TVC. The highest value of Enterobacteriaceae occurred in intestines of the wild snail *H. lucorum* which was at the level of 7,9 log cfu/g and in bodies of breeding snails *H. aspersa* which was about to 5,6 log cfu/g. Additionally the highest value of *E. coli* was detected in intestines and bodies of wild snails *H. aspersa* and its population was in the level of 5,0 and 3,8 log cfu/g respectively. The lowest value was detected at breeding snails. Furthermore, the latter contained

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Yeast – Moulds value in the population level of 5,8 και 4,0 log cfu/g in intestines and body respectively.

Statistical analysis showed significant difference (P<0.05) between wild snails *H. aspersa* and *H. lucorum,* and also between *H. aspersa* wild and breeding ones.

The initial load of TVC, Enterobacteriaceae, *E.coli* and Yeast – Moulds in body and intestines of the breeding snails *H. aspersa* was decreased due to the thermal process. Specifically, during body handling, from collection to package, TVC was decreased from 7,1 to 1,4 log cfu/g, Enterobacteriaceae from 5,6 to 1,5 log cfu/g, *E. coli* was decreased under the detection limit of 2 log and Yeast – Moulds was decreased from 4,0 log cfu/g to under the detection limit of 2 logs.

The TVC of pre-cooked snail preserved at refrigeration temperature were low for several days in contrast with the product stored at 20 ^{o}C. TVC at 20 ^{o}C was inceased from the initial level of 2,1 log cfu/g to 4,54 log cfu/g in the first two days, while the sixth day it reached 7,2 log cfu/g. The very same day TVC of pre-cooked snail preserved at refrigeration temperature started to increase above the detection limit of 2 log cfu/g.

Snails directed for human concumption contain high level of bacterial populations in intestines and bodies which can be inactivated using appropriate thermal processin. Following the rules of Good Hygiene Practice (GHP) during processing and preserving it at low temperatures the final product to can be hygienic with extended shelf life .

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217

Key Words: *Helix aspersa*, *Helix lucorum,* microbial indicators, food-snail quality, food-snail hygiene and safety.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
23/04/2024 11:15:41 EEST - 18.117.196.217