

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ:
ΠΟΙΟΤΗΤΑ - ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΥΔΑΤΩΝ & ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ»**

ΘΕΜΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

**ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΣΑΛΑΤΩΝ ΑΠΟ ΜΕΤΑΠΟΙΗΜΕΝΑ
ΖΩΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΠΟΥ ΔΙΑΚΙΝΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΗ
ΕΝΟΤΗΤΑ ΛΑΡΙΣΑΣ**

ΜΑΡΙΑ ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ ΚΟΝΤΟΠΟΥΛΟΥ

ΚΤΗΝΙΑΤΡΟΣ ΑΠΘ

ΛΑΡΙΣΑ 2015

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ:
ΠΟΙΟΤΗΤΑ - ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΥΔΑΤΩΝ & ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ»**

ΘΕΜΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

**ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΣΑΛΑΤΩΝ ΑΠΟ ΜΕΤΑΠΟΙΗΜΕΝΑ
ΖΩΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΠΟΥ ΔΙΑΚΙΝΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΗ
ΕΝΟΤΗΤΑ ΛΑΡΙΣΑΣ**

ΜΑΡΙΑ ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ ΚΟΝΤΟΠΟΥΛΟΥ

**ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗΣ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ**

ΛΑΡΙΣΑ 2015

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Γκόβαρης Αλέξανδρος (Καθηγητής Υγιεινής Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Κτηνιατρικής, ΠΘ, Επιβλέπων)

Πεξαρά Ανδρεάνα (Επίκουρη Καθηγήτρια Υγιεινής Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Κτηνιατρικής, ΠΘ, Μέλος Τριμελούς Επιτροπής)

Σολωμάκος Νικόλαος (Επίκουρος Καθηγητής Υγιεινής Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Κτηνιατρικής, ΠΘ, Μέλος Τριμελούς Επιτροπής)

*Αφιερώνεται στην οικογένειά μου
& στους γονείς μου που με στήριξαν
σε αυτή την προσπάθειά μου*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός μελέτης

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η μελέτη της μικροβιολογικής κατάστασης των σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα (τυροσαλάτα, τζατζίκι, ουγγαρέζα, κηπουρού) που διατίθενται σε υπεραγορές και ταχυφαγεία στην Περιφερειακή Ενότητα Λάρισας της Περιφέρειας Θεσσαλίας.

Υλικά και Μέθοδοι

Σε χρονικό διάστημα 3 μηνών (Δεκέμβριος 2011 έως Φεβρουάριο 2012) συλλέχθηκαν συνολικά 52 δείγματα έτοιμων προς κατανάλωση σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα (13 δείγματα από τυροσαλάτα, τζατζίκι, ουγγαρέζα, κηπουρού), που πωλούνται χύμα σε ταχυφαγεία και υπεραγορές της Περιφερειακής Ενότητας Λάρισας. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε μικροβιολογική ανάλυση για να προσδιοριστούν οι πληθυσμοί της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (OMX), των *Enterobacteriaceae*, του *Staphylococcus aureus*, ανίχνευση και καταμέτρηση *Listeria monocytogenes* και η ανίχνευση *Salmonella* spp.

Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα της μικροβιολογικής εξέτασης των δειγμάτων για τις σαλάτες κηπουρού και ουγγαρέζας έδειξε ότι από τα 26 δείγματα σαλατών κηπουρού και ουγγαρέζας που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη τα 19 (73,1%) είχαν πληθυσμούς O.M.X. $< 10^6$ και τα 7 (26,9%) $> 10^6$ cfu/g. Επίσης, από τα 52 δείγματα που εξετάστηκαν, τα 47 (90,4%) είχαν πληθυσμούς εντεροβακτηριοειδών $< 10^2$ και 5 δείγματα τυροσαλάτας (9,6%) $> 10^2$ cfu/g (3 δείγματα από ταχυφαγεία και 2 από υπεραγορές). Σε κανένα από τα 52 δείγματα σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα που εξετάστηκαν δεν ανιχνεύθηκαν πληθυσμοί του *S. aureus* (όριο ανίχνευσης 10^2 cfu/g), ενώ επίσης δεν καταγράφηκε παρουσία της *Salmonella* spp. Τέλος, 2 από το σύνολο των 52 δειγμάτων (3,85%) που εξετάστηκαν βρέθηκαν θετικά στην παρουσία της *L. monocytogenes*. Το ένα δείγμα σαλάτας που απομονώθηκε το παθογόνο ήταν ουγγαρέζα και το άλλο δείγμα ήταν τυροσαλάτα, ενώ και τα δύο δείγματα προέρχονταν από ταχυφαγεία. Στα δύο αυτά δείγματα, τα οποία βρέθηκαν θετικά στην παρουσία του παθογόνου, οι πληθυσμοί της *L. monocytogenes* ήταν χαμηλότεροι από το κριτήριο

ασφαλείας (100 cfu/g) που ορίζεται από τη νομοθεσία για τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα. Επιπλέον, σε 2 δείγματα (1 ουγγαρέζα από υπεραγορά και 1 τυροσαλάτα από ταχυφαγείο) ανιχνεύθηκε η παρουσία *Listeria innocua*.

Σημαντικοί όροι: Τυροσαλάτα, Τζατζίκι, Ουγγαρέζα, Κηπουρού, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *S. aureus*, OMX, *Enterobacteriaceae*.

ABSTRACT

Aim

Aim of this work was to study the microbiological status of ready to eat (RTE) salads from processed animal origin products sold in supermarkets and fast food operations in the Regional Unit of Larissa, Region of Thessaly, Greece.

Materials and Methods

52 samples of RTE salads (13 samples of “tzatziki”-yogurt based, 13 samples of “cheesesalad”-cheese based, 13 samples of “hungarian”-mayonnaise based and 13 samples of “gardener’s”-mayonnaise based) were collected during a three months period (December 2011 to February 2012) from supermarkets and fast food operations in the Regional Unit of Larissa. Sampled RTE salads were transported on ice to the laboratory within a maximum of 3 h after sampling, stored at 4 °C overnight, and subsequently subjected to bacteriological analyses. All samples were analysed for *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, Total Viable Counts (TVC), *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*.

Results

Results showed that TVC $>10^6$ cfu/g were found in 7 (26.9%) of the 26 samples of hungarian and gardener’s salads, while *Enterobacteriaceae* were detected in 5 (9.6%) of samples analysed. *S. aureus* and *Salmonella* spp. were not detected in any of the examined samples. In 2 out of 52 samples (3.85%) *L. monocytogenes* was detected in 25 g. *L. monocytogenes* was detected in 3.85% (2/52) RTE salads samples, while none of the 2 positive samples (1 hungarian and 1 cheesesalad, both from fast food operations) failed to comply to the 100 cfu/g limit set out in EU Regulation 2073/2005.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	1
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	3
ΣΑΛΑΤΕΣ ΑΠΟ ΜΕΤΑΠΟΙΗΜΕΝΑ ΖΩΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ	3
2.1 ΚΥΡΙΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	3
2.1.1 ΜΑΓΙΟΝΕΖΑ	3
2.1.2 ΤΥΡΙ	4
2.1.3 ΓΙΑΟΥΡΤΙ	5
2.4 ΣΑΛΑΤΕΣ ΑΠΟ ΜΕΤΑΠΟΙΗΜΕΝΑ ΖΩΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ	6
2.4.1 ΤΥΡΟΣΑΛΑΤΑ	6
2.4.2. ΤΖΑΤΖΙΚΙ	6
2.4.3. ΟΥΓΓΑΡΕΖΑ – ΣΑΛΑΤΑ ΚΗΠΟΥΡΟΥ	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	8
3.1 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ	8
3.2 ΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΩΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	9
3.2.1 ΤΑ ΜΕΣΟΦΙΛΑ ΑΕΡΟΒΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΩΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	10
3.2.2 ΤΑ ΕΝΤΕΡΟΒΑΚΤΗΡΙΟΕΙΔΗ ΩΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΗΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	11
3.2.3 Η <i>E. COLI</i> ΩΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΗΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	13
3.2.4 ΟΙ ΕΝΤΕΡΟΚΟΚΚΟΙ ΩΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΗΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	14
3.3 ΤΡΟΦΙΜΟΓΕΝΗ ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ	15

3.3.1 <i>Staphylococcus</i> spp.....	15
3.3.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
3.3.1.2 Σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες.....	18
3.3.1.3 Σταφυλοκοκκική τοξίνωση.....	20
3.3.1.4 Υπεύθυνα τρόφιμα.....	20
3.3.1.5 Πρόληψη και νομοθεσία.....	21
3.3.2 <i>Listeria monocytogenes</i>	22
3.3.2.1 Υπεύθυνα τρόφιμα.....	26
3.3.2.2 Πρόληψη και Νομοθεσία.....	29
3.3.3 <i>Salmonella</i> spp.	30
3.3.3.1 Υπεύθυνα τρόφιμα.....	36
3.3.3.2 Πρόληψη και νομοθεσία.....	37
3.4 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΙΣ ΣΑΛΑΤΕΣ ΑΠΟ ΜΕΤΑΠΟΙΗΜΕΝΑ ΖΩΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ.....	38
3.4.1 Μαγιονέζα.....	38
3.4.2 Τυρί.....	39
3.4.3 Γιαούρτι	40
3.4.4 Σαλάτες από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα	41
ΜΕΡΟΣ 2 ^ο	43
Η ΔΙΚΗ ΜΑΣ ΕΡΕΥΝΑ	43
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	43
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	45
2.1 ΣΥΛΛΟΓΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	45
2.2. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	45
2.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	48

2.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	49
2.5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	55
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	57

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή, κο Γκόβαρη Αλέξανδρο, Καθηγητή της Κτηνιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα.

Θερμές ευχαριστίες στον κο Χατζηχριστοδούλου Χρήστο, Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την παροχή των υποδομών για την εκτέλεση του πειραματικού μέρους.

Στο προσωπικό του Εργαστηρίου Υγιεινής και Επιδημιολογίας του Τμήματος της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για τη συνεργασία που είχαμε και ιδιαίτερα την κα Άννα Κατσιαφλάκα και τον κο Πέτρο Κερασιώτη για την καθοδήγηση και υποστήριξή τους κατά την εκτέλεση του πειραματικού μέρους.

Θερμές ευχαριστίες στην κα Πεξαρά Ανδρεάνα, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας καθώς και στον κο Σολωμάκο Νικόλαο, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την πολύτιμη βοήθειά τους και τις γνώσεις που μου παρείχαν, καθώς στάθηκαν σημαντικοί αρωγοί στην προσπάθειά μου και με υποστήριξαν σε κάθε φάση της πορείας μου.

Θερμά ευχαριστώ στους γονείς μου, στο σύζυγό μου, στα παιδιά μου για τη στήριξη, την υπομονή, τη βοήθεια και την αμέριστη συμπαράσταση που μου παρείχαν για την ολοκλήρωση του μεταπτυχιακού προγράμματος.

ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Κριτήρια για τη <i>L. monocytogenes</i> ανάλογα με το τρόφιμο, όπως ορίζονται στον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 (και στον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1441/2007 που τον τροποποιεί)	30
Πίνακας 2. Πληθυσμοί της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (Ο.Μ.Χ.) σε σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση (RTE) από σημεία λιανικής πώλησης στην Π.Ε. Λάρισας	49
Πίνακας 3. Πληθυσμοί των <i>Enterobacteriaceae</i> σε σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση (RTE) από σημεία λιανικής πώλησης στην Π.Ε. Λάρισας	50
Πίνακας 4. Πληθυσμοί του <i>Staphylococcus aureus</i> σε σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση (RTE) από σημεία λιανικής πώλησης στην Π.Ε. Λάρισας	51
Πίνακας 5. Παρουσία της <i>Salmonella</i> spp. σε σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση (RTE) από σημεία λιανικής πώλησης στην Π.Ε. Λάρισας	53
Πίνακας 6. Παρουσία της <i>Listeria monocytogenes</i> σε σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση (RTE) από σημεία λιανικής πώλησης στην Π.Ε. Λάρισας	55

ΜΕΡΟΣ 1^ο

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι καταναλωτές απαιτούν να προμηθεύονται υγιεινά και ασφαλή τρόφιμα. Ο σύγχρονος τρόπος ζωής εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη διαθεσιμότητα, την ποιότητα και την ασφάλεια των έτοιμων προς κατανάλωση (ready to eat, RTE) τροφίμων. Οι κρεμώδεις σαλάτες από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα αποτελούν τρόφιμα, που είναι έτοιμα για κατανάλωση χωρίς περαιτέρω προετοιμασία ή μαγείρεμα (Smittle, 2000) και των οποίων η κατανάλωση έχει αυξηθεί σημαντικά τις δύο τελευταίες δεκαετίες τόσο στην Ευρώπη όσο και στις ΗΠΑ (Tassou et al., 2009).

Στην Ελλάδα είναι ιδιαίτερα δημοφιλείς και με ευρεία κατανάλωση ως ορεκτικά ή εδέσματα η τυροσαλάτα, το τζατζίκι, η σαλάτα του κηπουρού και η ουγγαρέζα. Για την παραγωγή των σαλατών αυτών χρησιμοποιούνται διαφορετικές συνταγές με αρκετές τροποποιήσεις στα υλικά, αλλά κυρίως στην αναλογία των συστατικών τους. Μεταξύ των βασικών συστατικών και ανάλογα με το είδος της σαλάτας είναι η μαγιονέζα, το γιαούρτι, το τυρί και συμπληρώνονται με τεμάχια προϊόντων ζωικής ή φυτικής προέλευσης (π.χ. καρότο, αγγούρι, πατάτα, προϊόντα με βάση το κρέας).

Η παρασκευή γίνεται τόσο σε οικιακό επίπεδο όσο και σε επίπεδο βιομηχανικής παραγωγής (Mexis et al., 2009). Όταν παρασκευάζονται στη βιομηχανία διανέμονται στα σημεία λιανικής πώλησης ως έτοιμο συσκευασμένο προϊόν ή σε μεγάλες συσκευασίες και πωλούνται στην ποσότητα που επιθυμεί ο καταναλωτής σε περιέκτες στο σημείο πώλησης. Επίσης, διατίθενται προς κατανάλωση σε χώρους μαζικής εστίασης.

Η συντήρηση αυτών των προϊόντων δε βασίζεται σε θερμική επεξεργασία για τον έλεγχο των μικροοργανισμών (Beuchat et al., 2006). Η ικανότητα συντήρησής τους

βασίζεται κυρίως στη χαμηλή τιμή του pH (3,6-4,5), στη χαμηλή τιμή a_w εξαιτίας της υψηλής συγκέντρωσης σακχάρου ή άλατος και στη συντήρησή τους σε θερμοκρασίες ψύξης (Manios et al., 2009). Ωστόσο, σημαντικά τροφιμογενή παθογόνα, όπως η *Listeria monocytogenes*, η *Escherichia coli* O157:H7 κ.α. έχει αναφερθεί ότι μπορεί να επιβιώσουν (Michels & Koning, 2000; Smittle, 2000) σε χαμηλές τιμές pH. Η διάρκεια ζωής των προϊόντων αυτών κυμαίνεται από 2 έως 3 μήνες σε συνθήκες ψύξης.

Στη βιομηχανική παραγωγή μπορούν να χρησιμοποιηθούν επίσης διάφορα χημικά συντηρητικά, όπως το σορβικό και το βενζοϊκό οξύ (Manios et al., 2009), για να αυξήσουν το χρόνο συντήρησης των προϊόντων, αν και η χρήση τους θεωρείται ανεπιθύμητη από τους καταναλωτές οι οποίοι απαιτούν μειωμένα επίπεδα πρόσθετων στα τρόφιμα.

Η ποιότητα των επιμέρους συστατικών που χρησιμοποιούνται, όπως νωπά λαχανικά, κρέας, ψάρι, τυρί, αυγό και παράγοντες όπως ο χειρισμός, οι συνθήκες παραγωγής, η μεταφορά, η αποθήκευση μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη μικροβιολογική κατάσταση του τελικού προϊόντος (Angelidis et al., 2006).

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο έλεγχος της μικροβιολογικής κατάστασης σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα που πωλούνται στην Περιφερειακή Ενότητα Λάρισας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΣΑΛΑΤΕΣ ΑΠΟ ΜΕΤΑΠΟΙΗΜΕΝΑ ΖΩΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

2.1 ΚΥΡΙΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Τα κύρια συστατικά των έτοιμων για κατανάλωση σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα, ανάλογα με το είδος της σαλάτας είναι η μαγιονέζα, το τυρί, το γιαούρτι και συμπληρώνονται με τεμάχια ζωικής ή φυτικής προέλευσης (π.χ. προϊόντα με βάση το κρέας, καρότο, αγγούρι, πατάτα).

2.1.1 ΜΑΓΙΟΝΕΖΑ

Η μαγιονέζα είναι ένα γαλάκτωμα λαδιού σε νερό. Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (ΚΤΠ, 2014) είναι το προϊόν με μορφή ομοιογενούς πολτού που παρασκευάζεται από εδωδιμο έλαιο με προσθήκη κρόκου αυγού, μαγειρικού αλατιού, αρτυμάτων, χυμού λεμονιών ή κιτρικού οξέος και μερικές φορές ζάχαρης και ξυδιού. Γενικά, αποτελείται από 65-80% φυτικό έλαιο (συνήθως σόγιας), ξύδι, τουλάχιστον 6% κρόκο αυγού και άλλα προαιρετικά συστατικά (Michels & Koning, 2000). Στις ΗΠΑ η μαγιονέζα που παράγεται σε βιομηχανικό επίπεδο έχει 80% έλαιο, εύρος τιμών pH 3,6-4,0 και περιέχει περίπου 0,29-0,5% οξικό οξύ. Η υδατική φάση περιέχει 9-12% αλάτι και 7-10% ζάχαρη (Smittle, 1977).

Στις ΗΠΑ, τα πρότυπα ταυτοποίησης για τη μαγιονέζα ορίζουν το προϊόν ως ένα ημίρρευστο γαλάκτωμα από κρόκο αυγού, βρώσιμο φυτικό έλαιο και οξικό ή κιτρικό οξύ. Μπορεί επίσης να περιέχει αλάτι, μπαχαρικά ή έλαια μπαχαρικών, φυσικές γλυκαντικές ουσίες και διάφορα φυσικά αρωματικά συστατικά. Η περιεκτικότητα σε έλαιο δεν πρέπει να είναι μικρότερη από 65% κατά βάρος και το προϊόν πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 2.5% οξικό οξύ κατά βάρος. Το κιτρικό οξύ στη μορφή του χυμού λεμονιού ή μοσχολέμονου μπορεί να αντικαταστήσει το οξικό οξύ σε ένα ελάχιστο επίπεδο του 2,5%. Ο κρόκος αυγού μπορεί να είναι μόνο κρόκος ή ολόκληρο αυγό σε υγρή μορφή ή σε σκόνη ή κατεψυγμένος. Το συστατικό αυτό, παρέχει ιδιότητες γαλακτώματος και δίνει ένα απαλό κίτρινο χρώμα στη μαγιονέζα που δεν επιτρέπεται να ενισχύεται από οποιοδήποτε άλλο συστατικό (Yang & Lal, 2003).

2.1.2 ΤΥΡΙ

Το τυρί που συνήθως χρησιμοποιείται στην παρασκευή της τυροσαλάτας είναι η φέτα, το λευκό τυρί και η μυζήθρα. Η φέτα και το λευκό τυρί είναι τα προϊόντα ωρίμανσης του πήγματος (στάλπης) που είναι απαλλαγμένο από το τυρόγαλα στον επιθυμητό κάθε φορά βαθμό και τα οποία παρασκευάζονται με την επενέργεια πυτιάς ή άλλων ενζύμων που δρουν ανάλογα σε γάλα ή σε μερικώς αποβουτυρωμένο γάλα ή σε μίγμα αυτών ή/και σε μίγματα αυτών με κρέμα γάλακτος. Για την παρασκευή των τυριών χρησιμοποιούνται κυρίως το νωπό ή το παστεριωμένο γάλα αγελάδας, πρόβειο, αίγιο και μίγματα αυτών. Απαραίτητα πρόσθετα είναι η πυτιά ή ένζυμα που δρούν ανάλογα, οι αβλαβείς οξυγαλακτικές καλλιέργειες σε παστεριωμένο γάλα και το αλάτι. Προαιρετικά επιτρέπεται η χρήση πρόσθετων, μόνο όταν αυτά αναφέρονται στις προδιαγραφές παρασκευής κάθε είδους τυριού (ΚΤΠ, 2014). Η φέτα είναι προϊόν με προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (ΠΟΠ), είναι μαλακό λευκό τυρί που παρασκευάζεται από πρόβειο ή μίγμα αίγιου και πρόβειου γάλακτος σε αναλογία 30-70% αντίστοιχα και ωριμάζει σε άλμη για τουλάχιστον δύο μήνες. Παρασκευάζεται σχεδόν αποκλειστικά από παστεριωμένο γάλα και τη χρήση εμπορικών σκευασμάτων οξυγαλακτικής καλλιέργειας (*Lactococcus lactis* και *Lactobacillus bulgaricus* σε αναλογία 1:3). Έχει τιμή pH 4,6, υγρασία 52%, λίπος 24%, πρωτεΐνες 20% και αλάτι 2,5% (Μάντης, 1991). Παρόμοιο με τη φέτα είναι το λευκό τυρί, που παρασκευάζεται όμως αποκλειστικά από αγελαδινό γάλα. Για τα δύο αυτά προϊόντα η μέγιστη επιτρεπόμενη περιεκτικότητα σε υγρασία είναι 54% και η ελάχιστη περιεκτικότητα σε λιπαρά είναι 46% επί της ξηρής ουσίας (Zerfiridis, 2001).

Η μυζήθρα, το ανθότυρο και το μανούρι είναι επίσης προϊόντα με προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (ΠΟΠ), λαμβάνονται με ισχυρή θέρμανση τυρογάλακτος (με ή χωρίς οξίνιση) και με την προσθήκη ή όχι γάλακτος, κρέμας γάλακτος και αλατιού. Παρασκευάζονται από τυρόγαλα φέτας ή σκληρών τυριών, όπως το κεφαλοτύρι και η γραβιέρα. Έχουν μέγιστη επιτρεπόμενη περιεκτικότητα σε υγρασία 60-70% και ελάχιστη περιεκτικότητα σε λιπαρά 50-70% επί της ξηρής ουσίας που εξαρτάται από το είδος του τυριού (Kandarakis, 1986; Samelis et al., 2003). Τα τυριά αυτά καταναλώνονται φρέσκα λίγες μέρες ή εβδομάδες από την παραγωγή τους.

2.1.3 ΓΙΑΟΥΡΤΙ

Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία (ΚΤΠ, 2014) ως γιαούρτι χαρακτηρίζεται το προϊόν που προκύπτει από την πήξη αποκλειστικά και μόνο νοπού γάλακτος της αντίστοιχης προς την ονομασία φύσης (πλήρες ή ημιαποβουτυρωμένο) και προέλευσης (όνομα ζώου) με την επίδραση καλλιέργειας ζύμης που προκαλεί ειδική για αυτό ζύμωση. Το γιαούρτι πρέπει να περιέχει λίπος και στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (ΣΥΑΛ) σε ποσοστό ανώτερο κατά 10% τουλάχιστον από τα όρια που καθορίζονται για το αντίστοιχο είδος γάλακτος από το οποίο παρασκευάστηκε. Γίνεται κυρίως από γάλα αγελαδινό ή αιγοπροβάτων πλήρες ή μερικώς αποβουτυρωμένο με την προσθήκη μίγματος καλλιεργειών των οξυγαλακτικών στελεχών *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus* σε αναλογία συνήθως 1:1. Οι μικροοργανισμοί στο τελικό προϊόν πρέπει να είναι άφθονοι και ζωντανοί. Τα στελέχη αυτά με τη βιοχημική τους δραστηριότητα προκαλούν την πήξη του γάλακτος και διαμορφώνουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (γεύση, άρωμα) του γιαουρτιού. Ζυμώνουν τη λακτόζη με ομοιογαλακτική ζύμωση με κύριο τελικό προϊόν κατά 90-95% το γαλακτικό οξύ και τιμή pH 4,0-4,3. Η ποσότητα της οξυγαλακτικής καλλιέργειας που προσθέτεται κυμαίνεται από 0,5-3,0% της ποσότητας του γάλακτος (Μάντης, 1991). Ως πρώτη ύλη για την παρασκευή του τζατζικιού χρησιμοποιείται το στραγγισμένο γιαούρτι με αυξημένη αναλογία στερεών συστατικών (23-25%), το οποίο λαμβάνεται από το πλήρες γιαούρτι μετά την απομάκρυνση (αποστράγγιση) μέρους του νερού του με τα διαλυμένα σε αυτό γαλακτοζάχαρο, άλατα κλπ. και πρέπει να περιέχει λίπος σε ποσοστό τουλάχιστον 8%, με εξαίρεση το στραγγισμένο γιαούρτι αγελάδας που πρέπει να περιέχει λίπος σε ποσοστό 5% τουλάχιστον (ΚΤΠ, 2014).

2.4 ΣΑΛΑΤΕΣ ΑΠΟ ΜΕΤΑΠΟΙΗΜΕΝΑ ΖΩΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

2.4.1 ΤΥΡΟΣΑΛΑΤΑ

Η παρασκευή της τυροσαλάτας ή χτυπητής σε οικιακό επίπεδο γίνεται με ανάμειξη των πρώτων υλών, που είναι τυρί φέτα συνήθως μαλακή, ανθότυρο ή μυζήθρα, γιαούρτι με αλάτι, ελαιόλαδο και χυμό λεμονιού. Ενδεικτικά αναφέρεται σύσταση τυροσαλάτας, όπως αυτή δημοσιεύτηκε από τους Manios et al., (2009): νερό, 20% τυρί φέτα, φυτικό έλαιο, σκόνη γάλακτος, ξύδι, τροποποιημένο άμυλο, σκόνη αυγού, αλάτι, ζάχαρη, μουστάρδα, αρτύματα, σταθεροποιητές (E413, E415), σορβικό οξύ (E202). Μία τυπική σύσταση τυροσαλάτας που παράγεται σε βιομηχανικό επίπεδο είναι τυριά 70 % (μυζήθρα, τυρί αγελαδινό), γιαούρτι στραγγιστό, μαγιονέζα (φυτικό έλαιο, νερό, ξύδι, μουστάρδα, αλάτι, κρόκος αυγού, ζάχαρη, τροποποιημένο άμυλο σίτου και αραβοσίτου, διορθωτικό οξύτητας: οξικό νάτριο, πυκνωτικό μέσο: κόμμι γκουάρ, ξανθάνη), αρτύματα, συντηρητικά: βενζοϊκό νάτριο 0,075%, σορβικό κάλιο 0,075%. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της είναι τιμή pH 4,3-4,5, τιμή a_w 0,901 και λιπαρά 27,0%. Μία παραλλαγή της τυροσαλάτας είναι η τυροκαυτερή με την προσθήκη πράσινης καυτερής πιπεριάς (6%).

2.4.2. TZATZIKI

Το τζατζίκι γίνεται από στραγγιστό γιαούρτι (συνήθως από πρόβειο ή αίγαιο γάλα), που αναμιγνύεται με λιωμένο σκόρδο, τριμμένο αγγούρι, αλάτι, συνήθως ελαιόλαδο, πιπέρι και μερικές φορές άνηθο, χυμό λεμονιού, μαϊντανό και δυόσμο. Το αγγούρι που χρησιμοποιείται για τζατζίκι συνήθως είναι αλατισμένο, πιέζεται, και στραγγίζεται για να φύγει το υπερβολικό νερό. Η παραγωγή του σε βιομηχανικό επίπεδο γίνεται με την ανάμειξη γάλακτος και καλλιέργειας μικροοργανισμών (*Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* με αγγούρι (*Cucumis sativus*) και σκόρδο (*Allium vineale*) με προκαθορισμένη αναλογία συστατικών. Ο τύπος του γιαουρτιού που χρησιμοποιείται είναι στραγγιστό, γίνεται από αγελαδινό γάλα και έχει υψηλή συγκέντρωση λιπαρών (10%) και πρωτεϊνών (8%).

2.4.3. ΟΥΓΓΑΡΕΖΑ – ΣΑΛΑΤΑ ΚΗΠΟΥΡΟΥ

Η ουγγαρέζα και η σαλάτα του κηπουρού έχουν ως κοινό συστατικό τη μαγιονέζα και παρασκευάζονται σε οικιακό ή βιομηχανικό επίπεδο. Η ουγγαρέζα παράγεται με την ανάμειξη της μαγιονέζας με χοιρινό ζαμπόν και καρυκεύματα, ενώ η κηπουρού με αγγουράκι, καρότο και σέλινο. Ενδεικτικά αναφέρεται η τυπική σύσταση σαλάτας ουγγαρέζας που παράγεται σε βιομηχανικό επίπεδο: μαγιονέζα (φυτικό έλαιο, νερό, ξύδι, μουστάρδα, αλάτι, κρόκος αυγού, ζάχαρη, τροποποιημένο άμυλο σίτου και αραβοσίτου, διορθωτικό οξύτητας: κιτρικό οξύ, οξικό νάτριο, πυκνωτικό μέσο: κόμμι γκουάρ, ξανθάνη), αλλαντικό βραστό (κρέας χοιρινό 70%, μπούτι γαλοπούλας 5%, σάκχαρο, πρωτεΐνη σόγιας και γάλακτος, νιτρώδες νάτριο, ερυθροβικό νάτριο, γλουταμινικό νάτριο, καρμινικό οξύ, πολυφωσφορικά άλατα), αγγουράκι τουρσί, κέτσαπ, αρτύματα, συντηρητικά (βενζοϊκό νάτριο 0,075%, σορβικό κάλιο 0,075%).

Τα συστατικά σαλάτας κηπουρού βιομηχανικού τύπου είναι μαγιονέζα (φυτικό έλαιο, νερό, ξύδι, μουστάρδα, αλάτι, κρόκος αυγού, ζάχαρη, τροποποιημένο άμυλο σίτου και αραβοσίτου, διορθωτικό οξύτητας: οξικό νάτριο, πυκνωτικό μέσο: κόμμι γκουάρ, ξανθάνη), αγγουράκι τουρσί, σέλινο, καρότο, πράσο, αρτύματα, συντηρητικά (βενζοϊκό νάτριο 0,075%, σορβικό κάλιο 0,075%).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3.1 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Οι πηγές των βακτηρίων που απαντώνται στα τρόφιμα είναι πολλές, οι κυριότερες όμως είναι η εντερική οδός του ανθρώπου και των ζώων, οι ζωοτροφές, ο αέρας και η σκόνη, το έδαφος και το νερό, τα φυτά και τα φυτικά προϊόντα, τα δοχεία, τα σκεύη, τα μηχανήματα επεξεργασίας, το προσωπικό που έρχεται σε επαφή με τα τρόφιμα (Κοτζεκίδου- Ρουκά, 2000).

Η επιμόλυνση όμως του τροφίμου με μικροοργανισμούς δε συνεπάγεται αναγκαστικά και την αλλοίωσή του. Για να προκληθεί η αλλοίωσή του θα πρέπει τα μικρόβια να πολλαπλασιαστούν. Για να είναι εφικτός όμως ο πολλαπλασιασμός των μικροβίων πρέπει να τηρούνται ορισμένες προϋποθέσεις και να εξασφαλισθούν ορισμένες περιβαλλοντικές συνθήκες. Γενικά οι παράγοντες που επηρεάζουν τον μεταβολισμό και κατ' επέκταση τον πολλαπλασιασμό των μικροβίων στα τρόφιμα διακρίνονται σε: α) ενδογενείς, που σχετίζονται με τη σύσταση του τροφίμου [pH, δυναμικό οξειδοαναγωγής (Eh), τιμή ενεργού ύδατος (a_w), θρεπτικά συστατικά, αντιμικροβιακοί παράγοντες, ανταγωνιστική χλωρίδα] και β) εξωγενείς, που σχετίζονται με τις συνθήκες συντήρησης των τροφίμων (θερμοκρασία, σχετική υγρασία, πίεση, κ.λ.π.).

Οι παράγοντες που επηρεάζουν ή ορθότερα, προσδιορίζουν το ρυθμό πολλαπλασιασμού των μικροβιακών κυττάρων, βρίσκονται σε συνεχή μεταξύ τους αλληλεξάρτηση και αλληλεπίδραση. Έτσι, το τελικό αποτέλεσμα δεν εξαρτάται μόνο από την απόλυτη τιμή καθενός από τους υπεύθυνους για την ανάπτυξη των μικροβίων παράγοντες, αλλά και από τον βαθμό στον οποίο ο παράγοντας αυτός επηρεάζει ή επηρεάζεται από όλους τους άλλους. Για κάθε παράγοντα που επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων οποιουδήποτε μικροβίου, έχουν προσδιορισθεί τρεις τιμές, η ελάχιστη, η βέλτιστη και η μέγιστη. Τα κύτταρα του μικροβίου πολλαπλασιάζονται σ' όλο το εύρος της διακυμάνσεως, μεταξύ των δύο ακραίων τιμών, ο ρυθμός όμως του πολλαπλασιασμού μειώνεται συνεχώς με την μετακίνηση από το μέσο προς τα δύο άκρα. Η γνώση των στοιχείων αυτών είναι απαραίτητη για την εκτίμηση της επικινδυνότητας και τον ορισμό κρίσιμων ορίων και προληπτικών μέτρων, κατά την εφαρμογή του συστήματος HACCP

(Hazard Analysis Critical Control Point, Ανάλυση Επικινδυνότητας Κρισίων Σημείων Ελέγχου) που αφορά την υγιεινή και ασφάλεια των τροφίμων.

Παρακάτω παρουσιάζονται οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται σαν δείκτες της υγιεινής κατάστασης των τροφίμων και τα χαρακτηριστικά των κυριότερων τροφιμογενών παθογόνων βακτηρίων που έχουν ενδιαφέρον για τις έτοιμες για κατανάλωση σαλάτες από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα.

3.2 ΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΩΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Τα τρόφιμα θεωρούνται υγιεινά και ασφαλή όταν είναι απαλλαγμένα από παθογόνους μικροοργανισμούς ή όταν ο αριθμός των παθογόνων μικροοργανισμών είναι χαμηλότερος από ένα όριο ασφαλείας. Επειδή, ο προσδιορισμός των παθογόνων μικροοργανισμών στα τρόφιμα είναι πολύπλοκος και διαρκεί αρκετές ημέρες κατά τον έλεγχο της υγιεινής ποιότητας των τροφίμων συνιστάται ο προσδιορισμός του αριθμού των μικροοργανισμών δεικτών.

Οι μικροοργανισμοί δείκτες είναι ομάδες (π.χ. Εντεροβακτηριοειδή) ή είδη μικροοργανισμών (π.χ. *Escherichia coli*), που μπορεί εύκολα να προσδιοριστούν και των οποίων η παρουσία όταν ξεπερνά ορισμένα προκαθορισμένα όρια για κάθε είδος τροφίμου, θεωρείται ένδειξη παραμονής του τροφίμου σε συνθήκες στις οποίες είναι πιθανή η μόλυνσή του με παθογόνους μικροοργανισμούς ή ευνοείται η ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών. Η παρουσία των μικροοργανισμών δεικτών στα τρόφιμα σε αριθμό που ξεπερνά ένα προκαθορισμένο όριο σε cfu/g τροφίμου δε συνεπάγεται την ύπαρξη παθογόνων μικροοργανισμών αλλά καθιστά πιθανή την παρουσία τους.

Ωστόσο, πολυάριθμες έρευνες έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι οι μικροοργανισμοί δείκτες είναι αναξιόπιστοι όταν χρησιμοποιούνται ως δείκτες μόλυνσης των τροφίμων με παθογόνα (American Public Health Association, 2001) μπορούν όμως να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία για την εκτίμηση την συνολικής ποιότητας του τροφίμου και των συνθηκών υγιεινής κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας του τροφίμου. Οι κυριότεροι μικροοργανισμοί δείκτες που χρησιμοποιούνται, είναι τα μεσόφιλα αερόβια

βακτήρια, τα εντεροβακτηριοειδή, η *Escherichia coli* και οι εντερικοί στρεπτόκοκκοι ή εντερόκοκκοι (Γκόβαρης, 2007).

3.2.1 ΤΑ ΜΕΣΟΦΙΛΑ ΑΕΡΟΒΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΩΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Τα μεσόφιλα αερόβια βακτήρια χρησιμοποιούνται ως δείκτης των βακτηριακών πληθυσμών σε ένα δείγμα τροφίμου. Η καταμέτρηση των βακτηρίων βασίζεται στην υπόθεση ότι κάθε μικροβιακό κύτταρο θα σχηματίσει μια ορατή αποικία όταν αναμειγνύεται με άγαρ που περιέχει τα κατάλληλα θρεπτικά συστατικά. Δεν είναι ένα μέτρο του συνολικού βακτηριακού πληθυσμού σε ένα δείγμα τροφίμου, αλλά αποτελεί ένα μέτρο για τους μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται αερόβια σε μεσόφιλες θερμοκρασίες και για συγκεκριμένο χρόνο επώασης. Επίσης δεν διαφοροποιεί τα είδη των βακτηρίων (Dale Morton, 2001). Όλοι είναι μικροοργανισμοί που μπορούν να αναπτυχθούν μεταξύ 20 και 45°C, με μία βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης 32°C και περιλαμβάνει την πλειοψηφία των αλλοιογόνων και των παθογόνων μικροοργανισμών που σχετίζονται με τρόφιμα (Jay et al., 2005; Freitas et al., 2009)

Ο αριθμός των μεσόφιλων αερόβιων βακτηρίων είναι αξιόπιστος δείκτης τόσο της ποιότητας των πρώτων υλών όσο και των συνθηκών υγιεινής που επικρατούν κατά την παραγωγή, τη μεταφορά και την αποθήκευση του προϊόντος, κυρίως σε τρόφιμα στα οποία δεν ευνοείται η ανάπτυξη των μικροοργανισμών (π.χ αφυδατωμένα, καταψυγμένα τρόφιμα κ.α.).

Στα νωπά τρόφιμα ο αριθμός των μεσόφιλων αερόβιων βακτηρίων είναι δείκτης του χρόνου συντήρησης του προϊόντος και δεν θεωρείται σημαντικός δείκτης της υγιεινής κατάστασης, γιατί ακόμα και όταν το προϊόν φέρει χαμηλό αριθμό είναι πιθανή η παρουσία τόσο παθογόνων μικροοργανισμών όσο και μικροβιακής τοξίνης.

Στα περισσότερα τρόφιμα ο μεγάλος αριθμός μεσόφιλων αερόβιων βακτηρίων δείχνει συνήθως την ύπαρξη επιμολύνσεων στο νωπό προϊόν ή ότι δεν επικράτησαν υγιεινές συνθήκες στα διάφορα στάδια παραγωγής ή κατά την αποθήκευση του προϊόντος και μπορεί να επιτρέψουν την ανάπτυξη μεγάλου αριθμού παθογόνων μεσόφιλων βακτηρίων. Επίσης μεγάλος αριθμός μεσόφιλων αερόβιων βακτηρίων στα τρόφιμα είναι

δείκτης πιθανής αλλοίωσης του προϊόντος, επειδή τα περισσότερα τρόφιμα εμφανίζουν αποσύνθεση όταν φέρουν 10^6 - 10^8 μικροοργανισμούς/g.

Στα ζυμούμενα προϊόντα (π.χ ζυμούμενα αλλαντικά, τυριά και άλλα ζυμούμενα γαλακτοκομικά προϊόντα.) ο μεγάλος αριθμός μεσόφιλων μικροοργανισμών είναι αποτέλεσμα του τρόπου παρασκευής τους (προσθήκη οξυγαλακτικών βακτηρίων) και δεν μπορεί να θεωρηθεί δείκτης της υγιεινής τους κατάστασης.

Στα τρόφιμα που έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία ο αριθμός των μεσόφιλων αερόβιων βακτηρίων είναι χαμηλός αλλά αν επιμολυνθούν με παθογόνους μικροοργανισμούς, παρατηρείται ταχεία ανάπτυξή τους, λόγω του χαμηλού αριθμού της ανταγωνιστικής χλωρίδας στο προϊόν.

Για τον προσδιορισμό του χρόνου διατήρησης ενός προϊόντος με ψύξη δεν συνιστάται ο προσδιορισμός του αριθμού των μεσόφιλων αερόβιων βακτηρίων επειδή πολλά μεσόφιλα βακτήρια αδρανοποιούνται σε θερμοκρασίες μεταξύ 15°C και 5°C ή χαμηλότερες. Στις περιπτώσεις αυτές συνιστάται ο προσδιορισμός των ψυχρόφιλων βακτηρίων (Γκόβαρης, 2007).

3.2.2 ΤΑ ΕΝΤΕΡΟΒΑΚΤΗΡΙΟΕΙΔΗ ΩΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΗΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών, τα εντεροβακτηριοειδή έχουν αποκτήσει μεγαλύτερη σημασία ως δείκτης υγιεινής για τον έλεγχο της διαδικασίας στην παραγωγή τροφίμων, αντικαθιστώντας έτσι την ομάδα των κολοβακτηριοειδών. Αυτό αντικατοπτρίζεται και στην ισχύουσα νομοθεσία στην Ευρώπη (Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 & Κανονισμοί (ΕΚ) αριθ. 1441/2007, (ΕΕ) αριθ. 365/2010 που τον τροποποιούν), όπου τα εντεροβακτηριοειδή χρησιμοποιούνται ως κριτήριο των συνθηκών υγιεινής της παραγωγικής διαδικασίας για διάφορα προϊόντα τροφίμων. Αυτό ισχύει επίσης για την αξιολόγηση της μικροβιολογικής ποιότητας ορισμένων έτοιμων για κατανάλωση τροφίμων όταν η δειγματοληψία γίνεται στο σημείο πώλησης (Gilbert et al., 2000; Amador et al., 2011).

Η μέθοδος προσδιορισμού των εντεροβακτηριοειδών στηρίζεται στην αναστολή της ανάπτυξης όλων των Gram-θετικών μικροοργανισμών και την ανάπτυξη των Gram-

αρνητικών. Επειδή στο υπόστρωμα προσδιορισμού των εντεροβακτηριοειδών περιέχεται γλυκόζη μπορεί να προσδιοριστούν και βακτήρια που δεν αποικοδομούν τη λακτόζη και έχουν μεγάλη σημασία για τη δημόσια υγεία, όπως οι Σαλμονέλλες, οι Σιγγέλες, η εντεροτοξινογόνος *E. coli* κ.α., γεγονός που αποτελεί πλεονέκτημα έναντι του προσδιορισμού των κολοβακτηριοειδών.

Για αυτό ο προσδιορισμός των εντεροβακτηριοειδών στα τρόφιμα είναι σημαντικός τόσο για την εκτίμηση της υγιεινής τους κατάστασης όσο και για την παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών (Γκόβαρης, 2007).

Η οικογένεια των εντεροβακτηριοειδών είναι μία πολύ μεγάλη ομάδα βακτηρίων που είναι μορφολογικά και φυσιολογικά παρόμοια. Είναι μεγάλης σημασίας, γιατί κάποιοι από αυτούς τους μικροοργανισμούς εμπλέκονται στην αλλοίωση των τροφίμων, μερικά είναι τροφιμογενή παθογόνα και άλλα είναι δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης των τροφίμων (Anand et al., 2002). Ολόκληρη η οικογένεια των εντεροβακτηριοειδών χρησιμοποιείται ως δείκτης στην αξιολόγηση των επεξεργασμένων τροφίμων, όπως τα μαγειρεμένα φαγητά, τα προϊόντα με βάση το κρέας και τα προϊόντα αυγών. Η παρουσία αυτών των μικροοργανισμών υποδεικνύει μόλυνση μετά την επεξεργασία (De Boer 1999). Τα γένη που ανήκουν στην οικογένεια των εντεροβακτηριοειδών συνδέονται συχνά με λοιμώξεις του εντέρου. Είναι επίσης το αίτιο ασθενειών, όπως η μηνιγγίτιδα, η βακτηριακή δυσεντερία και ο τυφοειδής πυρετός (Anand et al., 2002).

Η οικογένεια των *Enterobacteriaceae* περιλαμβάνει τα γένη: *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Yersinia* και *Erwinia*. Πρόκειται για Gram-αρνητικά βακτήρια, μη σπορογόνα, ευρέως διαδεδομένα και βρίσκονται στο έδαφος, το νερό, τη βλάστηση και τον εντερικό σωλήνα των ζώων. Είναι προαιρετικά αναερόβια με τη βέλτιστη ανάπτυξη να παρατηρείται σε θερμοκρασία μεταξύ 22 και 37°C. Τα μέλη είναι κινητά με τη βοήθεια περίτριχων βλεφαρίδων με εξαίρεση τα είδη του γένους *Shigella* και *Klebsiella* τα οποία είναι ακίνητα. Το κυτταρικό τοίχωμα είναι πολύπλοκο και η αντιγονική δομή παίζει σημαντικό ρόλο για ορισμένα είδη στην επιδημιολογία και την ταξινόμηση (Anand et al., 2002).

Μέλη αυτής της οικογένειας, μερικές φορές αναφέρονται και ως βακτήρια του εντέρου, καθώς πολλά είναι μέλη της εντερικής χλωρίδας του ανθρώπου ή των ζώων. Εξαιτίας αυτού, ονομάζονται επίσης κολοβακτηρίδια. Ενώ μερικά από αυτά τα μέλη είναι ελεύθεροι ζωντανοί οργανισμοί, άλλοι ζουν σε συνεργασία ή σε βάρος του ξενιστή τους και άλλοι αποσυνθέτουν τη νεκρή οργανική ύλη (Pandey et al., 1999).

Σε μικρότερο βαθμό, μέλη της οικογένειας των εντεροβακτηριοειδών έχουν περιγραφεί ως πιθανοί αιτιολογικοί παράγοντες της αλλοίωσης «φουσκωμένη συσκευασία» (Hanna et al., 1979; Brightwell et al., 2007). Η αλλοίωση αυτή χαρακτηρίζεται από άφθονη παραγωγή αερίου, δυσάρεστες οσμές, εκκρίματα, πρωτεόλυση και αλλαγές στο pH και το χρώμα και οδηγεί σε σημαντικές απώλειες πόρων για τη βιομηχανία κρέατος (Adam et al., 2010; Chaves et al., 2012).

3.2.3 Η *E. COLI* ΩΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΗΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Η *E. coli* είναι ένα Gram αρνητικό βακτήριο, το οποίο ανήκει στην οικογένεια των *Enterobacteriaceae*. Αποτελεί μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου των ζώων και του ανθρώπου και αποβάλλεται στο περιβάλλον μέσω των κοπράνων μολύνοντας το νερό, τα λαχανικά και τα φρούτα. Τα περισσότερα στελέχη της *E. coli* θεωρούνται απαθογόνα, ενώ κάποια στελέχη έχοντας αποκτήσει λοιμογόνα χαρακτηριστικά μπορούν να προκαλέσουν διάφορες λοιμώξεις.

Η *E. coli* μπορεί να αναπτυχθεί σε θερμοκρασίες 7-48°C, ιδανικά όμως αναπτύσσεται στους 37°C. Αναπτύσσεται σε τιμές pH 4,4 έως 9,0 και $a_w > 0,95$. Μπορεί να αναπτυχθεί σε συγκεντρώσεις NaCl μέχρι και 6%, σε συνθήκες pH 5,6–6,8 και θερμοκρασίες 15-35°C.

Η *E. coli* έχει προσδιοριστεί σε μεγάλο αριθμό τροφίμων (νωπό και κατεψυγμένο κρέας, κατεψυγμένα λαχανικά, νωπά και κατεψυγμένα ψάρια και οστρακοειδή, τυριά, παστεριωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα κ.α.), όμως η παρουσία της στα νωπά και στα επεξεργασμένα τρόφιμα είναι ανεπιθύμητη, γιατί υποδηλώνει κοπρανώδη μόλυνση καθώς και την πιθανή παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών εντερικής προέλευσης. Η παρουσία της σε επεξεργασμένα τρόφιμα υποδεικνύει είτε ανεπαρκή θερμική

επεξεργασία είτε επιμόλυνση μετά την επεξεργασία. Στις ΗΠΑ η παρουσία της *E.coli* στα τρόφιμα θεωρείται κίνδυνος για τη δημόσια υγεία. Η απουσία της στα τρόφιμα δε σημαίνει απαραίτητα την απουσία παθογόνων μικροοργανισμών (Γκόβαρης, 2007).

3.2.4 ΟΙ ΕΝΤΕΡΟΚΟΚΚΟΙ ΩΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΗΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Οι εντερόκοκκοι αποτελούσαν παλιότερα ομάδα του γένους *Streptococcus* αλλά από το 1984 αποτελούν το γένος *Enterococcus*, το οποίο περιλαμβάνει 16 είδη. Μεγαλύτερο ενδιαφέρον για τα τρόφιμα παρουσιάζουν τα είδη *Enterococcus faecalis* και *Enterococcus faecium*. Όλα σχεδόν τα βακτήρια του γένους *Enterococcus* απαντώνται στον εντερικό σωλήνα των ζώων.

Οι περισσότεροι εντερόκοκκοι αναπτύσσονται σε θερμοκρασία από 10 – 45°C, ενώ οι ενώ τα είδη *E. faecalis* και *E. faecium* αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες από 0°C έως 50°C. Αναπτύσσονται σε μεγάλο εύρος τιμών pH 3,3 έως 9,6.

Οι εντερόκοκκοι παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, επειδή χρησιμεύουν σαν μικροοργανισμοί δείκτης και όταν ο αριθμός τους ξεπερνά ορισμένα προκαθορισμένα όρια σε cfu/g, δείχνει μη ικανοποιητική επεξεργασία του τροφίμου ή επιμόλυνση. Χρησιμεύουν επίσης και ως μικροοργανισμοί index δηλαδή η παρουσία τους στα τρόφιμα συνδέεται με την πιθανή ύπαρξη παθογόνων μικροοργανισμών.

Οι εντερόκοκκοι είναι πιο θερμοανθεκτικοί από τα μη σπορογόνα παθογόνα βακτήρια. Επίσης παρουσιάζουν μεγάλη ανθεκτικότητα στη δράση χημικών ουσιών, στην ξήρανση και στην κατάψυξη. Οι εντερόκοκκοι παρουσιάζουν την ίδια ανθεκτικότητα με τον ιό της ηπατίτιδας τύπου A. Εάν εξαλειφθεί ο αριθμός των εντεροκόκκων κατά την επεξεργασία ενός τροφίμου αδρανοποιείται και ο ιός της ηπατίτιδας τύπου A εάν βρισκόταν αρχικά στο προϊόν.

Οι εντερόκοκκοι σε σύγκριση με τα κολοβακτηριοειδή και την *E. coli* παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στη θέρμανση, την ψύξη, την κατάψυξη και την αφυδάτωση

και για αυτό το λόγο θεωρούνται καταλληλότερος δείκτης κοπρανόδους μόλυνσης των τροφίμων, που έχουν υποστεί μια από τις παραπάνω μεθόδους επεξεργασίας ή αποθήκευσης. Ειδικότερα στα κατεψυγμένα τρόφιμα έχει βρεθεί ότι ο αριθμός των εντεροκόκκων είναι μεγαλύτερος του αριθμού των κολοβακτηριοειδών και παραμένει σταθερός στη διάρκεια της κατάψυξης ενώ ο αριθμός των τελευταίων ελαττώνεται.

Ο μεγάλος αριθμός εντεροκόκκων στα τρόφιμα δείχνει είτε διατήρηση του προϊόντος σε συνθήκες που επιτρέπουν τον πολλαπλασιασμό πολλών ανεπιθύμητων μικροοργανισμών ή ύπαρξη ανεπαρκών συνθηκών υγιεινής στη διάρκεια επεξεργασίας του προϊόντος.

Σε ορισμένα τρόφιμα (π.χ νωπό γάλα, ορισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα κλπ) οι εντερόκοκκοι αποτελούν μέρος της μικροβιακής χλωρίδας του προϊόντος και ο προσδιορισμός τους δεν αποτελεί δείκτη της υγιεινής κατάστασης του τροφίμου. Στις περιπτώσεις αυτές εκτός από τον αριθμό των εντεροκόκκων πρέπει να προσδιοριστεί ο αριθμός των κολοβακτηριοειδών, των εντερικής προέλευσης κολοβακτηριοειδών και της *E. coli*.

Λόγω της ανθεκτικότητας τους οι εντερόκοκκοι σε ορισμένες περιπτώσεις, δεν είναι αξιόπιστοι δείκτες κοπρανόδους μόλυνσης των τροφίμων. Είναι δυνατόν να έχουν καταστραφεί ορισμένοι παθογόνοι μικροοργανισμοί όπως οι Σαλμονέλλες και οι Σιγγέλες και να υπάρχει σχετικά μεγάλος αριθμός εντεροκόκκων σε ένα τρόφιμο (Γκόβαρης, 2007).

3.3 ΤΡΟΦΙΜΟΓΕΝΗ ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

3.3.1 *Staphylococcus* spp.

Ορισμένα είδη και στελέχη σταφυλόκοκκων παράγουν μία ή περισσότερες προσχηματισμένες εντεροτοξίνες που όταν προσληφθούν με τα τρόφιμα προκαλούν σταφυλοκοκκική τοξίνωση. Δεν παράγουν όλοι οι σταφυλόκοκκοι τοξίνες και η παραγωγή τοξίνης μπορεί να μην επαρκεί για την εκδήλωση συμπτωμάτων. Το γένος *Staphylococcus* υπάγεται στην οικογένεια των *Micrococcaceae* και περιλαμβάνει

περισσότερα από 30 είδη, εκ των οποίων, ορισμένα μόνο είδη παρουσιάζουν ενδιαφέρον για τα τρόφιμα.

Στα τρόφιμα παρουσιάζουν ενδιαφέρον κυρίως τα στελέχη του σταφυλόκοκκου που είναι θετικά στη νουκλεάση και πηκτάση, επειδή συνήθως παράγουν εντεροτοξίνες. Αν και πολλά είδη σταφυλόκοκκων παράγουν εντεροτοξίνες, τα περισσότερα περιστατικά τοξίνωσης οφείλονται στο *Staphylococcus aureus* (Genigeorgis, 1989; Seo & Bohach 2007; Pexara et al., 2010).

3.3.1.1 *Staphylococcus aureus*

Τις τελευταίες δεκαετίες, η σταφυλοκοκκική τοξίνωση αναφέρεται ως η τρίτη αιτία μεταξύ των τροφιμογενών ασθενειών παγκοσμίως (Zhang et al., 1998), παρόλο ότι ο αριθμός των κρουσμάτων που αναφέρθηκαν σε ετήσια βάση έχει μειωθεί. Στην Ευρώπη ο *S. aureus* προκάλεσε το 5,1% των τροφιμογενών λοιμώξεων μεταξύ 1993 και 1998. (Tirado & Schimdt, 2001; Normanno et al., 2007). Η αυξημένη αυτή συχνότητα εκδήλωσης οφείλεται στη ευρύτατη διάδοση του μικροοργανισμού στο περιβάλλον και στην ικανότητα ορισμένων στελεχών του να παράγουν μία ή περισσότερες εντεροτοξίνες (Πεξαρα κ.ά., 2009).

Ωστόσο, πιστεύεται ότι η πραγματική συχνότητα έχει υποτιμηθεί, γεγονός που οφείλεται σε μια σειρά από λόγους, όπως τη λαθεμένη διάγνωση, τη μη αναφορά περιστατικών μικρότερης σημασίας, την ακατάλληλη συλλογή δείγματος και την ακατάλληλη εργαστηριακή εξέταση (Argudin, 2010).

Ο *Staphylococcus aureus* είναι μη κινητό, μη σπορογόνο Gram θετικό βακτήριο (Huong et al., 2010). Διατάσσεται σε μικρές ομάδες (τσαμπιά σταφυλίου) ή σε σειρά τεσσάρων το πολύ κόκκων και δεν φέρει έλυτρο (Αντωνιάδης κ.ά., 2005).

Ο *S. aureus* είναι ευρύτατα διαδεδομένος στο περιβάλλον. Ανευρίσκεται συνήθως στον άνθρωπο και τα ζώα και προκαλεί μια ποικιλία ασθενειών, από απλή λοίμωξη του δέρματος έως σοβαρές παθολογικές καταστάσεις, όπως η πνευμονία και η σηψαιμία (Lowy, 1998; Normano, 2007). Ανευρίσκεται κυρίως στο βλεννογόνο του ρινοφάρυγγα

και στο δέρμα του ανθρώπου και των ζώων. Στον άνθρωπο η κύρια θέση πολλαπλασιασμού είναι η μύτη. Επίσης ανευρίσκεται σε πολλά σημεία στο περιβάλλον, όπως στη σκόνη, τον αέρα, το νερό, τα ρούχα.

Είναι παρών στο δέρμα και τους βλεννογόνους των παραγωγικών ζώων, όπως των μηρυκαστικών και προκαλεί μαστίτιδες που οδηγούν σε μόλυνση του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων (Jablonsky & Bohach, 1997).

Οι σταφυλόκοκκοι είναι ευαίσθητοι στον ανταγωνισμό σε σχέση με τους μικροοργανισμούς που αποτελούν τη χλωρίδα των περισσότερων τροφίμων. Στις θερμοκρασίες που ευνοούν τον πολλαπλασιασμό του, η φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα δρα ανταγωνιστικά μέσω της διεκδίκησης θρεπτικών συστατικών ή διαμορφώνοντας συνθήκες στο περιβάλλον που δεν ευνοούν το πολλαπλασιασμό του. Μεταξύ των βακτηρίων που είναι γνωστό ότι δρουν ως ανταγωνιστές στον *S. aureus* περιλαμβάνονται τα *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *S. epidermidis*, *Enterobacteriaceae* και *Lactobacillaceae* (Mossel, 1975).

Τρόφιμα που περιέχουν μεγάλους αριθμούς οξυγαλακτικών βακτηρίων εμποδίζουν την ανάπτυξη των σταφυλόκοκκων. Η ανάπτυξη οξυγαλακτικών βακτηρίων έχει διαπιστωθεί ότι επηρεάζει και την παραγωγή των εντεροτοξινών (Chordash & Potter, 1976).

α) Ανάπτυξη

Ο *S. aureus* είναι προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο και μπορεί να αναπτυχθεί σε εύρος θερμοκρασιών 7-48°C με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 37°C, σε εύρος pH 4-10 με βέλτιστη ανάπτυξη σε τιμή pH 6-7 και ανέχεται χαμηλότερες τιμές a_w από άλλα βακτήρια (a_w ελάχιστο: 0,83 - 0,86). Οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται καλά σε ποσοστό μέχρι και 10% NaCl και σχετικά αργά στο 15% (Asperger & Zangerl, 2003).

β) Επιβίωση

Ο μικροοργανισμός θανατώνεται σε θερμοκρασίες παστερίωσης. Οι τιμές D στους 60°C ποικίλουν από 2 έως 50 min, ανάλογα με το τρόφιμο. Τα κύτταρα είναι ευαίσθητα σε pH

7,2 με τιμή $D_{60^{\circ}\text{C}} = 0,11$ min και περισσότερα ανθεκτικά σε γάλα σε pH 6,9 με τιμή $D_{60^{\circ}\text{C}} = 10,0$ min (Palumbo et al., 1977).

3.3.1.2 Σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες

Οι σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες είναι εξωπρωτεΐνες, σχηματίζονται από απλή πεπτιδική αλυσίδα και έχουν M.B. που κυμαίνεται από 26.000 έως 29.600 Da (Balaban & Rasooly, 2000; Asperger & Zangerl, 2003; Normanno et al., 2005).

Παραδοσιακά έχουν αναγνωριστεί οι κλασσικοί αντιγονικοί SE τύποι: SEA, SEB, SEC, SED και SEE (Bergdoll et al., 1973). Οι SEC διακρίνονται σε SEC_1 , SEC_2 , SEC_3 (Balaban & Rasooly, 2000). Στην δεκαετία του 1990 προσδιορίστηκαν νέες τοξίνες (SEG, SEH, SEI, SEJ) και περιγράφηκαν τα γονίδιά τους (Omoe et al., 2003; Blaiotta et al., 2004; Zschock et al., 2005).

Ο ρόλος των νέων σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών στην εμφάνιση τροφοτοξινώσεων δεν έχει ακόμη πλήρης διευκρινιστεί (Vernozy-Rozand et al., 2004; Boerema et al., 2006). Σχετικές μελέτες υποστηρίζουν ότι στερούνται εμετικής δραστηριότητας και δεν έχουν διερευνηθεί οι τοξικές τους ιδιότητες. Για το λόγο αυτό έχει προταθεί να προσδιορίζονται ως «τοξίνες όμοιες με τις σταφυλοκοκκικές» (“staphylococcal enterotoxins-like” SEI) (Morandi et al., 2007).

Από τον *S. aureus* παράγεται επίσης μια πρωτεΐνη, η τοξίνη του συνδρόμου του τοξικού σοκ 1 (TSST-1, toxic shock syndrome toxin 1), που βρέθηκε να εμπλέκεται στο τοξικό σύνδρομο του ανθρώπου και ζώων (Akineden et al., 2001). Η TSST-1 κάποτε αναφέρθηκε ως εντεροτοξίνη F (Bergdoll et al., 1982, 1991). Αν και η τοξίνη αυτή έχει πολλές κοινές βιολογικές δραστηριότητες με τις εντεροτοξίνες, δεν προκαλεί έμετο.

Οι εντεροτοξίνες είναι ανθεκτικές σε πρωτεολυτικά ένζυμα. Η ανθεκτικότητα αυτή τις επιτρέπει να περνούν άπεπτες από το στομάχι και να δρουν στο έντερο (Asperger & Zangerl, 2003).

Είναι αρκετά θερμοανθεκτικές. Η σχετική θερμοανθεκτικότητα αυτών των εντεροτοξινών είναι $\text{SEC} > \text{SEB} > \text{SEA}$ (Tibana et al., 1987). Τελευταίες έρευνες

δίνουν για τις σταφυλοκοκκικές τοξίνες μια ενδεικτική τιμή D στους 121°C, 3-8 min (Asperger & Zangerl, 2003).

Το γεγονός ότι οι τοξίνες είναι πολύ περισσότερο θερμοανθεκτικές από ό,τι τα κύτταρα του σταφυλόκοκκου, έχει σαν αποτέλεσμα, να βρίσκονται στο τρόφιμο ακόμη και όταν οι μικροοργανισμοί δεν ανιχνεύονται (Jablonski & Bohach, 1997; Jorgensen et al., 2005). Η ανάπτυξη των σταφυλόκοκκων δεν συνεπάγεται και την παραγωγή τοξινών, καθώς μπορούν να αναπτύσσονται χωρίς την παραγωγή εντεροτοξινών (Wallin-Carlquist et al., 2010).

Είναι γενικά αποδεκτό, ότι η παραγωγή εντεροτοξινών σε τρόφιμα, σε δόσεις τοξικές για τον άνθρωπο, συμβαίνει όταν ο πληθυσμός κυττάρων του *S. aureus* είναι μεγαλύτερος από 10^6 cfu/gr (Noah, 2005). Στα περισσότερα κρούσματα τροφικής δηλητηρίασης ανιχνεύθηκαν πληθυσμοί των 10^8 cfu/g τροφίμου και περισσότερο και συγκεντρώσεις εντεροτοξίνης από 1-5 µg/g τροφίμου (Asperger & Zangerl, 2003).

Η βέλτιστη θερμοκρασία για την παραγωγή εντεροτοξινών είναι μεταξύ 40-45°C, με ένα εύρος 10-46°C. Πρακτικά είναι γενικά αποδεκτό ότι είναι απίθανη η παραγωγή τοξίνης σε θερμοκρασία <10°C. Η παραγωγή τοξίνης ευνοείται σε τιμές pH μεταξύ 5,3-7,0. Η ελάχιστη τιμή που επιτρέπεται η παραγωγή είναι 4,8 ενώ η μέγιστη περίπου 9,0. (Pexara et al., 2010). Η παραγωγή εντεροτοξίνης γενικά παρατηρείται σε στενότερο εύρος τιμών a_w από ό,τι η ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Ιδανική τιμή a_w για παραγωγή τοξίνης είναι 0,90 (Smith et al., 1983), ενώ παραγωγή παρατηρείται σε ένα εύρος 0,86 έως 0,99.

Έχει διαπιστωθεί η παραγωγή τοξίνης σε συγκέντρωση NaCl 10% ή υψηλότερη σε pH 5,45, αλλά δεν ήταν δυνατή η παραγωγή τοξίνης σε συγκέντρωση NaCl 12% (Genigeorgis et al., 1971).

Οι σταφυλοκοκκικές τοξίνες ανήκουν σε μια μεγάλη οικογένεια πυρετογόνων εξωτοξινών (pyrogenic exotoxins, PT). Οι τοξίνες αυτές εκτός του ότι προκαλούν τη σταφυλοκοκκική τοξίνωση, προκαλούν και άλλα τοξικά σύνδρομα και εμπλέκονται σε αλλεργικά και αυτοάνοσα νοσήματα (Balaban & Rasooly, 2000). Δρουν ως ισχυρές γαστρεντερικές τοξίνες αλλά και ως υπεραντιγόνα που διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των μη ειδικών T-κυττάρων.

3.3.1.3 Σταφυλοκοκκική τοξίνωση

Η ποσότητα της σταφυλοκοκκικής εντεροτοξίνης που απαιτείται για να προκαλέσει συμπτώματα σε ανθρώπους είναι περίπου 100 ng (Balaban & Rasooly, 2000). Τα συμπτώματα συνήθως εμφανίζονται μέσα σε 2 - 4 ώρες, αλλά τα πρώτα συμπτώματα μπορεί να εκδηλωθούν σε διάστημα από 30 λεπτά έως 8 ώρες μετά την κατανάλωση του μολυσμένου τροφίμου (Noah, 2005), ανάλογα με την ευαισθησία του κάθε ατόμου και την τοξική δόση που προσλαμβάνεται (Normanno et al., 2007). Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν ναυτία, έντονο κοιλιακό άλγος, με ή χωρίς διάρροια (Dinges et al., 2000). Ο εμετός είναι το πιο σημαντικό σύμπτωμα. Συνήθως τα συμπτώματα υποχωρούν μέσα σε 24-48 ώρες.

Μερικές φορές μπορεί τα συμπτώματα να είναι πιο σοβαρά και οι ασθενείς να χρειαστούν νοσηλεία, ιδιαίτερα όταν πρόκειται για βρέφη, ηλικιωμένους ή εξασθενημένους ανθρώπους (Argudin et al., 2010).

3.3.1.4 Υπεύθυνα τρόφιμα

Στην πρόκληση σταφυλοκοκκικής τοξίνωσης συχνότερα εμπλέκονται μαγειρεμένα τρόφιμα που επιμολύνονται από το χειρισμό τους μετά την θερμική επεξεργασία και αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου ή υπό ψύξη, σε μεγάλους όγκους για αρκετές ώρες (Genigeorgis, 1989).

Μεταξύ των τροφίμων που εμπλέκονται πιο συχνά στη πρόκληση της τοξίνωσης είναι το γάλα, τα γαλακτοκομικά προϊόντα και το κρέας, ιδιαίτερα αυτά που έχουν υποστεί κάποιο χειρισμό μετά την θερμική επεξεργασία (De Buyser et al., 2001; Normano et al., 2005; Normano et al., 2007). Όπως ήδη αναφέρθηκε ο *S. aureus* είναι ευαίσθητος στην ανταγωνιστική μικροβιακή χλωρίδα των τροφίμων, οπότε οποιαδήποτε θερμική επεξεργασία που μειώνει τη χλωρίδα αυτή καθιστά ιδανικό το περιβάλλον για την ανάπτυξή του. Η μόλυνση από τον άνθρωπο κατά τον χειρισμό τροφίμων είναι πρωταρχική αιτία της σταφυλοκοκκικής τοξίνωσης, καθώς από πολλούς ερευνητές έχει διαπιστωθεί ότι η πλειοψηφία των στελεχών του *S. aureus* που απομονώνονται από τα τρόφιμα που υφίστανται χειρισμό προέρχονται από τον άνθρωπο (Devriese, 1984; Berdggoll, 1989).

Οι μικροοργανισμοί εισέρχονται στα τρόφιμα από μολυσμένα τραύματα και αλλοιώσεις του δέρματος των χεριών, που είναι πολύ συχνές και συχνά αγνοούνται από τους χειριστές τροφίμων (Asperger & Zangerl, 2003) ή με το βήχα και το φτάρνισμα. Επιπλέον, οι επιφάνειες του εξοπλισμού μπορεί να είναι πηγή επιμόλυνσης από *S. aureus* (Kusumaningrum et al., 2003).

Αν και η παστερίωση καταστρέφει τα κύτταρα του *S. aureus*, οι θερμοανθεκτικές τοξίνες δεν καταστρέφονται (Evenson et al., 1988; Morandi et al., 2007). Από τα τυριά, ιδιαίτερη σημασία για τη δημόσια υγεία έχουν τα τυριά τυρογάλακτος (μανούρι, ανθότυρος, μυζήθρα), καθώς θεωρούνται ευνοϊκό υπόστρωμα για την ανάπτυξη του *S. aureus*, λόγω του υψηλού pH ($\approx 6,0$), της έλλειψης οξυγαλακτικής ζύμωσης και του υψηλού ποσοστού υγρασίας τους.

Επειδή ο μικροοργανισμός μπορεί να αναπτυχθεί σε τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα άλατος ή ζάχαρης, το χοιρομήρι είναι από τα τρόφιμα που ενοχοποιούνται συχνότερα για την πρόκληση της σταφυλοκοκκικής τοξίνωσης. Άλλα τρόφιμα που εμπλέκονται περιλαμβάνουν κρέατα και άλλα πλούσια σε πρωτεΐνες τρόφιμα, σαλάτες με μαγιονέζα, επιδόρπια που περιέχουν κρέμα, κονσερβοποιημένα μανιτάρια, κρέμα γάλακτος, τυρί, σαλάμι και αυγά (Noah, 2005).

Οι σταφυλοκοκκικές τοξίνες που συχνότερα εμπλέκονται σε περιπτώσεις σταφυλοκοκκικής τοξίνωσης είναι η SEA και η SED, και ακολουθεί η SEB (Balaban & Rasooly, 2000; Manfreda et al., 2005). Η λιγότερα συχνά εμπλεκόμενη τοξίνη είναι η SEE.

3.3.1.5 Πρόληψη και νομοθεσία

Η εφαρμογή μέτρων ελέγχου, όπως κανόνων ορθής βιομηχανικής πρακτικής και ανάλυσης κινδύνου κρίσιμων σημείων στην παραγωγή τροφίμων μπορεί να εμποδίσουν τη μόλυνση τροφίμων από *S. aureus*. Η βιομηχανία τροφίμων πρέπει να εφαρμόζει μέτρα που θα εμποδίζουν τη επιμόλυνση μετά την παραγωγή. Επίσης, η αποφυγή λαθών, όπως η ανεπαρκής θερμική επεξεργασία, η ανεπαρκής ψύξη των τροφίμων, η παρασκευή τροφίμων σε χώρους χωρίς κατάλληλες προδιαγραφές, η ελλιπής υγιεινή των χειριστών τροφίμων και η διατήρηση των τροφίμων σε θερμαινόμενες συσκευές

που ευνοούν την βακτηριακή ανάπτυξη αποτελούν και τα καταλληλότερα μέτρα πρόληψης από την σταφυλοκοκκική τοξίνωση. Μεταξύ αυτών, ιδιαίτερη βαρύτητα έχουν η θερμοκρασία διατήρησης των έτοιμων τροφίμων και η τήρηση των κανόνων υγιεινής από τα άτομα που χειρίζονται τα τρόφιμα. Ευπαθή τρόφιμα που παράγονται με χαμηλούς πληθυσμούς σταφυλοκόκκων μπορούν να παραμείνουν απαλλαγμένα εντεροτοξινών εάν διατηρηθούν σε θερμοκρασία είτε χαμηλότερη από 4,4°C είτε υψηλότερη από 60°C μέχρι να καταναλωθούν. Άτομα με μολύνσεις ή φλεγμονές του δέρματος πρέπει να λαμβάνουν ιδιαίτερη μέριμνα και καλύτερα να αποκλείονται από την επεξεργασία των τροφίμων (Pexara et al., 2010).

Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θεσπίσει κριτήρια για την παρουσία των σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών σε τυριά, γάλα σε σκόνη και σκόνη ορού γάλακτος. Σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 της Ευρωπαϊκής Επιτροπής της Ευρωπαϊκής Ένωσης (όπως τροποποιήθηκε και ισχύει), δείγματα στα οποία ο αριθμός των θετικών στην πηκτάση σταφυλοκόκκων βρίσκεται $>10^5$ cfu /g πρέπει να ελέγχονται για σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες. Σε αυτή την περίπτωση δεν πρέπει να ανιχνεύονται σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες σε 25g προϊόντος που διατίθεται στην αγορά κατά τη διάρκεια διατήρησής του.

3.3.2 *Listeria monocytogenes*

Η *Listeria monocytogenes* περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1926 (Murry et al., 1926; Warriner & Namvar, 2009). Το γένος *Listeria* περιλαμβάνει έξι είδη: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, και *L. grayi*. Τα είδη του γένους *Listeria* είναι κοντά, Gram θετικά, μη σπορογόνα, προαιρετικά αναερόβια, ψυχρότροφα βακτήρια ραβδόμορφου σχήματος. Η *L. monocytogenes* είναι κινητή στους 20–25°C αλλά μη κινητή στους 37°C (Griffiths, 2003). Όλα τα είδη είναι φαινοτυπικά όμοια αλλά μόνο η *L. monocytogenes* και η *L. ivanovii* είναι παθογόνα (Rocourt & Buchrieser, 2007; Warriner & Namvar, 2009). Η *L. monocytogenes* είναι παθογόνος για τον άνθρωπο και τα ζώα ενώ η *L. ivanovii* είναι παθογόνος μόνο για τα ζώα (Martin & Fisher, 1999).

Στον άνθρωπο η *L. monocytogenes* προκαλεί τη λιστερίωση, μία νόσο με μεγάλη σημασία για τη δημόσια υγεία λόγω της σοβαρότητας των συμπτωμάτων που προκαλεί

και της υψηλής θνησιμότητας ιδιαίτερα σε ευπαθή άτομα με μειωμένη ανοσία. Η σημασία της *L. monocytogenes* ως παράγοντα για την πρόκληση τροφιμογενούς νόσου έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια επειδή είναι ένα παθογόνο βακτήριο που μπορεί να αναπτυχθεί σε τρόφιμα που συντηρούνται σε θερμοκρασίες ψύξης. Η *L. monocytogenes* είναι υπεύθυνη για τροφιμογενή κρούσματα παγκοσμίως (Lianou et al., 2006), προκαλώντας τουλάχιστον 2500 λοιμώξεις και 500 θανάτους κάθε χρόνο στις ΗΠΑ (Mead et al., 1999; Pal et al., 2008). Στην Ευρωπαϊκή Ένωση αναφέρθηκαν 1.476 επιβεβαιωμένες περιπτώσεις λιστερίωσης στον άνθρωπο το 2011 με ποσοστό θνησιμότητας 12,7% (EFSA, 2013). Σύμφωνα με το Τμήμα Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης του ΚΕΕΛΠΝΟ το διάστημα 2004-2012 δηλώθηκαν 64 περιστατικά λιστερίωσης στη χώρα μας με υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης στην ηλικιακή ομάδα των 65 και πάνω και με δεύτερη σε συχνότητα την ηλικιακή ομάδα 0-4 έτη. Στο σύνολο των δηλωθέντων περιστατικών, τα 34 (53,1%) αφορούσαν ανοσοκατεσταλμένα άτομα και ένα αφορούσε ένα πρόωρο νεογνό. Η θνητότητα του νοσήματος μεταξύ των δηλωθέντων περιστατικών με γνωστή έκβαση ήταν υψηλή (35,5%).

Έχουν ταυτοποιηθεί 13 διαφορετικοί ορότυποι *L. monocytogenes* με βάση τα σωματικά και βλεφαριδικά αντιγόνα (Ryser, 2002). Οι ορότυποι 1/2a, 1/2b και 4b εμπλέκονται συχνότερα σε περιστατικά λιστερίωσης (Farber & Peterkin, 1991; De Jesus & Whiting, 2003). Οι περισσότερες από τις τροφιμογενείς επιδημίες που καταγράφονται οφείλονται στον ορότυπο 4b ενώ οι ορότυποι 1/2a και 1/2b ενοχοποιούνται συχνότερα για μεμονωμένα κρούσματα (De Jesus & Whiting, 2003; Pal et al., 2008). Επίσης έχει διαπιστωθεί και μια γεωγραφική κατανομή των διαφόρων οροτύπων π.χ. ο ορότυπος 4b κυριαρχεί σε πολλές χώρες της Ευρώπης ενώ σε περιστατικά λιστερίωσης που καταγράφονται στη Βόρεια Αμερική απομονώνονται πιο συχνά οι ορότυποι 1/2a στον Καναδά και 4b στις ΗΠΑ. Ο λόγος για τις διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ ορότυπου και γεωγραφικής διασποράς δεν είναι γνωστός. Επίσης δεν είναι ακόμη γνωστό προς το παρόν, γιατί οι τρεις ορότυποι προκαλούν τα περισσότερα περιστατικά (Pagotto & Farber, 2003).

Η *L. monocytogenes* είναι ευρέως διαδεδομένη στο περιβάλλον και έχει απομονωθεί από διάφορες πηγές. Κύριες πηγές είναι το έδαφος, το νερό και τα φυτά σε αποσύνθεση (Martin et al., 1999).

Στα παραγωγικά ζώα όπως τα πρόβατα και τις αίγες η *L. monocytogenes* μπορεί να προκαλέσει μηνιγγοεγκεφαλίτιδα ("circling disease"), αποβολή ή μαστίτιδα. Όμως και υγιή ζώα μπορεί να είναι εντερικοί φορείς της *L. monocytogenes*. Η *L. monocytogenes* έχει απομονωθεί από πολυάριθμα είδη θηλαστικών (όπως το πρόβατο, την αγελάδα, τα γουρούνια, τους σκύλους), αλλά και από κοτόπουλα. Η λιστερίωση θεωρείται ζωνόσος και τα ζώα θεωρούνται η κύρια δεξαμενή του μικροοργανισμού (Bojsen-Moller, 1972; Πεξάρá κ.ά., 2009). Η χρήση των ζωικών περιττωμάτων ως λίπασμα σε καλλιέργειες έχει ενοχοποιηθεί ότι συνέβαλλε σε τροφιμογενείς επιδημίες λιστερίωσης σε ανθρώπους, επιμολύνοντας κυρίως τρόφιμα φυτικής προέλευσης (Schlech et al., 1983; Πεξάρá κ.ά., 2009). Επίσης 1-5% του συνολικού ανθρώπινου πληθυσμού είναι υγιείς εντερικοί φορείς (Martin et al., 1999).

α) Ανάπτυξη

Η *L. monocytogenes* είναι ένα ανθεκτικό βακτήριο που μπορεί να αναπτύσσεται σε εύρος τιμών pH από 4,3-9,8 και εύρος θερμοκρασίας από 0,5-45°C με βέλτιστη ανάπτυξη μεταξύ 30°C και 37°C. Ένα επιπλέον ειδικό χαρακτηριστικό της είναι ο οσμοανθεκτικός χαρακτήρας της που της επιτρέπει να επιβιώνει σε υψηλή συγκέντρωση άλατος (>20% w/v) και μικρή συγκέντρωση ενεργού νερού (a_w 0.91) (Lado & Yousef, 2007; Warriner & Namvar, 2009). Για το λόγο αυτό είναι ικανή να αναπτύσσεται σε πολλά περιβάλλοντα. Επίσης αναπτύσσεται κάτω από αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες, ακόμη και σε χαμηλές θερμοκρασίες (Lou et al., 1999).

β) Επιβίωση

Σχετικά με τη θερμοανθεκτικότητα της *L. monocytogenes* υπολογίστηκαν τιμές D_{70} μεταξύ 0,11 και 0,27 min (Mackey et al., 1990). Μπορεί να επιβιώσει για πολύ χρόνο σε τιμές a_w ως 0,83 (Shahamat et al., 1980). Η ανάπτυξή της είναι δυνατή σε παρουσία μέχρι και 10-12% NaCl ενώ αναπτύσσεται σε υψηλούς πληθυσμούς σε συγκέντρωση 6,5%. Η κατάψυξη τροφίμων μειώνει ελάχιστα τον αρχικό αριθμό της λιστέριας, λιγότερο από 1 λογάριθμο. Έχει διαπιστωθεί η ικανότητά της να σχηματίζει βιομεμβράνες σε εξοπλισμούς βιομηχανιών γάλακτος και κρέατος (Joeng & Frank, 1994) με μεγάλη αντοχή στα κοινά απολυμαντικά. (Πεξάρá κ.ά., 2009).

γ) Χαρακτηριστικά της νόσου στον άνθρωπο

Η λιστερίωση μπορεί να έχει σποραδική ή επιδημική μορφή και η κυριότερη πηγή μόλυνσης είναι τα τρόφιμα. Ενώ η συχνότητα εμφάνισής της ποικίλλει από 0,2 ως 8,3 περιπτώσεις ανά εκατομμύριο πληθυσμού στις ανεπτυγμένες χώρες, αλλά είναι ευρέως αποδεκτό ότι ο πραγματικός ρυθμός της ασθένειας έχει υποεκτιμηθεί (Pagotto & Farber, 2003). Σε σχέση με άλλα παθογόνα, όπως τη *Salmonella* και το *Campylobacter* ο αριθμός των αναφερόμενων περιστατικών λιστερίωσης είναι πολύ χαμηλός. Αν και η συχνότητα εμφάνισής της είναι χαμηλή, οι θάνατοι που συνδέονται με τροφιμογενείς επιδημίες είναι πολλοί, κάνοντας τη *L. monocytogenes* ένα από τα σημαντικότερα τροφιμογενή παθογόνα (Ivanek et al., 2004; Warriner & Namvar, 2009).

Η μολύνουσα δόση της *L. monocytogenes* δεν είναι ακόμη γνωστή αλλά πιστεύεται ότι αυτή εξαρτάται από το στέλεχος και τον ξενιστή (McLauchlin et al., 2004; Jensen et al., 2008; Skalina et al., 2010). Αν και άγνωστη θεωρείται ότι η δόση που απαιτείται για να προκαλέσει ασθένεια σε ευπαθείς ομάδες κυμαίνεται από 100-1000 κύτταρα (Drevets & Bronze, 2008).

Η *L. monocytogenes* προκαλεί την εμπύρετη γαστρεντερίτιδα και τη συστηματική νόσο (Rocourt & Buchrieser, 2007). Η γαστρεντερίτιδα προκαλείται σε υγιείς ανθρώπους που προσλαμβάνουν υψηλή δόση της *L. monocytogenes* (>8 log cfu). Η περίοδος επώασης είναι 1-7 μέρες και ακολουθείται από συμπτώματα που μοιάζουν με γρίπη και μπορεί να συνοδεύονται από κοιλιακό πόνο και διάρροια. Τα συμπτώματα σπάνια απειλούν τη ζωή και υποχωρούν μετά από λίγες μέρες (Drevets & Bronze, 2008). Ωστόσο, πολύ λοιμογόνα στελέχη της *L. monocytogenes* που ανήκουν στον ορότυπο 4b μπορεί να είναι θανατηφόρα ακόμη και σε υγιή άτομα (Warriner & Namvar, 2009).

Οι ηλικιωμένοι, οι έγκυες γυναίκες, τα μικρά παιδιά και οι ανοσοκατεσταλμένοι είναι πιο ευπαθείς. Στους ανοσοκατεσταλμένους περιλαμβάνονται άτομα με AIDS καθώς και ασθενείς με καρκίνο που κάνουν θεραπεία με ανοσοκατασταλτικά φάρμακα όπως είναι τα κορτικοστεροειδή που μειώνουν την έμμεση ανοσία μέσω των T- κυττάρων (Rocourt & Cossart, 1997; Gandhi & Chikindas, 2007).

Η *L. monocytogenes* μπορεί να περάσει μέσω του φραγμού του πλακούντα και να προσβάλλει το έμβρυο στις έγκυες γυναίκες και να οδηγήσει σε αποβολή, θνησιγενές ή νεκρό έμβρυο (Rocourt & Cossart, 1997; Gandhi & Chikindas, 2007).

Η συστηματική νόσος οδηγεί σε θανάσιμες ασθένειες, όπως σηψαιμία, εγκεφαλίτιδα και μηνιγγίτιδα μεταξύ άλλων. Η ασθένεια είναι θανατηφόρα στο 30% των περιπτώσεων αν και μπορεί να αντιμετωπιστεί με αντιβιοτικά, αν διαγνωσθεί έγκαιρα (Williams & Nadel, 2001; Warriner & Namvar, 2009).

3.3.2.1 Υπεύθυνα τρόφιμα

Η αιτία της λιστερίωσης είναι σχεδόν πάντα ένα τρόφιμο που μολύνεται κάπου στην τροφική αλυσίδα (Mead et al., 1999; Norton & Braden, 2007). Μια σημαντική πηγή είναι η πρώτη ύλη που εισέρχεται σε μια εγκατάσταση επεξεργασίας φέροντας μαζί της παροδικά και επίμονα στελέχη. Μερικά στελέχη φαίνεται να επιμένουν για μήνες ή ακόμη και χρόνια (Kathariou, 2002; Todd et al., 2011). Η ικανότητά της να αναπτύσσεται σε χαμηλές θερμοκρασίες είναι πρωταρχικής σημασίας για την επιμονή του βακτηρίου σε περιβάλλοντα μονάδων επεξεργασίας τροφίμων. Άλλοι παράγοντες που συμβάλλουν στην παρατεταμένη παρουσία της *L. monocytogenes* σε μονάδες επεξεργασίας τροφίμων είναι η ικανότητα σχηματισμού βιομεμβράνης (Di Bonaventura et al., 2008) σε επιφάνειες επεξεργασίας, εξοπλισμού ή δάπεδα και η αντίσταση σε απολυμαντικά (Romanova et al., 2002; Lunden et al., 2003).

Η ανθεκτική φύση αυτού του ψυχρότροφου τροφιμογενούς παθογόνου μικροοργανισμού με ευρύτατη κατανομή στη φύση, μαζί με την ικανότητα να αποικίζει, να πολλαπλασιάζεται και να επιμένει σε εγκαταστάσεις παραγωγής τροφίμων για πολλούς μήνες, κάνει τη *L. monocytogenes* μια σημαντική απειλή για τους παρασκευαστές γαλακτοκομικών προϊόντων, καθώς και έτοιμων για κατανάλωση προϊόντων κρέατος, πουλερικών, αλιευμάτων, έτοιμων σάντουιτς και άλλων προϊόντων, τα οποία έχουν συχνά βρεθεί να προσφέρουν προστασία στη *Listeria* (Ryser, 2002).

Η δυνατότητα ανάπτυξης της *L. monocytogenes* στα τρόφιμα εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, οι πιο σημαντικοί είναι το στέλεχος, ο τραυματισμός ή το στρες που εφαρμόζεται στο συγκεκριμένο στέλεχος, τα ενδογενή χαρακτηριστικά του τροφίμου

(π.χ. η τιμή του pH, η περιεκτικότητα σε NaCl, η τιμή a_w , η σύσταση του τροφίμου, η ύπαρξη, το είδος και ο αριθμός της μικροχλωρίδας, η ύπαρξη αντιμικροβιακών συστατικών) και οι εξωγενείς ιδιότητες (π.χ. η θερμοκρασία συντήρησης, η ατμόσφαιρα) (Beaufort et al., 2008; Skalina & Nikolajeva, 2010).

Ενώ το αρχικό βακτηριακό φορτίο της *L. monocytogenes* στα μολυσμένα τρόφιμα είναι συνήθως χαμηλό, η ικανότητα της να επιβιώνει και να πολλαπλασιάζεται σε χαμηλές θερμοκρασίες, της επιτρέπει να φθάνει σε επίπεδα αρκετά υψηλά για να προκαλέσει ασθένεια στον άνθρωπο (Chan & Wiedmann, 2009). Η μόλυνση των έτοιμων προς κατανάλωση προϊόντων με *L. monocytogenes* μπορεί να συμβεί σε διάφορα στάδια πριν από την κατανάλωση (Lianou & Sofos, 2007; Skalina & Nikolajeva, 2010).

Το νωπό γάλα μολυσμένων ζώων είναι πηγή *L. monocytogenes*. Οι περισσότεροι ερευνητές συμφωνούν ότι η παστερίωση (HTST, 71,6°C για 16 sec) του γάλακτος είναι αποτελεσματική στην αδρανοποίηση του παθογόνου. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην θερμοκρασία διατήρησης του παστεριωμένου γάλακτος και στις επιμολύνσεις καθώς το γάλα που έχει επιμολυνθεί μετά τη θερμική επεξεργασία και διατηρηθεί υπό ψύξη μπορεί να έχει υψηλούς πληθυσμούς της *L. monocytogenes* (Dalton et al., 1997).

Εξαιτίας της ικανότητας να πολλαπλασιάζεται σε θερμοκρασίες ψύξης και της ανθεκτικότητας σε αλάτι, η *L. monocytogenes* μπορεί να επιβιώσει κατά την παρασκευή τυριών και τη διαδικασία της ωρίμανσης. Η ανάπτυξη της επιβραδύνεται από την δράση της οξυγαλακτικής καλλιέργειας, αλλά δεν αναστέλλεται πλήρως. Η κατανάλωση των μαλακών τυριών από ευπαθή άτομα είναι παράγοντας κινδύνου για σποραδική και επιδημική λιστερίωση. Γάλλοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι το 49% της σποραδικής λιστερίωσης στη Γαλλία αποδίδεται στην κατανάλωση μαλακών τυριών (de Valk et al., 1998).

Η μόλυνση του κρέατος με τη *L. monocytogenes* είναι συνήθως επιμόλυνση του σφάγιου μετά την σφαγή ή κατά τον τεμαχισμό και χειρισμό του κρέατος. Η *L. monocytogenes* επιμολύνει την επιφάνεια του κρέατος και δύσκολα απομακρύνεται ή αδρανοποιείται (Swaminathan, 2001). Η *L. monocytogenes* πολλαπλασιάζεται σε

προϊόντα κρέατος σε pH περίπου 6,0 ενώ μικρός ή και καθόλου πολλαπλασιασμός παρατηρείται σε τιμή pH περίπου 5,0 (Glass & Doyle, 1989; Farber & Peterkin, 1999).

Προϊόντα θερμικής επεξεργασίας κρέατος και πουλερικών που προορίζονται να καταναλωθούν ωμά έχουν επίσης ενοχοποιηθεί ως πηγές σποραδικών τροφολοιμώξεων λιστερίωσης στην Ευρώπη. Κατανάλωση αλλαντικών Φραγκφούρτης που δεν θερμάνθηκαν επαρκώς και κοτόπουλο που δεν είχε υποστεί κατάλληλη θερμική επεξεργασία είναι τρόφιμα που εμπλέκονται συχνά σε τροφολοιμώξεις λιστερίωσης (Schwartz, 1989; Swaminathan, 2001).

Μεταξύ των αλιευμάτων, τα προϊόντα που ενέχουν κινδύνους για λιστερίωση είναι κυρίως μαλάκια (φρέσκα και καταψυγμένα), νωπά ψάρια ή άλλα προϊόντα ψαριών που έχουν υποστεί διάφορες μορφές επεξεργασίας, όπως αλίπαστα, μαριναρισμένα, καπνισμένα με ψυχρή κάπνιση και ήπια θερμική επεξεργασία (Ericsson et al., 1997; Huss et al., 2000; Πεξαρά κ.ά., 2009).

Όσον αφορά τα έτοιμα για κατανάλωση τρόφιμα (Ready to eat, RTE), οι περιπτώσεις λιστερίωσης συνδέονται συχνότερα με τα επεξεργασμένα τρόφιμα, που έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής που ευνοεί τη βακτηριακή ανάπτυξη και διατηρούνται σε θερμοκρασίες ψύξης (Huss et al., 2000) και συνήθως καταναλώνονται χωρίς μαγείρεμα ή άλλη επεξεργασία. Ωστόσο, η *L. monocytogenes* μπορεί να αναπτυχθεί, μόνο σε περιορισμένο βαθμό σε αυτά τα τρόφιμα, μια και πολύ λίγα από αυτά περιείχαν βακτήρια σε επίπεδα που ξεπερνούσε το νομοθετικό κριτήριο ασφάλειας των 100 CFU ανά γραμμάριο τροφίμου (EC 2005). Δείγματα που είχαν υπερβεί το όριο αυτό ήταν πιο συχνά έτοιμα για κατανάλωση προϊόντα αλιείας (1,7%), τυριά (0,1-0,6%) καθώς και έτοιμα για κατανάλωση προϊόντα κρέατος (0,1%) (EFSA 2007; Uyttendaele et al., 2009). Αναφορά της EFSA σχετική με τα επίπεδα της *L. monocytogenes* σε συγκεκριμένα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα που συλλέχθηκαν από υπεραγορές και καταστήματα τροφίμων τη χρονική περίοδο 2010-2011, έδειξε ότι αυτή ανευρίσκεται στο 10,3% των δειγμάτων ψαριών (ζεστά ή κρύα καπνισμένα ή μαριναρισμένα ψάρια), στο 2,1% των δειγμάτων κρέατος (θερμικά επεξεργασμένα προϊόντα κρέατος) και στο 0,5% των δειγμάτων τυριών (μαλακά ή ημίσκληρα τυριά). Όμως τα ποσοστά των μη συμμορφούμενων δειγμάτων, που στο τέλος της διάρκειας ζωής τους ξεπερνούσαν το νομοθετικό όριο ασφάλειας (100 cfu/gr) ήταν 1,7%, 0,43% και 0,06% αντίστοιχα (EFSA 2013). Μεταξύ

των δειγμάτων τροφίμων που εξετάστηκαν το 2011 στην Ελλάδα, στα πλαίσια του επίσημου ελέγχου, βρέθηκαν θετικά στη *L. monocytogenes* σε ποσοστό %, το χοιρινό κρέας 1,66%, προϊόντα χοιρινού κρέατος μαγειρεμένα έτοιμα για κατανάλωση 75%, γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα 0,34% (EFSA 2011).

3.3.2.2 Πρόληψη και Νομοθεσία

Εξαιτίας της ευρείας κατανομής της *L. monocytogenes* στη φύση, μπορεί να μην είναι δυνατόν να εξαλειφθεί πλήρως από την αλυσίδα των τροφίμων. Πολλές πρωτοβουλίες έχουν αναληφθεί από αρμόδιους οργανισμούς σε μια προσπάθεια να διασφαλίσουν την ασφάλεια των τροφίμων. Επίσης νεότερες τεχνολογίες εφαρμόζονται ως μέσο για την πρόληψη της ανάπτυξης της *L. monocytogenes* σε τρόφιμα. Η ακτινοβόληση είναι ένα παράδειγμα που έχει εγκριθεί σε ορισμένες χώρες και για ορισμένα μόνο τρόφιμα, μεταξύ αυτών του κρέατος, των φρούτων, των λαχανικών και των μπαχαρικών (Pagotto & Farber, 2003).

Πολλές συστάσεις διατυπώνονται από επιστήμονες και αρμόδιες υπηρεσίες σχετικά με τρόπους που μειώνουν την έκθεση στη *L. monocytogenes* και τον κίνδυνο τροφιμογενούς λιστερίωσης. Τα άτομα υψηλού κινδύνου, όπως εγκυμονούσες γυναίκες και άτομα σε ανοσοκαταστολή, να αποφεύγουν την κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων από απαστερίωτο γάλα καθώς και ατελώς ψημένου κρέατος. Η κατανάλωση αυγών χωρίς κατάλληλη θερμική επεξεργασία μπορεί να είναι παράγοντας κινδύνου λιστερίωσης και πρέπει να αποφεύγεται από ευπαθείς πληθυσμούς. Ιδιαίτερη προσοχή να δίνεται στην αποφυγή επιμόλυνσης των μαγειρεμένων τροφίμων λόγω της επαφής με νωπά προϊόντα. Τα λαχανικά να πλένονται πολύ καλά (Πεξαρά κ.ά., 2009)

Λόγω της σημασίας της *L. monocytogenes* για τη δημόσια υγεία, στην κοινοτική νομοθεσία για τα τρόφιμα, το τροφιμογενές αυτό παθογόνο συγκαταλέγεται μεταξύ των μικροβιολογικών κριτηρίων για ορισμένες κατηγορίες τροφίμων (Πίνακας 1). Συγκεκριμένα στον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 (όπως τροποποιήθηκε και ισχύει), καθορίζονται τα μικροβιολογικά κριτήρια ασφάλειας των τροφίμων και τα μικροβιολογικά κριτήρια υγιεινής της παραγωγικής διαδικασίας τα τρόφιμα κατηγοριοποιούνται με βάση τον κίνδυνο ανάπτυξης της *L. monocytogenes*. Τα τρόφιμα υψηλού κινδύνου, δηλαδή τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση ικανά να υποστηρίξουν την

ανάπτυξη της (με βάση ιδιότητες όπως pH, a_w και διάρκεια ζωής >5 μέρες) θα πρέπει να είναι αρνητικά για *L. monocytogenes* σε ένα δείγμα 25 g στο σημείο της αποδέσμευσης από τον παρασκευαστή, αλλά επιτρέπει να περιέχουν ως 100 cfu/g μέχρι το τέλος της διάρκειας ζωής του προϊόντος. Το όριο των 100 cfu/g ισχύει επίσης σε όλη τη διάρκεια ζωής των τροφίμων, που διατίθενται στην αγορά ως έτοιμα για κατανάλωση τρόφιμα (RTE), μη ικανά να υποστηρίξουν την ανάπτυξη της *L. monocytogenes*.

Ο παραγωγός ή ο παρασκευαστής ενός τροφίμου πρέπει να αποφασίσει αν το τρόφιμο που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση είναι «έτοιμο να καταναλωθεί ως έχει», χωρίς να χρειάζεται να μαγειρευτεί ή να υποστεί άλλη επεξεργασία αποτελεσματική για να εξαλείψει ή να μειώσει σε αποδεκτό επίπεδο τους επικίνδυνους μικροοργανισμούς προκειμένου να εξασφαλιστεί η ασφάλειά του και η συμμόρφωσή του προς τα μικροβιολογικά κριτήρια.

Πίνακας 1. Κριτήρια για τη *L. monocytogenes* ανάλογα με το τρόφιμο, όπως ορίζονται στον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 (και στον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1441/2007 που τον τροποποιεί)

Κατηγορία Τροφίμων	Όρια	Που εφαρμόζεται το κριτήριο
Τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση για βρέφη & για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς	Να μην ανιχνεύεται σε 25 g	Προϊόντα που διατίθενται στην αγορά κατά τη διάρκεια διατήρησής τους
Έτοιμα για κατανάλωση τρόφιμα διαφορετικά από της κατηγορίας 1. ικανά να υποστηρίξουν την ανάπτυξη της <i>L. monocytogenes</i>	Να μην ανιχνεύεται σε 25 g <100 cfu/g	Πριν το τρόφιμο αποδεσμευτεί από τον άμεσο έλεγχο του υπευθύνου της επιχείρησης που το παρήγαγε Προϊόντα που διατίθενται στην αγορά κατά τη διάρκεια διατήρησής τους
Τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση μη ικανά να υποστηρίξουν την ανάπτυξη της <i>L. monocytogenes</i> διαφορετικά από της κατηγορίας 1.	<100 cfu/g	Προϊόντα που διατίθενται στην αγορά κατά τη διάρκεια διατήρησής τους

3.3.3 *Salmonella* spp.

Η σαλμονέλλωση είναι ο γενικός όρος για την ανθρώπινη ασθένεια που προκαλείται από τα βακτήρια του γένους *Salmonella* (Mead et al., 1999) και αποτελεί μία σημαντική

τροφιμογενής ασθένεια, τόσο στις αναπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες (EFSA, 2010). Υπάρχουν 16 εκατομμύρια ετήσια κρούσματα τυφοειδούς πυρετού, 1,3 δισεκατομμύρια περιπτώσεις γαστρεντερίτιδας και 3 εκατομμύρια θάνατοι σε όλο τον κόσμο λόγω της λοίμωξης από βακτήρια του γένους *Salmonella* (Bhunia, 2008; Pui et al., 2011). Στην Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ) το 2008 καταγράφηκαν 131.468 επιβεβαιωμένα περιστατικά σαλμονέλλωσης ανθρώπων, κατατάσσοντας τη σαλμονέλλωση ως τη δεύτερη πιο συχνά αναφερόμενη ζωνόσο στον άνθρωπο μετά την Καμπυλοβακτηρίωση. Ωστόσο συγκριτικά με το 2007 τα περιστατικά σαλμονέλλωσης στον άνθρωπο το 2008 παρουσιάζουν μείωση κατά 13,5% στην ΕΕ (Carrasco et al., 2012). Η πτωτική τάση συνεχίστηκε και το 2011 με την καταγραφή 95.548 επιβεβαιωμένων περιστατικών σαλμονέλλωσης στον άνθρωπο (μείωση κατά 37,9% συγκριτικά με το 2007). Πιστεύεται ότι η παρατηρούμενη μείωση των κρουσμάτων σαλμονέλλωσης είναι κυρίως αποτέλεσμα της επιτυχούς εφαρμογής προγραμμάτων ελέγχου της σαλμονέλλας στους πληθυσμούς των πουλερικών (EFSA, 2013).

Στη χώρα μας το 2006 δηλώθηκαν 984 κρούσματα σαλμονέλλωσης (KEEΠNO, 2007). Καθώς πολλές ήπιες περιπτώσεις δεν καταγράφονται, η πραγματική συχνότητα υπολογίζεται ότι είναι 20 φορές μεγαλύτερη Πεξάρá κ.ά., 2009). Το 2011, στη χώρα μας επιβεβαιώθηκαν 469 περιστατικά σαλμονέλλωσης ανθρώπων (EFSA, 2013).

Η *Salmonella* είναι ένα προαιρετικά αναερόβιο, Gram αρνητικό μαστιγοφόρο ραβδόμορφου σχήματος βακτήριο (Yousef & Carlstrom, 2003; Montville & Matthews, 2008) και ανήκει στην οικογένεια των *Enterobacteriaceae* (D'Aoust et al., 2001).

Το γένος *Salmonella* περιλαμβάνει δύο είδη, τα *S. enterica* και *S. bongori* (supspecies V) καθένα από τα οποία περιλαμβάνει πολλούς οροτύπους. Η *S. enterica* διακρίνεται σε 6 υποείδη. Περισσότερα από το 99% των στελεχών *Salmonella*, που προκαλούν λοιμώξεις στον άνθρωπο ανήκουν στο είδος *Salmonella enterica* subspecies *enterica* (Pui et al., 2011).

Αν και η οικογένεια περιλαμβάνει περισσότερους από 2300 ορότυπους, οι ορότυποι που εντοπίζονται πιο συχνά στη συχνότητα εμφάνισης της σαλμονέλλωσης είναι οι *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium (Tauxe, 1991; Todd, 1997) και αναφέρονται ως οι δύο κύριοι αιτιολογικοί παράγοντες της νόσου του ανθρώπου στην

Ευρωπαϊκή Ένωση (Carrasco et al., 2012). Στην Ελλάδα, οι συχνότερα δηλούμενες σαλμονέλλες είναι η *Salmonella enterica enterica* ser. Enteritidis 1,9,12:g,m:- και η *Salmonella enterica enterica* ser. Typhimurium 1,4,[5],12:i:1,2 (ΚΕΕΛΠΝΟ, 2011)

Ενώ η *S. Enteritidis* κυρίως εμπλέκεται με την κατανάλωση πουλερικών και αυγών, η *S. Typhimurium* συνδέεται με μια σειρά από τρόφιμα ζωικής προέλευσης από τα πουλερικά, τους χοίρους, τα βοοειδή και τα πρόβατα. Μέχρι τα τέλη του 1980, η *S. Enteritidis* ήταν ένας σπάνιος ορότυπος. Από τη δεκαετία του 1990, η *S. Enteritidis* αντικατέστησε τη *S. Typhimurium* ως ο πιο κοινός ορότυπος σαλμονέλλωσης που έχει απομονωθεί από τους ανθρώπους σε πολλές χώρες της Ευρώπης και σε όλο τον κόσμο (Angulo & Swerdlow, 1999; Tschape et al., 1999; Cogan & Humphrey, 2003; Carrasco et al., 2012).

Πολλοί ορότυποι σαλμονέλλας είναι ευρέως διαδεδομένοι στη φύση και μπορεί να βρεθούν στο έντερο πολλών ειδών ζώων, τόσο οικόσιτων όσο και άγριων (Allerberger et al., 2002). Η παρουσία στο έντερο των ζώων αποτελεί την κυριότερη πηγή μόλυνσης από *Salmonella*. Οι κύριες οδοί μετάδοσης αυτού του παθογόνου είναι τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, που έχουν μολυνθεί από περιττώματα (Swartz, 2002; Haeghebaert et al., 2003). Κρούσματα σαλμονέλλωσης οφείλονται συχνά σε πολλαπλασιασμό του βακτηρίου στο τρόφιμο λόγω ανεπαρκούς μαγειρέματος, σε επιμόλυνση μετά τη θερμική επεξεργασία και μη κατάλληλη θερμοκρασία συντήρησης (Ryan et al., 1996; Todd, 1997). Ωστόσο, η κατανάλωση κρέατος από μολυσμένα ζώα μπορεί να είναι επίσης μια πηγή μόλυνσης (Tauxe, 1991; Benenson, 1995).

Ο άνθρωπος μολύνεται, όταν προσλαμβάνει τρόφιμο ή νερό που έχει μολυνθεί με σαλμονέλλα, μέσω των ζώων που αποτελούν δεξαμενές. Ωστόσο, η *S. Typhi* και η *S. Paratyphi A* δεν έχουν δεξαμενή ζώων και ως εκ τούτου η μόλυνση μπορεί να συμβεί με την κατανάλωση τροφίμων που έχουν μολυνθεί μέσω των ακατάλληλων χειρισμών από προσβεβλημένα άτομα (Newell et al., 2010; Pui et al., 2011).

α) Ανάπτυξη

Οι σαλμονέλλες δεν είναι απαιτητικά βακτήρια, δεδομένου ότι μπορούν να πολλαπλασιαστούν κάτω από διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Οι περισσότεροι

ορότυποι αναπτύσσονται σε εύρος θερμοκρασίας από 5 έως 47°C με βέλτιστη θερμοκρασία από 35 έως 37°C, αλλά μερικοί ορότυποι μπορεί να αναπτυχθούν σε πολύ χαμηλότερη (2 έως 4°C) ή και πολύ υψηλότερη θερμοκρασία (έως και 54 °C) (Gray & Fedorka-Cray, 2002). Αναπτύσσονται σε ένα εύρος pH από 4 έως 9 με βέλτιστη ανάπτυξη μεταξύ 6,5 και 7,5. Απαιτούν υψηλή ενεργότητα νερού (a_w) μεταξύ 0,99 και 0,94. Μπορούν να αναπτυχθούν σε συγκέντρωση άλατος 0,4 έως 4%. Πλήρης αναστολή της ανάπτυξης λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασίες <7 °C, pH <3,8 ή a_w <0.94 (Hanes, 2003; Bhunia, 2008; Pui et al, 2011).

β) Επιβίωση

Υπάρχουν μεγάλες διαφορές στη θερμοανθεκτικότητα ανάλογα με το στέλεχος. Η τιμή D για τη *S. Typhimurium* είναι φυσιολογικά χαμηλότερη από 1 min στους 60°C, όπως και για τους περισσότερους ορότυπους της *Salmonella*. Έχει διαπιστωθεί η ικανότητα των σαλμονελλών να αναπτύσσουν μεγαλύτερη θερμοανθεκτικότητα όταν πριν από τη θερμική επεξεργασία εκτεθούν σε υψηλές, αλλά χωρίς βακτηριοκτόνο δράση θερμοκρασίες ($\leq 50^\circ\text{C}$, για 15 έως 30 min) μέσω της σύνθεσης ειδικών πρωτεϊνών (“heat shock” πρωτεϊνών).

Τέλος η κατάψυξη προκαλεί μείωση του αρχικού πληθυσμού των σαλμονελλών κατά 1-2 λογαρίθμους. Η επιβίωση κατά την κατάψυξη είναι μεγαλύτερη σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (-30°C) συγκριτικά με τις υψηλότερες (-10°C) (Πεξάρá κ.ά., 2009).

Είναι μικροοργανισμοί ευαίσθητοι στη θερμότητα και συχνά θανατώνονται σε θερμοκρασία 70°C ή παραπάνω. Μπορεί να επιβιώνουν σε $a_w < 0,2$, όπως συμβαίνει σε αποξηραμένα τρόφιμα (Pui et al., 2011).

γ) Χαρακτηριστικά της νόσου στον άνθρωπο

Η μολύνουσα δόση της *Salmonella* εξαρτάται από τον ορότυπο, το βακτηριακό στέλεχος, τις συνθήκες ανάπτυξης και την ευαισθησία του ξενιστή. Παράγοντες που επηρεάζουν την ευαισθησία του ξενιστή στη μόλυνση είναι η κατάσταση της εντερικής οδού, η ηλικία και οι υποκείμενες ασθένειες ή οι ανεπάρκειες του ανοσοποιητικού συστήματος (Pui et al., 2011).

Η μολύνουσα δόση είναι ευρεία και κυμαίνεται από 1 έως 10^9 cfu/g. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, πολύ χαμηλότερες δόσεις μπορεί να προκαλέσουν συμπτώματα. Λιπαρά τρόφιμα όπως η σοκολάτα, το τυρί, το σαλάμι, και η μαγιονέζα φαίνεται να απαιτούν πολύ μικρότερες δόσεις. Επίσης ασθενείς με ανοσοκαταστολή, χαμηλά επίπεδα οξέων στο στομάχι τους (αχλωρυδρία) καθώς και οι ηλικιωμένοι και εξασθενημένοι μπορεί επίσης να είναι ιδιαίτερα ευάλωτοι (Noah, 2005).

Από επιδημιολογική άποψη είναι αναγκαίο να διαφοροποιηθεί ο εντερικός πυρετός που προκαλείται από τους ορότυπους *S. Typhi* και *S. Paratyphi*, A, B και C από την τροφιμογενή γαστρεντερίτιδα που προκαλείται από οποιοδήποτε από τους άλλους ορότυπους *Salmonella*. Η μετάδοση της *S. Typhi* προκαλείται πιο συχνά από το νερό, που έχει μολυνθεί από τα περιττώματα ή τα ούρα μολυσμένων ανθρώπων φορέων ή από τρόφιμα που τα παρασκευάζουν και τα χειρίζονται τέτοιοι φορείς χωρίς να λαμβάνουν επαρκείς προφυλάξεις υγιεινής. Σε αντίθεση, η γαστρεντερίτιδα (τροφιμογενής νόσος) συνήθως οφείλεται στην κατανάλωση των τροφίμων που μπορεί να έχουν άμεσα ή έμμεσα μολυνθεί με *Salmonella* (Wray & Hart, 2003).

Συμπτώματα

- Γαστρεντερίτιδα (Μη τυφοειδής σαλμονέλλωση)

Το γαστρεντερικό σύνδρομο, πιο συχνά συνδέεται με τροφιμογενή μετάδοση στις ανεπτυγμένες χώρες, ξεκινά μετά από μία περίοδο επώασης από 8-72 ώρες. Η ασθένεια, η οποία συνήθως διαρκεί μόνο μερικές ημέρες, χαρακτηρίζεται από ήπιο πυρετό, κοιλιακό άλγος και διάρροια, η οποία μπορεί να είναι αιματηρή, καθώς και σε πολύ μικρότερο βαθμό από ναυτία και έμετο. Δεν είναι ασυνήθιστο να υπάρχουν συνοδά συμπτώματα όπως πυρετός, ρίγη, κεφαλαλγία και μυαλγία (Acheson, 2003). Στις περισσότερες περιπτώσεις, η νόσος είναι αυτοπεριοριζόμενη και τα συμπτώματα υποχωρούν εντός 7 ημερών. Περιστασιακά μπορεί να υπάρξουν μακροπρόθεσμες συνέπειες μετά από μόλυνση από σαλμονέλλα, όπως αρθρίτιδα, ενδοκαρδίτιδα, και εντοπισμένες λοιμώξεις όπως οστεομυελίτιδα, σηπτική αρθρίτιδα, και λοιμώξεις μαλακών ιστών (Acheson, 2003). Η θνησιμότητα είναι χαμηλή (0,1-0,2%), αν και το ποσοστό αυτό ποικίλλει σημαντικά ανάλογα με τον πληθυσμό που νοσεί και αυξάνεται στους πολύ νέους, τους ηλικιωμένους ή τους ανοσοκατασταλμένους.

Τα κλινικά συμπτώματα, αν δεν υπάρξει επιπλοκή, υποχωρούν και ακολουθεί ένα στάδιο που τα άτομα παραμένουν ασυμπτωματικοί φορείς για λιγότερο από δύο μήνες σε ποσοστό <15% των περιπτώσεων (D'Aoust, 1991). Ωστόσο, σε σπάνιες περιπτώσεις, ανθρώπινες μολύνσεις με μη τυφοειδή στελέχη μπορεί να εξελιχθούν σε συστηματικές μολύνσεις και να προδιαθέσουν σε χρόνιες καταστάσεις (Πεξαρά κ.ά., 2009). Το νόσημα στη χώρα μας παρουσιάζει υψηλότερη δηλούμενη συχνότητα στα παιδιά και ιδιαίτερα στην ηλικιακή ομάδα 0-4 έτη και σαφή εποχική κατανομή με αύξηση τους καλοκαιρινούς μήνες (ΚΕΕΛΠΝΟ, 2011)

- Τυφοειδής πυρετός

Η *S. Typhi* προκαλεί τον τυφοειδή πυρετό, ενώ η *S. Paratyphi A, B* και *C* προκαλεί τον παρατυφοειδή πυρετό με γενικά πιο ήπια συμπτώματα και χαμηλότερο ποσοστό θνησιμότητας (Pui et al., 2011).

Η ασθένεια εμφανίζεται συνήθως 7-10 ημέρες μετά την κατανάλωση μολυσμένου νερού ή τροφίμων και τα αρχικά συμπτώματα δεν είναι σαφή. Συχνά συμπτώματα είναι οι πονοκέφαλοι, ένα γενικό αίσθημα λήθαργου, σε συνδυασμό με κοιλιακό άλγος και δυσφορία. Επίσης αρκετά συχνά και μάλιστα συχνότερα από την διάρροια εκδηλώνεται με δυσκοιλιότητα. Ο πυρετός αυξάνει προοδευτικά κατά τη διάρκεια της πρώτης εβδομάδας και στη συνέχεια μειώνεται, αν και μια διφασική απόκριση μπορεί να συμβεί (Wray & Hart al., 2003). Περίπου το 10% των ασθενών μπορεί να υποτροπιάσουν, να πεθάνουν ή να αντιμετωπίσουν σοβαρές επιπλοκές, όπως η τυφοειδής εγκεφαλοπάθεια, η γαστρεντερική αιμορραγία και η διάτρηση του εντέρου (Pui et al., 2011).

Η νόσος είναι δυνητικά θανατηφόρος για τα μικρά παιδιά, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους της ζωής και για τους ηλικιωμένους, αλλά σε ενδημικές περιοχές μπορεί να αναπτυχθεί στον πληθυσμό ένας βαθμός ανοσίας. Κλινικά ο παράτυφος τείνει να είναι λιγότερο σοβαρός από ό, τι ο τυφοειδής (Wray & Hart, 2003). Ο τυφοειδής πυρετός προκαλεί θνησιμότητα στο 5 έως 30% των μολυσμένων ατόμων στον αναπτυσσόμενο κόσμο (Pui et al., 2011). Οι ασθενείς με AIDS και άλλα ανοσοκατασταλτικά νοσήματα είναι ιδιαίτερα ευάλωτοι σε σοβαρές επιπλοκές.

3.3.3.1 Υπεύθυνα τρόφιμα

Μερικές έρευνες υπογραμμίζουν την συχνή εμφάνιση της σαλμονέλλας σε κρέατα και προϊόντα κρέατος (Mead et al., 1999). Μεταξύ των τροφίμων το κρέας, τα πουλερικά και τα αυγά ενοχοποιούνται συχνότερα για την πρόκληση τροφιμογενούς νόσου (Wilson 2002; Capita et al., 2003). Ο κιμάς και τα παρασκευάσματα κρέατος καθώς και τα ζώντα δίθυρα μαλάκια είναι κατηγορίες τροφίμων με τη μεγαλύτερη αναλογία μη συμμορφούμενων τροφίμων με βάση τα κριτήρια της ΕΕ για τη σαλμονέλλα (EFSA, 2013). Ωστόσο, ένα ευρύ φάσμα άλλων τροφίμων, όπως το γάλα, τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα φρούτα, τα λαχανικά και τα αλιευτικά προϊόντα μπορούν να αποτελέσουν πηγή μόλυνσης από σαλμονέλλα (Todd, 1997; Carrasco et al., 2012).

Η συχνότητα εμφάνισης της σαλμονέλλας έχει μελετηθεί στο κρέας των πουλερικών σε πολλές χώρες, όπως το Ηνωμένο Βασίλειο (Plummer & Dodd, 1995), την Ελλάδα (Arvanitidou et al., 1998), την Ισπανία (Domínguez et al., 2001) και την Ιταλία (Busani et al., 2005). Υψηλά ποσοστά επιπολασμού έχουν βρεθεί σε αυτές τις χώρες και οι ορότυποι που έχουν απομονωθεί, ποικίλλει γεωγραφικά με την επικράτηση της *S. Enteritidis*, *S. Thyphimurium*, *S. Hadar*, *S. Newport*, *S. Virchow* και *S. Heidelberg*. Όλες αυτές οι μελέτες τονίζουν το γεγονός ότι το κρέας των πουλερικών αποτελεί σημαντική πηγή αυτού του παθογόνου και ως εκ τούτου η επιμόλυνση των μαγειρεμένων πουλερικών θα πρέπει να θεωρείται ως ένα σημαντικός παράγοντας κινδύνου (Carrasco et al., 2012).

Τα περιστατικά που οφείλονται στον ορότυπο *S. Enteritidis* συνδέονται με την κατανάλωση νωπών ή ελαφρώς μαγειρεμένων αυγών και προϊόντων με αυγά, τονίζοντας τη σημασία των αυγών ως αίτιο της ανθρώπινης σαλμονέλλωσης και την ανάγκη μείωσης του ποσοστού μόλυνσης (Πεξαρά κ.ά., 2009).

Αρκετά περιστατικά αποδόθηκαν σε κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων. Κυρίως ενοχοποιείται το απαστερίωτο γάλα και η σκόνη γάλακτος. Οι σαλμονέλλες δεν επιζούν μετά την παστερίωση ή άλλη ισοδύναμη θερμική επεξεργασία του γάλακτος και η παρουσία τους συνήθως είναι αποτέλεσμα επιμόλυνσης μετά τη θερμική επεξεργασία.

Επίσης, τα τυριά και τα παγωτά έχουν προκαλέσει αρκετά ομαδικά κρούσματα. Από τα διάφορα είδη τυριών, το μεγαλύτερο κίνδυνο ενέχουν αυτά που δεν ωριμάζουν σωστά. Κατά τις πρώτες ώρες από την έναρξη της πήξης, όταν δεν έχει αναπτυχθεί ικανοποιητική οξύτητα οι σαλμονέλλες μπορούν να πολλαπλασιαστούν, αλλά με την αύξηση της οξύτητας σε τιμές pH κάτω από 4,5 ο πληθυσμός μειώνεται (Μάντης, 2005).

Συχνά στην εκδήλωση σαλμονέλλωσης στον άνθρωπο εμπλέκονται και άλλα τρόφιμα, όπως φρούτα και λαχανικά, που παλαιότερα δεν θεωρούνταν ύποπτα. Η κατάσταση αυτή διαμορφώθηκε από τις αυξημένες παγκόσμιες εξαγωγές λαχανικών και φρούτων από χώρες με τροπικό και υποτροπικό κλίμα. Η λίπανση των καλλιεργειών με ανεπεξέργαστα απόβλητα μολυσμένα με σαλμονέλλες, η άρδευση των χωραφιών και η πλύση των λαχανικών και φρούτων με μολυσμένα νερά, ο εσφαλμένος χειρισμός των προϊόντων από τοπικούς εργάτες είναι ορισμένοι από τους παράγοντες που ευθύνονται για αυτή την μόλυνση. Αποτέλεσμα είναι πολλά περιστατικά σαλμονέλλωσης τα τελευταία χρόνια να συνδέονται με κατανάλωση λαχανικών (D'Aoust et al., 2001; Πεξαρά κ.ά., 2009).

3.3.3.2 Πρόληψη και νομοθεσία

Για την πρόληψη της σαλμονέλλωσης σημαντικό είναι να γίνεται επαρκής θερμική επεξεργασία του κρέατος και των αυγών. Πρέπει επίσης να αποφεύγεται η επιμόλυνση των τροφίμων. Νωπά κρέατα πρέπει να διατηρούνται χωριστά από τελικά προϊόντα, μαγειρεμένα και έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στα αυγά, το κέλυφος των οποίων πρέπει να θεωρείται μολυσμένο και να λαμβάνονται μέτρα προφύλαξης κατά τον χειρισμό τους ώστε να αποτραπεί η μόλυνση και άλλων τροφίμων.

Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην τήρηση των κανόνων ατομικής υγιεινής από τους χειριστές τροφίμων. Οι φορείς πρέπει να απομακρύνονται από την παραγωγή και την επαφή με τα τρόφιμα (Πεξαρά κ.ά., 2009).

Λόγω της σημασίας της *Salmonella spp.* για τη δημόσια υγεία, στην κοινοτική νομοθεσία για τα τρόφιμα, το τροφιμογενές αυτό παθογόνο συγκαταλέγεται μεταξύ των μικροβιολογικών κριτηρίων ασφαλείας και καθορίζονται όρια για την παρουσία του σε

ορισμένες κατηγορίες τροφίμων. Συγκεκριμένα στον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 (όπως τροποποιήθηκε και ισχύει) απαιτείται απουσία της *Salmonella* spp. σε 10 g ή 25 g τροφίμου σε προϊόντα που διατίθενται στην αγορά κατά τη διάρκεια διατήρησής τους. Επίσης, σύμφωνα με τους Κανονισμούς (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 & αριθ. 1086/2011 απαιτείται απουσία της *S. Enteritidis* και της *S. Typhimurium* σε 25 g νωπού κρέατος πουλερικών που διατίθενται στην αγορά κατά τη διάρκεια διατήρησής τους.

3.4 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΙΣ ΣΑΛΑΤΕΣ ΑΠΟ ΜΕΤΑΠΟΙΗΜΕΝΑ ΖΩΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

Τα κύρια συστατικά των έτοιμων για κατανάλωση σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα, ανάλογα με το είδος της σαλάτας είναι η μαγιονέζα, το γιαούρτι, το τυρί και συμπληρώνονται με τεμάχια ζωικής ή φυτικής προέλευσης (π.χ. προϊόντα με βάση το κρέας, καρότο, αγγούρι, πατάτα).

3.4.1 Μαγιονέζα

Τα κύρια συστατικά που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή της μαγιονέζας– το έλαιο, το νερό, το αλάτι και το ξύδι παρουσιάζουν σχετικά μικρή ικανότητα ανάπτυξης μικροοργανισμών (Michels & Koning, 2000). Συστατικά σε μικρότερες συγκεντρώσεις, όπως αυγά ή κρόκοι αυγών, ζάχαρη υγρή ή σε σκόνη, σιρόπια αραβοσίτου, άμυλα, βότανα και μπαχαρικά είναι πιθανό να περιέχουν μικροοργανισμούς που θα μπορούσαν να συμβάλλουν σε αλλοίωση του προϊόντος (Sperber, 2009).

Σε βιομηχανικό επίπεδο για την παρασκευή της μαγιονέζας χρησιμοποιούνται παστεριωμένα αυγά και δεν αποτελεί σημαντικό κίνδυνο για τη δημόσια υγεία. Η σπιτική μαγιονέζα, ωστόσο, έχει συνδεθεί με διάφορα κρούσματα τροφικών δηλητηριάσεων κυρίως από σαλμονέλα λόγω της χρήσης μολυσμένων νωπών αυγών (Radford & Board, 1993). Έχει αναφερθεί η επιβίωση της σαλμονέλας σε μαγιονέζα που παρασκευάστηκε με 5% οξικό οξύ ή κιτρικό οξύ (Lock & Board, 1995, Perales & Garsia, 1990, Xiong et al., 1999) (Zhu et al., 2012).

Όξινα προϊόντα όπως η μαγιονέζα, με εύρος τιμών pH από 3,2-3,9 που επιτυγχάνεται με τη χρήση οξικού οξέος και την υψηλή περιεκτικότητα του οξικού οξέος στην υδατική φάση διασφαλίζοντας τη συντήρηση της μαγιονέζας. Άλλα οργανικά οξέα που

χρησιμοποιούνται είναι το γαλακτικό και το κιτρικό οξύ. Αυτά τα οξέα είναι αποτελεσματικά φυσικά συντηρητικά, με το οξικό οξύ να είναι το πιο αποτελεσματικό.

Οι Sperber και Okada (1972) και ο Smittle (1977) έδειξαν ότι η εμπορικά παρασκευασμένη μαγιονέζα δεν θα μπορούσε να είναι υπεύθυνη για τροφιογενή νοσήματα λόγω του χαμηλού pH. Διάφοροι πειραματισμοί έδειξαν μια 6-log μείωση της *S. Typhimurium* και του *S. aureus* εντός λεπτών μετά τον εμβολιασμό σε μαγιονέζα (Sperber & Okada, 1972). Όταν η μαγιονέζα δεν παρασκευάζεται όπως ορίζει το πρότυπο και περιέχει μόνο 25% φυτικό έλαιο, είναι πολύ πιο ευαίσθητη σε μικροβιολογική αλλοίωση και έχει περιορισμένη διάρκεια ζωής (Smittle, 1977).

Η ανάγκη για την προσθήκη χημικών συντηρητικών στη μαγιονέζα δεν είναι μεγάλη, λόγω της συνδυασμένης ισχυρής ανασταλτικής επίδρασης του pH, του οξικού οξέος και της ενεργότητας του νερού. Η προσθήκη τους μπορεί να γίνει για να εμποδίσει την αλλοίωση από ζύμες και μύκητες. Τα πιο κοινά συντηρητικά που χρησιμοποιούνται είναι το σορβικό και το βενζοϊκό οξύ σε συγκεντρώσεις από 0,05–0,2% (Michels & Koning, 2000).

Πολυάριθμες μελέτες έχουν διεξαχθεί σχετικά με τη συμπεριφορά της *Salmonella*, της *E. coli* O157:H7, της *L. monocytogenes* και του *S. aureus* σε διάφορους τύπους της μαγιονέζας (Alali et al., 2012).

3.4.2 Τυρί

Τα τυριά είναι ασφαλή προϊόντα, όταν παρασκευάζονται α) από γάλα υγιών ζώων που έχει συντηρηθεί σωστά μέχρι την επεξεργασία του με σκοπό να αποφευχθεί ο σχηματισμός τοξινών που θα περάσουν στο τυρί ακόμη και μετά την παστερίωση του γάλακτος, β) από γάλα που παστεριώνεται πριν την πήξη του για την καταστροφή των επικίνδυνων μικροοργανισμών που προέρχονται από τα ζώα και γ) με τήρηση συνθηκών καλής υγιεινής για την αποφυγή επιμολύνσεων. Για τα τυριά που ωριμάζουν, η ωρίμανση αποτελεί μηχανισμό εξυγίανσης κυρίως από Gram αρνητικά βακτήρια. Οι σπόροι βακτηρίων, τα οξεάντοχα βακτήρια, οι τοξίνες βακτηρίων και μυκήτων δεν βλάπτονται από τις δυσμενείς συνθήκες που αναπτύσσονται κατά την ωρίμανση. Η σταφυλοκοκκική τοξίνωση θεωρείται η πιο συχνή τροφική δηλητηρίαση από τυριά.

Μεγάλος πληθυσμός εντεροτοξινογόνων στελεχών σταφυλοκόκκων στο γάλα πριν από την πήξη οδηγεί σε παραγωγή εντεροτοξίνης, που παραμένει δραστική για πολλούς μήνες. Ο πληθυσμός εντεροπαθογόνων στελεχών *E. coli* και σαλμονελλών μειώνεται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Τα τυριά που ωριμάζουν φέρουν σχετικά μεγάλους πληθυσμούς των οξυγαλακτικών βακτηρίων που χρησιμοποιήθηκαν για τη ζύμωση και την ωρίμανσή τους. Επίσης βακτήρια επιμόλυνσης, όπως κολοβακτηριοειδή, είδη *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Proteus* καθώς και ζύμες και μύκητες μπορεί να προέλθουν από το αλάτι, την πυτιά, άλλα πρόσθετα και κυρίως από σκεύη, μηχανήματα και το περιβάλλον.

Η χλωρίδα των τυριών που δεν ωριμάζουν και ιδιαίτερα αυτών που παρασκευάζονται χωρίς την προσθήκη οξυγαλακτικής καλλιέργειας (μυζήθρα, μανούρι) είναι κυρίως αποτέλεσμα επιμολύνσεων. Τα ψυχρότροφα είδη της χλωρίδας αυτής πολλαπλασιάζονται κατά τη συντήρησή τους και επιφέρουν την αλλοίωσή τους (Μάντης, 1991).

3.4.3 Γιαούρτι

Η μικροβιολογική χλωρίδα του γιαουρτιού πρέπει να αποτελείται αποκλειστικά από τα οξυγαλακτικά στελέχη *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus* που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή του γιαουρτιού (Μάντης, 1991). Σπόροι θερμοάντοχων βακίλλων μπορούν να πολλαπλασιαστούν κατά τη διάρκεια επώασης και να το αλλοιώσουν. (Driesen & Stadhouders, 1980). Επίσης μπορεί να απομονωθούν σταφυλόκοκκοι, μικρόκοκκοι και κολοβακτηριοειδή λόγω της επιμόλυνσης μετά την παστερίωση (Arnott et al., 1974; Kalogridou-Vasiliadou, 1977). Το γιαούρτι όταν αναπτύξει οξύτητα είναι δυσμενές υπόστρωμα για τον πολλαπλασιασμό αλλά και την επιβίωση πολλών παθογόνων βακτηρίων. Τα κολοβακτηριοειδή και γενικά τα μη σπορογόνα βακτήρια πλην των οξεάντοχων θνήσκουν γρήγορα σε τιμή pH κάτω από 4,5 (Mantis et al., 1982). Σημαντικό πρόβλημα μπορεί να προκαλέσει η επιμόλυνση με μύκητες και ζύμες, γιατί μπορούν να πολλαπλασιαστούν στο χαμηλό pH και στη θερμοκρασία συντήρησης σε ψύξη του γιαουρτιού.

3.4.4 Σαλάτες από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα

Συνήθως το μικροβιακό φορτίο των σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα προέρχεται από τα συστατικά που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή του προϊόντος μαζί με οποιαδήποτε επιμόλυνση κατά τη διαδικασία παραγωγής και τη συσκευασία. Τα ωμά λαχανικά που χρησιμοποιούνται μπορεί να είναι μολυσμένα με παθογόνα μικρόβια, όπως τη *L. monocytogenes* (Abdoul Raouf et al., 1993; Nguyen-the & Carlin, 1994; Francis et al., 1999), που είναι ικανή να επιβιώσει σε θερμοκρασίες ψύξης. Η παρουσία κρέατος, ψαριού και τυριού στις σαλάτες αποτελούν πιθανή πηγή *L. monocytogenes* ή άλλων μικροοργανισμών που προκαλούν τροφική δηλητηρίαση (Smittle, 2000). Τα αυγά για την παρασκευή της μαγιονέζας μπορεί να είναι φορείς *S. Enteritidis* και άλλων παθογόνων μικροοργανισμών (Radford & Board, 1993; Whiting & Buchanan, 1997).

Οι Brocklehurst και Lund (1984) προσδιόρισαν ότι η περιεκτικότητα της μαγιονέζας σε οξικό οξύ μειώνεται με την απορρόφησή του από τα λαχανικά όπως καρότο, πατάτα, που προστίθενται στις σαλάτες με βάση τη μαγιονέζα και τόνισαν τη μεγάλη σημασία της συντήρησης τέτοιων προϊόντων σε συνθήκες ψύξης για την αναστολή ανάπτυξης μικροοργανισμών αλλά και της διατήρησης της ψυκτικής αλυσίδας κατά τη διανομή και την πώλησή τους. Οι παρασκευαστές συστήνουν την αποθήκευσή τους στους 4-6 °C και μια σύντομη διάρκεια ζωής 6-14 μέρες.

Μία πρόσφατη μελέτη στις ΗΠΑ διαπίστωσε την παρουσία της *L. monocytogenes* στο 4,7% των σαλατών με θαλασσινά και στο 2,4% των deli σαλατών (όπως τονοσαλάτα, πατατοσαλάτα, σαλάτα ζυμαρικών, λαχανοσαλάτας) (Hwang & Tamplin, 2005).

Έρευνα που έγινε από τους Sergelidis et al. (2012) σε δείγματα έτοιμων για κατανάλωση σαλατών (τυροσαλάτα, τζατζίκι κ.ά.) και στα βασικά συστατικά τους (τυρί φέτα, τυρί μυζήθρα, μαγιονέζα) σε ένα εργοστάσιο παρασκευής σαλατών στη Βόρεια Ελλάδα διαπίστωσε την παρουσία του *S. aureus* σε 9 από τα 20 δείγματα τυροσαλάτας (45%) και σε 3 από τα 20 δείγματα τζατζικιού (15%). Επίσης από τα δείγματα βασικών συστατικών που εξετάστηκαν βρέθηκαν θετικά σε *S. aureus* 4 δείγματα τυριού φέτας (40%), 4 δείγματα τυριού μυζήθρας (40%) και 3 δείγματα μαγιονέζας (30%).

Έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Angelidis et al. (2006) σε δείγματα έτοιμων για κατανάλωση συσκευασμένων σαλατών (τζατζίκι, μελιτζανοσαλάτα, κηπουρού και

ρώσικη) σε περιοχές του Έβρου, της Ροδόπης και της Ξάνθης έδειξε ότι σε κανένα από τα δείγματα δεν ανιχνεύτηκαν *Salmonella* ssp. και *L. monocytogenes*.

ΜΕΡΟΣ 2^ο

Η ΔΙΚΗ ΜΑΣ ΕΡΕΥΝΑ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μικροβιολογική ποιότητα ενός τροφίμου σχετίζεται με το μικροβιακό του φορτίο και ο προσδιορισμός της περιλαμβάνει εξετάσεις για την ανίχνευση των παθογόνων μικροβίων και των τοξινών τους και εξετάσεις για τον προσδιορισμό και την μέτρηση των δεικτών της υγιεινής κατάστασης του τροφίμου.

Η ασφάλεια των τροφίμων εξασφαλίζεται κυρίως με μια προληπτική προσέγγιση, όπως είναι η εφαρμογή ορθών πρακτικών υγιεινής (Good Hygiene Practice, GHP) και η εφαρμογή διαδικασιών που διέπονται από αρχές βασιζόμενες στην ανάλυση κινδύνων και κρίσιμων σημείων ελέγχου (Hazard Analysis Critical Control Points, HACCP) από τις επιχειρήσεις τροφίμων. Για το σκοπό αυτό κρίθηκε αναγκαίο να οριστούν μικροβιολογικά κριτήρια για τα τρόφιμα, που μπορούν να χρησιμοποιούνται τόσο για την επικύρωση και την επαλήθευση των διαδικασιών που βασίζονται στο σύστημα HACCP, αλλά και άλλων μέτρων ελέγχου της υγιεινής της παραγωγικής διαδικασίας των διαφόρων τροφίμων. Τα κριτήρια αυτά ορίστηκαν στον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 της Ευρωπαϊκής Επιτροπής και τροποποιήθηκαν στη συνέχεια με τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1441/2007 της Ευρωπαϊκής Επιτροπής.

Σύμφωνα με τους κανονισμούς αυτούς τα μικροβιολογικά κριτήρια διακρίνονται σε **«κριτήρια ασφάλειας των τροφίμων»** που εφαρμόζονται στα προϊόντα που διατίθενται στην αγορά, καθορίζουν το αποδεκτό ενός προϊόντος ή μιας παρτίδας τροφίμων και θέτουν ένα όριο πάνω από το οποίο ένα τρόφιμο πρέπει να θεωρείται μη αποδεκτά μολυσμένο από τους μικροοργανισμούς για τους οποίους έχουν θεσπιστεί τα κριτήρια και σε **«κριτήρια υγιεινής της παραγωγικής διαδικασίας»** που καθορίζουν το αποδεκτό της παραγωγικής διαδικασίας, δεν εφαρμόζονται στα προϊόντα που διατίθενται στην αγορά αλλά ορίζουν μια ενδεικτική τιμή μόλυνσης πάνω από την οποία απαιτούνται διορθωτικές ενέργειες, προκειμένου να διατηρηθεί η υγιεινή της

παραγωγικής διαδικασίας σύμφωνα με τη νομοθεσία για τα τρόφιμα και συμβάλλουν στην αξιολόγηση της ορθότητας των παραγωγικών διεργασιών, κυρίως από τους υπεύθυνους των επιχειρήσεων.

Ο παραγωγός ή ο παρασκευαστής ενός τροφίμου πρέπει να αποφασίσει αν το τρόφιμο που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση είναι «έτοιμο να καταναλωθεί ως έχει», χωρίς να χρειάζεται να μαγειρευτεί ή να υποστεί άλλη επεξεργασία αποτελεσματική για να εξαλείψει ή να μειώσει σε αποδεκτό επίπεδο τους μικροοργανισμούς· προκειμένου να εξασφαλιστεί η ασφάλειά του και η συμμόρφωσή του προς τα μικροβιολογικά κριτήρια.

Η κοινοτική νομοθεσία ορίζει για τα έτοιμα για κατανάλωση τρόφιμα ως κριτήρια ασφαλείας πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* <100 cfu/g προϊόντος καθώς και την απουσία σταφυλοκοκκικών τοξινών. Ο έλεγχος των σταφυλοκοκκικών τοξινών γίνεται εάν βρεθούν τιμές του πληθυσμού των σταφυλόκοκκων θετικών στην πηκτάση >10⁵ cfu/g. Ως κριτήρια ελέγχου της υγιεινής της παραγωγικής διαδικασίας ορίζονται ως ανώτερο όριο πληθυσμοί 100 cfu/g για τους σταφυλόκοκκους θετικούς στην πηκτάση και 1000 cfu/g για τη *E. coli*, αντίστοιχα (Κανονισμοί (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 και 1441/2007 της της Ευρωπαϊκής Επιτροπής).

Τα κριτήρια ασφαλείας των τροφίμων καθορίζουν την αποδοχή της παρτίδας και ισχύουν μόνο για προϊόντα που διατίθενται στην αγορά (συμπεριλαμβανομένων των έτοιμων προϊόντων που βρίσκονται στις αποθήκες των παραγωγικών μονάδων, και των προϊόντων κατά τη διανομή και τη διάθεση, σύμφωνα με την παράγραφο 8, άρθρο 3 του Κανονισμού 178/2002). Τα κριτήρια ασφαλείας τροφίμων ισχύουν τόσο για τα τρόφιμα που διατίθενται στην αγορά της Κοινότητας, όσο και για τα τρόφιμα που εισάγονται στην Κοινότητα.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΣΥΛΛΟΓΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Συνολικά συλλέχθηκαν 52 δείγματα έτοιμων για κατανάλωση σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα (13 δείγματα τυροσαλάτας, 13 δείγματα τζατζικιού, 13 δείγματα κηπουρού και 13 δείγματα ουγγαρέζας) που πωλούνται χύμα σε διάφορα σημεία λιανικής πώλησης (ταχυφαγεία, υπεραγορές) στην Περιφερειακή Ενότητα Λάρισας. Το βάρος του κάθε δείγματος ήταν περίπου 200 γραμμάρια από δοχείο συνολικής ποσότητας περίπου 5 κιλών. Τα δείγματα μεταφέρονταν άμεσα μετά τη δειγματοληψία σε ισοθερμικό δοχείο υπό συνθήκες ψύξης (4°C) στο Εργαστήριο Υγιεινής & Επιδημιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η μικροβιολογική ανάλυση ξεκινούσε άμεσα με την άφιξη των δειγμάτων στο Εργαστήριο ή μέσα σε 24 ώρες από τη δειγματοληψία, οπότε αυτά αποθηκεύονταν σε ψυγείο στους 5 ± 3 °C.

2.2. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Τα δείγματα εξετάστηκαν για τον έλεγχο της υγιεινής κατάστασής τους λαμβάνοντας υπόψη τα κριτήρια υγιεινής και ασφάλειας που περιγράφονται στον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα, όπως τροποποιήθηκε και ισχύει.

Τα δείγματα εξετάστηκαν:

- α. για την ανίχνευση και καταμέτρηση της *Listeria monocytogenes*
- β. για την ανίχνευση *Salmonella* spp.
- γ. καταμέτρηση πληθυσμού του *Staphylococcus aureus*
- δ. καταμέτρηση πληθυσμού των *Enterobacteriaceae*.
- ε. καταμέτρηση Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας

Ανίχνευση και καταμέτρηση *Listeria monocytogenes* - Μέθοδος ISO 11290-2:1998/Amd-1:2004

Ποσότητα 25 γραμμαρίων από κάθε δείγμα σαλάτας τοποθετούνταν ξεχωριστά σε σακούλα stomacher και γινόταν προσθήκη 225 ml εμπλουτιστικού ζωμού Buffer Peptone Water (LAB M, Lot 1118833/228) και ομογενοποιούνταν για 1 min σε συσκευή stomacher. Οι σακούλες παρέμεναν στους 20 ± 2 °C για $1\text{h}\pm 5$ λεπτά.

Ακολουθούσαν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σε Maximum Recovery Diluent (LAB M, Lot 109727/138) και στη συνέχεια όγκος 0.1 ml από κάθε αραιώση επιστρωνόταν σε διπλή σειρά τριβλίων με εκλεκτικό υπόστρωμα Aloa Agar *Listeria* Ottaviani Agosti (LAB M, Lot 113973/028) και επωάζονταν στους 37 ± 1 °C για 24 ± 3 ώρες και αν ήταν απαραίτητο για ακόμη 24 ± 3 ώρες σε αερόβιες συνθήκες.

Μετά την επώαση των τρυβλίων και εφόσον υπήρχαν τυπικές αποικίες γινόταν ανακαλλιέργεια 5 αποικιών για απομόνωση σε TSYEA και ακολουθούσαν επιβεβαιωτικές δοκιμές (χρώση Gram, δοκιμασία καταλάσης, δοκιμασία αιμόλυσης, Camp test, api *Listeria* kit). Τα στελέχη *Listeria monocytogenes* που ταυτοποιήθηκαν, απομονώθηκαν και αποθηκεύτηκαν στους -80 °C σε γλυκερόλη.

Απομόνωση και ταυτοποίηση *Salmonella* spp. - Μέθοδος ISO 6579:2002

Ποσότητα 25 γραμμαρίων από κάθε δείγμα σαλάτας τοποθετούνταν σε σακούλα stomacher και γινόταν προσθήκη 225 ml εμπλουτιστικού ζωμού Buffer Peptone Water (LAB M, Lot 1118833/228) ομογενοποιούνταν για 1 min σε συσκευή stomacher. Οι σακούλες επωάζονταν στους 37 ± 1 °C για 18 ± 2 ώρες σε αερόβιες συνθήκες. Μετά την επώαση 0,1ml καλλιεργήματος μεταφέρονταν σε 10 ml Rappaport Vasiliadis Broth (LAB M, Lot 112447/249) που επωάζονταν στους $41,5\pm 1$ °C για 24 ± 3 ώρες και 1 ml καλλιεργήματος μεταφέρονταν σε 10 ml Mueller Kauffman Tetra Thionate Broth που επωάζονταν στους 37 ± 1 °C για 24 ± 3 ώρες. Στη συνέχεια από κάθε εκλεκτικό ζωμό με τη χρήση κρίκου 10 μl γινόταν επίστρωση σε ένα τρυβλίο με εκλεκτικό υπόστρωμα XLD (LAB M, Lot 113469/301) και σε ένα με εκλεκτικό υπόστρωμα Brilliant Green Agar (LAB M, Lot 110581/145) που επωάζονταν στους 37 ± 1 °C για 24 ± 3 ώρες. Τουλάχιστον 5 τυπικές ή ύποπτες αποικίες από κάθε τρυβλίο ανακαλλιεργούνταν σε

τρυβλίο με Nutrient Agar (LAB M, Lot) και επώζονταν στους $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ για 24 ± 3 ώρες, προκειμένου να γίνουν επιβεβαιωτικές βιοχημικές δοκιμασίες (UREA agar, TSI agar, Citrate agar, Tryptone water, api 20E kit) και ορολογικές δοκιμασίες με τη χρήση αντιορών για τον προσδιορισμό του ορότυπου της Σαλμονέλλας.

Απομόνωση, ταυτοποίηση και καταμέτρηση πληθυσμών *Staphylococcus aureus* - Μέθοδος ISO 6889.1:1999 / A1:2004

Ποσότητα 25 γραμμαρίων από κάθε δείγμα σαλάτας τοποθετούνταν σε σακούλα stomacher που περιείχε 225 ml Maximum Recovery Diluent (LAB M, Lot 109727/138) και ομογενοποιούνταν για 1 min σε συσκευή stomacher. Ακολουθούσαν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σε MRD και στη συνέχεια, όγκος 0.1 ml από κάθε αραιώση επιστρωνόταν σε διπλή σειρά τριβλίων με εκλεκτικό υπόστρωμα Baird-Parker με Egg Yolk tellurite emulsion 20% (LAB M, Lot 114998/052) και επακολουθούσε επώαση στους 37°C για 44 ± 4 ώρες σε αερόβιες συνθήκες. Μετά την επώαση καταμετρήθηκαν οι τυπικές και οι ύποπτες αποικίες και πραγματοποιήθηκε ανακαλλιέργεια 5 αποικιών σε Brain Heart Infusion Broth (Fluka, Lot 1327348), που επώστηκαν στους $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ για 24 ± 2 ώρες. Ακολούθησε έλεγχος παραγωγής πηκτάσης με Rabbit plasma (Becton Dickinson, Lot 0035992) σε 4 και 24 ώρες και στη συνέχεια έγινε ταυτοποίηση του *Staphylococcus aureus* με api kit.

Καταμέτρηση *Enterobacteriaceae* - Μέθοδος BS 5763 Part:10 1993, ISO 7402:1993

25 γραμμάρια από κάθε δείγμα σαλάτας προσθέτονταν σε σακούλα stomacher που περιείχε 225 ml Buffer Peptone Water (LAB M, Lot 1118833/228) και ομογενοποιούνταν για 1 min σε συσκευή stomacher. Ακολουθούσαν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σε MRD (LAB M, Lot 109727/138) και στη συνέχεια 1 ml από κάθε αραιώση ενοφθαλμιζόνταν σε διπλή σειρά τρυβλίων στο οποίο γινόταν προσθήκη 15 ml Violet Red Brilliant Green Agar (LAB M, Lot 113085/321) και ακολουθούσε ανάμειξη με ήπια ανάδευση και στερεοποίηση. Μετά τη στερεοποίηση γίνονταν επίστρωση με 10-15 ml VRBGA. Η καταμέτρηση των πληθυσμών γινόταν μετά από επώαση των τρυβλίων στους 37°C για 24 ± 4 ώρες σε αερόβιες συνθήκες. Η

επιβεβαίωση των τυπικών και ύποπτων αποικιών πραγματοποιούνταν με επιβεβαιωτικές δοκιμές (έλεγχος οξειδάσης, δοκιμή Kligler).

Καταμέτρηση Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας

Ποσότητα 25 γραμμαρίων από κάθε δείγμα σαλάτας τοποθετούνταν σε σακούλα stomacher που περιείχε 225 ml Buffer Peptone Water (LAB M, Lot 1118833/228) και ομογενοποιούνταν για 1 min σε συσκευή stomacher. Έγινε προετοιμασία περαιτέρω δεκαδικών αραιώσεων σε MRD (LAB M, Lot 109727/138). 1 ml από κάθε αραιώση ενοφθαλμίζονταν σε διπλή σειρά τρυβλίων στο οποίο γινόταν προσθήκη 15 ml Yeast Extract (LAB M, Lot 106811/347) ακολουθούσε ανάμειξη με ήπια ανάδευση και στερεοποίηση. Τα τρυβλία τοποθετούνταν για επώαση στους 30 °C για 48±4 ώρες σε αερόβιες συνθήκες. Μετά την επώαση καταμετρούνταν όλες οι ορατές αποικίες με τη βοήθεια Μετρητή Αποικιών και το αποτέλεσμα εκφράζονταν σε αριθμό μικροοργανισμών/ g σαλάτας.

Η μικροβιολογική αυτή ανάλυση πραγματοποιήθηκε μόνο για τις σαλάτες κηπουρού και ουγγαρέζας, δεδομένου ότι η τυροσαλάτα και το τζατζίκι περιέχουν οξυγαλακτικούς μικροοργανισμούς, λόγω των πρώτων υλών παρασκευής τους (τυρί και γιαούρτι αντίστοιχα).

2.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση διακύμανσης στο γενικό γραμμικό μοντέλο με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 10.05 (SPSS Ltd., Woking, UK). Για τον έλεγχο των στατιστικών διαφορών μεταξύ των μέσων τιμών όλων των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.05$.

2.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της μικροβιολογικής εξέτασης των δειγμάτων από σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση (RTE) παρουσιάζονται στους πίνακες 2 έως 6.

Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (Ο.Μ.Χ.)

Η μικροβιολογική αυτή ανάλυση πραγματοποιήθηκε μόνο για τις σαλάτες κηπουρού και ουγγαρέζας, δεδομένου ότι η τυροσαλάτα και το τζατζίκι περιέχουν οξυγαλακτικούς μικροοργανισμούς, λόγω των πρώτων υλών παρασκευής τους (τυρί και γιαούρτι αντίστοιχα).

Η μικροβιολογική εξέταση των δειγμάτων για τις σαλάτες κηπουρού και ουγγαρέζας έδειξε ότι οι πληθυσμοί για την Ο.Μ.Χ. ήταν $3,4 \pm 1,2$ και $5,831 \pm 0,87 \log \text{ cfu/g}$, αντίστοιχα (Πίνακας 2). Ανάλογα αποτελέσματα με την παρούσα έρευνα αναφέρονται για την Ελλάδα από τους Angelidis et al. (2006), οι οποίοι σε 7 δείγματα σαλατών έτοιμων προς κατανάλωση που εξέτασαν (τζατζίκι, κηπουρού, ρώσικη κ.α.), βρήκαν ότι οι πληθυσμοί της Ο.Μ.Χ. ήταν $5,11 \pm 2,2 \log \text{ cfu/g}$. Επίσης, οι Christison et al. (2008) αναφέρουν ότι σε 12 δείγματα σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα από σημεία λιανικής πώλησης στην περιοχή του Γιοχάνεσμπουργκ (Νότια Αφρική) οι πληθυσμοί της Ο.Μ.Χ. ήταν $7 \pm 1,2 \log \text{ cfu/g}$.

Από τα 26 δείγματα σαλατών κηπουρού και ουγγαρέζας που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη τα 19 (73,1%) είχαν πληθυσμούς Ο.Μ.Χ. $< 10^6$ και τα 7 (26,9%) $> 10^6 \text{ cfu/g}$. Ομοίως, οι Gurler et al. (2015) σε 261 δείγματα σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα από σημεία λιανικής πώλησης στην Τουρκία που εξέτασαν, βρήκαν ότι το 76,2% είχαν πληθυσμούς Ο.Μ.Χ. $< 10^6 \text{ cfu/g}$.

Πίνακας 2. Πληθυσμοί της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (Ο.Μ.Χ.) σε σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση (RTE) από σημεία λιανικής πώλησης στην Π.Ε. Λάρισας

Είδος σαλάτας	Αριθμός δειγμάτων	Μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση ($\log \text{ cfu/g}$)	$<10^6$ (%)	$>10^6$ (%)
Κηπουρού	13	$3,4 \pm 1,2$	12 (92,3%)	1 (7,6%)
Ουγγαρέζα	13	$5,831 \pm 0,8$	7 (53,8%)	6 (46,2%)
Σύνολο	26		19 (73,1%)	7 (26,9%)

Enterobacteriaceae

Τα αποτελέσματα της μικροβιολογικής εξέτασης των δειγμάτων για τις σαλάτες από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα για τους πληθυσμούς των *Enterobacteriaceae* παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.

Από τα 52 δείγματα που εξετάστηκαν, τα 47 (90,4%) είχαν πληθυσμούς εντεροβακτηριοειδών $<10^2$ και τα 5 (9,6%) $>10^2$ cfu/g. Πρέπει να σημειωθεί ότι και τα 5 δείγματα στα οποία ανιχνεύθηκαν πληθυσμοί εντεροβακτηριοειδών ($>10^2$ cfu/g) ήταν δείγματα τυροσαλάτας (3 δείγματα από ταχυφαγεία και 2 από υπεραγορές).

Πολύ υψηλότερα ποσοστά σε σχέση με την παρούσα έρευνα αναφέρονται από τους Gurler et al. (2015). Έτσι, σε 261 δείγματα σαλατών έτοιμων προς κατανάλωση από σημεία λιανικής πώλησης στην Τουρκία που εξετάστηκαν, αναφέρεται ότι στο 59,3% βρέθηκαν πληθυσμοί κολοβακτηριοειδών (όριο ανίχνευσης 3 MPN/g). Στην ίδια μελέτη ανιχνεύθηκε *E. coli* σε 10 δείγματα (3,8%) από τα οποία 4 ήταν σαλάτες τύπου «ρώσικης», 2 τύπου «καίσαρα» και 4 τύπου «τονοσαλάτα».

Ομοίως, σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε 12 δείγματα σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα από σημεία λιανικής πώλησης στην περιοχή του Γιοχάνεσμπουργκ (Νότια Αφρική), αναφέρεται ότι οι πληθυσμοί των κολοβακτηριοειδών ήταν $5,1 \pm 0,9$ log cfu/g (Christison et al., 2008).

Πίνακας 3. Πληθυσμοί των *Enterobacteriaceae* σε σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση (RTE) από σημεία λιανικής πώλησης στην Π.Ε. Λάρισας

Είδος σαλάτας	Αριθμός δειγμάτων	Πληθυσμοί <i>Enterobacteriaceae</i> (cfu/g)	
		$<10^2$ (%)	$>10^2$ (%)
Κηπουρού	13	13 (100%)	0 (0%)
Ουγγαρέζα	13	13 (100%)	0 (0%)
Τζατζίκι	13	13 (100%)	0 (0%)
Τυροσαλάτα	13	8 (61,6%)	5 (32,4%)
Σύνολο	52	47 (90,4%)	5 (9,6%)

S. aureus

Τα αποτελέσματα της μικροβιολογικής εξέτασης των δειγμάτων για τους πληθυσμούς του *S. aureus* παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.

Έτσι, σε κανένα από τα 52 δείγματα σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα που εξετάστηκαν δεν ανιχνεύθηκαν πληθυσμοί του *S. aureus* (όριο ανίχνευσης 10^2 cfu/g).

Αντίθετα, σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Sergelidis et al. (2012) σε βιομηχανία παραγωγής σαλατών έτοιμων προς κατανάλωση στη Βόρεια Ελλάδα, στο 27% των δειγμάτων απομονώθηκαν σταφυλόκοκκοι. Από τα 20 δείγματα τυροσαλάτας και τα 20 δείγματα τζατζικίου που εξετάστηκαν για την παρουσία του *S. aureus*, το παθογόνο ανιχνεύθηκε σε 9 (45%) και 3 (15%) δείγματα, αντίστοιχα. Επίσης, ο *S. aureus* βρέθηκε σε 3 από τα 10 δείγματα (30%) μαγιονέζας που χρησιμοποιούνταν από το συγκεκριμένο εργοστάσιο ως πρώτη ύλη για την παρασκευή σαλατών έτοιμων προς κατανάλωση.

Οι Christison et al. (2008) σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε 12 δείγματα σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα από σημεία λιανικής πώλησης σε περιοχή της Νότιας Αφρικής, αναφέρουν ότι οι πληθυσμοί του *S. aureus* ήταν $2,1 \pm 0,2$ log cfu/g.

Πίνακας 4. Πληθυσμοί του *Staphylococcus aureus* σε σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση (RTE) από σημεία λιανικής πώλησης στην Π.Ε. Λάρισας

Είδος σαλάτας	Αριθμός δειγμάτων	Πληθυσμοί του <i>Staphylococcus aureus</i> (cfu/g)	
		<10 ² (%)	>10 ² (%)
Κηπουρού	13	13 (100%)	0 (0%)
Ουγγαρέζα	13	13 (100%)	0 (0%)
Τζατζίκι	13	13 (100%)	0 (0%)
Τυροσαλάτα	13	13 (100%)	0 (0%)
Σύνολο	52	52 (100%)	0 (0%)

***Salmonella* spp.**

Τα αποτελέσματα της μικροβιολογικής εξέτασης των δειγμάτων για την παρουσία της *Salmonella* spp. παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.

Σε κανένα από τα 52 δείγματα σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα που εξετάστηκαν δεν καταγράφηκε παρουσία της *Salmonella* spp. Ανάλογα αποτελέσματα με την παρούσα έρευνα αναφέρονται για την Ελλάδα από τους Angelidis et al. (2006), οι οποίοι σε 7 δείγματα σαλατών έτοιμων προς κατανάλωση που εξέτασαν (τζατζίκι, κηπουρού, ρώσικη κ.α.) δεν κατέγραψαν την παρουσία του παθογόνου μικροοργανισμού.

Αντίθετα, σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση από σημεία λιανικής πώλησης στην περιοχή του Γιοχάνεσμπουργκ (Νότια Αφρική), αναφέρεται ότι *Salmonella* spp. απομονώθηκε σε ποσοστό 11% των σαλατών που εξετάστηκαν (Christison et al., 2008). Συγκεκριμένα, από τα 35 δείγματα σαλατών έτοιμων προς κατανάλωση τα 4 βρέθηκαν θετικά στην παρουσία του παθογόνου.

Οι Gurler et al. (2015) αναφέρουν την παρουσία της *Salmonella* spp. σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση από υπεραγορές και καταστήματα εστίασης της πόλης Αφιόν Καραχισάρ στην κεντρική Τουρκία. Έτσι, σε 261 δείγματα σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα που εξετάστηκαν, το παθογόνο απομονώθηκε σε 21 δείγματα (8%).

Η *Salmonella* spp. έχει ταυτοποιηθεί ή θεωρείται ως το αίτιο σε 15 τροφιμογενείς επιδημίες με 772 κρούσματα μετά από κατανάλωση σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα στις Η.Π.Α. το χρονικό διάστημα 2000 έως 2007 (Erickson, 2010). Συνεπώς, η μη απομόνωση της σε δείγματα σαλατών από την Περιφερειακή Ενότητα Λάρισας της Περιφέρειας Θεσσαλίας στην παρούσα μελέτη, εκτός της συμφωνίας με τη νομοθετική απαίτηση για τα συγκεκριμένα προϊόντα, έχει ιδιαίτερη σημασία και για τη Δημόσια Υγεία.

Πίνακας 5. Παρουσία της *Salmonella* spp. σε σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση (RTE) από σημεία λιανικής πώλησης στην Π.Ε. Λάρισας

Είδος σαλάτας	Αριθμός δειγμάτων	Θετικά στην παρουσία <i>Salmonella</i> spp. (%)
Κηπουρού	13	0 (0%)
Ουγγαρέζα	13	0 (0%)
Τζατζίκι	13	0 (0%)
Τυροσαλάτα	13	0 (0%)
Σύνολο	52	0 (0%)

Listeria monocytogenes

Τα αποτελέσματα της μικροβιολογικής εξέτασης των δειγμάτων για την παρουσία της *L. monocytogenes* παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκαν 52 δείγματα σαλατών έτοιμων προς κατανάλωση από καταστήματα λιανικής πώλησης στην Περιφερειακή Ενότητα Λάρισας και 2 (3,85%) βρέθηκαν θετικά στην παρουσία της *L. monocytogenes*. Το ένα δείγμα σαλάτας που απομονώθηκε το παθογόνο ήταν ουγγαρέζα και το άλλο τυροσαλάτα, ενώ και τα δύο δείγματα προέρχονταν από ταχυφαγεία. Στα δύο αυτά δείγματα, τα οποία βρέθηκαν θετικά στην παρουσία του παθογόνου, οι πληθυσμοί της *L. monocytogenes* ήταν χαμηλότεροι από το κριτήριο ασφαλείας (100 cfu/g) που ορίζεται από τη νομοθεσία για τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα. Επιπλέον, σε 2 δείγματα (1 ουγγαρέζας από υπεραγορά και 1 τυροσαλάτας από ταχυφαγείο) ανιχνεύθηκε η παρουσία *Listeria innocua*.

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα από σημεία λιανικής πώλησης στην περιοχή του Γιοχάνεσμπουργκ (Νότια Αφρική), αναφέρει ότι η *L. monocytogenes* απομονώθηκε σε ποσοστό 3% των σαλατών που εξετάστηκαν (Christison et al., 2008). Συγκεκριμένα, από τα 35 δείγματα έτοιμων προς κατανάλωση σαλατών το 1 βρέθηκε θετικό στην παρουσία του παθογόνου. Οι Little et al. (2007) βρήκαν ότι 54 από 1418 (3,8%) δείγματα έτοιμων προς κατανάλωση σαλατών με βάση τη μαγιονέζα από

υπεραγορές και καταστήματα εστίασης στη Μεγάλη Βρετανία ήταν θετικά στην παρουσία *L. monocytogenes*. Ομοίως, χαμηλά ποσοστά αναφέρονται από τους Gombas et al., (2003) οι οποίοι ανίχνευσαν τη *L. monocytogenes* στο 2,36% από 8549 δείγματα σαλατών έτοιμων προς κατανάλωση από 2 περιοχές των Η.Π.Α.

Υψηλότερα ποσοστά παρουσίας του παθογόνου αναφέρονται από τους Gurler et al. (2015) σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση από υπεραιγορές και καταστήματα εστίασης της πόλης Αφίόν Καραχισάρ στην κεντρική Τουρκία. Έτσι, σε 261 δείγματα σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα που εξετάστηκαν, το παθογόνο απομονώθηκε σε 15 δείγματα (5,7%).

Επίσης, οι Uyttendaele et al. (2009) αναφέρουν την απομόνωση της *L. monocytogenes* σε 80 από 1187 (6,7%) δείγματα έτοιμων προς κατανάλωση σαλατών με βάση τη μαγιονέζα από περιοχές του Βελγίου το χρονικό διάστημα 2005 έως 2007. Σε κανένα από τα 80 δείγματα που βρέθηκαν θετικά στην παρουσία του παθογόνου, οι πληθυσμοί της *L. monocytogenes* δεν υπερέβαιναν το όριο 100 cfu/g που τίθεται ως κριτήριο ασφαλείας από τη νομοθεσία. Οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν πάντως βελτίωση της μικροβιολογικής κατάστασης των έτοιμων προς κατανάλωση σαλατών με βάση τη μαγιονέζα από υπεραιγορές στο Βέλγιο, αφού σε προγενέστερη μελέτη τους (Uyttendaele et al., 1999) η *L. monocytogenes* είχε απομονωθεί στο 21,3% από το σύνολο των 874 δειγμάτων που εξετάστηκαν.

Αντίθετα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Angelidis et al. (2006) σε δείγματα έτοιμων για κατανάλωση συσκευασμένων σαλατών (τζατζίκι, μελιτζανοσαλάτα, κηπουρού και ρώσικη) σε περιοχές του Έβρου, της Ροδόπης και της Ξάνθης έδειξε ότι σε κανένα από τα δείγματα δεν ανιχνεύτηκε παρουσία της *L. monocytogenes*.

Πίνακας 6. Παρουσία της *Listeria monocytogenes* σε σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση (RTE) από σημεία λιανικής πώλησης στην Π.Ε. Λάρισας

Είδος σαλάτας	Αριθμός δειγμάτων	Θετικά στην παρουσία <i>L. monocytogenes</i> (%)	Πληθυσμοί της <i>L. monocytogenes</i> >10 ² cfu/g
Κηπουρού	13	0 (0%)	0 (0%)
Ουγγαρέζα	13	1 (7,7%)	0 (0%)
Τζατζίκι	13	0 (0%)	0 (0%)
Τυροσαλάτα	13	1 (7,7%)	0 (0%)
Σύνολο	52	2 (3,85%)	0 (0%)

2.5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκαν 52 δείγματα σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα από υπεραγορές και ταχυφαγεία στην Περιφερειακή Ενότητα Λάρισας της Περιφέρειας Θεσσαλίας.

Η μικροβιολογική εξέταση των δειγμάτων για τις σαλάτες κηπουρού και ουγγαρέζας έδειξε ότι οι πληθυσμοί για την Ο.Μ.Χ. ήταν $3,4 \pm 1,2$ και $5,831 \pm 0,87 \log \text{ cfu/g}$, αντίστοιχα. Από τα 26 δείγματα σαλατών κηπουρού και ουγγαρέζας που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη τα 19 (73,1%) είχαν πληθυσμούς Ο.Μ.Χ. $< 10^6$ και τα 7 (26,9%) $> 10^6 \text{ cfu/g}$.

Από τα 52 δείγματα που εξετάστηκαν, τα 47 (90,4%) είχαν πληθυσμούς εντεροβακτηριοειδών $< 10^2$ και τα 5 (9,6%) $> 10^2 \text{ cfu/g}$. Πρέπει να σημειωθεί ότι και τα 5 δείγματα στα οποία ανιχνεύθηκαν πληθυσμοί εντεροβακτηριοειδών ($> 10^2 \text{ cfu/g}$) ήταν δείγματα τυροσαλάτας (3 δείγματα από ταχυφαγεία και 2 από υπεραγορές).

Σε κανένα από τα 52 δείγματα σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα που εξετάστηκαν δεν ανιχνεύθηκαν πληθυσμοί του *S. aureus* (όριο ανίχνευσης 10^2 cfu/g), ενώ επίσης δεν καταγράφηκε παρουσία της *Salmonella* spp.

Τέλος, 2 από το σύνολο των 52 δειγμάτων (3,85%) που εξετάστηκαν βρέθηκαν θετικά στην παρουσία της *L. monocytogenes*. Το ένα δείγμα σαλάτας που απομονώθηκε το παθογόνο ήταν ουγγαρέζα και το άλλο δείγμα ήταν τυροσαλάτα, ενώ και τα δύο δείγματα προέρχονταν από ταχυφαγεία. Στα δύο αυτά δείγματα, τα οποία βρέθηκαν θετικά στην παρουσία του παθογόνου, οι πληθυσμοί της *L. monocytogenes* ήταν χαμηλότεροι από το κριτήριο ασφαλείας (100 cfu/g) που ορίζεται από τη νομοθεσία για τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα. Επιπλέον, σε 2 δείγματα (1 ουγγαρέζας από υπεραγορά και 1 τυροσαλάτας από ταχυφαγείο) ανιχνεύθηκε η παρουσία *Listeria innocua*.

Συμπερασματικά, το σύνολο των 52 δειγμάτων σαλατών από μεταποιημένα ζωικά προϊόντα που εξετάστηκαν βρέθηκαν σύμφωνα με τις απαιτήσεις της κείμενης νομοθεσίας για τα συγκεκριμένα προϊόντα. Η ανίχνευση της *L. monocytogenes* υπογραμμίζει την ανάγκη για την τήρηση της Ορθής Υγιεινής Πρακτικής και των προγραμμάτων ελέγχου (όπως ανάλυσης κινδύνου και ελέγχου των κρίσιμων σημείων - HACCP) στην παραγωγή, διακίνηση και διάθεση αυτών των τροφίμων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική βιβλιογραφία

Αντωνιάδης, Α., Καρτάλης, Σ., Λεγάκης, Ν. Σ., Μανιάτης, Α., Τσελέντης, Ι. (2005). *“Ιατρική Μικροβιολογία”*. Τόμος ΙΙ. Ιατρικές Εκδόσεις «Π.Χ. ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ». σελ., 3-5, 165-168

Ανυφαντάκης, Ε. Μ. (2004). *“Τυροκομία: Χημεία – Φυσιολογία – Μικροβιολογία”*. Εκδόσεις: Αθ. Σταμούλης. Β Έκδοση. σελ., 421-446, 479-484.

Γκόβαρης, Αλέξανδρος. (2007). *“Υγιεινή τροφίμων ζωικής προέλευσης”*. Τμήμα Κτηνιατρικής. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Θεσσαλίας. σελ., 13-21.

Γκόβαρης, Α., Πεξαρά, Α., Σολωμάκος, Ν. (2009). *“Υγιεινή Τροφίμων ΙΙ”*. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Τμήμα Κτηνιατρικής.

Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1441/2007 της επιτροπής της 5ης Δεκεμβρίου 2007 για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 της Επιτροπής περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα. Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης (7.12.2007), L 322/129.

Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 της επιτροπής της 15ης Νοεμβρίου 2005 περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα. Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης (22.12.2005), L 338/1-26.

Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ.), Τμήμα Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης. <http://www.keelpno.gr>

Κοτζεκίδου- Ρουκά, Π. (2000). Μικροβιολογία Τροφίμων. Θεσσαλονίκη

Μάντης, Ι. Α. (2005). *“Υγιεινή και Τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του”*. (γ' έκδοση). Αδελφών Κυριακίδη α.ε. Θεσσαλονίκη.

Μάντης, Ι. Α. (1991). *“Υγιεινή και Τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του”*. (β' έκδοση). Αδελφών Κυριακίδη Θεσσαλονίκη.

Ξένη βιβλιογραφία

Acheson, D. W. K. (2003). EMERGING FOODBORNE ENTERIC PATHOGENS p.2062- 2069

Akineden, Ö., Annemüller, C., Hassan, A. A., Lämmle, C., Wolter, W., & Zschöck, M. (2001). *“Toxin genes and other characteristics of Staphylococcus aureus isolates*

from milk of cows with mastitis". **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, 8, 959–964.

Adam, K. H., Flint, S. H., & Brightwell, G. (2010). "*Psychrophilic and psychrotrophic clostridia: Sporulation and germination processes and their role in the spoilage of chilled, vacuum-packed beef, lamb and venison*". **International Journal of Food Science and Technology**, 45, 1539–1544.

Allerberger, F., Liesegang, A., Grif, K., Prager, R., Danzl, J., Höck, F., et al. (2002). "*Occurrence of Salmonella enterica serovar Dublin in Austria*". **Euro Surveillance**, 7, 325.

Amador, P., Fernandes, R., Brito, L., & Prudencio, C. (2011). *ANTIBIOTIC RESISTANCE IN ENTEROBACTERIACEAE ISOLATED FROM PORTUGUESE DELI MEATS*. **Journal of Food Safety**, 31 1–20.

© 2010 Wiley Periodicals, Inc. 1 DOI: 10.1111/j.1745-4565.2010.00258.x

Anand, S. K., & Griffiths, M. W. (2002). **ENTEROBACTERIACEAE IN DAIRYING** 900-904.

Angelidis, A. S., Chronis, E. N., Papageorgiou, D. K., Kazakis, I. I., Arsenoglou, K. C., & Stathopoulos, G. A. (2006). "*Non-lactic acid, contaminating microbial flora in ready-to-eat foods: A potential food-quality index*". **Food Microbiology**, 23(1), 95-100

Angulo, F. J., & Swerdlow, D. L. (1999). "*Epidemiology of human Salmonella enterica serovar Enteritidis infections in the United States*". In A. Saeed (Ed.), *Salmonella enterica serovar enteritidis in humans and animals* (pp. 33–41). (1st Edition). Ames, Iowa: Iowa State University Press.

Argudín, M. A., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010), "*Food Poisoning and Staphylococcus aureus Enterotoxins*". *Review* **Toxins** 2, 1751-1773; doi:10.3390/toxins2071751

Arvanitidou, M., Tsakris, A., Sofianou, D. & Katsouyannopoulos, V. (1998). "*Antimicrobial resistance and R-factor transfer of salmonellae isolated from chicken carcasses in Greek hospitals*". **International Journal of Food Microbiology**, 40, 197–201.

Asperger, H., & Zangerl, P. (2003). "*Staphylococcus aureus*". In: Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, vol. 4. Academic Press and Elsevier Science, Amsterdam, Boston, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo, pp. 2563–2569.

Balaban, N., & Rasooly, A. (2000). *A Review. "Staphylococcal enterotoxins"*. **International Journal of Food Microbiology**, 61, 1–10.

- Beuchat, L. R., Ryu, J. H., Adler, B. B. & Harrison, M. D.** (2006). “*Death of Salmonella, Escherichia coli O157:H7, and Listeria monocytogenes in shelf-stable, dairy-based, pourable salad dressings*”. **Journal of Food Protection**, 69, 801-814.
- Beaufort, A., Cornu, M., Bergis, H., Lardeux, A.-L., & Lombard, B.** (2008). “*On shelf-life studies for Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods*”. Technical Guidance document. EU Community reference laboratory for Listeria monocytogenes. 31 pp.
- Benenson, A. S.** (Ed.). (1995). *Control of Communicable Diseases Manual*. Washington, USA: American Public Health Association.
- Bergdoll, M. S., Crass, B. A., Reiser, R. F., Robbins, R. N., & Danis, J. P.** (1991). “*A new staphylococcal enterotoxins, enterotoxin F, associated with toxic shock syndrome Staphylococcus aureus isolates*”. **Lancett** 9, 1007.
- Berdgoll, M. S.** (1989). “*Staphylococcus aureus*”. In: Doyle, M.P. (Ed.), *Food-Borne Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker, New York, pp. 464–523.
- Bergdoll, M. S., Crass, B. A., Reiser, R. F., Robbins, R. N., Lee, A. C., Chensey, P. J., Danis, J. P., Vergerott, J. M., & Wand, P. J.** (1982). “*An enterotoxin-like protein Staphylococcus aureus strains form patients with toxic schock syndrom*”. **Ann. Inter. Med.** 96(2):969.
- Bhunia, A. K.** (2008). “*Foodborne microbial pathogens: Mechanisms and pathogenesis*” United States of America: Springer Science + Business Media, LLC.
- Blaiotta, G., Ercolini, D., Pennacchia, C., Fusco, V., Casaburi, A., Pepe, O., & Villani, F.** (2004). “*PCR detection of staphylococcal enterotoxin genes in Staphylococcus spp. strains isolated from meat and dairy products. Evidence for new variants of seG and seI in Staphylococcus aureus AB-8802*”. **J. Appl. Microbiol.** 97, 719–730.
- Boerema, J. A., Clemens, R., & Brightwell, G.** (2006). “*Evaluation of molecular methods to determine enterotoxigenic status and molecular genotype of bovine, ovine, human and food isolates of Staphylococcus aureus*”. **Int. J. Food Microbiol.**, 192–201.
- Bojsen-Moller, J.** (1972). “*Human listeriosis: diagnostic, epidemiologic and clinical studies*”. **Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect., B Suppl.** 229, 72-92.
- Brightwell, G., Clemens, R., Ulrich, S. & Boerema, J.** (2007). “*Possible involvement of psychrotolerant Enterobacteriaceae in blown pack spoilage of vacuum-packed raw meats*”. **International Journal of Food Microbiology**, 119, 334–339.
- Busani, L., Cigliano, A., Taioli, E., Caligiuri, V., Chiavacci, L., Di Bella, C., et al.** (2005). “*Prevalence of Salmonella enterica and Listeria monocytogenes contamination in foods of animal origin in Italy*”. **Journal of Food Protection**, 68, 1729–1733.

- Capita, R., Alvarez-Astorga, M., Alonso-Calleja, C., Moreno, B., & García-Fernández, M. C.** (2003). “*Occurrence of salmonellae in retail chicken carcasses and their products in Spain*”. **International Journal of Food Microbiology**, 81, 169–173.
- Carrasco, E., Morales-Rueda, A., & García-Gimeno, R. M.** (2012). “*Cross-contamination and recontamination by Salmonella in foods: A review*”. **Food Research International**, 45, 545–556.
- Chan, Y. C., & Wiedmann, M.** (2009). “*Physiology and genetics of Listeria monocytogenes survival and growth at cold temperatures*”. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 49, 237–253.
- Chaves, R. D., Silva, A. R., Sant’Ana, A. S., Campana, F. B., & Massaguer, P. R.** (2012). “*Gas-producing and spoilage potential of Enterobacteriaceae and lactic acid bacteria isolated from chilled vacuum-packaged beef*”. **International Journal of Food Science and Technology** 47, 1750–1756.
- Chordash, R. A., & Potter, N. N.** (1976). “*Stability of staphylococcal enterotoxin A to selected conditions encountered in foods*”. **Journal of Food Science**, 41, 906–909.
- Cogan, T. A., & Humphrey, T. J.** (2003). “*The rise and fall of Salmonella Enteritidis in the UK*”. **Journal of Applied Microbiology**, 94, 114S–119S.
- Christison, C.A., Lindsay, D. & von Holy, A.** (2008) “*Microbiological survey of ready-to-eat foods and associated preparation surfaces in retail delicatessens, Johannesburg, South Africa*”. **Food Control** 19, 727–733.
- Dale Morton, R.** (2001). *Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods* **American Journal of Public Health** Publisher: American Public Health Association eISBN: 978-0-87553-265-3 Print ISBN: 978-0-87553-175-5
- D’Aoust, J. Y., Mayrer, J. & Stan Baitel, J.** (2001). “*Salmonella spp.*” In: M.P. Doyle, L.R.Beuchat, T.J.Montville (Eds), *Food Microbiology: Fundametnals and Frontiers*, 2nd Ed., ASM Press, Washington, D.C., pp. 383-387.
- D’Aoust, J. Y.** (1991). “*Pathogenicity of foodborne Salmonella*”. **Int. J. Food Microbiol.**, 12, 17–40.
- Dalton, C. B., Austin, C. C., Sobel, J., Hayes, P. S., Bibb, W. F., Graves, L. M., Swaminathan, B., Procter, M. E. & Friffin, P. M.** (1997). “*An outbreak of gastroenteritis and fever due to Listeria monocytogenes in milk*”. **N. Engl. J. Med.**, 336, 100-105.
- De Buyser, M. L., Dufour, B., Maire, M., & Lafarge, V.** (2001). “*Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries*”. **Int. J. Food Microbiol.**, 67, 1–17.

- De Jesus, A. J., & Whiting, R. C.** (2003). "Thermal inactivation, growth, and survival studies of *Listeria monocytogenes* strains belonging to three distinct genotypic lineages". **J. Food Prot.** 66, 1611–1617.
- de Valk, H., Vaillant, V., Pierre, V., Rocourt, J., Jacquet, C., Lequerrec, F., Thomas, J.C., & Goulet, V.** (1998). "Risk factor for sporadic listeriosis in Franche. <http://www.invs.cante.fr/epiet/seminars/1998/valk.html>.
- Devriese, L. A.** (1984). "A simplified system for biotyping *Staphylococcus aureus* strains isolated from different animal species". **J. Appl. Bacteriol.**, 56, 215–220.
- Di Bonaventura, G., Piccolomini, R., Paludi, D., D'Orio, V., Vergara, A., Conter, M. et al.** (2008). "Influence of temperature on biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on various foodcontact surfaces: relationship with motility and cell surface hydrophobicity". **Journal of Applied Microbiology**, 104(6), 1552-1561.
- Dinges, M., Orwin, P. M., & Schlievert, P. M.** (2000). "Exotoxins of *Staphylococcus aureus*". **Clin. Microbiol. Rev.** 13, 16–34.
- Domínguez, C., Gómez, I., & Zumalacárregui, J.** (2001). "Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain". **International Journal of Food Microbiology**, 72, 165–168.
- Drevets, D. A., & Bronze, M. S.** (2008). "*Listeria monocytogenes* epidemiology, human disease, and mechanisms of brain invasion". **FEMS Immunology Medical Microbiology**, 53(2), 151-165.
- EC 2005.** European Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for food-stuffs.
- European Food Safety Authority (EFSA).** "Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011 Part A: *Listeria monocytogenes* prevalence estimates". **EFSA Journal** 2013;11(6):3241
- European Food Safety Authority (EFSA).** "The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011". **EFSA Journal**, 2013;11(4):3129.
- European Food Safety Authority (EFSA).** "The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union in 2008". **EFSA Journal**, 8(1), (2010), 1496.
- European Food Safety Authority (EFSA)** 2007. "The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2006". **The EFSA Journal** 130, 1–352.

- Ericsson, H., Eklow, W., Danielson-Tham, M. L., Loncarevic, S., Metzger, L. O., Person, I., Unnerstad, H., & Tham, W.** (1997). "An outbreak of listeriosis suspected to have been caused by rainbow trout". **J. Clin. Microbiol.**, 35, 2904-2907.
- Evenson, M. L., Hinds, M. W., Bernstein, R. S., & Bergdoll, M. S.** (1988). "Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk". **Int. J. Food Microbiol.**, 7, 311-316.
- Farber, J. M., & Peterkin, P. I.** (1999). "Incidence and behavior of *Listeria monocytogenes* in meat products", In: E.T. Ryser and E.H. Marth (ed). *Listeria, Listeriosis and Food Safety*, 2nd ed. Ed. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., pp. 505-564.
- Farber, J., & Peterkin, P.** (1991). "*Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen". **Microbiol. Mol. Biol. Rev.** 55, 476-511.
- Freitas, R., Nero, L. A., & Carvalho, A. F.** (2009). *Technical note: Enumeration of mesophilic aerobes in milk: Evaluation of standard official protocols and Petrifilm aerobic count plates* **J. Dairy Sci.** 92 :3069-3073 doi: 10.3168/jds.2008-1705 © American Dairy Science Association, .
- Gandhi, M., & Chikindas, M. L.** (2007). "*Listeria: A foodborne pathogen that knows how to survive: Review*". **International Journal of Food Microbiology**, 113, 1-15.
- Garrido, V., Vitas, A. I., & Garcia-Jalon, I.** (2009). "Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products: Prevalence by brands and retail establishments for exposure assessment of listeriosis in Northern Spain". **Food Control**, 20, 986-991.
- Genigeorgis, C. A.** (1989). "Present state of knowledge on staphylococcal intoxication". **International Journal of Food Microbiology**, 9, 327-360.
- Genigeorgis, C., Foda, M. S. Mantis, A., & Sadler, W. W.** (1971). "Effect of sodium chloride and pH on enterotoxin C production". **Appl. Microbiol.**, 21, 862-866.
- Gilbert, R. J., Louvois, J., Donovan, T., Little, C., Nye, K., Ribeiro, C. D., Richards, J., Roberts, D., & Bolton, F. J.** (2000). "Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale". PHLS Advisory Committee for Food and Dairy Products. *Commun. Dis. Public Health* 3, 163-167.
- Glass, K. A., & Doyle, M. P.** (1989). "Fate of *Listeria monocytogenes* in processed meat products during refrigerated storage". **Appl. Environ. Microbiol.**, 55, 1565-1569.
- Gombas, D.E., Chen, Y., Clavero, R.S. & Scott, V.N.** (2003) "Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods". **Journal of Food Protection** 66, 559-569.

Gray, J. T., & Fedorka-Cray, P. J. (2002). "*Salmonella*". In Cliver, D. O. and Riemann, H. P. (Eds.). **Foodborne diseases**, p. 55-68. San Diego: Academic Press.

Griffiths, M. W. (2003). Properties and Occurrence. *Listeria/Properties and Occurrence*, 3562-3573.

Gurler, Z., Pamuk, S., Yildirim, Y. & Ertas, N. (2015) "*The microbiological quality of ready-to-eat salads in Turkey: A focus on Salmonella spp. and Listeria monocytogenes*". **International Journal of Food Microbiology** 196, 79–83.

Haeghebaert, S., Sulem, P., Deroudille, L., Vanneroy-Adenot, E., Bagnis, O., Bouvet P., et al. (2003). "*Two outbreaks of Salmonella enteritidis phage type 8 linked to the consumption of Cantal cheese made with raw milk, France, 2001*". **Eurosurveillance**, 8, 151–156.

Hanna, M.O., Smith, G. C., Hall, C. & Vanderzant, C. (1979). "*Role of Hafnia alvei and a Lactobacillus species in the spoilage of vacuum packaged strip loins steaks*". **Journal of Food Protection**, 42, 569–571.

Hanes, D. (2003). "*Nontyphoid Salmonella*". In Henegariu O., Heerema N. A., Dlouhy S. R., Vance G. H. and Vogt P. H. (Eds.). **International handbook of foodborne pathogens**, p. 137-149. New York: Marcel Dekker, Inc.

Harris, T. O., Grossman, D., Kappler, J. W., Marrack, P., Rich, R. R., Betley, M. J. et al. (1993). "*Lack of complete correlation between emetic and T-cell-stimulatory activities of Staphylococcal enterotoxins*". **Infect. Immun.** 61, 3175–3183.

Huong, B. T. M., Mahmud, Z. H., Neogi, S. B., Kassu, A., Nhien, N. V., Mohammad, A., Yamato, M., Ota, F., Lam, NT., Dao, HTA., & Khan, N. C. (2010). "*Toxigenicity and genetic diversity of Staphylococcus aureus isolated from Vietnamese ready-to-eat foods*". **Food Control**, 21:166–171.

Huss, H. H., Jorgensen, L. V., & Vogel, B. F. (2000). "*Control options for Listeria monocytogenes in seafoods*". **International Journal of Food Microbiology** 62, 267–274.

Ivanek, R., Grohn, Y. T., Tauer, L. W. & Wiedmann, M. (2004). "*The cost and benefit of Listeria monocytogenes food safety measures*". **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, 44(7-8), 513-523.

Jablonski, L. M., & Bohach, G. (1997). "*Staphylococcus aureus*". In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Monteville, T.J. (Eds.), **Food Microbiology Fundamentals and Frontiers**. ASM Press, Washington DC, pp. 353–357.

Jay, J. M., Loessner, M. J. & Golden, D. A. (2005). **Modern Food Microbiology**. Chapman and Hall, New York, NY.

- Jensen, A., Thomsen, L. E., Jørgensen, R. L., Larsen, M. H., Roldgaard, B. B., Christensen, B. B., Vogel, B. F., Gram, L., & Ingmer, H. (2008). "Processing plant persistent strains of *Listeria monocytogenes* appear to have a lower virulence potential than clinical strains in selected virulence models". **International Journal of Food Microbiology**, 30, 254–261.
- Joeng, D., & Frank, J. (1994). "Growth of *Listeria monocytogenes* at 10°C in biofilms with microorganisms isolated from meat and dairy processing environments". **J. Food Prot.**, 57, 576-586.
- Jorgensen, H. J., Mork, T., Hogasen, H. R., & Rovik, L. M. (2005). "Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in bulk milk in Norway". **J. Appl. Microbiol.**, 99, 158–167.
- Kathariou, S. (2002). "*Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective". **Journal of Food Protection**, 65, 1811-1829.
- Kusumaningrum, H. D., Riboldi, G., Hazeleger, W. C., & Beumer, R. R. (2003). "Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and crosscontamination to foods". **Int. J. Food Microbiol.**, 85, 227-236.
- Lado, B. H., & Yousef, A. E. (2007). "Characteristics of *Listeria monocytogenes* important to food processors". In E. T. Ryser, & E. H. Marth (Eds.), *Listeria, listeriosis and food safety* (pp. 157-214). CRC Press.
- Lianou, A., & Sofos, J. N. (2007). "A review of the incidence and transmission of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products in retail and food service environments". **Journal of Food Protection**, 70, 2172–2198.
- Lianou, A., Stopforth, J. D., Yoon, Y., Wiedmann, M., & Sofos, J. N. (2006). "Growth and stress resistance variation in culture broth among *Listeria monocytogenes* strains of various serotypes and origins". **J. Food Prot.** 69, 2640–2647.
- Little, C.L., Taylor, F.C., Sagoo, S.K., Gillespie, I.A., Grant, K. & McLauchlin, J. (2007) "Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in retail pre-packaged mixed vegetable salads in the UK". **Food Microbiology** 24, 711–717.
- Lou, Y., & Yousef, A. E. (1999). "Characteristics of *Listeria monocytogenes* importance to food processors", In: E.T. Riser and E.H. Marth (ed.), *Listeria Listeria, Listeriosis and Food Safety*, 2nd ed. Ed. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., pp.131-224.
- Lowy, F. D. (1998). "*Staphylococcus aureus* infection". **N. Engl. J. Med.** 339, 520–532.
- Lunden, J., Autio, T., Markkula, A., Hellstrom, S., & Korkeala, H. (2003). "Adaptive and cross-adaptive responses of persistent and non-persistent *Listeria*

monocytogenes strains to disinfectants”. **International Journal of Food Microbiology**, 82(3), 265-272.

Manfreda, G., Mioni, R., & De Cesare, A. (2005). “*Surveillance and Characterization of Enterotoxigenic Staphylococci in Foods of Animal Origin Collected in the Veneto Region*”. **Veterinary Research Communications**, 29(Suppl. 2), 331–333.

Manios, S. G., Skiadaresis, A. G., Karavasilis, K., Drosinos, E. H., & Skandamis, P. N. (2009). “*Field validation of predictive models for the growth of lactic acid bacteria in acidic cheese-based greek appetizers*”. **Journal of Food Protection**, 72(1), 101-110.

Manolopoulou, E., Sarantinopoulos, P., Zoidou, E., Aktypis, A., Moschopoulou, E., & Kandarakis, I. G. (2003). “*Evolution of microbial populations during traditional feta cheese manufacture and ripening*”. **International Journal of Food Microbiology**, 82, 153-161.

Mackey, B. M., Prichett, C., Norris, A. & Mead, G. C. (1990). “*Heat resistance of Listeria: Strain differences and effects of meat type and curing salts*”. **Lett. Appl. Microbiol.**, 10, 251-255.

Martin, S. E., & Fisher, C. W. (1999). *Listeria monocytogenes*. *Listeria/Listeria monocytogenes*, 1228-1238.

McLauchlin, J., Mitchell, R. T., Smerdon, W. J., & Jewell, K. (2004). “*Listeria monocytogenes and listeriosis: a review of hazard characterization for use in microbiological risk assessment of foods*”. **International Journal of Food Microbiology** 92, 15–33.

Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., Griffin, P. M., & Tauxe, R. V. (1999). “*Food-related illness and death in the United States*”. **Emerg. Infect. Dis.** 5, 607–625.

Mexis S.F., Chouliara E., Kontominas M.G. (2009). Combined effect of an O₂ absorber and oregano essential oil on shelf-life extension of Greek cod roe paste (tarama salad) stored at 4 °C. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10, 572–579.

Michels, M. J. M., & Koning, W. (2000). “*Mayonnaise, dressings, mustard, mayonnaise-based salads, and acid sauces*”. In B. M. Lund, T. C. Baird-Parker, & G. W. Gould (Eds.), *The microbiological safety and quality of food* (pp. 807–835). Gaithersburg, MD: Aspen Publishers.

Montville, T. J. & Matthews, K. R. (2008). *Food microbiology: An introduction* (2nd ed.). United States of America: ASM Press, Washington.

Morandi, S., Brasca, M., Lodi, R., Cremonesi, P., & Castiglioni B. (2007). “*Detection of classical enterotoxins and identification of enterotoxin genes in Staphylococcus aureus from milk and dairy products*”. **Veterinary Microbiology**, 124, 66–72.

Mossel, D. A. A. (1975). “*Occurrence, prevention and monitoring of microbial quality loss of foods and dairy products*”. *CRC Crit Rev Environ Control* 5:1–140.

Murry, E. G. D., Webb, R. A., & Swann, B. R. (1926). “*A disease of rabbit characterized by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus Bacterium monocytogenes (n. sp)*”. *Journal of Pathology and Bacteriology*, 29, 407-439.

Newell, D. G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., Giessen, J. v. d. & Kruse H. (2010). “*Food-borne diseases-the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge*”. *International Journal of Food Microbiology* 139: S3-S15. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.021.

Noah, N. (2005) *Bacterial contamination* FOOD SAFETY/BACTERIAL CONTAMINATION 329-340

Normanno, G., La Salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, N.C., Corrente, G., Parisi, A., Santagada, G., Firinu, A., Crisetti, E., & Celano, G.V. (2007). “*Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated from meat and dairy products*”. *International Journal of Food Microbiology* 115, 290–296.

Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S., Mula, G., Dambrosio, A., Poggiu, A., Decastelli, L., Mioni, R., Scuota, S., Bolzoni, G., Di Giannatale, E., Salinetti, A. P., La Salandra, G., Bartoli, M., Zuccon, F., Pirino, T., Sias, S., Parisi, A., Quaglia, N. C., & Celano, G. V. (2005). “*Coagulase-positive staphylococci and Staphylococcus aureus in food products marketed in Italy*”. *Int. J. Food Microbiol.*, 98, 73–79.

Norton, D. W., & Braden, C. R. (2007). “*Foodborne listeriosis*”. In E. T. Ryser, & E. H. Marth (Eds.), *Listeria, listeriosis, and food safety* (pp. 305-356). New York: Marcel Dekker.

Omoe, K., Hu, D.L., Takahashi-Omoe, H., Natane, A., & Shinagawa, K. (2003). “*Identification and characterization of a new staphylococcal enterotoxinrelated putative toxin encoded by two kinds of plasmids*”. *Infect. Immun.* 71, 6088–6094.

Pagotto, F. J., & Farber, J. M. (2003). *Listeriosis*. *Listeria/Listeriosis*, 3582-3588.

Pal A., Labuza, T. P., & Diez-Gonzalez, F. (2008). “*Comparison of primary predictive models to study the growth of Listeria monocytogenes at low temperatures in liquid cultures and selection of fastest growing ribotypes in meat and turkey product slurries*”. *Food Microbiology*, 25, 460–470.

Palumbo, S. A., Smith, J. L. & Kissinger, J. C. (1977). “*Destruction of Staphylococcus aureus during frankfurter processing*”. *Appl. Environ. Microbiol.*, 34, 740–744.

- Pandey, A., Joshi, V., Nigam, P., & Soccol, C. (1999).** “*Introduction /Classical and modern methods for detection/enumeration*” **ENTEROBACTERIACEAE, COLIFORMS, and E.COLI / Introduction** p. (604-610) Academic Press
- Pexara, A., Burriel, A., & Govaris, A. (2010).** “*Staphylococcus aureus and Staphylococcal enterotoxins in foodborne diseases*”. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, 61(-):316-322
- Plummer, S. J., & Dodd, C. E. R. (1995).** “*Salmonella contamination of retail chicken products sold in the UK*”. **Journal of Food Protection**, 58, 843–846.
- Pui, C. F., Wong, W. C., Chai, L. C., Tunung, R., Jeyaletchumi, P., Noor Hidayah, M. S., Ubong, A., Farinazleen, M. G., Cheah, Y. K. & Son R. (2011).** “*Salmonella: A foodborne pathogen Review Article*”. **International Food Research Journal**, 18, 465-473.
- Rocourt, J., & Buchrieser, C. (2007).** “*The genus Listeria and Listeria monocytogenes: phylogenic position*”. In E. T. Ryser, & E. H. Marth (Eds.), *Listeria, listeriosis and food safety* (pp. 1-20). CRC Press.
- Rocourt, J., & Cossart, P. (1997).** “*Listeria monocytogenes*”. In: Doyle, M.P., Buechat, L.R., Montville, T.J. (Eds.), *Food Microbiology — Fundamentals and Frontiers*. American Society for Microbiology (ASM) press, Washington DC, pp. 337–352.
- Romanova, N., Favrin, S., & Griffiths, M. W. (2002).** “*Sensitivity of Listeria monocytogenes to sanitizers used in the meat processing industry*”. **Applied and Environmental Microbiology**, 68, 6405-6409.
- Ryan, M. J., Wall, P. G., & Gilbert, R. J. (1996).** “*Risk factors for outbreaks of infectious intestinal disease linked to domestic catering*”. **Communicable Disease Report**, 6, 179–183.
- Ryser, E. T. (2002).** *Listeria monocytogenes*. *Listeria monocytogenes*, 1650-1655
- Schlech, W. F., Lavigne, P. M., Bortolussi, R. A., Allen, A. C., Haldane, E. V., Wort, A. J., et al. (1983).** “*Epidemic listeriosis evidence for transmission by foods*”. **New England Journal of Medicine**, 308, 203-206.
- Schwartz, B., Hexter, D., Broome, C., Hightower, A., Hirschorn, R., Porter, J., Hayes, P., Bibb, W., Lorber, B., & Faris, D. (1989).** “*Investigation of an outbreak of listeriosis: new hypothesis for etiology for epidemic Listeria monocytogenes infections*”. **J. Infect. Dis.**, 159, 680-685.
- Seo, K. S. & Bohach, G. A. (2007)** In: Doyle MP, Beuchat LR. (eds) *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*. 3rd ed, ASM Press, Washington DC, pp. 493-518.

- Sergelidis, D., Abraham, A., Anagnostou, V., Papa, A., & Papadopoulos, Th.** (2010). "Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Enterococcus* spp. in ready-to-eat salads (dips), the environment and the personnel of a salad processing plant in Northern Greece". **Journal of Hellenic Veterinary Medical Society**, 61(4), 308-315(8).
- Shahamat, M., Seaman, A., & Woodbine, M.** (1980). "Survival of *Listeria monocytogenes* in high salt concentration". **Zentbl. Bakteriол. Hyg. Abt. 1 Orig. A** 246, 506-511.
- Skalina, L., & Nikolajeva, V.** (2010). "Growth potential of *Listeria monocytogenes* strains in mixed ready-to-eat salads". Short Communication. **International Journal of Food Microbiology**, 144, 317-321.
- Smith, J. L., Buchanan, R. L., & Palumbo, S. A.** (1983). "Effect of food environment on staphylococcal enterotoxin synthesis: A review". **J. Food Protect.**, 46, 545-555.
- Smittle, R. B.** (1977). "Microbiology of mayonnaise and salad dressing: A review". **Journal of Food Protection**, 40, 415-422.
- Smittle, R. B. (2000). "Microbiological safety of mayonnaise, salad dressings, and sauces produced in the United States: A review". **Journal of Food Protection**, 63(8), 1144-1153.
- Sperber, W. H.** (2009). "Microbiological Spoilage of Acidified Specialty Products" p.285-289 In: Sperber W.H., M.P. Doyle (eds.), *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*, Food Microbiology and Food Safety, DOI 10.1007/978-1-4419-0826-1_10, C _ Springer Science+Business Media, LLC
- Swaminathan, B.** (2001). *Listeria monocytogenes*. In: Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, 2nd Ed. M.P. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville (eds), ASM Press, Washington, D.C. p. 383.
- Tassou, C. C., Drosinos, E. H., & Nychas, G. J. E.** (1995). "Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4° and 10°C". **Journal of Applied Bacteriology**, 78(6), 593-600.
- Tassou, C. C., Samaras, F. J., Arkoudelos, J. S., & Mallidis, C. G.** (2009). "Survival of acid-adapted or non-adapted *Salmonella Enteritidis*, *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7, in traditional Greek salads". **International Journal of Food Science and Technology**, 44, 279-287
- Tauxe, R. V.** (1991). "Salmonella: A postmodern pathogen". **Journal of Food Protection**, 54, 563-568.
- Tibana, A., Rayman, K., Akhtar, M., & Szabo, R.** (1987). "Thermal stability of staphylococcal enterotoxins A, B and C in a buffered system". **J. Food Protect.**, 50:239-242.

- Tirado, C., & Schimdt, K.** (2001). "WHO surveillance programme for control of food-borne infections and intoxications: preliminary results and trends across greater Europe". **J. Infect.** 43, 80–84.
- Todd, E. C. D., & Notermans, S.** (2011). "Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*". **Food Control**, 22, 1484-1490.
- Todd, E. C.** (1997). "Epidemiology of foodborne diseases: A worldwide review". **World Health Statistics Quarterly**, 50, 30–50.
- Tschape, H., Liesegang, A., Gericke, B., Prager, R., Rabsch, W., & Helmuth R.** (1999). "Ups and downs of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in Germany". In A.M. Saeed, R. K. Gast, M. E. Potter, & P. G. Wall (Eds.), *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in humans and animals (pp. 51–61). Ames: Iowa State University Press.
- Uyttendaele, M., De Troy, P. & Debevere, J.** (1999) Incidence of *Listeria monocytogenes* in different types of meat products on the Belgian retail market. **International Journal of Food Microbiology** 53, 75–80.
- Uyttendaele, M., Busschaert, P., Valero, A., Geeraerd, A.H., Vermeulen, A., Jaxsens, L., Goh, K.K., De Loy, A., Van Impe, J.F. & Devlieghere F.** (2009) Prevalence and challenge tests of *Listeria monocytogenes* in Belgian produced and retailed mayonnaise-based deli-salads, cooked meat products and smoked fish between 2005 and 2007. **International Journal of Food Microbiology** 133, 94–104.
- Vernozy-Rozand, C., Mazuy-Cruchaudet, C., Bavai, C., & Richard, Y.** (2004). "Comparison of three immunological methods for detecting staphylococcal enterotoxins from food". **Lett. Appl. Microbiol.**, 39, 490–494.
- Warriner, K., & Namvar A.** (2009). "What is the hysteria with *Listeria*?" **Trends in Food Science & Technology**, 20, 245-254.
- Williams, A. J., & Nadel, S.** (2001). "Bacterial meningitis: current controversies in approaches to treatment". **CNS Drugs**, 15(12), 909-919.
- Wilson, I. G.** (2002). "Salmonella and Campylobacter contamination of raw retail chickens from different producers: A six year survey". **Epidemiology and Infection**, 129, 636–645.
- Wray, C., & Hart, C. A.** (2003). Salmonellosis. *Salmonella/Salmonellosis*, 5084-5087
- Yang, S. C., & Lal, L. S.** (2003). DRESSINGS AND MAYONNAISE/Chemistry of the Products, 1898-1902.
- Yousef, A. E., & Carlstrom, C.** (2003). *Salmonella*. In Yousef, A. E. and Carstrom, C. (Eds.). *Food microbiology: A laboratory manual*, p. 167-205. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

Zhang, S., Iandolo, J., & Stewart, C. (1998). "*The enterotoxin D plasmid of Staphylococcus aureus encodes a second enterotoxin determinant*" (sej). **FEMS Microbiol. Lett.** 168, 227–233.

Zerfiridis, G. (2001). "*Technology of milk products - Cheese production*". Greece:Thessaloniki.

Zschock, M., Barbel, K., Wolter, W., Hamman, H. P., & Lammler, Ch. (2005). "*Pattern of enterotoxin genes seg, seh, sei and sej positive Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis*". **Vet. Microbiol.**, 108, 243–249.