



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ

Διευθυντής: Καθηγητής Χρήστος ΧΑΤΖΗΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΕ
ΑΙΓΕΙΟ ΚΑΙ ΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΒΑΤΙΚΩΝ
ΕΚΤΡΟΦΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΥΤΕΡΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΛΑΡΙΣΑΣ-
ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΜΕ ΤΗΝ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ**

υπό

ΕΛΕΝΗΣ Ν. ΜΑΛΙΣΣΙΟΒΑ

Κτηνιάτρου Α.Π.Θ

MSc Food Safety, Hygiene & Management, Παν/μιο Birmingham

MSc European Food Regulatory Affairs, Παν/μιο Ulster

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2013

© 2013 Ελένη Μαλισσιόβα

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ. 2).

**Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής
(1/21-2-2013 ΓΣΕΣ):**

- 1^{ος} Εξεταστής** Δρ. Χρήστος **Χατζηχριστοδούλου**
(Επιβλέπων) Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 2^{ος} Εξεταστής** Δρ. Ανδρέας **Τσακάλωφ**
Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Χημείας, Τμήμα
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 3^{ος} Εξεταστής** Δρ. Ιωάννης **Αρβανιτογιάννης**
Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και
Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 4^{ος} Εξεταστής** Δρ. Αλέξανδρος **Γκόβαρης**
Καθηγητής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας
- 5^{ος} Εξεταστής** Δρ. Παναγιώτης **Λιάκος**
Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας
- 6^{ος} Εξεταστής** Δρ. Σπυρίδων **Πουρνάρας**
Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- 7^{ος} Εξεταστής** Δρ. Γεώργιος **Ραχιώτης**
Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Είχα τη τύχη να έχω δάσκαλο τον Καθηγητή κ. Χατζηχριστοδούλου, που πέρα από τις γνώσεις που μου πρόσφερε και την έμπνευση που μου έδωσε να ξεκινήσω και να ολοκληρώσω την παρούσα μελέτη, κυρίως με έκανε καλύτερο άνθρωπο μαθαίνοντας με πώς να βλέπω και όχι τι να βλέπω. Ήταν δίπλα μου σε καλές και σε δύσκολες στιγμές και έγινε για μένα η «γέφυρα», που αναφέρει ο Ν. Καζαντζάκης για τον ιδανικό δάσκαλο. Τον ευχαριστώ από καρδιάς για όλα. Επίσης, ευχαριστώ θερμά τον Καθηγητή μου κ. Τσακάλωφ για τη πολύτιμη βοήθεια στο σχεδιασμό και εκπόνηση του αναλυτικού μέρους της διατριβής και την καθοδήγηση και στήριξη καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής μου. Τέλος, ευχαριστώ τον Καθηγητή μου κ. Αρβανιτογιάννη για την ουσιαστική στήριξη και παρακίνηση για την εκπόνηση και ολοκλήρωση της διατριβής.

Θερμές ευχαριστίες για τη συνεργασία οφείλω και στο προσωπικό του Εθνικού Εργαστηρίου Αναφοράς για τις Μυκοτοξίνες, στο προσωπικό του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (Διευθύνσεις Κτηνιατρικής και Βιολογικής Παραγωγής), στην Καθηγήτρια κα. Τζώρα του ΤΕΙ Ηπείρου και σε όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Υγιεινής και Επιδημιολογίας, του Τμήματος Ιατρικής, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η συνεργασία των 100 παραγωγών στην Περιφέρεια Θεσσαλίας, των συναδέλφων κτηνιάτρων και της γαλακτοβιομηχανίας ΕΒΟΛ ήταν κρίσιμη για την εκπόνηση της διατριβής και επίσης τους ευχαριστώ θερμά.

Ευχαριστώ τους φίλους που πίστεψαν σε μένα για τη δύναμη που μου έδωσαν, αλλά και τους φοιτητές μου, που υπήρξαν έμπνευση για την αλλαγή στην επαγγελματική μου πορεία.

Τους Νίκο, Δημήτρα και Γιάννη ευχαριστώ που υπάρχουν στη ζωή μου, με στηρίζουν ουσιαστικά από παιδί σε ό,τι και αν κάνω και που βάζουν πάντα τον πήχη ψηλά. Η παρούσα διατριβή δεν θα ήταν δυνατόν να πραγματοποιηθεί χωρίς την παρουσία, υπομονή, βοήθεια και στήριξη του Γιάννη μου-του την αφιερώνω...

E. N. Μαλισσιόβα

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

Προσωπικά Στοιχεία

Όνοματεπώνυμο Ελένη Ν. Μαλισσιόβα
Τηλέφωνο 6945944992
E-mail malissiovalena@yahoo.com

Ακαδημαϊκές Σπουδές

- 1996-2002** **Πτυχίο Κτηνιατρικής ΑΠΘ**
Κατ/νση **Υγιεινής & Τεχνολογίας Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης**
- 2003-2004** **MSc Food Safety, Hygiene and Management**, Παν/μιο Birmingham, UK. Αναγνώριση ΔΙΚΑΤΣΑ: Αριθμός Πράξης: 2-418, 07/03/05
- 2003-2005** **MSc European Food Regulatory Affairs**, Πανεπιστήμιο Ulster, UK. Αναγνώριση ΔΟΑΤΑΠ: Αριθμός Πράξης: 38-156,19/03/07
- 2009-2013** **Υποψήφια Διδάκτωρ** Τμήματος Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Εργαστήριο Υγιεινής & Επιδημιολογίας

Επαγγελματική Εμπειρία

- 2002-2005** **Επίσημος Κτηνίατρος** απασχολούμενη σε Εταιρείες Ελέγχου της Βιομηχανίας Τροφίμων στο Ηνωμένο Βασίλειο.
- 2005-2006** **Αγροτικός Κτηνίατρος** στη Ν.Α. Λάρισας, Τμήμα Κτηνιατρικής Δημόσιας Υγείας.
- 2006-2010** **Εργαστηριακή Κτηνίατρος** στο Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων.
- 2010-σήμερα** **Καθηγήτρια Εφαρμογών – ΤΕΙ Θεσσαλίας, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων** με εξειδίκευση «Τεχνολογία και ποιοτικός έλεγχος γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων», **Υπεύθυνη Διασφάλισης Ποιότητας** Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων.

Επιστημονικό Έργο

Από το **2002** έως **σήμερα**:

3 Μονογραφίες, **13** ανακοινώσεις σε συνέδρια με κριτές και πρακτικά, **18** εισηγήσεις ως προσκεκλημένη ομιλήτρια, **5** δημοσιεύσεις και **2** υπό κρίση δημοσιεύσεις, **11** διδακτικές σημειώσεις στην τριτοβάθμια εκπαίδευση, συμμετοχή σε **8** ερευνητικά προγράμματα, επίβλεψη **18** πτυχιακών εργασιών και συμμετοχή στη ερευνητική ομάδα **5** μεταπτυχιακών διατριβών.

Μέλος Οργανισμών, Επιμελητηρίων, Επιτροπών

Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία (2002)

Γεωτεχνικό Επιμελητήριο Ελλάδας (2002)

Πανελλήνιος Κτηνιατρικός Σύλλογος (2002)

Royal College of Veterinary Surgeons (2002-2005)

Εμπειρογνώμονας ΤΑΙΕΧ (2006)

Εκπαιδευτής ΕΦΕΤ (2007)

Εκπαιδευτής ΕΚΕΠΙΣ (2008)

Αξιολογητής και Εμπειρογνώμονας Αγροδιατροφικού Τομέα ΕΣΥΔ (2008)

Εκπαιδευτής Εθνικού Κέντρου Διαρκούς Επιμόρφωσης (2009)

Εμπειρογνώμονας Ευρωπαϊκής Αρχής για τα Τρόφιμα (EFSA) (2012)

Επικεφαλής Επιστημονικής Επιτροπής ERFC-AGRO-START (2013)

Ξένες Γλώσσες – Γνώση Ηλεκτρονικών Υπολογιστών

Αγγλικά: Άριστη γνώση

Γερμανικά: Καλή Γνώση

Χρήση Η/Υ: Πολύ καλή γνώση

**«ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΕ
ΑΙΓΕΙΟ ΚΑΙ ΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΒΑΤΙΚΩΝ
ΕΚΤΡΟΦΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΥΤΕΡΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΛΑΡΙΣΑΣ –
ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΜΕ ΤΗΝ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ»**

ΕΛΕΝΗ ΜΑΛΙΣΣΙΟΒΑ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2013

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. **Δρ. Χρήστος Χατζηχριστοδούλου**, Καθηγητής Υγιεινής και
Επιδημιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας -
(Επιβλέπων),
2. **Δρ. Ανδρέας Τσακάλωφ**, Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Χημείας,
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
3. **Δρ. Ιωάννης Αρβανιτογιάννης**, Καθηγητής Τεχνολογίας Τροφίμων,
Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σύγχρονος καταναλωτής παρουσιάζει μια τάση προτίμησης στο βιολογικό γάλα και τα βιολογικά γαλακτοκομικά προϊόντα, με την πεποίθηση ότι είναι πιο υγιεινά και περισσότερο ασφαλή για την υγεία του, σε σύγκριση με τα συμβατικής προέλευσης. Όμως η παραγωγή βιολογικού γάλακτος και γενικώς βιολογικών προϊόντων είναι μια διαφορετική παραγωγική διαδικασία σε σχέση με την συμβατική, κάτι που ενδεχομένως να αλλάζει το φάσμα και το μέγεθος των παραγόντων κινδύνου για την υγεία του καταναλωτή.

Στο γάλα και τα γαλακτοκομικά μπορεί να υπάρχει ως αναγνωρισμένος κίνδυνος για την υγεία του καταναλωτή η αφλατοξίνη Μ1 (AFM1). Πρόκειται για τον υδροξυλιωμένο μεταβολίτη της Αφλατοξίνης Β1 (AFB1), που παράγεται από αφλατοξινογόνους μύκητες οι οποίοι προσβάλλουν τα κτηνοτροφικά φυτά υπό συγκεκριμένες συνθήκες.

Η AFM1 έχει αναγνωριστεί ως πιθανό καρκινογόνο για τον άνθρωπο, με όργανο-στόχο το ήπαρ και την εμφάνιση ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να αξιολογηθεί η παρουσία AFM1 σε αίγαιο και πρόβειο γάλα στην Ελλάδα, να αναγνωριστούν οι πιθανοί εμπλεκόμενοι παράγοντες επικινδυνότητας για την εμφάνισή της και να συγκριθούν τα επίπεδα ασφάλειας σε γάλα βιολογικής και συμβατικής προέλευσης.

Τριάντα εννέα βιολογικές και 39 συμβατικές εκτροφές αιγών και προβάτων στην περιοχή της Θεσσαλίας συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη πεδίου από όπου και συλλέχθηκαν συνολικά 243 δείγματα, κατά τη διάρκεια μιας γαλακτικής περιόδου (Δεκέμβριος 2010-Ιούλιος 2011). Για κάθε εκτροφή συμπληρώθηκε ένα προτυποποιημένο ερωτηματολόγιο και για κάθε δείγμα ένα πρωτόκολλο δειγματοληψίας, ώστε να αποτυπωθούν όλες οι σχετικές με τον τρόπο εκτροφής παράμετροι. Τα δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν με την εφαρμογή της ανοσοενζυμικής μεθόδου ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) για τον προσδιορισμό της AFM1 και τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν με εφαρμογή υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή φθορισμού–High Performance Liquid Chromatography-Fluorescence

Detector–HPLC–FLD). Τα αποτελέσματα παρουσίας AFM1 αναλύθηκαν στατιστικά σε συνδυασμό με τα δεδομένα που προέκυψαν από τα ερωτηματολόγια και τα πρωτόκολλα δειγματοληψίας για τη διερεύνηση τυχόν συσχετίσεων και τη διαπίστωση παραγόντων επικινδυνότητας για την παρουσία AFM1 στο γάλα.

Από τα 234 δείγματα που αναλύθηκαν, σε 191 (81,6%) δείγματα δεν ανιχνεύθηκε AFM1, ενώ σε 4 (1,7%) βρέθηκε ποσοστό AFM1 πάνω από το ανώτατο ευρωπαϊκό επιτρεπτό όριο των 50ng kg⁻¹. Δεν βρέθηκε κανένα συμβατικό δείγμα γάλακτος να υπερβαίνει το θεσπισμένο όριο για την AFM1 (0/117), ενώ 4/117 (3.4%) βιολογικά δείγματα γάλακτος υπερέβαιναν τα 50ng kg⁻¹ [χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (p-value=0,122)]. Βρέθηκε πιο πιθανό να υπάρχει AFM1 σε γάλα βιολογικής προέλευσης σε σύγκριση με το συμβατικό [χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (RR 1,2, 95%CI 0,71-2,02, p-value=0,492)]. Μεταξύ των πολλών παραγόντων επικινδυνότητας που διερευνήθηκαν διαπιστώθηκε ότι οι αποθηκευτικές πρακτικές για τις ζωοτροφές (OR 2,69, 95%CI 1,25-5,79), ο χειμώνας (OR 2,58, 95%CI 1,07-6,24) και η χρήση κτηνοτροφικού μπιζελιού για τη διατροφή των ζώων (OR 4,17, 95%CI 1,41-12,32) ήταν στατιστικά σημαντικοί παράγοντες που επηρέασαν την παρουσία AFM1 στα δείγματα γάλακτος που ελέγχθησαν.

Τα βιολογικά δείγματα γάλακτος δεν βρέθηκαν λιγότερο μολυσμένα με AFM1, ενώ βρέθηκε να είναι πιθανό να εμφανίζουν μεγαλύτερες ποσότητες AFM1 σε σύγκριση με τα συμβατικά. Κατά συνέπεια η πεποίθηση ότι η κατανάλωση βιολογικού γάλακτος και γαλακτοκομικών προασπίζει την υγεία του καταναλωτή δεν προκύπτει να ισχύει για την περίπτωση της AFM1. Οι εμπλεκόμενοι παράγοντες επικινδυνότητας που βρέθηκαν να σχετίζονται με την παρουσία της AFM1 στο γάλα, καταδεικνύουν ότι θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη στην ανάλυση επικινδυνότητας για την παρουσία της AFM1 και ότι απαιτείται διαρκής επιτήρηση από τους εμπλεκόμενους και ευαισθητοποίηση των παραγωγών, προκειμένου να διασφαλίζεται διαρκώς η Δημόσια Υγεία από την κατανάλωση μολυσμένου με AFM1 γάλακτος.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Αφλατοξίνη Μ1, αίγιο γάλα, πρόβιο γάλα, βιολογικό γάλα, παράγοντες επικινδυνότητας

ABSTRACT

Nowdays, consumers tend to prefer organic milk and dairy as they consider them healthier and safer for their health, in comparison to conventional. Thus, organic milk production and organic food production in general, refer to a different production scheme compared to the conventional, that may alter the range and size of the risk factors for consumer's health.

Aflatoxin M1 (AFM1) in milk and dairy has been recognized as a hazard to human health. AFM1 is the hydroxylated metabolite of Aflatoxin B1 (AFB1), which is produced from Aflatoxin producing moulds affecting animal feed plants, under specific conditions. AFM1 has been classified as a possible carcinogen for human, with liver being the target-organ leading to hepatocellular carcinoma. The aim of this study was to assess the levels of AFM1 contamination in goat's and ewe's milk in Greece, to identify any associated to the presence of AFM1 in milk risk factors and to compare safety levels in organic and conventional milk.

Thirty-nine organic and 39 conventional farms participated in this field study and 243 samples were totally collected, during a lactation period (December 2010–July 2011). A standardized questionnaire and a sampling protocol were completed for all farms and samples, including information for the farming system. Samples were screened for AFM1 with ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) and confirmed with HPLC-FLD (High Performance Liquid Chromatography-Fluorescence Detector). Results on AFM1 contamination were statistically analysed as to explore any associations with the questionnaire data for possible risk factors.

Out of 234 samples analysed, in 191 (81.6%) samples AFM1 was not detected, while 4 (1.7%) were found above the EU maximum tolerable limit of 50ng kg⁻¹. There was no conventional samples found over the maximum limit for AFM1 (0/117), while 4/117 (3.4%) organic samples exceeded 50ng kg⁻¹ [no statistically significant difference (p-value=0.122)]. It was found more possible for organic farms to present AFM1 contamination in

comparison to conventional [no statistically significant difference (RR 1.2, 95%CI 0.71-2.02, p-value=0.492)]. Among several potential risk factors investigated for AFM1 milk contamination, the use of warehouse for feed storage (OR 2.69, 95%CI 1.25-5.79), winter season (OR 2.58, 95%CI 1.07-6.24) and feeding field pea (OR 4.17, 95%CI 1.41-12.32) were identified as statistically significant.

Organic milk samples were not found less contaminated with AFM1, but even higher contamination is possible, in comparison to conventional milk. As a result, the perception that consuming organic milk and dairy is safeguarding human health does not apply in relation to AFM1 levels. The complex of the associated risk factors in AFM1 contamination found, indicates that these should be associated when assessing AFM1 contamination risk in milk and that constant monitoring and increased farmer's awareness is needed in order to safeguard Public Health from the consumption of AFM1 contaminated milk.

KEYWORDS: Aflatoxin M1; ewe's milk; goat milk; organic milk; Greece; risk factors

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	ix
ABSTRACT.....	xii
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	xiv
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	xviii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	xx
ΚΑΤΟΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ	xxi
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ	xxii
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	5
2.1. ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ.....	5
2.1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	5
2.1.2. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ	7
2.1.2.1. Προέλευση Αφλατοξινών	7
2.1.2.2. Δομή Αφλατοξινών	9
2.1.2.3. Φυσικοχημικές ιδιότητες αφλατοξινών	10
2.1.3. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ M1	11
2.1.4. ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ M1	15
2.1.4.1. Οξεία τοξικότητα	16
2.1.4.2. Χρόνια τοξικότητα και καρκινογένεση	17
2.1.4.3. Γονοτοξικότητα	17
2.1.4.4. Κυτταροτοξικότητα	17
2.1.4.3. Εντεροτοξικότητα	18
2.1.5. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ B1 ΚΑΙ M1 ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΩΝ ΖΩΩΝ	18
2.1.6. ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ M1 ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ	20
2.1.7. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ.....	21
2.1.8. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ M1	23
2.1.8.1. Δειγματοληψία.....	24
2.1.8.2. Αναλυτικές τεχνικές για προσδιορισμό Αφλατοξίνης M1	25
Βιοαισθητήρες.....	25
Ανοσολογικές	26
Τεχνική Ενζυμικού Ανοσοπροσορητικού προσδιορισμού (ELISA)	26
Χρωματογραφικές μέθοδοι.....	29
Στάδια προκατεργασίας δείγματος για εφαρμογή χρωματογραφικών μεθόδων	30
Διαχωρισμός και ποσοτικοποίηση Αφλατοξίνης M1 με χρωματογραφικές μεθόδους	31
2.1.8.3. Σύγκριση αναλυτικών τεχνικών προσδιορισμού Αφλατοξίνης M1	32

2.1.8.4. Επικύρωση αναλυτικών τεχνικών προσδιορισμού Αφλατοξίνης Μ1– Διασφάλιση ποιότητας.....	34
2.1.9. ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ	35
2.1.9.1. Παράγοντες επικινδυνότητας εμφάνισης Αφλατοξίνης Μ1 στο γάλα	40
2.1.9.2. Η επίδραση της Αφλατοξίνης Μ1 στο γάλα και τα παραγόμενα προϊόντα	43
Επίδραση AFM1 στη χημική σύσταση.....	43
Σταθερότητα AFM1 στο γάλα και τα προϊόντα του	43
2.1.9.3. Μέθοδοι αντιμετώπισης και πρόληψη.....	44
Αδρανοποίηση Αφλατοξίνης Μ1	44
Νομοθετικό πλαίσιο	45
Έλεγχοι	46
2.1.10. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗ Μ1	47
2.2. Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗ	50
2.2.1. ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ	50
2.2.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ	54
2.2.3. ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗ ΑΠΟ ΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΟΥ-ΣΥΓΧΡΟΝΑ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΣΚΑΝΔΑΛΑ	55
2.3. ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ	57
2.3.1. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	57
2.3.2. ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΚΙΝΗΣΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ..	61
2.3.3. ΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗ ΑΠΕΝΑΝΤΙ ΣΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ.....	63
2.3.4. ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ	65
2.3.5. ΤΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΓΑΛΑ.....	67
2.3.5.1. Χημική σύσταση βιολογικού γάλακτος	67
2.3.5.2. Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά βιολογικού γάλακτος.....	69
2.3.5.3. Χημικοί ρυπαντές βιολογικού γάλακτος	70
2.3.5.4. Βιολογικό γάλα και Αφλατοξίνη Μ1	71
2.4. ΣΚΟΠΟΣ.....	73
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	75
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ	76
3.1. ΠΕΡΙΟΧΗ ΜΕΛΕΤΗΣ	76
3.2. ΕΠΙΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	78
3.3. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟΥ–ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ	79
3.4. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ-ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	82

3.5. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	83
3.5.1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΜΕ ELISA.....	83
3.5.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΜΕ HPLC.....	84
3.5.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΜΕ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ FOURIER (FOURIER TRANSFORMED INFRA RED-FTIR)	86
3.6. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	87
3.6.1. ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΒΑΣΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	87
3.6.2. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....	87
3.7. ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑ ΕΡΕΥΝΑΣ	89
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	90
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	90
4.1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΚΤΡΟΦΩΝ ΚΑΙ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	90
4.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	94
4.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΜΕ ELISA.....	96
4.4.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΜΕ HPLC.....	101
4.5. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΤΟ ΑΙΓΕΙΟ ΚΑΙ ΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΑ	104
4.6. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΜΕ ΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ.....	108
4.7. ΣΥΝΟΨΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	110
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΖΗΤΗΣΗ	113
5.1. ΠΟΣΟΣΤΟ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΤΙΚΟΤΗΤΑ.....	114
5.2. ΑΞΙΟΠΙΣΤΙΑ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1	115
5.3. ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΕ ΑΙΓΕΙΟ ΚΑΙ ΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΑ.....	116
5.4. ΛΟΓΟΙ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΑΙΓΕΙΟΥ ΚΑΙ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	118
5.5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΠΟΣΟΣΤΩΝ ΑΦΜ1 ΜΕ ΤΑ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ .	119
5.6. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΙ ΣΥΜΒΑΤΙΚΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	121

5.7. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΦΜ1 ΣΤΟ ΣΥΜΒΑΤΙΚΟ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΓΑΛΑ.....	123
5.8. ΕΚΘΕΣΗ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗ ΣΤΗΝ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗ Μ1-ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ	128
5.9. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	131
5.10. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	132
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	133
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	137
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	159
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1: ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΕΚΤΡΟΦΗΣ	160
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2: ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ	172
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3: ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ	174
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 4: ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ELISA (TECNA L'SCREEN AFLA M1 IN MILK)....	175
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 5: ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΕ ΓΑΛΑ ΜΕ HPLC-FLD ΚΑΤΑ ISO 14501:2007	180
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 6: ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΑΥΤΟΜΑΤΟΥ ΑΝΑΛΥΤΗ ΧΗΜΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΜΕ MILKOSCAN FT1-FOSS	182
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 7: ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΣΤΟ ΕΡΠ INFO v.3.4.3 ΓΙΑ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΩΝ.....	183
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 8: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	184
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 9: ΠΡΟΤΥΠΕΣ ΚΑΜΠΥΛΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ELISA	187
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 10: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ELISA	188
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 11: ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ HPLC-FLD	189
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 12: ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ELISA ΚΑΙ HPLC-FLD.....	192
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 13: ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗΣ	193

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Χαρακτηριστικά συνθηκών ανάπτυξης Ασπεργίλλων και παραγωγής Αφλατοξινών (<i>Obrian et al., 2007</i>)	9
Πίνακας 2: Φυσικές και χημικές ιδιότητες Αφλατοξινών (<i>Μαρκάκη και συν., 2007</i>).....	11
Πίνακας 3: Δεδομένα παρουσίας Αφλατοξινών στον άνθρωπο	23
Πίνακας 4: Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων για τον προσδιορισμό Αφλατοξίνης M1	25
Πίνακας 5: Ορολογία ELISA (<i>Crowther, 2009; Li et al., 2009</i>).....	28
Πίνακας 6: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα αναλυτικών μεθόδων για τον προσδιορισμό των Αφλατοξινών (<i>Pittet, 2005; Zheng et al., 2006</i>)	33
Πίνακας 7: Κριτήρια επίδοσης αναλυτικών τεχνικών προσδιορισμού Αφλατοξινών (<i>Καν 401/2006</i>)	34
Πίνακας 8: Μελέτες επιτήρησης παρουσίας Αφλατοξίνης M1 σε γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα	37
Πίνακας 9: Καταχωρήσεις περιστατικών μόλυνσης με Αφλατοξίνη M1 στο σύστημα έγκαιρης ειδοποίησης (<i>RASFF, 2013</i>).....	39
Πίνακας 10: Ανώτατα επιτρεπτά όρια Αφλατοξίνη M1 (<i>Καν. 1881/2006</i> ;.....	46
Πίνακας 11: Περιεκτικότητα γάλακτος σε αμινοξέα (<i>Barlowska et al., 2011</i>)	50
Πίνακας 12: Περιεκτικότητα γάλακτος σε μέταλλα και ιχνοστοιχεία(<i>Barlowska et al., 2011</i>)	52
Πίνακας 13: Περιεκτικότητα γάλακτος σε βιταμίνες (<i>Park et al., 2007</i>).....	53
Πίνακας 14: Αποτελέσματα συγκριτικών μελετών της χημικής σύστασης βιολογικών και συμβατικών τροφίμων (<i>Williams, 2002</i>)	66
Πίνακας 15: Αριθμός μελετών συγκριτικής μελέτης βιολογικού και συμβατικού γάλακτος (<i>Matt et al., 2011</i>).....	68
Πίνακας 16: Αποτελέσματα συγκριτικών μελετών σε βιολογικό και συμβατικό γάλα για την παρουσία Αφλατοξίνης M1	72
Πίνακας 17: Δεδομένα κτηνοτροφικής παραγωγής στην περιοχή της Θεσσαλίας	77
Πίνακας 18: Πληθυσμοί αιγών και προβάτων μελέτης	91
Πίνακας 19: Περιγραφικά χαρακτηριστικά εκτροφών	92

Πίνακας 20: Περιγραφικά χαρακτηριστικά δειγμάτων γάλακτος, συμβατικής και βιολογικής προέλευσης	93
Πίνακας 21: Χημική σύσταση δειγμάτων γάλακτος ανά είδος ζώου.....	94
Πίνακας 22: Χημική σύσταση δειγμάτων βιολογικού και συμβατικού γάλακτος.....	94
Πίνακας 23: Παράγοντες που επηρεάζουν τη χημική σύσταση του γάλακτος	95
Πίνακας 24: Συχνότητα κατανομής των επιπέδων της Αφλατοξίνης M1 σε δείγματα γάλακτος.....	97
Πίνακας 25: Ομαδοποίηση παρουσίας Αφλατοξίνης M1 σε δείγματα γάλακτος βιολογικής και συμβατικής προέλευσης.....	98
Πίνακας 26: Μέση συγκέντρωση Αφλατοξίνης M1 σε δείγματα γάλακτος	99
Πίνακας 27: Ομαδοποίηση παρουσίας Αφλατοξίνης M1 σε βιολογικές και συμβατικές εκτροφές αιγών και προβάτων.....	100
Πίνακας 28: Συγκριτικά αποτελέσματα επιπέδων Αφλατοξίνης M1 με ELISA και HPLC-FLD.....	102
Πίνακας 29: Σύγκριση αποτελεσμάτων ELISA και HPLC-FLD κατά ζεύγη	103
Πίνακας 30: Σύγκριση συμφωνίας αποτελεσμάτων ELISA με HPLC-FLD, σε διάφορα επίπεδα Αφλατοξίνης M1	103
Πίνακας 31: Παράγοντες επικινδυνότητας για παρουσία Αφλατοξίνης M1 στο γάλα	105
Πίνακας 32: Πολυπαραγοντική ανάλυση-Παράγοντες επικινδυνότητας παρουσίας Αφλατοξίνης M1	107
Πίνακας 33: Επίδραση της Αφλατοξίνης M1 στη χημική σύσταση του γάλακτος	108
Πίνακας 34: Συσχέτιση χημικής σύστασης γάλακτος με την παρουσία Αφλατοξίνης M1, κατά Spearman.....	108
Πίνακας 35: Συσχέτιση της παρουσίας Αφλατοξίνης M1 με τα παραγόμενα προϊόντα γάλακτος.....	109

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Χημικοί τύποι AFB1, B2, G1, G2, M1, Aflatoxinol (<i>CAST, 2003</i>)	10
Εικόνα 2: Οι κυριότεροι μεταβολίτες της Αφλατοξίνης B1 (<i>IARC, 2002</i>)	14
Εικόνα 3: Επιδράσεις Αφλατοξινών στην υγεία (<i>Wu et al., 2011</i>)	21
Εικόνα 4: Αρχή λειτουργίας στήλης ανοσοσυγγένειας (<i>Zheng et al., 2006</i>)	31
Εικόνα 5: Η διαχρονική εξέλιξη της μεθοδολογίας προσδιορισμού μυκοτοξινών.....	32
Εικόνα 6: Χρήση διαθέσιμων αναλυτικών τεχνικών για το προσδιορισμό των Αφλατοξινών	32
Εικόνα 7: Διατροφικές συνήθειες Ελλήνων (<i>Υπουργείο Ανάπτυξης, 2007</i>)	54
Εικόνα 8: Ευρωπαϊκό Λογότυπο Βιολογικών Προϊόντων (<i>EC, 2013</i>).....	57
Εικόνα 9: Ποσοστά βιολογικών εκτροφών στην Ευρώπη (<i>EC, 2010</i>)	59
Εικόνα 10: Τοποθεσία εκτροφών μελέτης.....	90

ΚΑΤΟΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα 1: Κατανομή βιολογικών εκτάσεων στην Ευρώπη (<i>EC, 2010</i>)	58
Γράφημα 2: Αριθμός βιολογικών προβάτων στην Ευρώπη (<i>EC, 2010</i>)	59
Γράφημα 3: Αριθμός βιολογικών αιγών στην Ευρώπη (<i>EC, 2010</i>)	60
Γράφημα 4: Πρότυπη καμπύλη ELISA.....	96
Γράφημα 5: Συχνότητα κατανομής των επιπέδων της Αφλατοξίνης M1 σε δείγματα γάλακτος.....	97
Γράφημα 6: Συχνότητα κατανομής των επιπέδων της Αφλατοξίνης M1 σε δείγματα βιολογικού και συμβατικού γάλακτος.....	98
Γράφημα 7: Πρότυπη καμπύλη HPLC.....	101
Γράφημα 8: Χρωματογράφημα HPLC-FLD αρνητικού για Αφλατοξίνης M1 δείγματος γάλακτος.....	101
Γράφημα 9: Χρωματογράφημα HPLC-FLD θετικού για Αφλατοξίνης M1 δείγματος γάλακτος, με AFM1 να ανιχνεύεται σε χρόνο έκλουσης 9,93min.....	102

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

Ξενόγλωσσες

AF/s: Aflatoxin/s (Αφλατοξίνη/ες)

AFB1: Aflatoxin B1 (Αφλατοξίνη B1)

AFM1: Aflatoxin M1 (Αφλατοξίνη M1)

CLA: Conguated Linoleic Acid (συζευγμένο λινολεϊκό οξύ)

EC: European Commission (Ευρωπαϊκή Ένωση)

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Ενζυμοανασολογική Δοκιμή)

FAO: Food and Agriculture Organization (Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας)

FDA: Food and Drug Administration (Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων)

F: Fumosins (φουμονισίνες)

FTIR: Fourier Transformed Infra Red (ακτινοβολία υπερύθρου με μετασχηματισμό κατά Fourier)

HACCP: Hazard Analysis Critical Control Points (Ανάλυση Κινδύνου Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου)

HBV: Hepatitis B Virus (Ιός ηπατίτιδας B)

HBC: Hepatitis C Virus (Ιός ηπατίτιδας C)

HPLC-FLD: High Performance Liquid Chromatography-Fluorescence Detector (Υγρή χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης - Ανιχνευτής Φθορισμού)

IACs: Immunoaffinity Columns (στήλες ανοσοσυγγένειας)

IRCA: International Agency for Research on Cancer (Διεθνής Οργανισμός για την Έρευνα του Καρκίνου)

LC-MS: Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (υγρή χρωματογραφία με φασματομετρία μαζών)

LD50: Lethal Dose 50 (μέση θανατηφόρος δόση)

LOD: Limit of Detection (όριο ανίχνευσης)

LOQ: Limit of Quantification (όριο ποσοτικοποίησης)

ML: Maximum Level (ανώτατο όριο)

MS: Mass Spectrometry (φασματομετρία μαζών)

NP HPLC: Normal Phase HPLC (κανονικής φάσης HPLC)

OT: Ochratoxin (ωχρατοξίνη)

RASFF: Rapid Alert System for Food and Feed (Σύστημα Έγκαιρης ειδοποίησης για τρόφιμα και ζωοτροφές)

RP HPLC: Reverse Phase HPLC (ανάστροφής φάσης HPLC)

SPE: Solid Phase Extraction (εκχύλιση στερεής φάσης)

TDI: Tolerable Daily Intake (ανεκτό ημερήσιο όριο πρόσληψης)

TLC: Thin Layer Chromatography (χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας)

UV: Ultraviolet (υπεριώδες)

WHO: World Health Organization (Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας)

ZEN: Zearalenone (ζεαραλενόνη)

Ελληνικές

Γ.Τ.Ο.: Γενετικά Τροποποιημένος Οργανισμός

ΕΕ: Ευρωπαϊκή Ένωση

ΕΣΥΔ: Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης

ΕΦΕΤ: Ενιαίος Φορέας Ελέγχου Τροφίμων

Καν.: Κανονισμός Ευρωπαϊκής Ένωσης

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Αφλατοξίνη Μ1 (AFM1) έχει χαρακτηριστεί ως πιθανό καρκινογόνο για τον άνθρωπο (IARC, 1993) και αποτελεί τοξικό παράγοντα που μπορεί να μολύνει το γάλα και κατά συνέπεια τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Η AFM1 εμφανίζεται στο γάλα όταν τα γαλακτοπαραγωγά ζώα διατρέφονται με ζωοτροφές μολυσμένες με Αφλατοξίνη Β1 (AFB1), που αποτελεί προϊόν δευτερογενούς μεταβολισμού των μυκήτων *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* και λιγότερο συχνά άλλων ασπεργίλλων, υπό συγκεκριμένες συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας. Η AFB1 εμφανίζεται συχνότερα στο καλαμπόκι και στο σιτάρι κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (Bennett and Klich, 2003). Η τοξικοκινητική της AFB1 στα γαλακτοπαραγωγά ζώα οδηγεί στον υδροξυλιωμένο μεταβολίτη της, την AFM1, που απεκκρίνεται στο γάλα σε ποσοστό 0,20%-6,20% στις αγελάδες, 0,03-0,25% στα πρόβατα και 0,40% στις αίγες (Rao and Chopra, 2001; Battacone et al., 2003; Ozdemir, 2007; Romero et al., 2009). Η AFM1 προσδιορίζεται στο γάλα συνήθως με την εφαρμογή της ανοσοενζυμικής μεθόδου ELISA (Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay), που χρησιμοποιείται για διαλογή (screening), ενώ η HPLC-FLD (High Performance Liquid Chromatography-Fluorescence Detector) είναι η μέθοδος αναφοράς και χρησιμοποιείται ως επιβεβαιωτική (Shephard, 2009).

Η AFM1 έχει αναφερθεί να είναι γενετοξική, τερατογόνος και ανοσοκατασταλτική ουσία για τον άνθρωπο (Creppy, 2002) και επίσης έχει βρεθεί να είναι σταθερή κατά την επεξεργασία του γάλακτος (Oruc et al., 2006). Για τους λόγους αυτούς, έχει θεσπιστεί στην ευρωπαϊκή νομοθεσία ανώτατο επιτρεπτό όριο για την AFM1 στα 50ng kg⁻¹ στο γάλα και στα 0,25ng kg⁻¹ στο βρεφικό γάλα (Καν.1881/2006). Επιπλέον, έχει αναφερθεί εμπλουτισμός της AFM1 κατά την παραγωγή τυριών από μολυσμένο γάλα (Κανίου-Grigoriadou et al., 2005). Παρόλα αυτά, δεν υπάρχει ούτε διακριτό θεσπισμένο ανώτατο επιτρεπτό όριο, αλλά και ούτε εντατικός έλεγχος των προϊόντων αυτών, όπως υπάρχει για το γάλα (EFSA, 2010).

Το γάλα και τα γαλακτοκομικά αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της ισορροπημένης διατροφής, καταναλώνονται σε καθημερινή βάση (ΚΕΠΚΑ, 2011) και αποτελούν τη βασική διατροφή βρεφών. Το γάλα και τα γαλακτοκομικά όμως μπορούν να γίνουν επικίνδυνα όταν είναι μολυσμένα με AFM1 και κατά συνέπεια να έχουν σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία του καταναλωτή, επιβαρύνοντας τη Δημόσια Υγεία. Υπάρχουν πολλές μελέτες επιτήρησης για την παρουσία της AFM1 σε διάφορους τύπους γάλακτος (Roussi et al., 2002; Kaniou-Grigoriadou et al., 2005; Oliveira and Ferraz, 2007) ιδιαίτερα σε χώρες της Μεσογείου, της Αφρικής και της Μέσης Ανατολής, όπου οι κλιματικές συνθήκες ευνοούν την εμφάνιση AFM1 στο γάλα και ως εκ τούτου αποτελούν γεωγραφικές περιοχές υψηλού κινδύνου (Garcia et al., 2009; EFSA, 2012). Υπάρχει ερευνητικό ενδιαφέρον για την αξιολόγηση των επιπέδων AFM1 στο αίγαιο και πρόβειο γάλα, δεδομένου ότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα που παρασκευάζονται από αυτά τα είδη γάλακτος (όπως η φέτα και η γιαούρτη) καταναλώνονται πολύ στην Νότια Ευρώπη, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας, αλλά και εξαγονται στον υπόλοιπο κόσμο.

Η επιλογή τροφίμων από τους καταναλωτές έχει σταδιακά αλλάξει τα τελευταία χρόνια, κυρίως λόγω των πολλών και σοβαρών διατροφικών σκανδάλων που παρουσιάζονται στα συμβατικά τρόφιμα (Banati, 2011, Falguera et al., 2012). Η επιλογή των καταναλωτών για κατανάλωση βιολογικών τροφίμων έχει επιπλέον επηρεαστεί από κοινωνικούς, οικονομικούς και πολιτισμικούς παράγοντες (Bravo et al., 2013; Liu et al., 2013). Η κατανάλωση βιολογικών τροφίμων και βιολογικού γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων έχει αδιαμφισβήτητα αυξηθεί τα τελευταία χρόνια (Sahota, 2009; Liu et al., 2013). Για να χαρακτηριστεί ένα τρόφιμο βιολογικό θα πρέπει να πληροί συγκεκριμένες απαιτήσεις (Καν. 889/2008; Καν 834/2007) τόσο σε επίπεδο πρωτογενούς παραγωγής όσο και σε επίπεδο μεταποίησης και διακίνησης. Υπάρχουν πολλές αναφορές στη σύγχρονη βιβλιογραφία για τα οφέλη από την κατανάλωση βιολογικών τροφίμων με αντικρουόμενες πολλές φορές απόψεις αναφορικά με την επίδραση τους στην υγεία του ανθρώπου. Τα βιολογικά τρόφιμα και το βιολογικό γάλα ιδιαίτερα

έχουν αναγνωριστεί ως τρόφιμα υψηλής βιολογικής και διαθρεπτικής αξίας για τους καταναλωτές, ενώ υπάρχουν και αναφορές ότι δεν υπάρχουν ουσιαστικές διαφορές σε σύγκριση με τα συμβατικά (Yiridoe et al.; 2005; Dangour et al., 2009; Rosen, 2010; Forman and Silverstein, 2012). Παρόλα αυτά, οι απόψεις στη βιβλιογραφία δεν είναι πάντα πλήρως τεκμηριωμένες, οι μελέτες είναι λίγες και γεωγραφικά περιορισμένες (Magkos et al., 2003; FSA, 2009).

Λαμβάνοντας υπόψη τη σύγχρονη τάση για κατανάλωση βιολογικού γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων, αλλά και του γεγονότος ότι δεν υπάρχουν μελέτες γνωστές σε εμάς που να συγκρίνουν τα επίπεδα AFM1 σε βιολογικό και συμβατικό νωπό γάλα στην Ελλάδα, ενώ στην Ευρώπη είναι λίγες (FSA, 2001; Ghidini et al., 2005; Vallone et al., 2006) και με αντικρουόμενες απόψεις, κρίθηκε σκόπιμο και χρήσιμο για λόγους Δημόσιας Υγείας και προστασίας του καταναλωτή να διερευνηθεί η τρέχουσα κατάσταση στην Ελλάδα. Κύριος σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να αποτυπωθούν τα επίπεδα AFM1 σε αίγαιο και πρόβειο νωπό γάλα, προερχόμενο από βιολογικές και συμβατικές εκτροφές ζώων και να εκτιμηθούν οι εμπλεκόμενοι παράγοντες επικινδυνότητας, με απώτερο σκοπό τη διασφάλιση της Δημόσιας Υγείας.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1. ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ

2.1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Οι AFs αναγνωρίστηκαν στα τέλη της δεκαετίας του '50 σαν αιτιολογικοί παράγοντες της ασθένειας «Turkey X», μια επιδημία που εμφανίστηκε στην Αγγλία, με πολυάριθμους θανάτους πτηνών που διατράφηκαν με σιτηρέσιο που περιείχε αραχιδόπιτα, προερχόμενη από τη Νότια Αμερική (Blount, 1961). Το περιστατικό συσχετίστηκε με την παρουσία του μύκητα *Aspergillus flavus*, του οποίου η παραγόμενη τοξίνη ονομάστηκε α-φλα-τοξίνη από τα αρχικά του μύκητα. Έρευνες που ακολούθησαν απέδειξαν ότι η AF μπορεί να προκαλέσει οξεία ηπατοπάθεια σε χηνάρια και καρκίνο του ήπατος σε ποντίκια (Lancaster et al., 1961; Sargeant et al., 1961). Το 1971 εντοπίστηκαν αξιοσημείωτα επίπεδα AF στο ήπαρ 23 παιδιών στην Ταϋλάνδη που πέθαναν από το σύνδρομο του Reye, γεγονός που έκανε τους επιστήμονες να πιστεύουν ότι οι AFs μπορεί να συμβάλλουν στην πρόκληση του συνδρόμου του Reye. Συγκεντρώσεις AF βρέθηκαν, μετά από νεκροτομή, και σε παιδιά στην Τσεχοσλοβακία και τη Νέα Ζηλανδία που πέθαναν από το ίδιο σύνδρομο (Shank et al., 1971).

Στην Ινδία το 1974 καταγράφηκε σε ανθρώπους μυκοτοξίκωση με σοβαρή ηπατίτιδα, θανατηφόρα για τους 108 από τους 397 νοσήσαντες. Το περιστατικό συνδέθηκε με την κατανάλωση μολυσμένου καλαμποκιού με AFs (Semple et al., 1989). Το 1988, 13 άτομα πέθαναν στη Μαλαισία από οξεία εγκεφαλοπάθεια από βρώση ζυμαρικού, παρασκευασμένο από ρύζι και άλλα δημητριακά, τα οποία περιείχαν AF (Agag, 2004). Μόλις το 2004, στην Κένυα, 317 άτομα εμφάνισαν οξεία ηπατική ανεπάρκεια. Τα περιστατικά συνδέθηκαν με κατανάλωση καλαμποκιού μολυσμένου με AF (Azziz-Baumgartner et al., 2005).

Από το 1960 που ανακαλύφθηκαν οι AFs μέχρι και σήμερα, παραπάνω από μισό αιώνα μετά, οι σχετικές δημοσιευμένες έρευνες ξεπερνούν τις 5.000 και προέρχονται από όλους τους τομείς των επιστημών όπως της βιολογίας, της

κτηνιατρικής, της ιατρικής, της χημείας. Η έρευνα εστιάζει στην αναγνώριση περιστατικών, στη διαχείριση του προβλήματος, στην ανάλυση επικινδυνότητας, στη μεθοδολογία προσδιορισμού αλλά και στα μέτρα πρόληψης εμφάνισης AF στη τροφική αλυσίδα. Από το 1960 μέχρι σήμερα, εκτός των AF, ανακαλύφθηκαν και αρκετές άλλες μυκοτοξίνες, που δημιουργούν σοβαρά προβλήματα υγείας, τόσο στον άνθρωπο, όσο και στα ζώα (O'Brien et al., 2004).

Παρακάτω αναφέρονται με χρονολογική σειρά τα σημαντικότερα σημεία στην διερεύνηση των χαρακτηριστικών, της τοξικολογικής δράσης και του νομοθετικού ελέγχου των AFs τις τελευταίες δεκαετίες (Kensler et al., 2011; Moss, 2002; Hussein and Brasel, 2001):

1960: Διαπιστώνεται η ασθένεια Turkey X σε πτηνά στην Αγγλία και αυτή αποδίδεται σε μυκοτοξίνη, που ονομάστηκε AF

1961: Διαπιστώνεται ότι η AF προκαλεί καρκίνο του ήπατος σε ποντίκια

1963: Χημικός χαρακτηρισμός της AF από την ομάδα του Καθηγητή Buchi του MIT

1964: Διατυπώνεται υποψία συσχέτισης του ανθρώπινου καρκίνου του ήπατος με την AF

1966: Θεσπίζεται το όριο των 30mg kg^{-1} για όλα τα εμπλεκόμενα τρόφιμα από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization-WHO) και τον Οργανισμό Γεωργίας και Τροφίμων (Food and Agriculture Organization-FAO)

1967: Διατυπώνονται οι μηχανισμοί μεταβολισμού και τοξικότητας της AF

1968: Ποσοτικοποιείται το επίπεδο AF που προκαλεί καρκίνο του ήπατος και ξεκινούν οι επιδημιολογικές μελέτες παρατήρησης για την αξιολόγηση της συσχέτισης κατανάλωσης AF με το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα

1969: Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration-FDA) των Η.Π.Α. θέτει όρια συναγερμού για την AF

1972: Ολοκληρώνεται η πρώτη αξιολόγηση της AF από τον Διεθνή Οργανισμό για την Ερεύνα του καρκίνου (International Agency for Research on Cancer-IRCA)

1978: Αποδεικνύεται in vitro η τοξικότητα της AF

1981: Αποδεικνύεται in vivo η τοξικότητα της AF

1984: Αναπτύσσονται μονοκλωνικά αντισώματα για την AFB1

1988: Ξεκινά μελέτη πρόσληψης AF μέσω της τροφής με χρήση βιοδεικτών στην Κίνα και στην Αφρική

1991: Διαπιστώνονται μεταλλάξεις του γονιδίου p53, στο κωδικόνιο 249 σε καρκίνο του ήπατος

1993: Οι AFs κατατάσσονται σαν καρκινογόνο Ομάδας I, από τον IARC

1995: Εντατικοποιούνται οι κλινικές δοκιμές

2001: Διαπιστώνονται p53 μεταλλάξεις στο πλάσμα

Την τελευταία δεκαετία οι έρευνες εστιάζουν στην πρόληψη με έμφαση στην ανάλυση επικινδυνότητας, στην παρακολούθηση με την ανάπτυξη αναλυτικών τεχνικών υψηλής ευαισθησίας για την ανίχνευση των AF, στην ανάπτυξη ανθεκτικών ποικιλιών φυτών προς τους μυκοτοξινογόνους μύκητες και στην δοκιμή ουσιών που αδρανοποιούν τη δράση των AF (Kensler et al., 2011).

2.1.2. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ

2.1.2.1. Προέλευση Αφλατοξινών

Οι AFs παράγονται από τα είδη του γένους *Aspergillus*: *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. Nomius*, *A. ochraceoroseus* και *A. tamarii*. Από αυτά τα είδη, μόνο οι μύκητες *A. flavus* και *A. parasiticus* εμφανίζουν ενδιαφέρον για τα τρόφιμα και τη Δημόσια Υγεία (Moss, 2002). Ο *Aspergillus flavus* παράγει τις AFs B1 και B2 αλλά και το κυκλοπιαζονικό οξύ, αιτιολογικός παράγοντας για το πρώτο καταγεγραμμένο κρούσμα αφλατοξίκωσης σε γαλοπούλες, που

ονομάστηκε ασθένεια Turkey X. Αντίθετα ο *Aspergillus parasiticus* παράγει όλες τις κύριες AFs, B1, B2, G1 και G2 (D'Mello and McDonald, 1997). Έρευνες έδειξαν ότι συγκεκριμένα στελέχη του *Aspergillus flavus*, που απομονώθηκαν στην Αφρική και την Αμερική, μπορούν να παράγουν επίσης τις G1 και G2 (Cotty and Cardwell, 1999). Ο *Aspergillus nomius* μοιάζει μορφολογικά με τον *Aspergillus flavus* αλλά παράγει AFs B και G, όπως και ο *Aspergillus parasiticus*. Σε όλα τα είδη μυκήτων, υπάρχουν και στελέχη που δεν είναι μυκοτοξινογόνα (Jay, 2000).

Η αύξηση του πληθυσμού των μυκήτων και η παραγωγή μυκοτοξινών δεν είναι απαραίτητο να πραγματοποιούνται ταυτόχρονα (Bertin et al., 2009). Οι μύκητες αυτοί δημιουργούν αποικίες σε καρπούς που αναπτύσσονται σε κλίματα τροπικά ή υποτροπικά, αλλά και σε καρπούς μετά το στάδιο της συγκομιδής τους. Η θερμοκρασία ανάπτυξης των ανωτέρω μυκήτων είναι από 12 έως 48°C, ενώ οι ιδανικές συνθήκες ανάπτυξης κυμαίνονται από 36 έως 38°C. Η παραγωγή των AF παρατηρείται όταν οι θερμοκρασίες κυμαίνονται μεταξύ 20 και 30°C (OBrian et al., 2007). Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται αναλυτικά οι συνθήκες ανάπτυξης των μυκήτων αυτών καθώς και οι συνθήκες παραγωγής AF από αυτούς.

Οι παράγοντες που επιδρούν στην παραγωγή των AF από τους μύκητες *Aspergillus flavus* και *Aspergillus parasiticus*, εκτός από τη θερμοκρασία και την ενεργότητα νερού, αφορούν τη σχετική υγρασία, την απουσία φωτός, την παρουσία ή μη μυκητοστατικών ουσιών, όπως το NaCl, το σορβικό οξύ και τα άλατά του και τέλος αφορούν τον πιθανό μικροβιακό ανταγωνισμό στην παραγωγή των AF από την παρουσία οξυγαλακτικών βακτηρίων ή άλλων μυκήτων (Ruíquián et al., 2005).

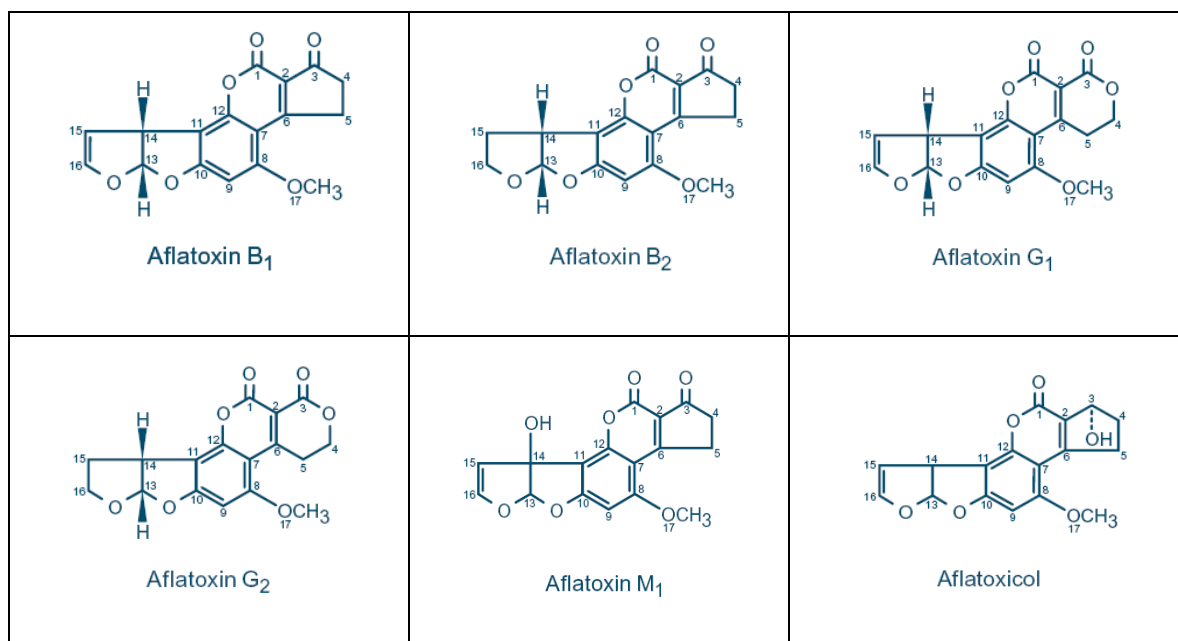
Ο *A. parasiticus* επιβιώνει στο έδαφος και κυρίως προσβάλλει τις αραχίδες, ενώ ο *A. flavus* επιβιώνει στον αέρα και στο περιβάλλον του φυλλώματος των φυτών και κυριαρχεί σε είδη όπως ο αραβόσιτος, τα ξηρά φρούτα, το βαμβάκι, το σιτάρι, το ρύζι, η βρώμη και το κριθάρι (Prandini et al., 2009; EFSA, 2012).

Πίνακας 1: Χαρακτηριστικά συνθηκών ανάπτυξης Ασπεργίλλων και παραγωγής Αφλατοξινών (Obrian et al., 2007)

		Εύρος °C	Βέλτιστοι °C	a _w	pH
<i>Aspergillus</i>					
<i>flavus</i>	Ανάπτυξη μύκητα	10-43	33	0,80-0,99	5-8
	Παραγωγή αφλατοξίνης	13-37	16-31	0,82-0,99	
<i>Aspergillus</i>					
<i>parasiticus</i>	Ανάπτυξη μύκητα	12-42	32	0,80-0,99	5-8
	Παραγωγή αφλατοξίνης	12-40	25	0,86-0,99	

2.1.2.2. Δομή Αφλατοξινών

Οι AFs είναι μια από τις ομάδες των μυκοτοξινών, που αποτελείται από 20 μέλη. Οι πιο τοξικές και κατά συνέπεια πιο μελετημένες είναι οι B1, B2, G1, G2, M1, M2 (Μαρκάκη και συν., 2007; Prandini et al., 2009). Οι AFs B1, B2, G1 και G2 παράγονται από τους *Aspergillus flavus* και *Aspergillus parasiticus* και τα αρχικά τους προέρχονται από το χρώμα φθορισμού που δίνουν κατά την ανίχνευση (G για το πράσινο-green και B για το μπλε-blue), ενώ οι δείκτες 1 και 2 αναφέρονται στις θέσεις τους κατά το διαχωρισμό τους στις πλάκες της χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) (IARC, 2002). Χημικά οι AFs είναι φθορίζουσες ετεροκυκλικές ενώσεις που αποτελούνται από τμήματα διϋδροδιφουρανίου και τετραϋδροδιφουρανίου συγχωνευμένα στο μόριο της κουμαρίνης. Οι AFs ταξινομούνται σε δύο μεγάλες ομάδες, ανάλογα με τη χημική τους δομή. Στη σειρά δι-φουρο-κουμαρο-κυκλοπεντενόνης οι AFB1, AFB2, AFM1, AFM2 και αφλατοξικόλη και στη σειρά δι-φουρο-κουμαρο-λακτόνης οι AFG1, AFG2 (CAST, 2003). Η χημική τους δομή παρουσιάζεται στην Εικόνα 1.



Εικόνα 1: Χημικοί τύποι AFB₁, B₂, G₁, G₂, M₁, Aflatoxicol (CAST, 2003)

Οι AFs M₁ και M₂ είναι οι υδροξυλιωμένες μορφές των B₁ και B₂ αντίστοιχα, ενώ δεν παράγονται από τους ασπέργιλλους αλλά είναι προϊόντα μεταβολισμού της B₁ και της B₂ μετά την πρόσληψη αυτών από ανθρώπους και ζώα (Henry et al, 2001). Μεταβολίτες της B₁ είναι ακόμη οι AFs P₁ και Q₁, που ανιχνεύτηκαν στο ήπαρ και τα ούρα πολλών θηλαστικών και του ανθρώπου, παραγόμενες όμως σε ελάχιστες ποσότητες, ανάλογα με τη γενετική προδιάθεση του είδους (IARC, 2002).

2.1.2.3. Φυσικοχημικές ιδιότητες αφλατοξινών

Οι AFs είναι κρυσταλλικές ουσίες, άχρωμες έως κίτρινες και άοσμες, διαλυτές σε ελαφρά έως μέτρια πολικούς διαλύτες, όπως η μεθανόλη, το διμεθυλοσουλφοξείδιο, το χλωροφόρμιο, η ακετόνη και το ακετονιτρίλιο, ενώ είναι αδιάλυτες σε μη πολικούς διαλύτες. Στο νερό διαλύονται από 10-30mg l⁻¹. Είναι σχετικά υδρόφιλα αρωματικά μόρια, με πολύ ισχυρή τάση να προσροφώνται σε υδρόφοβες επιφάνειες. Σε κρυσταλλική κατάσταση είναι εξαιρετικά σταθερές σε περίπτωση απουσίας φωτός και ιδιαίτερα απουσίας της UV ακτινοβολίας ακόμη και σε θερμοκρασίες άνω των 100°C. Είναι ασταθείς σε υπεριώδη ακτινοβολία με παρουσία οξυγόνου και σε περιοχές pH<3 και

>10. Διαλύματά τους σε χλωροφόρμιο ή βενζόλιο είναι σταθερά για χρόνια εφόσον διατηρούνται απουσία φωτός (Deshrande, 2002; IARC, 2002). Αναλυτικά τα φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2: Φυσικές και χημικές ιδιότητες Αφλατοξινών (Μαρκάκη και συν., 2007)

Αφλατοξίνη	Μοριακός Τύπος	Μοριακό Βάρος	Σημείο Τήξης °C	Ανιχνεύση UV nm	Χρώμα φθορισμού
B ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312,28	268-269	360	κυανό
B ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314,29	286-289	360	κυανό
G ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328,28	244-246	360	κυανοπράσινο
G ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330,29	237-240	360	κυανοπράσινο
M ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328,28	299	357	κυανό-βιολετί
M ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330,29	293	357	βιολετί

Γενικά, οι AFs είναι πολύ σταθερές στη θερμότητα μέχρι το σημείο τήξης, υδρολύονται στο λακτονικό δακτύλιο παρουσία αλκαλικών διαλυμάτων και χάνουν το χαρακτηριστικό του φθορισμού όταν αντιδράσουν με οξειδωτικούς παράγοντες, όπως το υποχλωριώδες νάτριο και το χλώριο (Reddy and Waliyar, 2011). Λόγω των παραπάνω φυσικοχημικών ιδιοτήτων οι AFs δεν γίνονται αντιληπτές με την όσφρηση ή τη γεύση, ενώ οι συνήθεις τεχνικές επεξεργασίας των τροφίμων, όπως θερμική επεξεργασία, ζύμωση, ψύξη και κατάψυξη δεν τις καταστρέφουν (Neagu et al, 2009; Oruc et al, 2006).

2.1.3. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1

Η AFM1 αποτελεί την υδροξυλιωμένη μορφή της AFB1 και εμφανίζεται στο γάλα και τα προϊόντα γάλακτος που προέρχονται από γαλακτοπαραγωγά ζώα (αγελάδα, προβατίνα, αίγα κλπ), που έχουν καταναλώσει ζωοτροφές μολυσμένες με AFB1 αλλά και σε θηλάζουσες γυναίκες που έχουν καταναλώσει τρόφιμα επιβαρυσμένα με AFB1 (Galvano et al., 1996; Moss, 2002; Battacone et al., 2003). Συγγενής AF που μπορεί να εμφανιστεί στο γάλα είναι και η AFM2, η οποία είναι υδροξυπαράγωγο της AFB2. Η AFM1 είναι πιο τοξική, με ισχυρότερη και συχνότερη ποσοτική παρουσία στο γάλα και τα γαλακτοκομικά (Kaniou-Grigoriadou et al., 2005). Όπως προαναφέρθηκε,

σημαντικές ποσότητες AFB1 βρίσκονται στις ζωτροφές που δεν έχουν συντηρηθεί σωστά μετά τη συγκομιδή τους και είναι επιμολυσμένες με τους μύκητες *A. flavus* και *A. parasiticus*. Ο *A. flavus* παράγει κυρίως την AFB1, ενώ λιγότερο συχνά την AFB2. Αντίθετα, *A. parasiticus* παράγει και τις δύο (Agag, 2004).

Οι πλέον επικίνδυνες ζωτροφές σε σχέση με την παρουσία AFB1, είναι οι αραχίδες και τα συναφή προϊόντα, ζωτροφές με βάση το ηλιέλαιο, η γλουτένη καλαμποκιού, οι φοινικοκυρήνες, το αραβοσιτέλαιο, το βαμβακέλαιο, το πίτυρο ρυζιού και η σόγια. Οι παραπάνω αναφορές ζωτροφών αφορούν κυρίως εισαγόμενα προϊόντα, αφού στην Ευρώπη δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα επιτήρησης των επιπέδων AFB1 στις ζωτροφές, με δεδομένο ότι οι τοξίνες αυτές παράγονται κυρίως σε τροπικά και υποτροπικά κλίματα (EFSA, 2004). Παρόλα αυτά, σε έρευνες στην Ιταλία διαπιστώθηκε παρουσία AFB1 σε ενσιρωμένο καλαμπόκι (Pietri et al., 2004), ενώ σε δεκαετή έρευνα στις ζωτροφές αγελάδων, βρέθηκε AFB1 σε ποσοστό 6,2% (Martins et al., 2007).

Μετά την κατανάλωση μολυσμένης με AFB1 ζωτροφής ακολουθεί η βιομετατροπή της σε AFM1, η οποία πραγματοποιείται στο ήπαρ των ζώων και από εκεί, διαμέσου της αιματικής κυκλοφορίας, φτάνει στο μαστό και εκκρίνεται στο γάλα. Η AFB1 απορροφάται από τον πεπτικό σωλήνα των ζώων με παθητική διάχυση, σημαντικό μέρος της αποδομείται από τη μικροχλωρίδα του πεπτικού συστήματος, στη μεγάλη κοιλία και σχηματίζεται η αφλατοξικόλη (18 φορές λιγότερο τοξική), μέρος της οποίας απορροφάται και απεκκρίνεται στο γάλα (Uradhaya et al., 2010). Η υπόλοιπη ποσότητα της AFB1 εισέρχεται στην ηπατική κυκλοφορία του αίματος (Polan et al., 1974), ενώ ένα μικρό ποσοστό εισέρχεται στο λεμφικό σύστημα (Kumagai, 1989). Στο ήπαρ η AFB1 υδροξυλιώνεται κατά κύριο λόγο σε AFM1 με τη δράση των ενζύμων του μικροσωματικού κυτοχρώματος ή κυτοσώματος P 450 (IARC, 2002; Galtier et al., 2008) και στη συνέχεια εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος και εκκρίνεται στο γάλα και τα ούρα ή ενώνεται με γλυκουρονικό οξύ και απεκκρίνεται μέσω της χολής, ενώ το ποσοστό που εμφανίζεται στα κόπρανα

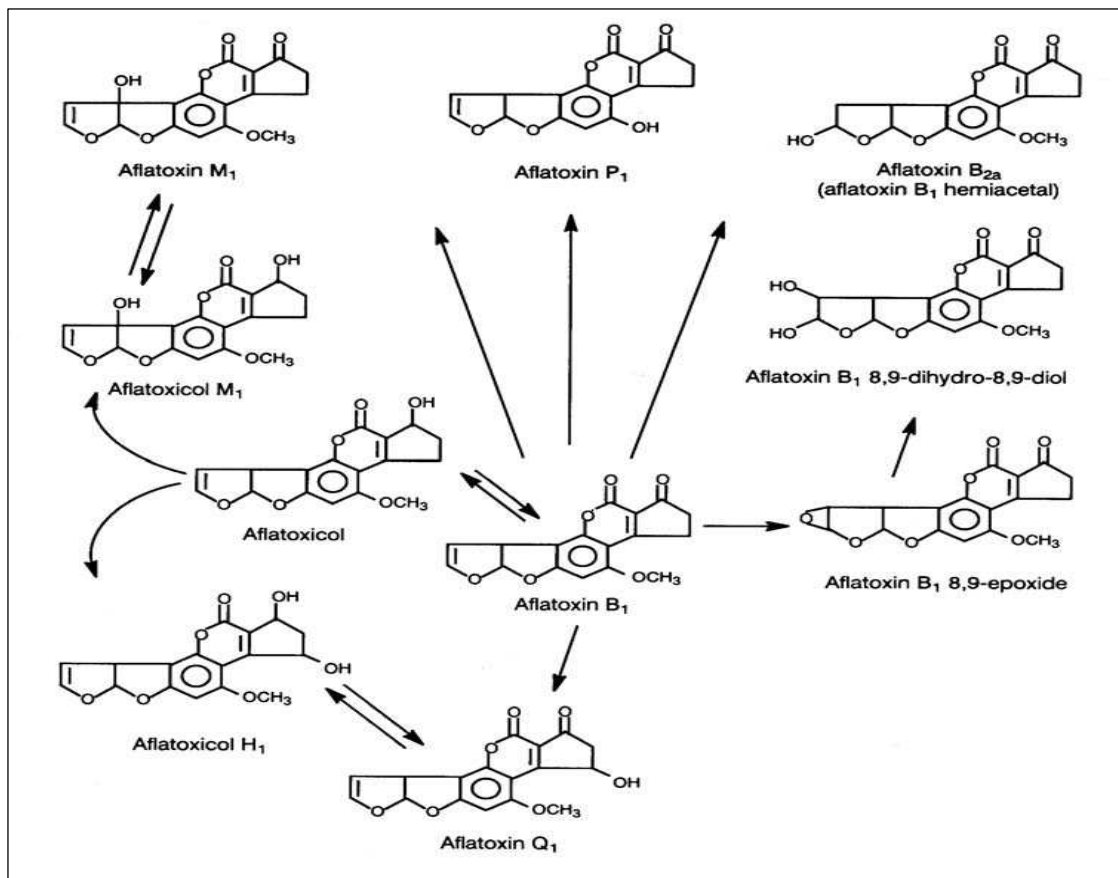
είναι σχετικά μικρό, λόγω του ενεργού μεταβολισμού της στο ήπαρ (EFSA, 2004; Galtier et al., 2008; Montagna et al., 2008).

Στην Εικόνα 2 παρουσιάζονται οι κυριότεροι μεταβολίτες της AFB1. Αν και το κυρίως όργανο για την μετατροπή της AFB1 σε AFM1 είναι το ήπαρ, αυτή μπορεί να γίνει εν μέρει και στους νεφρούς και τον πεπτικό σωλήνα. Με εξαίρεση το AFB1-8,9-εποξειδίο, τα προϊόντα της βιομετατροπής της AFB1 είναι λιγότερο τοξικά από την ίδια. Τα ένζυμα του κυτοχρώματος P450 (AFB1 υδροξυλάση) διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη βιομετατροπή της AFB1 σε AFB1-8,9-εποξειδίο. Άλλα προϊόντα της βιομετατροπής της AFB1 είναι η AFQ1 η οποία μεταβολίζεται στη συνέχεια σε AFH1 (Heinonen et al., 1996).

Η απορρόφηση της AFB1 από τον οργανισμό του ζώου είναι πλήρης και εξαιρετικά γρήγορη. Μετά τη λήψη μολυσμένης με AFB1 ζωοτροφής, η AFM1 ανιχνεύεται στο γάλα αγελάδας 12-24h μετά, ενώ στο γάλα προβατίνας 6-12h μετά. Τα υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης εμφανίζονται στις τρεις ημέρες. Με τη διακοπή λήψης μολυσμένης ζωοτροφής, τα επίπεδα της AFM1 στο γάλα μειώνονται αλλά εξακολουθεί να υπάρχει στο γάλα έως και 6 ημέρες μετά στις αγελάδες και 4 ημέρες στις προβατίνας (Applebaum et al., 1982; Battacone et al., 2003).

Το ποσοστό AFB1 που τελικά απεκκρίνεται ως AFM1 στο γάλα κυμαίνεται από 0,2%-6,2% στις αγελάδες (Pettersson, 2004; Ozdemir, 2007; Romero et al., 2010). Στα πρόβατα, φαίνεται ότι το ποσοστό της B1 που απεκκρίνεται στο γάλα ως M1, είναι μικρότερο σε σύγκριση με τα βοοειδή και τις αίγες (0,032-0,25% AFM1) (Battacone et al., 2003). Για τις αίγες το αντίστοιχο ποσοστό κυμαίνεται σε 0,40% (Rao and Chopra, 2001). Η μετατροπή της AFB1 σε AFM1 έχει διαπιστωθεί να είναι γραμμική (Dragacci et al., 1995). Η γραμμική σχέση των δεδομένων πρόσληψης AFB1 και της παραγωγής AFM1, για πρόσληψη της τάξης των 5-80μg για τις αγελάδες, οδήγησε στην εξαγωγή εξίσωσης υπολογισμού της αναμενόμενης ποσότητας AFM1 στο γάλα: $AFM1 \text{ (ng/kg γάλακτος)} = 1,2 \times \text{πρόσληψη AFB1 (μg/αγελάδα την ημέρα)} + 1,9$ (Henry et al., 2001; FAO, 2002; Prandini et al., 2009). Ανάλογα για το πρόβειο γάλα, η εξίσωση υπολογισμού της αναμενόμενης ποσότητας AFM1

είναι: $AFM1 (\mu\text{g Kg}^{-1}) = -0,0043 + 0,00136 AFB1 (\mu\text{g/ημέρα})$ (Battacone et al., 2003). Το ποσοστό AFB1 που θα μετατραπεί σε AFM1 στον οργανισμό των ζώων και που τελικά θα απεκκριθεί με το γάλα, επηρεάζεται, εκτός από το είδος του ζώου, όπως προαναφέρθηκε, και από μια σειρά άλλων παραγόντων, όπως η φυλή του ζώου, οι αμέλξεις, η φάση της γαλακτοπαραγωγής, η ημερήσια παραγωγή γάλακτος, οι λοιμώξεις του μαστού, το είδος διατροφής, ο ρυθμός κατανάλωσης τροφής, ο ρυθμός πέψης (Prandini et al., 2009a; Veldman et al., 1992; Martins and Martins, 2000; Masoero et al., 2007).



Εικόνα 2: Οι κυριότεροι μεταβολίτες της Αφλατοξίνης B1 (IARC, 2002)

Υπάρχουν δεδομένα ότι εκτός από την AFM1 και η αφλατοξικόλη εκκρίνεται με το γάλα, για την οποία έχει διαπιστωθεί η πρόκληση καρκίνου σε πειραματικά μοντέλα με ζώα (Fink-Gremmels, 2008). Σε προσδιορισμό αφλατοξικόλης στο

γάλα στο Μεξικό διαπιστώθηκε σε ποσοστό 13%, ενώ επέδειξε σταθερότητα στις διάφορες επεξεργασίες του γάλακτος (Carvajal et al., 2003).

2.1.4. ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1

Παρά τα δεδομένα για την επικινδυνότητα έκθεσης του ανθρώπου στην AFM1, οι πληροφορίες στη βιβλιογραφία σχετικά με το μεταβολισμό, την τοξικότητα και την απορρόφηση αυτού του μορίου στους ανθρώπους είναι εξαιρετικά περιορισμένες. Γενικά, η AFM1 και AFB1 έχουν σχεδόν τις ίδιες επιδράσεις οξείας τοξικότητας στον άνθρωπο και προκαλούν καρκίνο (Pong and Wogan, 1971; Shibahara et al., 1995). Σε κάθε περίπτωση η AFM1 φαίνεται να είναι ασθενέστερη στη καρκινογενετική της δράση στο ήπαρ σε σύγκριση με την AFB1 (Bailey et al., 1994), ενώ περιορισμένα είναι τα δεδομένα και για την εμβρυοτοξικότητα της AFM1 (Vismara et al., 2006).

Η AFM1 εμφανίζει τόσο οξεία τοξικότητα όσο και χρόνια με παράλληλη πρόκληση καρκίνου. Έχει καταταχθεί στην ομάδα 2B-πιθανά καρκινογόνα για τον άνθρωπο από τον WHO (IARC, 1993). Όργανο στόχος είναι το ήπαρ, όπου εμφανίζεται ηπατοκυτταρική βλάβη ειδικά λόγω του μεταβολίτη AFB1-8,9-εποξειδίου, που αποτελεί τον κύριο παράγοντα της κυτταρικής βλάβης, είναι μεταλλαξιογόνος, προκαλεί καρκινογένεση, και ανιχνεύεται στα ούρα. Στα ούρα επίσης ανιχνεύεται και η AFM1, σαν σύμπλοκο-DNA στη θέση N7 της βάσης της γουανίνης και συμμετέχει επίσης στη μεταλλαξιογόνο δράση (Groopman et al., 1985; Eaton and Gallagher, 1994; Bailey et al., 1996; Henry et al., 2001; IARC, 2002; Williams et al., 2004). Ο βαθμός σχηματισμού του AFB1-8,9-εποξειδίου και η δυνατότητα σύνδεσης με ένζυμα (π.χ. γλουταθειόνη S-τρανσφεράση (GST), μεθύλ-τρανσφεράση), αντί της σύνδεσης με το DNA, οδηγούν στην παραγωγή μη-τοξικού συμπλόκου, στοιχείο που σχετίζεται με το είδος, την κατάσταση υγείας και την παρεχόμενη διατροφή του ζώου (Henry et al., 2001; Galtier et al., 2008; Groopman et al., 2009; Bertin et al., 2009).

2.1.4.1. Οξεία τοξικότητα

Η οξεία τοξικότητα της AFM1 διερευνήθηκε τη δεκαετία του 1960 και συγκεκριμένα προσδιορίστηκε η ημίσεια θανατηφόρος δόση (Lethal Dose 50 - LD50) σε νεοεκκολαφθέντα παπιά στα 12-16μg ανά πτηνό. Η ιστοπαθολογική εξέταση κατέδειξε ηπατικές αλλοιώσεις παρόμοιες με αυτές που προκαλούνται από την AFB1 και νέκρωση των νεφρικών σωληναρίων. Γάλα φυσικά μολυσμένο με AFM1 προκαλεί λιγότερες βλάβες σε σχέση με τεχνητά μολυσμένο γάλα, γεγονός που υποδηλώνει διαφορές στη βιοδιαθεσιμότητα της φυσικής και τεχνητής AFM1. Οι μελέτες οξείας τοξικότητας σε παπιά 1 ημέρας δείχνουν ότι η AFM1 έχει παρόμοιο μηχανισμό με την AFB1: αλλαγές στα ηπατικά παρεγχυματικά κύτταρα, αποσύνδεση των ριβοσωμάτων από το τραχύ ενδοπλασματικό δίκτυο και πολλαπλασιασμό του λείου ενδοπλασματικού δικτύου (Henry et al., 2001). Θάνατος μπορεί να εμφανιστεί σε 72 ώρες και προκαλείται λόγω ηπατικών βλαβών, αιμορραγιών στον εντερικό σωλήνα και την περιτοναϊκή κοιλότητα (Omaye, 2004).

Συνοψίζοντας, οι κύριες οξείες επιδράσεις της AFM1 αφορούν κυρίως ηπατικές βλάβες και συγκεκριμένα:

- παρεγχυματική νέκρωση
- οίδημα
- υπερπλασία των χολικών πόρων
- υπερανάπτυξη κυττάρων στην περιοχή του χοληφόρου πόρου
- εναπόθεση λίπους
- αλλαγή στην όψη του ήπατος από κόκκινο σε κίτρινο-κόκκινο
- ηπατική κεντρολοβική νέκρωση
- ηπατική περιφερειακή κυψελοειδωση
- εκβλαστήσεις στο χοληδόχο πόρο

Επιπλέον στις οξείες επιδράσεις της AFM1 συγκαταλέγονται η νεφροτοξικότητα, η συσσώρευση λιπαρών οξέων στο ήπαρ, στα νεφρά και στην καρδιά (Omaye, 2004; O'Brien and Dietrich, 2004; Agag, 2004).

Τοξίνωση αυτού του τύπου μπορεί να επιφέρει το θάνατο μέσα σε λίγες ώρες ή ημέρες (Bertin et al., 2009).

2.1.4.2. Χρόνια τοξικότητα και καρκινογένεση

Στα ευαίσθητα είδη, όπως οι αρουραίοι και η πέστροφα, διαπιστώθηκε υψηλό ποσοστό εμφάνισης όγκων στο ήπαρ ακόμα και σε χορήγηση AF σε επίπεδα μικρότερα από 100ppb. Οι τοξικολογικές μελέτες συμπεραίνουν ότι η AFM1 είναι ένα ισχυρό καρκινογόνο του ήπατος, αλλά λιγότερο ισχυρό συγκρινόμενο με την AFB1 (Henry et al, 2001). Σε άλλη μελέτη, επισημάνθηκε και επιπλέον η πιθανότητα εμφάνισης εντερικών όγκων (Cullen et al, 1987).

2.1.4.3. Γονοτοξικότητα

Η AFM1 είναι in vivo γονοτοξική σε συστήματα θηλαστικών. Η δυνατότητα της AFM1 να προκαλεί βλάβες στο DNA καθώς και τα επίπεδα γονοτοξικότητας έχουν ελεγχθεί in vivo στη μύγα *Drosophila melanogaster*, όπου διαπιστώθηκε ότι AFM1 έχει το ένα τρίτο της γονοτοξικής δράσης σε σχέση με την AFB1. Φαινοτυπικά οι αλλαγές που αποτυπώθηκαν στους ελεγχόμενους πληθυσμούς ήταν παρόμοιες και για τις δύο AFs (Shibahara et al., 1995). Ο μηχανισμός γονοτοξικότητας της AFM1 οφείλεται στη σύνδεση της με το DNA, δημιουργώντας έτσι κενά στις έλικές του καθώς αποτρέπει τη δράση της DNA πολυμεράσης στις περιοχές σύνδεσής της, γεγονός που οδηγεί σε μεταλλάξεις (Henry et al., 2001).

2.1.5.4. Κυτταροτοξικότητα

Είναι γνωστό, όπως προαναφέρθηκε, ότι η τοξικότητα της AFB1 οφείλεται σε ένα από τα παράγωγά της, το εποξειδίο της, και επιπλέον ότι η δεσμευτική πρωτεΐνη που δημιουργείται παίζει σημαντικό ρόλο στην κυτταροτοξικότητα της. Η AFM1 γενικά θεωρείται ένα προϊόν αποτοξίνωσης της AFB1 άρα δικαιολογείται έτσι και η μειωμένη καρκινογενετική δραστηριότητα αλλά και οι ιδιότητες μεταλλαξιογένεσης, σε σχέση με την AFB1. Αντίστοιχη μείωση στην κυτταροτοξική δραστηριότητα της δεν φαίνεται να ισχύει, μιας και η απώλεια μεταβολισμού της AFM1 διαπιστώθηκε σε in vitro μελέτες με κυτταρικές

σειρές. Η εποξειδωση της AFM1 στο μικροσωμιακό σύστημα του ήπατος του ανθρώπου είναι πολύ περιορισμένη και κατά συνέπεια υπάρχει άμεση τοξικότητα της AFM1 ακόμα και απουσία μεταβολικής δραστηριότητας (Caloni et al. 2006; Neal et al., 1998).

2.1.4.3. Εντεροτοξικότητα

Ο εντερικός σωλήνας αποτελεί από τα πρώτα εμπόδια στην απορρόφηση τοξικών ουσιών και είναι σημαντικό να αξιολογείται η ακεραιότητα του προκειμένου να αξιολογηθεί η πιθανότητα έκθεσης ενός οργανισμού σε αυτές. Η προσπέλαση του εντερικού φραγμού, μπορεί να προκαλέσει εντερικές διαταραχές (Pinton et al., 2009). Αν και απαιτούνται επιπλέον επιδημιολογικά δεδομένα, πιστεύεται ότι η έκθεση σε κάποιες AFs μπορεί να οδηγήσει σε χρόνια φλεγμονώδη εντερική διαταραχή (Maresca and Fantini, 2010). Επιπλέον, σε πολλές μελέτες έως σήμερα, διαπιστώνεται ότι πολλές μυκοτοξίνες, μπορούν να επηρεάσουν βασικές εντερικές και ανοσολογικές λειτουργίες (Gratz et al., 2007; Pinton et al., 2009). Έχει διαπιστωθεί η τοξικότητα της AFM1 σε κυτταρική σειρά Caco-2 (Caloni et al., 2006), ενώ σε μελέτες με κυτταρική σειρά Caco-2/TC7 δεν προκλήθηκε βλάβη στο εντερικό επιθήλιο (Caloni et al., 2012).

2.1.5. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΦΑΛΤΟΞΙΝΗΣ Β1 ΚΑΙ Μ1 ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΩΝ ΖΩΩΝ

Το όργανο στόχος στα ζώα, μετά την πρόσληψη AF είναι το ήπαρ, όπου προκαλούνται ηπατοκυτταρικές βλάβες. Δεδομένης της ύπαρξης θεσπισμένου ορίου για την AFB1 στις ζωοτροφές ($0,02\text{mg kg}^{-1}$) (Οδηγία 2002/32), συνήθως δεν είναι συχνά τα φαινόμενα οξείας τοξικότητας στα μηρυκαστικά. Μακροχρόνια έκθεση ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις AF, μπορεί να οδηγήσει σε ηπατική ίνωση και όγκους στα ηπατοκύτταρα. Ηπατικό καρκίνωμα μπορεί να εμφανιστεί σε πτηνά, πέστροφες, χοίρους και πρόβατα. Παρόλα αυτά, η δημιουργία όγκων από AFB1, δεν έχει αναφερθεί σε ζώα στην Ευρώπη. Γενικά, τα κλινικά συμπτώματα ποικίλουν ανάλογα με το ποσοστό έκθεσης και αφορούν ανορεξία, ίκτερο, κατάθλιψη, απώλεια βάρους, ρινική καταρροή, γαστρεντερικές διαταραχές, ασκίτη και πνευμονικό οίδημα. Οι επιδράσεις των AF στην υγεία των ζώων εκδηλώνονται με μια σειρά από

συμπτώματα, που εξαρτώνται κυρίως από την ποσότητα της AF που καταναλώθηκε, τη διάρκεια έκθεσης, το είδος και την ηλικία του ζώου, το φύλο, τη θρεπτική κατάσταση και τη διατροφή του συνολικά (Osweiler, 2005; Agag, 2004; Pennington, 2009).

Αναλυτικότερα, οι παραπάνω παράγοντες επηρεάζουν την συμπτωματολογία ως εξής:

Ηλικία: τα ενήλικα ζώα τροποποιούν ή εξαλείφουν τις τοξίνες αποτελεσματικά και κατά συνέπεια τα νεαρά ζώα όλων των ειδών ζώων είναι πιο ευπαθή σε σχέση με τα ενήλικα.

Διάρκεια κατανάλωσης μολυσμένης τροφής: κατά την μακροχρόνια έκθεση, ακόμα και χαμηλές συγκεντρώσεις AF, μπορούν να προκαλέσουν καρκίνο. Στα ζώα με χρόνια έκθεση στην AF εμφανίζεται ιδιαίτερη ευαισθησία σε άλλα νοσήματα (βακτηριακά, ιογενή, μυκητιακά και παρασιτικά).

Ποσότητα AF: χαμηλές δόσεις δεν προκαλούν θάνατο, αλλά μειώνουν τις αποδόσεις σε γάλα και κρέας. Πρόσληψη χαμηλών επιπέδων AF (περίπου 1ppm) μπορεί να προκαλέσει μείωση της ανάπτυξης, ανοσοκαταστολή, καταστροφή του ήπατος και αιμορραγία. Τα υψηλά επίπεδα, αντίστοιχα, συμβάλλουν σε οξεία απώλεια της όρεξης, κατάπτωση, αιμορραγία, μείωση της παραγωγής του γάλακτος, διάρροια, ίκτερο και θάνατο. Στα βοοειδή τα κλινικά συμπτώματα εμφανίζονται μετά από πρόσληψη AF 1,5–2,23mg kg⁻¹ τροφής, ενώ στα μικρά μηρυκαστικά >50mg kg⁻¹ τροφής.

Είδος ζώου: τα μηρυκαστικά είναι λιγότερο ευαίσθητα συγκρινόμενα με τα μονογαστρικά και τα πτηνά, μιας και οι AFs εν μέρει αποικοδομούνται στη μεγάλη κοιλία (Osweiler, 2005; Agag, 2004; Pennington, 2009).

Τα νεκροτομικά ευρήματα των προσβεβλημένων ζώων αφορούν ηπατοκυτταρικές βλάβες, υπερτροφία χοληδόχου πόρου καθώς και νεφρικές αλλοιώσεις. Οι αιματολογικές βιοχημικές παράμετροι αντιστοιχούν στο βαθμό της ηπατικής βλάβης. Η μείωση της γαλακτοπαραγωγής και το φαινόμενο της φωτοευαίσθητοποίησης μπορεί να προηγούνται της κύριας συμπτωματολογίας της τοξίκωσης (Tiwari and Shihna, 2010).

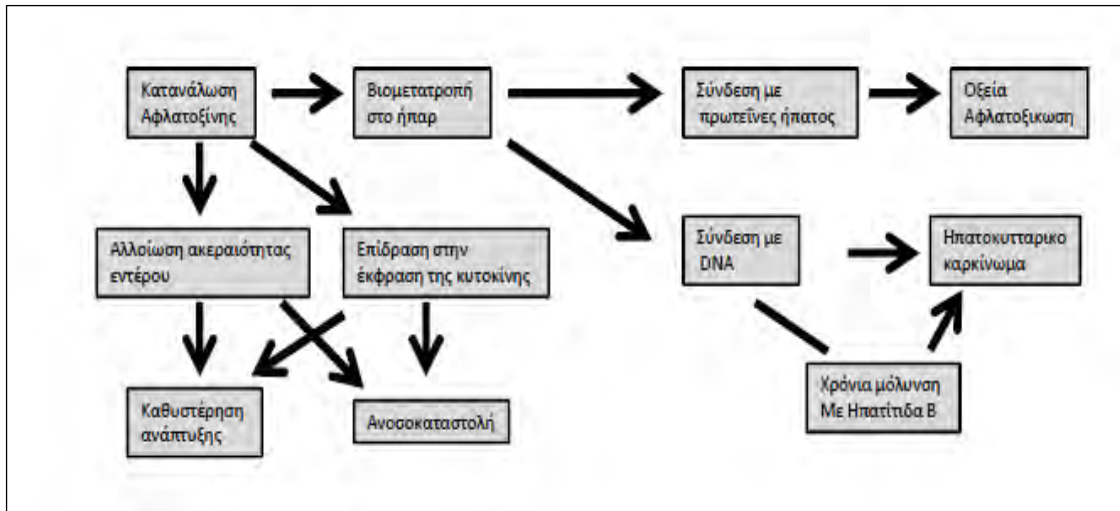
Σε μελέτες πεδίου για την επίδραση της AF στην υγεία και τις αποδόσεις των ζώων, επιπλέον της κλασικής συμπτωματολογίας διαπιστώθηκε ότι σε χορήγηση 50 και 100μg AFB₁/ημέρα στη ντόπια φυλή κατσικιών της Ελλάδας (*Capra prisca*), παρουσιάζεται σημαντική μείωση στη λιποπεριεκτικότητα του παραγόμενου γάλακτος, και επίδραση στην ηπατική λειτουργία μόνο σε υψηλές δόσεις (100μg) (Kourousekos et al., 2012). Σε γαλακτοπαραγωγές αγελάδες, φυλής Holstein, στην Ιταλία, μετά από χορήγηση AF (0,26μg/αγελάδα/ημέρα), δεν διαπιστώθηκε κάποια συσχέτιση με τον αριθμό των σωματικών κυττάρων στο γάλα (Masoero et al., 2007).

2.1.6. ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ

Οι AFs είναι οι περισσότερο επικίνδυνες μυκοτοξίνες για τη δημιουργία σοβαρών προβλημάτων υγείας στον άνθρωπο με οξεία τοξική, ανοσοκατασταλτική, μεταλλαξιγόνο, τερατογόνο και ενδεχόμενη καρκινογόνο δράση (Peraica et al., 1999).

Παρά τα εκτενή δεδομένα στη βιβλιογραφία για τις επιδράσεις των μυκοτοξινών και ιδιαίτερα των AF στην ανθρώπινη υγεία, οι πληροφορίες στη βιβλιογραφία σχετικά με το μεταβολισμό, την τοξικότητα και την απορρόφηση της AFM₁ στους ανθρώπους είναι εξαιρετικά περιορισμένα. Γενικά, έχει διαπιστωθεί ότι η AFM₁ και AFB₁ έχουν σχεδόν τις ίδιες επιδράσεις οξείας τοξικότητας στον άνθρωπο και προκαλούν καρκίνο, με την AFM₁ να εμφανίζεται ασθενέστερη (Neal et al., 1998). Σχηματικά η επίδραση της AF στην υγεία παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.

Αξίζει ωστόσο να σημειωθεί ότι η πρόσληψη της AFM₁ από γάλα δεν έχει απευθείας συσχετισθεί με καρκίνο του ήπατος (Henry et al., 2001), αλλά έχει διαπιστωθεί η ηπατοτοξικότητα που προκαλεί (Prandini et al., 2009a). Η AFM₁ ανιχνεύεται στο μητρικό γάλα, στο αίμα του ομφάλιου λώρου και στο μητρικό αίμα και ο προγεννητικός κίνδυνος είναι σοβαρός, δεδομένου ότι μπορεί να επιμολυνθεί και το έμβρυο, διαμέσου του πλακούντα (Shuaib et al., 2010).



Εικόνα 3: Επιδράσεις Αφλατοξινών στην υγεία (Wu et al., 2011)

Επιπλέον κίνδυνος υπάρχει για τα βρέφη που θηλάζουν (Galvano et al., 2006). Η αφλατοξίκωση έχει επίσης συσχετιστεί με την ανδρική υπογονιμότητα, δεδομένου ότι η AFs έχουν χαρακτηριστεί ως σπερματοκτόνες (Shuaib et al., 2010).

Αναφορικά με την παιδική υγεία έχει αναφερθεί ότι η AFs σχετίζονται με την εμφάνιση ίκτερου σε νεογνά αλλά και με την καθυστέρηση της ανάπτυξης. Η αφλατοξίκωση εμπλέκεται τόσο στο σύνδρομο Kwashiorkor, νόσος υποσιτισμένων παιδιών στη Βόρεια Αφρική, αλλά και με το σύνδρομο Reye, ηπατοεγκεφαλοπάθεια σε παιδιά στην Ινδία, Τσεχοσλοβακία και Νέα Ζηλανδία (Sherif et al., 2009).

2.1.7. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Η έκθεση του ανθρώπου στην AFM1 προέρχεται κατά ένα μέρος από την κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών καθώς επίσης και από τον ενδογενή μεταβολισμό της AFB1 στο ήπαρ και την παραγωγή AFM1 ως έναν από τους μεταβολίτες (Neal et al., 1998). Η πρόσληψη της AFM1 από το γάλα έχει προσδιοριστεί στα 6,8ng/άτομο/ημέρα στην Ευρωπαϊκή διαίτα, 3,5ng/άτομο/ημέρα στην Λατινοαμερικάνικη διαίτα, 12ng/άτομο/ημέρα στην Άπω Ανατολή, σε 0,7ng/άτομο/ημέρα στην Μέση Ανατολή και 0,1ng/άτομο/ημέρα στην Αφρικανική διαίτα (Creppy, 2002).

Δεν υπάρχουν μελέτες διαθέσιμες σχετικά με τη σχέση της διατροφικής πρόσληψης AFM1 και της πιθανότητας εμφάνισης καρκίνου στο ήπαρ. Μελέτες που χρησιμοποίησαν βιοδείκτες έκθεσης, όπως σύμπλοκα AF-αλβουμίνης στον ορό, AF-N7 γουανίνης και σύμπλοκα στα ούρα, δεν προσδίδουν επιπλέον τεκμήρια για μια ακριβή αξιολόγηση επικινδυνότητας για την AFM1. Με τα σημερινά δεδομένα, μπορεί να γίνει μόνο μια μετριοπαθής εκτίμηση της δραστηριότητας της AFM1, βασιζόμενοι κυρίως στα διαθέσιμα δεδομένα για την AFB1 (JEFCA, 2001; WHO, 2005).

Επιδημιολογικές μελέτες αναφέρουν ότι υπάρχει επικινδυνότητα από τις AF, μόνο παρουσία άλλων παραγόντων κινδύνου, όπως η ηπατίτιδα Β. Δεν τεκμηριώνεται από τις μέχρι σήμερα επιδημιολογικές μελέτες ότι οι AF λειτουργούν σαν ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου για το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Εκτιμάται ότι μεταξύ 50 και 100% των περιπτώσεων με καρκίνο του ήπατος συνδέονται με ηπατίτιδα Β (HBV) ή/και C (HBC) (FAO, 1999). Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει, ότι άτομα με ηπατίτιδες από HBV ή HCV τα οποία εκτέθηκαν σε AFs μέσω της διατροφής τους, παρουσίασαν αυξημένα ποσοστά καρκίνου του ήπατος. Οι AFs και η ηπατίτιδα Β είναι συγκαρκινογόνοι παράγοντες, και η πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου του ήπατος στους ανθρώπους είναι υψηλή μόνο σε περιοχές όπου επικρατούν και οι AFs και ο HBV (Henry et al., 2001). Σημαντικές παράμετροι για την εκτίμηση της επικινδυνότητας από τις AF είναι τα δεδομένα επιμολυσμένων τροφίμων, οι διατροφικές συνήθειες και ο επιπολασμός της ηπατίτιδας Β (Henry et al., 2001).

Τα μέχρι σήμερα επιδημιολογικά δεδομένα για την παρουσία της AFM1 στον άνθρωπο παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 3. Εξάρσεις κρουσμάτων αφλατοξίκωσης την τελευταία δεκαετία διαπιστώθηκαν στην Κένυα το 2004, με εμπλεκόμενο τρόφιμο μολυσμένο καλαμπόκι και 123 δηλωμένους θανάτους (CDC, 2004).

Πίνακας 3: Δεδομένα παρουσίας Αφλατοξινών στον άνθρωπο

ΧΩΡΑ	ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	ΠΗΓΗ
Νιγηρία	σπέρμα	40% ανδρών με προβλήματα γονιμότητας είχαν αφλατοξίνη στο σπέρμα.	Ibeh et al., 1994
Γκάμπια	μητρικό αίμα	Η αφλατοξίνη στο μητρικό αίμα ήταν σημαντικά υψηλότερη το διάστημα Δεκέμβριος-Μάρτιος. Τα επίπεδα AF στο μητρικό αίμα προβλέπουν την αύξηση σωματικού βάρους και ύψους των νεογνών.	Turner et al., 2007
Αραβικά Εμιράτα	μητρικό αίμα	Ισχυρή συσχέτιση μεταξύ επιπέδων αφλατοξίνης M1 και βάρους νεογνού, αλλά δεν βρέθηκε συσχέτιση με την εμφάνιση ίκτερου	Abdulrazzaq et al., 2004
Ιράν	μητρικό γάλα	Αφλατοξίνη M1 ανιχνεύτηκε σε ποσοστό 98,1%, με μέση συγκέντρωση 8,2±5,1ng/kg.	Sedeghi et al., 2009
Ιταλία	μητρικό γάλα	Αφλατοξίνη M1 ανιχνεύτηκε στο 0,4% των δειγμάτων (194ng/kg)	Turconi et al., 2004
Αίγυπτος	μητρικό γάλα	Αφλατοξίνη M1 ανιχνεύτηκε σε ποσοστό 36%	Polychronaki et al., 2006
Ιταλία	μητρικό γάλα	Αφλατοξίνη M1 ανιχνεύτηκε σε ποσοστό 5%	Galvano et al., 2008
Βραζιλία	μητρικό γάλα	Αφλατοξίνη M1 ανιχνεύτηκε σε ποσοστό 0,5%	Navas et al., 2005
Αραβικά Εμιράτα	αίμα ομφάλιου λώρου	Αφλατοξίνη M1 ανιχνεύτηκε σε ποσοστό 54,7%	Abdulrazzaq et al., 2002

2.1.8. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ M1

Η επικινδυνότητα των AF για την υγεία του ανθρώπου και των ζώων, απαιτεί ακρίβεια, αξιοπιστία, ταχύτητα και μείωση κόστους των αναλυτικών μεθόδων, που προσδιορίζουν αυτές τις τοξικές ουσίες, στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές.

Ο προσδιορισμός της AFM1 στο γάλα και τα γαλακτοκομικά αφορά τόσο τη δειγματοληψία όσο και την ανάλυση. Η ανάλυση μπορεί να γίνει με μεθόδους ποιοτικές, ημι-ποσοτικές και πλήρως ποσοτικές και συνήθως διακρίνονται σε

μεθόδους διαλογής δειγμάτων (screening) ή εναλλακτικά γρήγορες (rapid) μέθοδοι και σε επιβεβαιωτικές μεθόδους (Maragos and Busman, 2010). Οι αναλυτικές τεχνικές που έχουν εφαρμοστεί έως σήμερα για τον προσδιορισμό της AFM1 στο γάλα και τα προϊόντα του είναι οι βιοαισθητήρες (Biosensors), η ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA), η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC), η υγρή χρωματογραφία με φασματομετρία μαζών (LC-MS), η υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία (HPLC) συνδυαζόμενη με ανιχνευτή φθορισμού (FLD) και η φασματομετρία μαζών (MS), με συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες την ELISA και την HPLC-FLD (Shephard, 2009; Turner et al., 2009).

2.1.8.1. Δειγματοληψία

Η δειγματοληψία αποτελεί το πρώτο σημαντικό βήμα στην διαδικασία της ανάλυσης για την εξαγωγή αξιόπιστων αποτελεσμάτων. Η κατανομή της AFM1 στο γάλα και τα γαλακτοκομικά παρουσιάζει καλή ομοιομορφία. Συστήνεται αύξηση του δείγματος (ελάχιστος όγκος 500ml) και καλή ομογενοποίηση, ώστε να υπάρχει μεγαλύτερη αξιοπιστία στα αποτελέσματα (Whitaker, 2003; Henry et al., 2001; Miraglia et al., 2005). Ο Κανονισμός 401/2006 της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ) καθορίζει τον τρόπο δειγματοληψίας για τον επίσημο έλεγχο των ΑF στα τρόφιμα και συγκεκριμένα για το γάλα και τα προϊόντα του αναφέρει ότι το συνολικό δείγμα πρέπει να είναι τουλάχιστον 1kg ή 1 λίτρο, εκτός εάν δεν είναι δυνατόν. Ο ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4: Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων για τον προσδιορισμό Αφλατοξίνης M1 (Καν. 401/2006)

Μορφή κυκλοφορίας στο εμπόριο	Όγκος ή βάρος της παρτίδας (σε λίτρα ή kg)	Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που πρέπει να λαμβάνονται	Ελάχιστος όγκος ή βάρος του συνολικού δείγματος (σε λίτρα ή kg)
Χύμα	—	3-5	1
Φιάλες/συσκευασμένα πακέτα	≤ 50	3	1
Φιάλες/συσκευασμένα πακέτα	50 έως 500	5	1
Φιάλες/συσκευασμένα πακέτα	> 500	10	1

Τα προϊόντα πρέπει να αναμειγνύονται όσο το δυνατόν επιμελέστερα και στο βαθμό που αυτό δεν επηρεάζει την ποιότητα τους, είτε χειρωνακτικά είτε με μηχανικά μέσα αμέσως πριν από τη δειγματοληψία. Στην περίπτωση αυτή, μπορεί να θεωρηθεί ότι η κατανομή AFM1 σε μία δεδομένη παρτίδα είναι ομοιογενής. Αρκεί επομένως να λαμβάνονται τα προβλεπόμενα στοιχειώδη δείγματα από μία παρτίδα για το σχηματισμό του συνολικού δείγματος (Καν. 401/2006).

2.1.8.2. Αναλυτικές τεχνικές για προσδιορισμό Αφλατοξίνης M1

Βιοισθητήρες

Οι βιοισθητήρες άρχισαν να εμφανίζονται στο πεδίο των αναλυτικών τεχνικών για την ανίχνευση της AFM1 από το 2008, αν και δεν έχουν ακόμα πρακτική εφαρμογή. Διαθέτουν το ισχυρό πλεονέκτημα ότι η μέτρηση γίνεται απευθείας στο φυγοκεντρημένο γάλα, χωρίς να απαιτείται καθαρισμός ή προσυγκέντρωση. Οι βιοισθητήρες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φορητές συσκευές ανίχνευσης AFM1 απευθείας στην πηγή της μόλυνσης (Shephard, et al., 2010). Ενδεικτικά αναφέρονται οι τεχνικές φασματοσκοπίας φθορισμού με οπτικές ίνες (Fluorescence spectroscopy by means of optical fibres), surface plasmon-enhanced fluorescence spectroscopy (SPFS), μικροηλεκτρόδιο στην επιφάνεια του οποίου αναπτύχθηκε μια ανταγωνιστική ELISA (microelectrode array immunosensor). Δεν υπάρχουν δεδομένα επικύρωσης για τις παραπάνω

γρήγορες μεθόδους (Shephard, et al., 2010; Maragos and Busman, 2010; Shephard, et al., 2012).

Ανοσολογικές

Οι ανοσολογικές μέθοδοι είναι συνήθως γρήγορες τεχνικές που χρησιμοποιούνται ως δοκιμές διαλογής δειγμάτων. Οι ανοσολογικές μέθοδοι στηρίζονται στην αναγνώριση της AFM1 από ένα ειδικό αντίσωμα. Οι ανοσολογικές δοκιμές εμφανίζονται με διάφορες μορφές. Από τις πλέον χρησιμοποιούμενες, τόσο στη βιομηχανία, όσο και στα ερευνητικά εργαστήρια αλλά και τα εργαστήρια ελέγχου, είναι η ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA (Enzyme Linked Immunosorber Assay). Στις ανοσολογικές μεθόδους ανήκουν επίσης οι ανοσολογικές δοκιμές με μεμβράνες ροής (Flow through assays), οι δοκιμές πλευρικής ροής (Lateral Flow test), φθορισμομετρικές μέθοδοι, στήλες καθαρισμού ανοσοσυγγένειας (immunoaffinity clean up columns), στήλες καθαρισμού εκχύλισης στερεάς φάσης (solid phase extraction column clean-up) και δοκιμές φθορίζουσας πόλωσης (fluorescent polarization) (Zheng et al., 2006; Maragos and Busman, 2010; Shephard, 2009; Li et al., 2009; Reiter et al., 2009).

Τεχνική Ενζυμικού Ανοσοπροσροφητικού προσδιορισμού (ELISA)

Η ELISA είναι η επικρατέστερη μέθοδος προσδιορισμού της AFM1 και υπάρχουν διαθέσιμα στο εμπόριο πολλά και καλά ανεπτυγμένα εμπορικά πρωτόκολλα (Shephard, 2009). Η χρήση της ανοσοενζυμικής μεθόδου (ELISA) είναι η πιο διαδεδομένη στη βιομηχανία γάλακτος αλλά και στα εργαστήρια ελέγχου, και χρησιμοποιείται σαν μέθοδος διαλογής, μιας και είναι πλήρως ποσοτική, αξιόπιστη, απλή στη χρήση, γρήγορη, χαμηλού κόστους και με ικανοποιητική ευαισθησία και ειδικότητα (Turner et al., 2009; Cigic and Prosen, 2009; Zheng et al., 2006). Η υψηλή ειδικότητα της ένωσης των αντιγόνων με τα ειδικά αντισώματα καθώς και η ευαισθησία της ανίχνευσης ενός ενζύμου καθιστούν την ELISA ιδανική στον προσδιορισμό της AFM1 σε μείγματα πολλαπλών συστατικών χωρίς να απαιτείται ιδιαίτερη προεργασία του δείγματος, όπως διαχωρισμός ή απομάκρυνση άλλων προσμείξεων και

επιπλέον απαιτεί μικρούς όγκους δείγματος (Crowther, 2009; Goryacheva et al., 2009).

Βασικές έννοιες σχετικά με την εφαρμογή της μεθόδου ELISA και την εξαγωγή αποτελέσματος παρουσιάζονται στον Πίνακα 5. Οι διαθέσιμες ELISA για τον προσδιορισμό της AFM1 είναι οι: άμεση, έμμεση, και διπλή (sandwich) ELISA. Όλο οι τύποι μπορούν να εφαρμοστούν με την ανταγωνιστική ή μη ανταγωνιστική μορφή τους. Για την ανίχνευση της AFM1 συνηθέστερα χρησιμοποιείται η ανταγωνιστική άμεση μορφή. Στην άμεση ELISA οι υποδοχείς της μικροπλάκας καλύπτονται με το άγνωστο δείγμα το οποίο περιέχει το προς μέτρηση αντιγόνο. Στη συνέχεια, προστίθεται το ειδικό αντίσωμα το οποίο είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένο με ένζυμο. Τέλος, προστίθεται το υπόστρωμα του ενζύμου και πραγματοποιείται η ανάπτυξη χρώματος και η φωτομέτρηση αυτού προκειμένου να γίνει η ποσοτικοποίηση. Η έμμεση ELISA διαφοροποιείται από την άμεση στο γεγονός ότι χρησιμοποιούνται δύο διαφορετικά αντισώματα. Το πρώτο είναι ειδικό για το αντιγόνο και το δεύτερο, το οποίο είναι σημασμένο με το ένζυμο, είναι ειδικό αντι-αντίσωμα έναντι του πρώτου ειδικού αντισώματος. Στη sandwich ELISA το ειδικό αντίσωμα είναι αυτό που ακινητοποιείται στις υποδοχές της μικροπλάκας. Ακολουθεί η προσθήκη του προς ανάλυση δείγματος και στη συνέχεια του ειδικού αντισώματος. Στη συνέχεια προστίθεται το σημασμένο με ένζυμο αντίσωμα έναντι του ειδικού αντισώματος και πραγματοποιείται η ανάπτυξη του χρώματος με την προσθήκη του υποστρώματος. Στην ανταγωνιστική ELISA, η φωτομετρική τιμή που λαμβάνεται είναι αντιστρόφως ανάλογη της ποσότητας του αντιγόνου του δείγματος (Crowther, 2009).

Πίνακας 5: Ορολογία ELISA (Crowther, 2009; Li et al., 2009)

Ορολογία	Σημασία
Σταθερή φάση	Πλάκα κυψελίδων μικροπιπλοδότησης. Ειδικά κατασκευασμένες πλάκες ELISA με 12 στήλες x 8 σειρές κυψελίδων.
Προσρόφηση	Η διαδικασία της προσθήκης αντιγόνου ή αντισώματος αραιωμένου σε ρυθμιστικό διάλυμα, ώστε να προσκολλάται παθητικά στη στερεή φάση κατά την επώαση.
Πλύση	Πλήρωση και εκκένωση των κυψελίδων με ρυθμιστικό διάλυμα για διαχωρισμό δεσμευμένων από μη δεσμευμένα αντιδραστήρια της ELISA. Πραγματοποιείται με το χέρι ή σε συσκευές πλύσης πλακών ELISA.
Αντιγόνα	Κάθε ουσία που εισερχόμενη σε ένα οργανισμό, μπορεί να προκαλέσει παραγωγή αντισωμάτων. Τα αντισώματα αντιδρούν με συγκεκριμένα αντιγόνα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση των αντιγόνων.
Αντισώματα	Παράγονται σε αντιγονικούς ερεθισμούς. Είναι πρωτεϊνικής φύσης και είναι εξειδικευμένα για συγκεκριμένα αντιγόνα.
Αντί- αντισώματα	Παράγονται όταν πρωτεΐνες (συμπεριλαμβανομένων και των αντισωμάτων) ενός είδους εισάγονται σε άλλο είδος. Για παράδειγμα, ορός ινδικού χοιριδίου σε κουνέλι, προκαλεί παραγωγή αντί -αντισωμάτων κουνελιού – ινδικού χοιριδίου.
Ένζυμο	Μια ουσία, που μπορεί να λειτουργήσει ακόμα και σε χαμηλή συγκέντρωση ως καταλύτης, προκειμένου να προωθήσει μια συγκεκριμένη αντίδραση. Διάφορα ειδικά ένζυμα χρησιμοποιούνται συνήθως στην ELISA, με τα σχετικά τους υποστρώματα.
Συζευγμένο ένζυμο	Ένα ένζυμο που είναι σταθερά συνδεδεμένο σε μια πρωτεΐνη, συνήθως σε ένα αντίσωμα (π.χ. ένα αντί-ειδικό αντίσωμα κουνελιού αντί-ινδικού χοιριδίου συζευγμένο με υπεροξειδάση χρένου).
Υπόστρωμα	Μια χημική ένωση με την οποία ένα ένζυμο αντιδρά με συγκεκριμένο τρόπο. Η αντίδραση αυτή χρησιμοποιείται για να παράγει σήμα, που διαβάζεται ως αλλαγή χρώματος του υποστρώματος.
Διακοπή	Η διαδικασία σταματάει με τη δράση ενός ενζύμου σε ένα υπόστρωμα, που έχει ως αποτέλεσμα τη διακοπή κάθε περαιτέρω αλλαγής στο χρώμα του.
Μέτρηση	Το χρώμα που παράγεται στην ELISA μετρείται ποσοτικά με τη χρήση ειδικών φασματομέτρων σε συγκεκριμένα μήκη κύματος για την προς ανίχνευση ουσία.
Καμπύλη αναφοράς	Με βάση τις απορροφήσεις των πρότυπων διαλυμάτων δημιουργείται καμπύλη αναφοράς, βάσει της οποίας ποσοτικοποιείται η προς ανίχνευση ουσία.

Η ακρίβεια της ELISA στηρίζεται κυρίως στην προετοιμασία του δείγματος, αλλά και στο υπόστρωμα (matrix) που χρησιμοποιείται προς ανάλυση (Goryacheva et al., 2009). Ενώσεις με χημική δομή παρόμοια με την AFM1, μπορεί να αντιδράσουν με τα αντισώματα, δημιουργώντας το λεγόμενο «matrix effect» που οδηγεί σε μη απόλυτα ακριβή ποσοτικοποίηση (Zheng et al., 2006). Το φαινόμενο αυτό θεωρείται κρίσιμο για υπέρ ή υποτιμήσεις της υπάρχουσας ποσότητας. Τα περιορισμένα δεδομένα επικύρωσης για διαφορετικά προς ανάλυση υποστρώματα (π.χ. κατσικίσιο γάλα, γιαούρτη κλπ) αποτελεί ένα περιοριστικό παράγοντα εφαρμογής της ELISA για προσδιορισμό της AFM1 σε διάφορα προς ανάλυση υποστρώματα (Gilbert and Anklam, 2002; Zheng et al., 2006). Υπάρχουν διάφορες μελέτες για εμπορικές συσκευασίες ELISA που χρησιμοποιήθηκαν σε ελέγχους δειγμάτων αγελαδινού, πρόβειου, γίδινου γάλακτος καθώς και UHT, σκόνης γάλακτος και τυριών (Rousi et al., 2002; Kaniou-Grigoriadou et al., 2005; Virdis et al., 2008; Oliveira and Ferraz, 2007; Yaroglu et al., 2005). Οι υπάρχουσες μελέτες επικύρωσης εμπορικών συσκευασιών αφορούν αγελαδινό γάλα (Rosi et al., 2007), πρόβειο γάλα (Rubio et al., 2009), γίδινο γάλα (Χριστοφορίδου και συν., 2011) και γάλα σκόνη (Oliveira and Germano, 1996). Στις μεθόδους αυτές χρησιμοποιήθηκαν συγκεκριμένα κριτήρια επίδοσης, όπως ακρίβεια, ανάκτηση και επαναληψιμότητα, προκειμένου να αξιολογηθεί η αξιοπιστία των εμπορικών συσκευασιών για συγκεκριμένο είδος υποστρώματος-δείγματος προς ανάλυση. Η τυποποιημένη εφαρμογή της ELISA για προσδιορισμό της AFM1 στο γάλα και τα προϊόντα του, περιγράφεται στο ISO 14675:2003, όπου δίνονται προδιαγραφές για την ευαισθησία, ειδικότητα, ακρίβεια και την ορθότητα (ISO, 2003).

Χρωματογραφικές μέθοδοι

Οι AFs είναι μικρά πολικά μόρια, που απορροφούν σημαντικά στο υπεριώδες (Ultraviolet-UV) και παρουσιάζουν έντονο φθορισμό (Fluorescence). Για το λόγο αυτό οι τεχνικές υγρού διαχωρισμού κυριάρχησαν στον προσδιορισμό τους. Αρχικά χρησιμοποιήθηκε η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) και αργότερα η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) (Shephard, 2009; Wang et al., 2010). Την τελευταία δεκαετία έχει καθιερωθεί η HPLC, η

οποία και αποτελεί τη μέθοδο αναφοράς. Ο συνδυασμός της HPLC με την φασματομετρία μάζας (mass spectrometry-MS), δίνει πλέον τη δυνατότητα ταυτόχρονου προσδιορισμού πολλών μυκοτοξινών (Shepherd, 2009). Για την εφαρμογή των χρωματογραφικών μεθόδων η AFM1 θα πρέπει να εκχυλιστεί με κατάλληλο διαλύτη, να καθαριστεί και να συμπυκνωθεί πριν γίνει ο διαχωρισμός της. Η ποσοτικοποίηση γίνεται συχνότερα με ανιχνευτή φθορισμού, παρά με ανιχνευτή υπεριώδους (Shepherd, 2009).

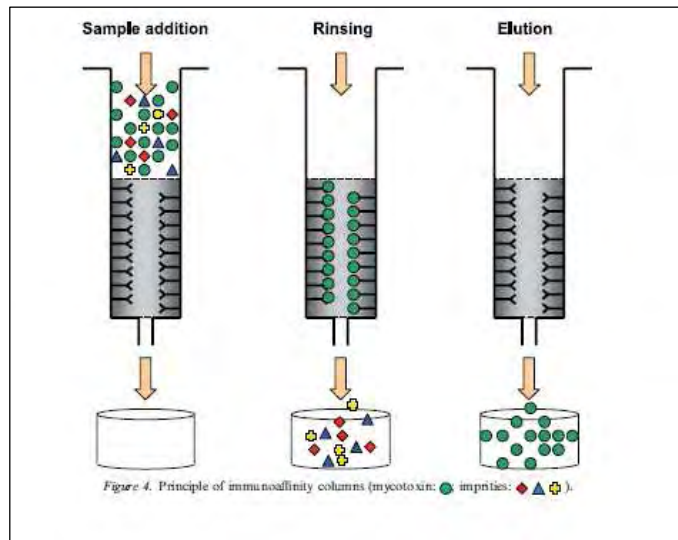
Στάδια προκατεργασίας δείγματος για εφαρμογή χρωματογραφικών μεθόδων

Τα στάδια προκατεργασίας του δείγματος για εφαρμογή χρωματογραφικών μεθόδων αφορούν τα ακόλουθα:

Εκχύλιση: Η εκχύλιση εφαρμόζεται προκειμένου να πραγματοποιηθεί η εξαγωγή των AFs από το υπόστρωμα (τρόφιμο), σε ένα διαλύτη κατάλληλο για την φάση του καθαρισμού που ακολουθεί. Η εκχύλιση υγρού-στερεού είναι διαδικασία που εφαρμόζεται στην ανάλυση των AFs στα στερεά τρόφιμα (π.χ. τυρί). Χρησιμοποιούνται συνήθως μέτριοι ή ελαφρώς πολικοί οργανικοί διαλύτες, όπως η μεθανόλη, το ακετονιτρίλιο, η ακετόνη, το χλωροφόρμιο και ο οξικός αιθυλεστέρας. Στη συνέχεια ακολουθεί ο διαχωρισμός του υγρού με διήθηση ή φυγοκέντρηση (Shepherd, 2009; Pittet, 2005; Hajslova et al., 2011). Στην περίπτωση προσδιορισμού AFM1 σε γάλα, το δείγμα απλώς φυγοκεντρείται και αφού απομακρυνθεί η καλά διαχωρισμένη στιβάδα λίπους η διαδικασία συνεχίζει στο καθαρισμό του δείγματος (ISO, 2007).

Καθαρισμός: Ο καθαρισμός αποτελεί απαραίτητο στάδιο της διαδικασίας προσδιορισμού με ακρίβεια της AFM1 και για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται συσκευές εκχύλισης στερεής φάσης (SPE) ή στήλες ανοσοσυγγένειας (Immunoaffinity columns-IACs). Οι στήλες ανοσοσυγγένειας περιλαμβάνουν εξειδικευμένα αντισώματα για την AFM1, ακινητοποιημένα σε αгарόζη. Το εκχύλισμα διέρχεται από τη στήλη, όπου και δεσμεύεται η AFM1. Στη συνέχεια ακολουθεί η έκλουση της με διαλύτη (συνήθως ακετονιτρίλιο και νερό). Εκτός από την απομάκρυνση των προσμείξεων η συσκευή μπορεί να συμπυκνώσει τις AFs (Shepherd, 2009; ISO 2007; Pittet, 2005; Zheng et al., 2006;

Hajslova et al., 2011; Turner et al., 2009; Reiter et al., 2009). Στην Εικόνα 4 παρουσιάζεται σχηματικά ο καθαρισμός δείγματος σε στήλη ανοσοσυγγένειας.



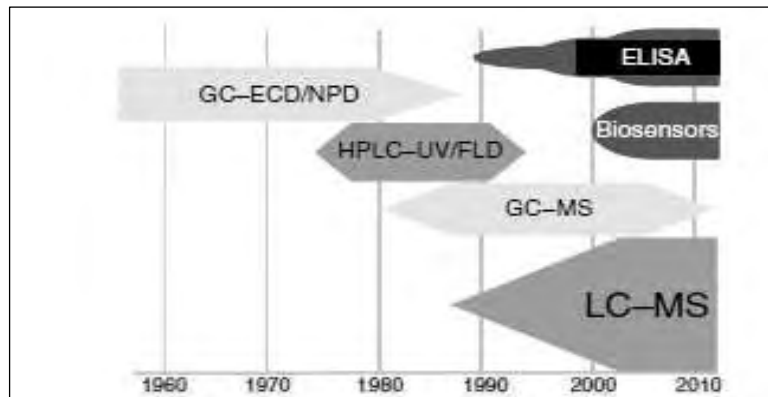
Εικόνα 4: Αρχή λειτουργίας στήλης ανοσοσυγγένειας (Zheng et al., 2006)

Διαχωρισμός και ποσοτικοποίηση Αφαλτοξίνης M1 με χρωματογραφικές μεθόδους

Υπάρχουν πολλές διαθέσιμοι μέθοδοι για το διαχωρισμό της AFM1 όπως η TLC, η LC-MS και η HPLC (Turner et al., 2009; Sforza et al., 2006; Reiter et al., 2009). Εδώ και πολλά χρόνια ο διαχωρισμός της AFM1 πραγματοποιείται με HPLC. Για το συγκεκριμένο διαχωρισμό έχουν χρησιμοποιηθεί τόσο η κανονικής φάσης (normal phase HPLC-NP HPLC) όσο και η ανάστροφης φάσης HPLC (reverse phase HPLC-RP HPLC), αν και επικρατέστερη πλέον είναι η τελευταία, όπου χρησιμοποιείται μια μη πολική στατική φάση, στήλη octadecyl silica και μία πολική κινητή φάση (ακετονιτρίλιο, νερό). Το δείγμα εγχύεται άμεσα στο σύστημα HPLC χωρίς παραγωγοποίηση, μιας και η AFM1 είναι ισχυρά φθορίζουσα και ανιχνεύεται ως έχει από ανιχνευτή φθορισμού (HPLC-FLD) (ISO, 2007; Turner, et al., 2009 ; Shephard, 2009). Δεδομένου του καλού διαχωρισμού και της αξιόπιστης ποσοτικοποίησης της AFM1 με την HPLC, λίγα είναι τα αναλυτικά εργαστήρια που επιλέγουν να χρησιμοποιήσουν MS, LC/MS, LC/MS-MS λόγω του εμπλεκόμενου κόστους (Shephard, 2009).

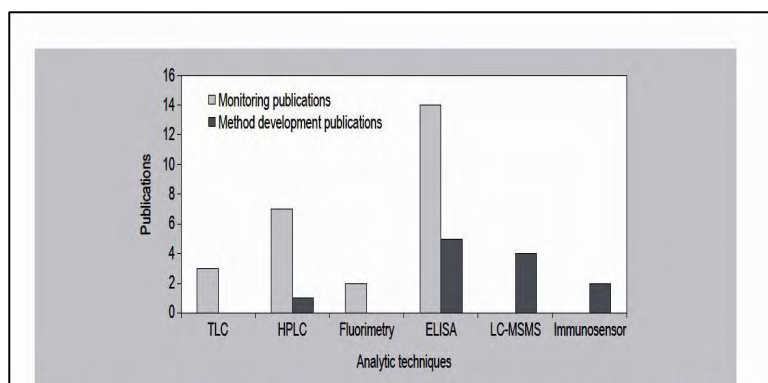
2.1.8.3. Σύγκριση αναλυτικών τεχνικών προσδιορισμού Αφλατοξίνης M1

Οι διαθέσιμες αναλυτικές τεχνικές για τον προσδιορισμό της AFM1, διαχρονικά εξελίσσονται, όπως παρουσιάζεται και στην Εικόνα 5, και διαρκώς αναπτύσσονται νέες.



Εικόνα 5: Η διαχρονική εξέλιξη της μεθοδολογίας προσδιορισμού μυκοτοξινών (Hajslova et al., 2011)

Από τις μέχρι σήμερα διαθέσιμες τεχνικές αυτές που έχουν χρησιμοποιηθεί κυρίως για παρακολούθηση του ζητήματος των AFs είναι κατά σειρά προτεραιότητας η ELISA, η HPLC και η TLC (Shephard et al., 2012), όπως προκύπτει και από την Εικόνα 6.



Εικόνα 6: Χρήση διαθέσιμων αναλυτικών τεχνικών για το προσδιορισμό των Αφλατοξινών (Shephard et al., 2012)

Οι αναλυτικές τεχνικές προσδιορισμού AFM1 έχουν εκτενώς συγκριθεί και τα σχετικά στοιχεία παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα αναλυτικών μεθόδων για τον προσδιορισμό των Αφλατοξινών (Pittet, 2005; Zheng et al., 2006)

Μέθοδος	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
TLC	Απλή, φτηνή, γρήγορη Προσδιορισμός πολλών μυκοτοξινών Ευαίσθητη στην ανίχνευση αφλατοξινών Ταυτόχρονη εξέταση πολλών δειγμάτων	Προσδιορισμός μικρών ποσοτήτων μπορεί να χρειαστεί επιβεβαίωση Μικρής ακριβείας Υψηλό όριο ανίχνευσης M_1 0,1μg/Kg Ο διαχωρισμός των AFs απαιτεί πολυδιάστατη προσέγγιση
HPLC/FLD	Ευαίσθητη, επιλεκτική, με καλό διαχωρισμό και ποσοτικοποίηση των αφλατοξινών Εύκολη σε αυτοματισμό	Ενώσεις πρέπει να έχουν UV απορρόφηση ή φθορισμό ή να απαιτούν παραγωγοποίηση Υψηλό όριο ανίχνευσης M_1 0,1μg/kg Ακριβή, χρονοβόρα, επίπονη
HPLC/MS	Παρέχει υψηλού βαθμού επιβεβαίωση Πολλαπλή ανίχνευση Πολύ ευαίσθητη	Απαιτεί εξεικευμένη τεχνογνωσία Ακριβή, χρονοβόρα, επίπονη Απαιτεί εξεικευμένη τεχνογνωσία Ακριβή
LC/MS	Παρέχει υψηλού βαθμού επιβεβαίωση Δυνατότητα αυτοματοποίησης Πολύ ευαίσθητη Χαμηλά όρια ανίχνευσης Υψηλές επιδόσεις σε προσδιορισμούς, προϊόντων, αντιδράσεων, δεσμεύσεων των αφλατοξινών	Πολύ καλές επιδόσεις στις άλλες μυκοτοξίνες
ELISA	Δυνατή η οπτική εκτίμηση Εύκολη, γρήγορη, ακριβής, Διαθέσιμα φτηνά αντιδραστήρια	Περιορίζεται σε λίγους διαλύτες Διασταυρούμενη παρεμπόδιση

2.1.8.4. Επικύρωση αναλυτικών τεχνικών προσδιορισμού Αφλατοξίνης M1–Διασφάλιση ποιότητας

Οι γενικές απαιτήσεις για τις μεθόδους ανάλυσης των τροφίμων, άρα και του προσδιορισμού AFM1 σε γάλα και γαλακτοκομικά καθορίζονται από τον Κανονισμό 882/2004 και αφορούν κριτήρια επίδοσης όπως ορθότητα, ευκολία εφαρμογής, όριο ανίχνευσης, όριο προσδιορισμού, ακρίβεια, επαναληψιμότητα, αναπαραγωγιμότητα και ανάκτηση. Οι ειδικές απαιτήσεις για τις μυκοτοξίνες περιγράφηκαν δύο χρόνια αργότερα στον κανονισμό 401/2006, όπου ποσοτικοποιήθηκαν συγκεκριμένα κριτήρια επίδοσης, όπως η ανάκτηση για εύρος συγκέντρωσης 0,01-0,05 μg Kg⁻¹ που συστήνεται να είναι στο 60-120% (Πίνακας 7).

Πίνακας 7: Κριτήρια επίδοσης αναλυτικών τεχνικών προσδιορισμού Αφλατοξινών (Καν 401/2006)

Κριτήριο	Συγκέντρωση Εύρος	Συνιστώμενη τιμή	Ανώτατη επιτρεπόμενη τιμή
Λευκά	Όλες οι συγκεντρώσεις	Αμελητέα	—
Ανάκτηση αφλατοξίνης M1	0,01-0,05 μg/kg	60 έως 120 %	
	> 0,05 μg/kg	70 έως 110 %	
Ανάκτηση αφλατοξινών B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	< 1,0 μg/kg	50 έως 120 %	
	1-10 μg/kg	70 έως 110 %	
	> 10 μg/kg	80 έως 110 %	
Πιστότητα RSD _R	Όλες οι συγκεντρώσεις	Παράγωγη της εξίσωσης του Horwitz	2 × παράγωγη τιμή της εξίσωσης του Horwitz

Τα κριτήρια επίδοσης των αναλυτικών μεθόδων που συμβάλλουν και στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων μπορούν να επικυρωθούν με βάση την Οδηγία 2002/657 όπου δίνονται λεπτομέρειες για τον τρόπο και το μοντέλο επικύρωσης που μπορεί να εφαρμόσει ένα αναλυτικό εργαστήριο. Οι διαθέσιμες στη βιβλιογραφία μέθοδοι για τον προσδιορισμό των AFs

επικυρώθηκαν στα πλαίσια πιλοτικού Ευρωπαϊκού προγράμματος και παράλληλα έγινε συγκριτική αξιολόγηση των διαθέσιμων μεθόδων, όπου και διατυπώθηκε η εντυπωσιακή απόδοση των περισσότερων μεθόδων στον προσδιορισμό εξαιρετικά χαμηλών συγκεντρώσεων AFs (Gilbert and Anklam, 2002). Οι Muscarella et al., (2007), επικύρωσαν την μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού της AFM1 σε γάλα βασιζόμενοι στην χρήση στηλών ανοσοσυγγένειας για την ειδική απομόνωση και χρωματογραφική ανάλυση HPLC-FLD για ποσοτικό προσδιορισμό της αφλατοξίνης και διαπίστωσαν πολύ καλή επίδοση της μεθόδου (ανάκτηση 91%, σχετική τυπική απόκλιση 15% και αβεβαιότητα 7%). Η επικύρωση έγινε σύμφωνα με την Οδηγία 2002/657 για την επίδοση των αναλυτικών μεθόδων και τον Κανονισμό 401/2006 για τον καθορισμό μεθόδων δειγματοληψίας και ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων μυκοτοξινών στα τρόφιμα. Παρά την ύπαρξη πολλών συγκριτικών μελετών αλλά και μελετών επικύρωσης μεθόδων για τον προσδιορισμό της AFM1, δεν διασφαλίζεται για κάθε εργαστήριο που τις εφαρμόζει και η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων του. Σε διεργαστηριακούς ελέγχους που διοργάνωσε το IRCA διαπιστώθηκε ότι μπορεί να υπάρχουν μεγάλες διακυμάνσεις στα αποτελέσματα. Στα πλαίσια διασφάλισης ποιότητας των αποτελεσμάτων του, κάθε εργαστήριο προσδιορισμού AFM1 οφείλει να συμμετέχει επιτυχώς σε διεργαστηριακούς ελέγχους και να χρησιμοποιεί υλικά αναφοράς, προκειμένου να μπορεί διαρκώς να αποδεικνύει την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων του (Henry et al., 2001; Nocentini et al., 2009; Shephard et al., 2010).

2.1.9. ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ

Η έκθεση του ανθρώπου στην AFM1 προέρχεται κυρίως από την κατανάλωση γάλακτος, συμπεριλαμβανομένου του μητρικού και γαλακτοκομικών προϊόντων (IARC, 2002). Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν πολυάριθμες μελέτες επιτήρησης ή ελέγχου του προβλήματος, ανά τον κόσμο και για διαφορετικά είδη γάλακτος και προϊόντων του. Στον Πίνακα 8 παρουσιάζονται συνοπτικά μελέτες της τελευταίας δεκαετίας με αναφορά στο είδος και των

αριθμό των δειγμάτων, στη χώρα, στη μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε και στα ευρήματα.

Πίνακας 8: Μελέτες επιτήρησης παρουσίας Αφλατοξίνης Μ1 σε γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα

ΕΤΟΣ	ΧΩΡΑ	ΕΙΔΟΣ ΚΑΙ ΑΡΙΘΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΜΕΘΟΔΟΣ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	ΠΗΓΗ
2000	ΕΛΛΑΔΑ	279 δείγματα γάλακτος (παστεριωμένο, UHT, HPLC συμπτυκνωμένο, νωπό αγελαδινό, πρόβειο και κατσικίσιο)	HPLC	Ποσοστό μόλυνσης από 66,7 - 93,3 %, με 5 δείγματα (1,79%) να υπερβαίνουν το όριο των 50 ng/l.	Rousi et al., 2002
2010	ΙΡΑΝ	272 δείγματα νωπού και παστεριωμένου γάλακτος	ELISA	Ποσοστό μόλυνσης 94,49% (0,007-115,93 ng/l), με 12 (4,4%) να υπερβαίνουν όριο των 50 ng/l.	Mohammadian et al., 2010
2005	ΕΛΛΑΔΑ	162 δείγματα πρόβειο γάλακτος, τυροπήγματος και τυριού φέτας	ELISA	Τα επίπεδα αφλατοξίνης Μ1 ήταν πολύ χαμηλότερα του αποδεκτού ορίου (μέγιστη τιμή 18 ng/l). Στα δείγματα του τυροπήγματος προσδιορίστηκαν υψηλότερα επίπεδα αφλατοξίνης Μ1, δίνοντας ένα μέσο παράγοντα εμπλουτισμού 4,9.	Kaniou-Grigoriadou et al., 2005
2008	ΙΤΑΛΙΑ	256 δείγματα τυριού, από αγελαδινό, βουβαλίσιο, κατσικίσιο, πρόβειο και πρόβειο-κατσικίσιο γάλα και επλεγμένα ανώριμα, μέσης και μακράς ωρίμανσης τυριά	ELISA	16,6% των δειγμάτων μολυσμένα με αφλατοξίνη Μ1. Το 31,3% ήταν πρόβειο-κατσικίσιο γάλα, το 27,2% αγελαδινό, το 16,7% κατσικίσιο και το 12,8% πρόβειο τυρί, ενώ τα δείγματα του βουβαλίσιου τυριού ήταν όλα αρνητικά. Συνολικά για όλα τα τυριά οι συγκεντρώσεις της αφλατοξίνης Μ1, κυμάνθηκαν από 50-250 ng/kg. .	Montagna et al., 2008
2005	ΙΡΑΝ	111 δείγματα νωπού γάλακτος	TLC	76,6% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη Μ1 (0,015 - 0,28 μg/l)	Kamkar, 2005
2001	ΤΟΥΡΚΙΑ	90 δείγματα νωπού γάλακτος	HPLC	87,77% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη Μ1, ενώ 44,30% υπερεβαίνουν το επιτρεπτό όριο	Bakirci, 2001
2003-2004	ΙΤΑΛΙΑ	208 δείγματα νωπού κατσικίσιου γάλακτος, 41 δείγματα σκληρών τυριών	ELISA	17,3% των δειγμάτων γάλακτος βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη Μ1 (5-40 ng/l), με εμφάνιση κυρίως στις ενταπικές εκτροφές αντί των εκταπικών. Στα τυριά βρέθηκε ποσοστό 9,8% μολυσμένο με αφλατοξίνη Μ1.	Viridis et al., 2008
2004	ΙΡΑΝ	319 δείγματα νωπού γάλακτος	HPLC	54% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη Μ1	Tajkarimi et al., 2008
2000	ΚΟΡΕΑ	180 δείγματα παστεριωμένου γάλακτος, βρεφικού γάλακτος, γάλακτος σκόνη και γαούρης.	ELISA, HPLC	76%, 85%, 75% και 83% των δειγμάτων αντίστοιχα βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη Μ1	Kim et al., 2000
2001-2002	ΤΟΥΡΚΙΑ	600 δείγματα τυριών	ELISA	5% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη Μ1	Yaroglu et al., 2005
2006	ΤΟΥΡΚΙΑ	129 δείγματα UHT γάλακτος	ELISA	58,1% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη Μ1, ενώ 47% ήταν πάνω από το επιτρεπτό όριο.	Unusan, 2006

2009	ΙΤΑΛΙΑ	356 δείγματα κωπού αγελαδινού γάλακτος	ELISA, HPLC	31,5% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1, ενώ 1 δείγμα βρέθηκε να υπερβαίνει το θεσπισμένο όριο των 50 ng L ⁻¹	Virdis et al., 2009
2008-2009	ΙΡΑΝ	50 δείγματα λευκού τυριού	ELISA	60% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1 (40,9-374 ng/kg), ενώ 6% βρέθηκε να υπερβαίνει το θεσπισμένο όριο	Tavakoli et al., 2012
2003	ΤΟΥΡΚΙΑ	400 δείγματα τυριών	ELISA	81,75% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1, ενώ 27,5% βρέθηκε να υπερβαίνει το θεσπισμένο όριο	Sarimehmetoglu et al., 2004
2000-2001	ΙΣΠΑΝΙΑ	92 δείγματα κωπού αγελαδινού γάλακτος	ELISA, HPLC	89,3% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1, ενώ 3,3% βρέθηκε να υπερβαίνει το θεσπισμένο όριο	Rodriguez et al., 2003
2004-2005	ΒΡΑΖΙΛΙΑ	36 δείγματα παστεριωμένου, UHT και σκόνης γάλακτος	HPLC	69,4% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1	Oliveira and Ferraz, 2007
2006	ΤΟΥΡΚΙΑ	110 δείγματα γιδιού γάλακτος	ELISA	63,6% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1 (5,16 -116,78 ng/kg), ενώ 6,4% βρέθηκε να υπερβαίνει το θεσπισμένο όριο	Ozdemir, 2007
2008	ΙΤΑΛΙΑ	265 δείγματα τυριών από αγελαδινό, βουβαλίσιο, γιδιό και πρόβειο γάλα.	ELISA, HPLC	16,6% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1	Montagna et al., 2008
2007	ΙΡΑΝ	110 δείγματα γάλακτος εμπορίου	ELISA	100% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1, ενώ 5,4% βρέθηκε να υπερβαίνει το θεσπισμένο όριο	Karimi et al., 2007
2011	ΤΟΥΡΚΙΑ	127 δείγματα λευκού τυριού άλης από κωπό γάλα	ELISA	28,3% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1 (70,6 -770,97 ng/kg), ενώ 10,2% βρέθηκε να υπερβαίνει το θεσπισμένο όριο	Kav et al., 2011
2000	ΙΤΑΛΙΑ	240 δείγματα γιδιού γάλακτος	HPLC, LC/MS	81% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1 (2 - 108 ng/L), ενώ 3 δείγματα βρέθηκαν να υπερβαίνουν το θεσπισμένο όριο	Bognanno et al., 2006
2002-2003	ΤΟΥΡΚΙΑ	223 δείγματα γαλακτοκομικών προϊόντων	ELISA	90,58% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1, ενώ 8,52% βρέθηκαν να υπερβαίνουν το θεσπισμένο όριο	Aycicek et al., 2005
2011	ΑΙΓΥΠΤΟΣ	141 δείγματα γαλακτοκομικών προϊόντων	ELISA	54,6% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1	Ayoub et al., 2011
2010	ΠΑΚΙΣΤΑΝ	169 δείγματα γάλακτος	HPLC	34,5%, 37,5%, 20% και 16,7% των δειγμάτων βουβαλίσου, αγελαδινού, γιδιού και πρόβειου γάλακτος αντίστοιχα, βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1, ενώ δεν ανιχνεύτηκε αφλατοξίνη M1 σε κανένα δείγμα γάλακτος καμήλας.	Hussain et al., 2010
2004	ΙΝΔΙΑ	87 δείγματα βρεφικού γάλακτος	ELISA	87,3% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1, ενώ το 99% των μολυσμένων δειγμάτων βρέθηκε να υπερβαίνει το θεσπισμένο Ευρωπαϊκό όριο	Rastogi et al., 2004
2008	ΠΑΚΙΣΤΑΝ	360 δείγματα βουβαλίσου γάλακτος και 120 αγελαδινού	HPLC	42,5% και 52,5% των δειγμάτων αντίστοιχα βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1	Hussain et al., 2008
2006	ΙΝΔΙΑ	113 δείγματα φρέσκου γάλακτος	ELISA	42,5% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1	Nuryono et al., 2009
2006	ΙΡΑΝ	80 δείγματα τυριών	TLC	82,5% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1	Kamkar, 2006
2004-2005	ΚΟΛΟΜΒΙΑ	241 δείγματα γάλακτος εμπορίου	ELISA	9,4% των δειγμάτων βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1	Diaz and Espitia, 2006
2001	Ηνωμένο Βασίλειο	50 δείγματα γάλακτος εμπορίου και 50 δείγματα κωπού γάλακτος	HPLC	3% των δειγμάτων συμβατικών εκτροφών βρέθηκαν μολυσμένα με αφλατοξίνη M1 (0,01 - 0,021 mg/l). Δεν ανιχνεύτηκε αφλατοξίνη M1 σε κανένα δείγμα γάλακτος εμπορίου.	FSA, 2001

Από τον Πίνακα 8 προκύπτει ότι το πρόβλημα της παρουσίας AFM1 είναι σημαντικό και έχει διεθνή διάσταση, με εμφάνιση περιπτώσεων κυρίως στην λεκάνη της Μεσογείου, στην Ασία και την Αφρική, κάτι που αποδίδεται κυρίως στις κλιματολογικές συνθήκες (Garcia et al., 2009; EFSA, 2012).

Από την ανάλυση επικινδυνότητας αναφορικά με την παρουσία AMF1 στις διάφορες χώρες της Ευρώπης, προκύπτει ότι λόγω κλιματολογικών συνθηκών η κεντρική και βόρεια Ευρώπη δεν θεωρείται επικίνδυνη για την εμφάνιση AFM1, ενώ οι μεσογειακές χώρες (Πορτογαλία, Ισπανία, Ιταλία και Ελλάδα) παρουσιάζονται ως πιο επικίνδυνες (Garcia et al., 2009; EFSA, 2012). Παρόλα αυτά η ελεύθερη και εύκολη διακίνηση ζωοτροφών στην Ευρωπαϊκή Ένωση αυξάνει τις πιθανότητες εμφάνισης περιστατικών σε όλη την Ευρώπη. Με βάση το σύστημα έγκαιρης ειδοποίησης της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Rapid Alert System for Food and Feed-RASFF), τη δεκαετία 2003-2013 υπήρξαν 7 καταχωρήσεις αναφορικά με γάλα και προϊόντα γάλακτος μολυσμένα με AFM1 (Πίνακας 9) (RASFF, 2013).

Πίνακας 9: Καταχωρήσεις περιστατικών μόλυνσης με Αφλατοξίνης M1 στο σύστημα έγκαιρης ειδοποίησης (RASFF, 2013)

Ημερομηνία	Χώρα ελέγχου	μg/kg AFM1	Εμπλεκόμενο τρόφιμο	Χώρα προέλευσης
26/11/2012	ΙΤΑΛΙΑ	0,073	νωπό γάλα	Ουγγαρία
25/10/2012	ΣΛΟΒΕΝΙΑ	0,074	νωπό γάλα	Ουγγαρία
22/10/2012	ΙΤΑΛΙΑ	0,095	νωπό γάλα	Ουγγαρία
23/01/2012	ΙΤΑΛΙΑ	0,072	νωπό γάλα	Ουγγαρία
17/01/2012	ΙΤΑΛΙΑ	0,183	νωπό γάλα	Σλοβενία
17/09/2007	ΙΤΑΛΙΑ	0,450	νωπό γάλα	Ουγγαρία
19/09/2005	ΟΛΛΑΝΔΙΑ	0,085	ζυμούμενο προϊόν γάλακτος	Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής

Στην Ελλάδα, οι βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με την ανίχνευση της AFM1 είναι περιορισμένες, ενώ με βάση την ανάλυση επικινδυνότητας η χώρα θεωρείται ως επικίνδυνη για την εμφάνιση τέτοιων περιστατικών.

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2000-2001 στην Ελλάδα, αναλύθηκαν 297 δείγματα παστεριωμένου γάλακτος, UHT γάλακτος και συμπυκνωμένου γάλακτος εμπορίου καθώς και δείγματα νωπού αγελαδινού, πρόβειου και γίδινου γάλακτος. Ποσοστό 1,79% βρέθηκε πάνω από το ανώτατο επιτρεπτό όριο, ενώ AFM1 ανιχνεύτηκε 73,3% και 76,7% στο νωπό πρόβειο και γίδινο γάλα αντίστοιχα (Rousi et al., 2002). Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2005, αναλύθηκαν 162 δείγματα πρόβειου γάλακτος και τυριού και δεν ανιχνεύτηκαν δείγματα με AFM1 πάνω από το ανώτατο επιτρεπτό όριο, με ανώτερη τιμή τα $18,2 \text{ ng l}^{-1}$ (Κανίου-Grigoriadou et al., 2005). Το 2011 αναφέρθηκε περιστατικό ανάκλησης πρόβειων γιαουρτιών στην περιοχή της Θεσσαλίας, με ποσοστό AFM1 πάνω από το ανώτατο επιτρεπτό όριο (ΕΦΕΤ, 2011). Τα δεδομένα από την αρμόδια Διεύθυνση του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, που ασχολείται με το εθνικό πρόγραμμα ελέγχου γάλακτος, δείχνουν ότι οι έλεγχοι είναι σχετικά περιορισμένοι σε αριθμό και τα ποσοστά δειγμάτων με AFM1 άνω του επιτρεπτού ορίου είναι μηδενικά έως 1% (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2012b).

2.1.9.1. Παράγοντες επικινδυνότητας εμφάνισης Αφλατοξίνης M1 στο γάλα

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την εμφάνιση AFM1 στο γάλα αφορούν τις γεωκλιματικές συνθήκες, το είδος των ζωοτροφών, τα χαρακτηριστικά ζώου και τις διάφορες πρακτικές εκτροφής (EFSA, 2012; Garcia et al., 2009; Kensler et al., 2011; Moss et al., 2002). Αναλυτικά:

Γεωκλιματικές συνθήκες: Οι κλιματικές συνθήκες μιας περιοχής επηρεάζουν τόσο την ανάπτυξη των μυκήτων όσο και την παραγωγή μυκοτοξινών πριν τη συγκομιδή, κατά τη συγκομιδή και κατά την αποθήκευση των ζωοτροφών (Magan et al., 2011). Χώρες που παρουσιάζουν θερμοκρασίες άνω των 30°C θεωρούνται ως επικίνδυνες για την παραγωγή AF (Paterson and Lima, 2010), σε συνδυασμό και με την εμφάνιση θερμοανθεκτικών μυκήτων (Tassou et al.,

2007). Η έλλειψη νερού μπορεί επίσης να επηρεάσει την παραγωγή AFs (Schmidt-Heydt et al., 2008). Τέλος οι αυξημένες συγκεντρώσεις CO₂, αποτελούν παράγοντα που ευνοεί την ανάπτυξη των αφλατοξινογόνων μυκήτων (Magan and Aldred, 2007).

Με βάση τα παραπάνω, πέρα από τις αλλαγές στα επίπεδα μόλυνσης με AF που αναμένονται λόγω της κλιματικής αλλαγής στο πλανήτη, είναι σαφές ότι υπάρχουν διαφορές και από χώρα σε χώρα αλλά καθώς και εποχιακή διακύμανση. Συγκεκριμένα χώρες με τροπικά και υποτροπικά κλίματα (Ασία, Αφρική) (Streit et al., 2012) χαρακτηρίζονται ως πιο επικίνδυνες στην εμφάνιση υψηλών επιπέδων AF. Παρόλα αυτά όμως, οι Miraglia et al., (2009) διαπιστώνουν ότι η εμφάνιση των μυκοτοξινών θα αλλάξει και στην Ευρώπη λόγω της αύξησης της θερμοκρασίας. Χώρες της λεκάνης της Μεσογείου θεωρούνται επιρρεπής στην εμφάνιση AF (Garcia et al., 2009).

Αναφορικά με την εποχιακή διακύμανση είναι προφανές, ότι οφείλεται στις διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες που υπάρχουν αλλά και στις διαφορετικές διατροφικές συνήθειες των ζώων ανά εποχή. Υψηλότερα ποσοστά AFM1 στο γάλα παρουσιάζονται κυρίως κατά τη διάρκεια του χειμώνα, μιας και τα ζώα καταναλώνουν κυρίως καρπούς, που μπορεί να είναι πιο επιβαρυνμένα με AFs σε σύγκριση με τα φυτά των βοσκοτόπων (Celik et al., 2005). Μελέτες παρακολούθησης των επιπέδων μόλυνσης του γάλακτος κατά τη διάρκεια του έτους σε ασιατικές και μεσογειακές χώρες, καταλήγουν στο ότι τα ποσοστά είναι υψηλότερα κατά του χειμερινούς μήνες (Kamkar, 2005; Bakirci, 2001; Tajkarimi et al., 2008 Deveci and Sezgin, 2005; Unusan, 2006; Mohammadian et al., 2010).

Ζωοτροφές: Αν και οι γεωκλιματικές συνθήκες είναι ο σημαντικότερος παράγοντας για την παρουσία AFs, υπάρχουν και πολλοί άλλοι παράγοντες που εμπλέκονται όπως η ποικιλία κτηνοτροφικών φυτών που καλλιεργούνται, η εναλλαγή καλλιεργειών, ο χρόνος φύτευσης κ.α. (Jounay, 2007). Ζωοτροφές υψηλού κινδύνου για την παρουσία AFs θεωρούνται το καλαμπόκι, το σιτάρι, η βρώμη, το κριθάρι, η σίκαλη και η βαμβακόπιτα, ενώ η σόγια θεωρείται σχετικά ανθεκτική (EFSA, 2012; Creppy, 2002; Streit et

al., 2012). Έχουν αναφερθεί και ποικιλίες ανθεκτικές στους αφλατοξινογόνους μύκητες (Menkir et al., 2006; Yu et al., 2005). Πέρα από τους προσυλλεκτικούς χειρισμούς των κτηνοτροφικών φυτών, σημαντικό ρόλο στην παρουσία αφλατοξινογόνων μυκήτων διαδραματίζουν οι χειρισμοί κατά την συλλογή και επεξεργασία των φυτών αλλά και οι χειρισμοί κατά την αποθήκευση (Magan and Aldred, 2007). Σημαντικός παράγοντας στην εμφάνιση των αφλατοξινογόνων μυκήτων είναι και η χρήση σκευασμάτων ελέγχου τους κατά τη φάση της καλλιέργειας. Σε μελέτες σύγκρισης παρουσίας μυκοτοξινών σε συμβατικές και βιολογικές καλλιέργειες, όπου χρησιμοποιούνται ή όχι μυκητοκτόνες ουσίες αντίστοιχα, δεν διατυπώθηκαν ξεκάθαρα συμπεράσματα μιας και πολλοί άλλοι παράγοντες επηρεάζουν την μυκητιακή μόλυνση των κτηνοτροφικών φυτών (Jounay, 2007; Kouba, 2003).

Χαρακτηριστικά ζώου: Ανθεκτικότητα στην αφλατοξίκωση έχει αναφερθεί σε διαφορετικά είδη ζώων (Niranjan et al., 1986; Gorelick, 1990). Το είδος του κάθε γαλακτοπαραγωγού ζώου παρουσιάζει επιπλέον διαφορετικούς ρυθμούς έκκρισης της AFM1 στο γάλα. Συγκεκριμένα τα ποσοστά έκκρισης για τις αγελάδες είναι 0,20%-6,20%, για τα πρόβατα 0,03-0,25% και για τις γίδες 0,40% (Rao and Chopra, 2001; Battacone et al., 2003; Ozdemir, 2007; Romero et al., 2010). Το ποσοστό της έκκρισης επηρεάζεται πέρα από το είδος και από τη φυλή, τη διατροφή, το ρυθμό κατανάλωσης και πέψης, την υγεία του ζώου, την φάση της γαλακτοπαραγωγής (υψηλότερα ποσοστά στην αρχή) και τη συνολική ποσότητα παραγόμενου γάλακτος (Martins and Martins, 2000; Hussein and Brasel, 2001).

Πρακτικές εκτροφής: Οι συνθήκες αποθήκευσης των ζωοτροφών στην εκτροφή μπορούν να επηρεάσουν την παρουσία AFM1 στο γάλα. Για παράδειγμα το καλαμπόκι και το ενσίρωμα καλαμποκιού θεωρούνται από τις πιο επικίνδυνες ζωοτροφές για την παρουσία AFs, λόγω της ευαισθησίας τους κατά την αποθήκευση (Prandini et al., 2009a). Σε περίπτωση προσβολής των καρπών από έντομα, σε αυξημένες θερμοκρασίες και υγρασία κατά την αποθήκευση οι καρποί, ανάλογα και με την ευαισθησία τους, μπορούν να εμφανίσουν υψηλά ποσοστά AFs (Kensler et al., 2011).

Επιπλέον, ο τύπος της εκτροφής (εκτατική/εντατική, βιολογική/συμβατική) ενδεχομένως να επηρεάζει τα ποσοστά AFM1 στο γάλα μιας και ο τρόπος εκτροφής καθορίζει κυρίως τον τρόπο διατροφής αλλά και το είδος των ζωοτροφών που χρησιμοποιούνται. Οι δημοσιευμένες έως σήμερα μελέτες παρουσιάζουν αντικρουόμενες απόψεις για το αν ο τρόπος εκτροφής επηρεάζει ή όχι το ποσοστό μόλυνσης του γάλακτος με AFM1. Μελέτες υποστηρίζουν ότι ο εκτατικός τρόπος εκτροφής (Virdis et al., 2008) και η βιολογική εκτροφή ζώων (Vallone et al., 2006) λειτουργούν προστατευτικά, ενώ σε άλλες μελέτες διατυπώνεται ότι δεν υπάρχει διαφορά στις βιολογικές και συμβατικές εκτροφές (FSA, 2001) ή ακόμα και ότι είναι πιο πιθανό να εμφανιστεί AFM1 στις βιολογικές εκτροφές (Ghidini et al., 2005).

2.1.9.2. Η επίδραση της Αφλατοξίνης M1 στο γάλα και τα παραγόμενα προϊόντα

Επίδραση AFM1 στη χημική σύσταση

Οι απόψεις στην διεθνή βιβλιογραφία αναφορικά με την επίδραση της AFM1 στη χημική σύσταση του γάλακτος είναι πολλές φορές αντικρουόμενες. Οι Battacone et al., (2003) μετά από χορήγηση AFB1 σε προβατίνες δεν διαπίστωσαν διαφορές στις συγκεντρώσεις του λίπους, των πρωτεϊνών και της λακτόζης του γάλακτος. Αντίθετα, σε αντίστοιχη μελέτη στην Ελλάδα αναφέρεται μείωση του λίπους σε αίγες μετά από χορήγηση AFB1 (Kourousekos et al., 2012). Σχετικά με την επίδραση της AFM1 στη περιεκτικότητα του γάλακτος σε λακτόζη, οι περισσότεροι μελετητές αναφέρουν ότι αυτή δεν επηρεάζεται (Battacone et al., 2003; Kourousekos et al., 2012).

Σταθερότητα AFM1 στο γάλα και τα προϊόντα του

Η ποσότητα της AFM1 στο γάλα δεν διαφοροποιείται σημαντικά κατά τη συντήρηση υπό ψύξη και κατάψυξη αλλά ούτε και με τις διάφορες θερμικές επεξεργασίες του γάλακτος (Henry et al., 2001; Prandini et al., 2009a). Μελέτες αναφέρουν ότι μικρό ποσοστό AFM1 μεταφέρεται στην κρέμα και ένα ακόμη μικρότερο ποσοστό στο βούτυρο (Henry et al., 2001; Aydemir-Atasever et al., 2011). Κατά την παραγωγή της γιαούρτης μπορεί να

παρατηρηθεί μείωση της συγκέντρωσης της AFM1, λόγω της δράσης των οξυγαλακτικών βακτηρίων, χωρίς όμως να εξαφανίζεται (Govaris et al., 2002). Αναφορικά με τα τυριά παρατηρείται εμπλουτισμός της AFM1 (Oruc et al., 2006; Κανίου-Grigoriadou et al., 2005). Ως ημιπολική ένωση και ελαφρά διαλυτή στο νερό η AFM1 συνδέεται με το υδρόφοβο τμήμα της καζεΐνης του γάλακτος και κατά συνέπεια εμφανίζεται εμπλουτισμός στα παραγόμενα προϊόντα (Κανίου-Grigoriadou et al., 2005). Ο εμπλουτισμός της AFM1 στα τυριά έχει προσδιοριστεί στο 2,5-3,3 για τα μαλακά τυριά και 3,09-5,08 στα σκληρά τυριά (Henry et al., 2001), ενώ άλλοι μελετητές αναφέρουν συντελεστή εμπλουτισμού έως και 7,2 (Ewaïdah, 1989). Κατά την φάση της ωρίμανσης στα σκληρά τυριά μπορεί να παρουσιαστεί μείωση 10% στα επίπεδα AFM1 λόγω της δράσης μικροοργανισμών (Henry et al., 2001). Σε μέσης και μακράς διάρκειας ωρίμανση όμως μπορεί να διαπιστωθεί επιπλέον αύξηση της συγκέντρωσης της AFM1, λόγω της απώλειας νερού (Montagna et al., 2008).

2.1.9.3. Μέθοδοι αντιμετώπισης και πρόληψη

Αδρανοποίηση Αφλατοξίνης M1

Έχει αναφερθεί ότι η AFM1 πειραματικά μπορεί να μειωθεί ή και να εξαλειφθεί με την εφαρμογή υπεροξειδίου του υδρογόνου σε συνδυασμό με θέρμανση (Aman, 1992) καθώς και με τη χρήση των μικροοργανισμών *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* (Kabak and Var, 2008), δεδομένα που δεν έχουν επαληθευτεί και χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης. Οι περισσότερες μελέτες αναφέρουν ότι πρακτικά η AFM1 δεν μπορεί να εξαλειφθεί από το μολυσμένο γάλα ή προϊόν γάλακτος και για το λόγο αυτό το ενδιαφέρον εστιάζεται στην πρόληψη εμφάνισης της με την αδρανοποίηση της AFB1. Η πρόδομη αυτή ουσία μπορεί να μειωθεί με την εφαρμογή ορθών γεωργικών πρακτικών, ορθής αποθηκευτικής πρακτικής για τις ζωοτροφές αλλά και με την εφαρμογή φυσικών ή χημικών επεξεργασιών. Συγκεκριμένα με θέρμανση, εφαρμογή μικροκυμάτων, γ-ακτινοβολίας, Χ-ακτινοβολίας και υπεριώδους ακτινοβολίας. Επιπλέον, η προσρόφηση της AFB1 από διάφορες ουσίες, όπως ενυδατωμένο αργιλοπυριτικό νάτριο, η αμμωνιοποίηση των ζωοτροφών και η επεξεργασία

με οξύ μπορούν να μειώσουν τα επίπεδα της πρόδομης τοξίνης στις ζωοτροφές και κατά συνέπεια να μειώσουν την πιθανότητα εμφάνισης AFM1 στο γάλα (Kensler et al., 2011; Creppy, 2002). Η αποδόμηση της AFB1 μπορεί να επιτευχθεί και με τη χρήση μικροοργανισμών, όπως το *Flavobacterium aurantiacum*, η *Nocardia asteroides*, το *Corynebacterium rubrum*, το *Mycobacterium fluoranthenorans* και το *Rhodococcus erythropolis*, το πρωτόζωο *Tetrahymena pyriformis*, ο *Pleurotus ostratus* και η *Armillariella tabescens* (EFSA, 2009). Ο μεταβολισμός της AFB1 μπορεί να παρεμποδιστεί *in vitro* (σε ανθρώπινα ηπατοκύτταρα) και *in vivo* (σε επίμυες) με την ολιπιράζη, μια διαδικασία που βρίσκεται υπό εξέλιξη (Creppy et al., 2002). Πρόσφατα επίσης δημοσιεύτηκε έρευνα που πρότεινε τον εμβολιασμό αγελάδων με αφλατοξίνη B1 συζευγμένη με αιμοκυανίνη για μείωση ή και εξάλειψη του ποσοστού μετατροπής σε AFM1 (Polonelli et al., 2011), αποτελέσματα που βρίσκονται υπό διερεύνηση αναφορικά με το μηχανισμό δράσης του εμβολιασμού.

Νομοθετικό πλαίσιο

Τα ανώτατα επιτρεπτά επίπεδα AFM1 στο γάλα έχουν θεσμοθετηθεί στην Ευρωπαϊκή Ένωση με τον Κανονισμό 1881/2006, όπως τροποποιήθηκε και ισχύει. Συγκεκριμένα το όριο για το γάλα είναι $0,050\mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ για το βρεφικό γάλα είναι $0,025\mu\text{g kg}^{-1}$. Παρόλες τις μελέτες των τελευταίων ετών για σταθερότητα της AFM1 στα προϊόντα γάλακτος ή ακόμα και τον εμπλουτισμό τους με AFM1, δεν υπάρχει θεσπισμένο όριο στην Ευρωπαϊκή Νομοθεσία για τα προϊόντα αυτά.

Σε διεθνές επίπεδο υπάρχουν σημαντικές διαφορές στα θεσπισμένα όρια, κάτι που δημιουργεί προβλήματα στο διεθνές εμπόριο αλλά και προκαλεί σύγχυση στον καταναλωτή. Στις Η.Π.Α. για παράδειγμα το ανώτατο επιτρεπτό όριο της AFM1 στο γάλα είναι $0,50\mu\text{g/kg}$, σημαντικά πιο υψηλό συγκρινόμενο με αυτό της Ευρώπης. Το ανώτατο επιτρεπόμενο όριο για την AFM1 στο γάλα στην ΕΕ είναι από τα χαμηλότερα στον κόσμο (EFSA, 2004). Στον Πίνακα 10 παρουσιάζονται τα θεσπισμένα όρια για AFM1 σε διάφορες χώρες και διάφορα προϊόντα.

Πίνακας 10: Ανώτατα επιτρεπτά όρια Αφλατοξίνης M1 (Καν. 1881/2006; Creppy, 2002; Celik et al., 2005)

Χώρα	µg/Kg AFM1	Προϊόν
ΕΕ	0,050	γάλα
	0,025	βρεφικό γάλα
ΗΠΑ	0,50	γάλα
Ελβετία	0,05	γάλα και γαλακτοκομικά
	0,02	βρεφικό γάλα
	0,25	τυρί
Βραζιλία	0,50	γάλα
	5,00	σκόνη γάλακτος
Αργεντινή	0,05	γάλα
	0,50	προϊόντα γάλακτος
Ονδούρα	0,05	γάλα
	0,25	τυρί
Νιγηρία	1,00	γάλα
Τουρκία	0,05	γάλα
	0,25	τυρί

Έλεγχοι

Ο μόνος ουσιαστικός τρόπος πρόληψης και κατά συνέπεια προστασίας του καταναλωτή από την παρουσία της AFM1 στο γάλα και τα προϊόντα του είναι οι συστηματικοί έλεγχοι και παρακολούθηση των παραγόμενων προϊόντων. Κάτι τέτοιο γίνεται με τους αυτοελέγχους που είναι υποχρεωμένη η βιομηχανία γάλακτος να εκτελεί (Καν. 852/2004) αλλά και με τους επίσημους ελέγχους που διενεργούν οι αρμόδιες αρχές για τα τρόφιμα (Καν. 882/2004; Καν 854/2004).

Οι αυτοέλεγχοι της βιομηχανίας γάλακτος αφορούν ουσιαστικά τους ελέγχους της πρώτη ύλης (γάλα) για τα επίπεδα AFM1. Η βιομηχανία για οικονομία χρόνου αλλά και για λόγους κόστους επιλέγει να χρησιμοποιεί γρήγορα τεστ προσδιορισμού AFM1 με συχνότερα εφαρμοζόμενη τη μέθοδο ELISA. Οι αυτοέλεγχοι αυτοί στη βιομηχανία αποτελούν μέρος της εφαρμογής συστήματος διασφάλισης της ασφάλειας του παραγόμενου τροφίμου, βασισμένο στις αρχές της Ανάλυσης Κινδύνου Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου (Hazard Analysis Critical Control Points-HACCP). Η αποτελεσματικότητα των ελέγχων κρίνεται ικανοποιητική, μιας και πολλές ειδοποιήσεις για παρουσία AFM1 στο σύστημα έγκαιρης ειδοποίησης της ΕΕ (Rapid Alert System for Food and Feed-RASFF) προέρχονται από αυτοελέγχους (RASFF, 2013).

Οι επίσημοι έλεγχοι που εφαρμόζουν οι αρμόδιες αρχές αφορούν ουσιαστικά την επιτήρηση των επιπέδων AFM1 στο γάλα και γίνονται με τυχαίο δειγματοληπτικό έλεγχο με βάση το γαλακτοπαραγωγό ζωικό κεφάλαιο κάθε χώρας αλλά και την ετήσια παραγόμενη ποσότητα γάλακτος (EC, 2012). Σε σύνολο 1932 δειγμάτων που αναλύθηκαν στα κράτη-μέλη της ΕΕ κατά το έτος 2010 βρέθηκαν 7 δείγματα που υπερέβαιναν το ανώτατο επιτρεπτό όριο για την AFM1, όλα προερχόμενα από το πρόγραμμα ελέγχου της Ιταλίας και αφορούσαν αγελαδινό, πρόβειο και βουβαλίσιο γάλα (EC, 2012). Στην Ελλάδα αρμόδια για το συντονισμό του προγράμματος ελέγχου AFM1 στο γάλα είναι η Διεύθυνση Κτηνιατρικής του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. Τις δειγματοληψίες διενεργούν οι κατά τόπους Διευθύνσεις Κτηνιατρικής και τα δείγματα αναλύονται στο Εθνικό Εργαστήριο Αναφοράς για Μυκοτοξίνες, στο Κέντρο Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων Αθηνών (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης, 2011). Ελέγχους στα σημεία λιανικής πώλησης για την παρουσία AFM1 διενεργεί ο Ενιαίος Φορέας Ελέγχου Τροφίμων (ΕΦΕΤ), ο οποίος είναι υπεύθυνος και για την ανάκληση των προϊόντων (ΕΦΕΤ, 2011b).

2.1.10. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗ Μ1

Ο προσδιορισμός της έκθεσης στον κίνδυνο αποτελεί σημαντικό εργαλείο για την αξιολόγηση της επικινδυνότητας της AFM1 για την ανθρώπινη υγεία. Ουσιαστικά πρόκειται για την ποιοτική ή/και ποσοτική αξιολόγηση του ποσοστού πρόσληψης που μπορεί να συμβεί με σημερινά διατροφικά δεδομένα για ένα συγκεκριμένο πληθυσμό. Ο προσδιορισμός της έκθεσης αποτελεί κρίσιμη παράμετρο προκειμένου να γίνει η διαχείριση του κινδύνου μέσα από τη χάραξη πολιτικών, που αφορούν θέσπιση ορίων και ελέγχους επιτήρησης, έτσι ώστε να διασφαλιστεί η προστασία του καταναλωτή και η Δημόσια Υγεία (WHO, 2005).

Με βάση τα χαρακτηριστικά ανάπτυξης αφλατοξινογόνων μυκήτων και την παραγωγή AF, είναι προφανές ότι οι εναλλαγές στην παρουσία της AF μπορούν δύσκολα να προβλεφθούν δεδομένου ότι επηρεάζεται κυρίως από τις κλιματικές αλλαγές στο πλανήτη. Για το λόγο αυτό ο ακριβής και συνεχής

προσδιορισμός της διατροφικής έκθεσης μπορεί να λειτουργήσει σαν μέτρο πρόληψης.

Συγκεκριμένα, η έκθεση του ανθρώπου στην AFM1 προέρχεται κατά ένα μεγάλο μέρος από την κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων καθώς επίσης και από τον ενδογενή μεταβολισμό της AFB1 στο ήπαρ και την παραγωγή AFM1 ως έναν από τους μεταβολίτες της (Neal et al., 1998). Μετά από αναλύσεις μεγάλου αριθμού δειγμάτων γάλακτος, έχει υπολογιστεί ότι η μέση συγκέντρωση AFM1 στο γάλα είναι $0,023\mu\text{g kg}^{-1}$ στην Ευρώπη, $0,022\mu\text{g kg}^{-1}$ στη Λατινική Αμερική, $0,36\mu\text{g kg}^{-1}$ στην Άπω Ανατολή, $0,005\mu\text{g kg}^{-1}$ στη Μέση Ανατολή και $0,002\mu\text{g kg}^{-1}$ στην Αφρική. Με βάση τις διατροφικές συνήθειες ανά ήπειρο υπολογίστηκε η ημερήσια πρόσληψη AFM1 ανά άτομο: $6,8\text{ng}$ για την Ευρωπαϊκή διαίτα, $3,5\text{ng}$ για την διαίτα της Λατινικής Αμερικής, 12ng για τη διαίτα της Άπω Ανατολής, $0,7\text{ng}$ για τη διαίτα Μέσης Ανατολής και $0,1\text{ ng}$ για την Αφρικανική διαίτα (Creppy, 2002; IARC, 2002).

Η παρουσία της AFM1 στο γάλα και τα προϊόντα του είναι ιδιαίτερης σοβαρότητας, λόγω της υψηλής κατανάλωσης που έχουν τα προϊόντα αυτά ιδιαίτερα κατά την βρεφική-παιδική-εφηβική ηλικία. Λαμβάνοντας υπόψη το ανεκτό ημερήσιο όριο πρόσληψης (tolerable daily intake -TDI), που έχει προσδιοριστεί στα $14\text{ng}/\text{άτομο}$ με μέσο σωματικό βάρος 70kg (Kuiper-Goodman, 1990), το όριο πρόσληψης των $15\text{ng}/\text{άτομο}$ που έχει υπολογιστεί στην Ευρώπη μπορεί να αποτελεί σημαντική δόση (Prandini et al., 2009a). Σε αξιολόγηση της ανθρώπινης έκθεσης στις μυκοτοξίνες από το γάλα και τα προϊόντα του, προέκυψε ότι η AFM1 αποτελεί την σοβαρότερη τοξίνη, μιας και βρέθηκε επανειλημμένα στην Ευρώπη να υπερβαίνει τα ανώτατα επιτρεπτά όρια κατά πολύ (Coffey et al., 2009).

Σε προσδιορισμό διατροφικής έκθεσης στην AFM1 που πραγματοποιήθηκε στη Γαλλία, προέκυψε έκθεση $0,09$ και $0,22\text{ng}/\text{kg}\Sigma\text{B}/\text{ημέρα}$ για ενήλικες και παιδιά αντίστοιχα (Leblanc et al., 2005). Σε ανάλογη μελέτη στην Ισπανία η διατροφική έκθεση στην AFM1 είχε εύρος $2,9-6,1\text{ng}/\text{άτομο}/\text{ημέρα}$ (Cano-Sancho et al., 2010), ενώ αντίστοιχη μελέτη στην Αργεντινή προσδιόρισε την έκθεση στην AFM1 στα $0,122\text{ng}/\text{kg}/\text{ημέρα}$ (Signorini et al., 2012). Για την

Ελλάδα δεν υπάρχουν, γνωστά σε εμάς, δεδομένα διατροφικής έκθεσης, αν και η χώρα ανήκει στην επικίνδυνη κλιματική ζώνη για παρουσία AFM1 στο γάλα και τα προϊόντα του.

Συμπερασματικά, βάσει των παραπάνω δεδομένων η διατροφική έκθεση στην AFM1 δεν είναι αμελητέα και αυτό θα πρέπει να αποτελεί ένα σημαντικό λόγο επαγρύπνησης. Τα βρέφη θεωρούνται πληθυσμός με τη μεγαλύτερη έκθεση στον κίνδυνο λόγω του σχήματος διατροφής τους και παράλληλα αποτελούν ευαίσθητο πληθυσμό λόγω της ηλικίας τους (Turconi et al., 2004). Το γάλα αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της διατροφής του ανθρώπου και ως εκ τούτου η ασφάλεια του κρίνεται ιδιαίτερης σημασίας.

2.2. Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗ

2.2.1. ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

Το γάλα αποτελεί μια πλήρη τροφή και άριστη πηγή θρεπτικών στοιχείων για τον άνθρωπο. Από πολλούς ερευνητές το γάλα έχει χαρακτηριστεί ως σημαντική πηγή βιοενεργών συστατικών με ουσιαστικό ρόλο στην πρόληψη της αρτηριοσκλήρυνσης, της υπέρτασης και του διαβήτη (Severin and Wenshui, 2005; Palmquist et al., 2006).

Το βασικό συστατικό του γάλακτος με ιδιαίτερη διατροφική αξία είναι οι πρωτεΐνες του, οι οποίες διακρίνονται σε καζεΐνες και οροπρωτεΐνες και αποτελούν πηγή απαραίτητων αμινοξέων για τον ανθρώπινο οργανισμό. Οι πρωτεΐνες του γάλακτος είναι υψηλής βιολογικής αξίας. Περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα και είναι πλούσιες σε ιστιδίνη, αμινοξύ που χρειάζεται ιδιαίτερα ο οργανισμός των νεαρών ατόμων. Γενικά οι πρωτεΐνες του γάλακτος υπερτερούν από όλες τις άλλες ζωικές πρωτεΐνες με εξαίρεση αυτές του αυγού (Μάντης, 2000). Η περιεκτικότητα των διαφόρων ειδών γάλακτος σε αμινοξέα παρουσιάζεται στον Πίνακα 11.

Πίνακας 11: Περιεκτικότητα γάλακτος σε αμινοξέα (Barlowska et al., 2011)

Αμινοξύ	Συγκέντρωση αμινοξέων (g/100g πρωτεΐνης)				
	Τιμή Αναφοράς FAO/WHO	Αγελαδινό	Πρόβειο	Γίδινο	Ανθρώπινο
Ασπαρτικό οξύ (Asp)		7,8		7,4	8,3
Θρεονίνη (Thr)	4,0	4,5	4,2	5,7	4,6
Σερίνη (Ser)		4,8		5,2	5,1
Γλουταμινικό οξύ (Glu)		23,2		19,3	17,8
Προλίνη (Pro)		9,6		14,6	8,6
Κυστεΐνη (Cys)	3,5 (Cys+Met)	0,6	0,8	0,6	1,7
Γλυκίνη (Gly)		1,8		2,1	2,6
Αλανίνη (Ala)		3,0		3,6	4,0
Βαλίνη (Val)	5,0	4,8	6,2	5,7	6,0
Μεθειονίνη (Met)	3,5 (Met+Cys)	1,8	2,7	3,5	1,8
Ισολευκίνη (Ile)	4,0	4,2	4,6	7,1	5,8
Λευκίνη (Leu)	7,0	8,7	9,7	8,2	10,1
Τυροσίνη (Tyr)	6,0 (Tyr+Phe)	4,5	3,7	4,8	4,7
Φαινυλαλανίνη (Phe)	6,0 (Phe+Tyr)	4,8	4,2	6,0	4,4
Ιστιδίνη (His)		3,0		5,0	2,3
Λυσίνη (Lys)	5,5	8,1	7,7	8,2	6,2
Αργινίνη (Arg)		3,3		2,9	4,0
Τρυπτοφάνη (Try)	1,0	1,5			1,8

Πέρα από την ευεργετική δράση των απαραίτητων αμινοξέων στην υγεία του ανθρώπου, οι πρωτεΐνες του γάλακτος μπορεί να αποτελέσουν αλλεργιογόνο παράγοντα για ορισμένα άτομα. Στα περισσότερα άτομα με αλλεργία στο αγελαδινό γάλα, ως αλλεργιογόνα λειτουργούν οι α-καζεΐνες και η β-λακτογλοβουλίνη, αν και το αγελαδινό γάλα περιέχει πάνω από 20 πρωτεΐνες με αλλεργική ικανότητα (Lara-Villoslada et al., 2005).

Εκτός από τις πρωτεΐνες, σημαντικό ρόλο στη διατροφική αξία του γάλακτος έχει και η λακτόζη, το μόνο σάκχαρο ουσιαστικά που εμπεριέχεται σε αξιόλογη ποσότητα στο γάλα. Η λακτόζη διέρχεται χωρίς καμία μεταβολή από το στομάχι ενώ στο έντερο διασπάται σε γλυκόζη και γαλακτόζη, που έχει καθοριστικό ρόλο στην απορρόφηση του ασβεστίου από το έντερο. Επιπλέον, η λακτόζη βοηθά στο μεταβολισμό του μαγνησίου (Μάντης, 2000). Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε λακτόζη διαφέρει ανάλογα με το είδος γάλακτος. Ενδεικτικά, στο αγελαδινό γάλα είναι 4,82%, στο πρόβειο 4,75%, στο γίδινο 4,51% και στο ονόγαλα 6,88% (Barlowska et al., 2011). Η λακτόζη, αν και αποτελεί σημαντικό θρεπτικό συστατικό, εν τούτοις μπορεί να προκαλέσει δυσανεξία σε ενήλικες και βρέφη. Σε ορισμένα άτομα, η λακτάση, το ένζυμο που διασπά την λακτόζη στο έντερο, παρουσιάζει μειωμένη δραστηριότητα. Κατά συνέπεια, συσσωρεύεται λακτόζη στο έντερο, αυξάνεται η ωσμωτική πίεση, αυξάνεται η συγκέντρωση νερού στο έντερο και το φαινόμενο εκδηλώνεται με κωλικούς και διάρροιες (Μάντης, 2000).

Το λίπος αποτελεί ακόμα ένα σημαντικό συστατικό του γάλακτος που καθορίζει την ενεργειακή του αξία και έχει σημαντική συνεισφορά στις διαθρεπτικές ιδιότητες του. Περιέχει ακόρεστα λιπαρά οξέα σε μεγάλη αναλογία, έχει χαμηλό σημείο τήξεως, για αυτό είναι περισσότερο εύπεπτο και τέλος περιέχει τα απαραίτητα για τον οργανισμό λιπαρά οξέα λινελαϊκό και λινολενικό. Περιέχει όμως και χοληστερόλη, η οποία δεν είναι επιθυμητό να υπάρχει σε μεγάλα ποσά. Παρόλα αυτά, 500ml γάλακτος δεν περιέχουν περισσότερα από 50mg χοληστερόλης, ποσό που δεν συμβάλλει σημαντικά στην αύξηση της χοληστερόλης του αίματος (Μάντης, 2000). Ιδιαίτερης σημασίας είναι και η περιεκτικότητα του γάλακτος σε συζευγμένο λινολεϊκό

οξύ (conjugated linoleic acid-CLA) που αποτελεί συστατικό με σημαντική βιολογική δράση. Συγκεκριμένα, το CLA συμβάλλει στην προστασία εμφάνισης και εξέλιξης του καρκίνου του δέρματος, του μαστού, του εντέρου και του στομάχου (Parodi, 1999), ενώ επίσης έχει αναφερθεί ότι προστατεύει από την παχυσαρκία (Bawa, 2003; Wang and Jones, 2004). Επιπλέον, το CLA μειώνει τα επίπεδα τριγλυκεριδίων και χοληστερόλης και κατά συνέπεια συμβάλλει στην πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων και αρτηριοσκλήρωσης (Gavino et al., 2000; Tricon et al., 2004), ενώ υπάρχουν αναφορές ότι προστατεύει από την εμφάνιση οστεοπόρωσης (Watkins and Seifert, 2000), βελτιώνει το μεταβολισμό των λιπιδίων, μειώνει το σάκχαρο και επιδρά στο ανοσοποιητικό σύστημα (O'Shea et al., 2004).

Το γάλα αποτελεί σημαντική πηγή μετάλλων για τον άνθρωπο καθώς περιέχει σημαντικές ποσότητες ασβεστίου, φωσφόρου, νατρίου, καλίου, χλωρίου, ιωδίου, μαγνησίου και μικρές ποσότητες σιδήρου. Το γάλα, εξάλλου, αποτελεί την κατεξοχήν πηγή ασβεστίου στη μέση Ευρωπαϊκή διατροφή (Barlowska et al., 2011). Το ασβέστιο και ο φώσφορος αποτελούν απαραίτητα συστατικά για την ανάπτυξη των οστών των νεογνών (Al-Wabel, 2008). Οι μέσες τιμές περιεκτικότητας του γάλακτος σε μέταλλα παρουσιάζονται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12: Περιεκτικότητα γάλακτος σε μέταλλα και ιχνοστοιχεία (Barlowska et al., 2011)

	Αγελαδινό	Πρόβειο	Γίδινο
mg/100g			
Ca	122,0	195,0	132,0
P	119,0	124,0	97,7
K	152,0	136,0	152,0
Mg	12,0	18,0	15,8
Na	58,0	44,0	59,4
μg/100gr			
Zn	530,0	520,0	370,0
Fe	80,0	72,0	60,0
Cu	60,0	40,0	80,0
I	2,1	10,4	2,2
Se	1,0	3,1	1,3

Οι βιταμίνες αποτελούν μια επιπλέον ομάδα σημαντικών συστατικών για την διατροφή και την υγεία του ανθρώπου. Το γάλα περιέχει τόσο λιποδιαλυτές όσο και υδατοδιαλυτές βιταμίνες. Περιέχει σχεδόν όλες τις βιταμίνες, αλλά διατροφικά θεωρείται καλή πηγή μόνο για τις βιταμίνες Α, Β1, Β2, νιασίνη και παντοθενικό οξύ (Μάντης, 2000). Στον Πίνακα 13 παρουσιάζεται η περιεκτικότητα του γάλακτος σε βιταμίνες.

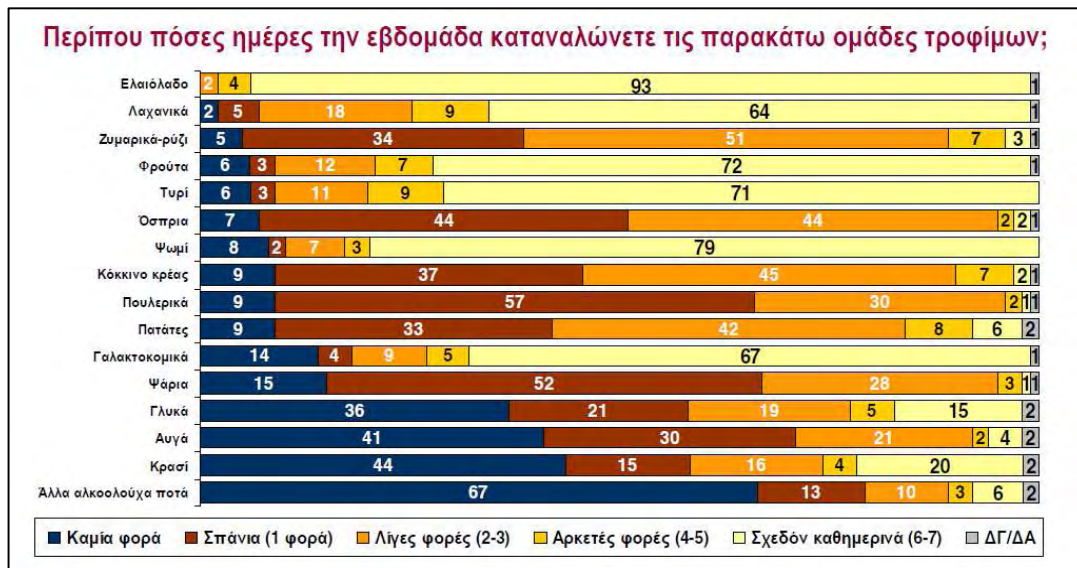
Πίνακας 13: Περιεκτικότητα γάλακτος σε βιταμίνες (Park et al., 2007)

		Περιεκτικότητα στα 100g		
		Γίδινο	Πρόβειο	Αγελαδινό
A	IU	185,00	146,00	126,00
D	IU(*μg)	2,30	1,18*	2,00
Θειαμίνη	mg	0,07	0,08	0,05
Ριβοφλαβίνη	mg	0,21	0,38	0,16
Νιασίνη	mg	0,27	0,42	0,08
Παντοθενικό οξύ	mg	0,31	0,41	0,32
B6	mg	0,05	0,08	0,04
Φολικό οξύ	μg	1,00	5,00	5,00
Βιοτίνη	μg	1,50	0,93	2,00
B12	μg	0,07	0,71	0,36
C	mg	1,29	4,16	0,94

Συμπερασματικά, το γάλα περιέχει τα περισσότερα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για τη διατροφή του ανθρώπου τόσο σε καλή αναλογία όσο και σε αφομοιώσιμη μορφή. Η κατανάλωση ενός λίτρου γάλακτος την ημέρα καλύπτει στα παιδιά το 40% των αναγκών τους σε ενέργεια, το 70% των αναγκών τους σε πρωτεΐνες και το 100% των αναγκών τους σε ασβέστιο και φώσφορο. Επίσης οι ανάγκες του οργανισμού σε βιταμίνες καλύπτονται σε ποσοστό που κυμαίνεται από 5% έως 100% ανάλογα με την βιταμίνη (Ζαρμπούτης, 1994). Για τους παραπάνω λόγους το γάλα πρέπει να περιλαμβάνεται στην καθημερινή διατροφή του ανθρώπου. Άλλωστε και βάσει του μοντέλου της μεσογειακής διατροφής, το γάλα αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της ισορροπημένης διατροφής που εξασφαλίζει υγεία στον καταναλωτή.

2.2.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Το γάλα, αγελαδινό, γίδινο και πρόβειο θεωρείται το κυριότερο αγροτικό προϊόν της ΕΕ, ενώ του αντιστοιχεί και μεγάλο μερίδιο της αξίας αγροτικής παραγωγής σε άλλες αναπτυγμένες γεωργικά οικονομίες, όπως οι ΗΠΑ, ο Καναδάς, η Αυστραλία και η Νέα Ζηλανδία. Η Ελλάδα κατέχει την πρώτη θέση στην Ευρώπη για παραγωγή πρόβειου γάλακτος και τη τρίτη στην παραγωγή γίδινου γάλακτος. Κατά το έτος 2010 το γαλακτοπαραγωγικό ζωικό κεφάλαιο στην Ελλάδα ήταν 145.000 γαλακτοπαραγωγές αγελάδες, 9.000.000 πρόβατα και 5.500.000 αίγες, ενώ η συνολική παραγωγή γάλακτος ήταν 753.000 τόννοι αγελαδινό γάλα, 530.000 τόννοι πρόβειο και 154.000 τόννοι γίδινο γάλα. Από το αγελαδινό γάλα, 467.000 τόννοι καταναλώθηκαν ως πόσιμο γάλα, 195.000 τόννοι ως τυριά και 19.000 τόννοι ως άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα. Η κατά κεφαλή ετήσια κατανάλωση ανέρχεται σε 68 κιλά γάλα και 31 κιλά τυρί (EUROSTAT, 2011). Το 67% των Ελλήνων καταναλώνουν γάλα και γαλακτοκομικά 4-5 φορές την εβδομάδα (Εικόνα 7) (Υπουργείο Ανάπτυξης, 2007).



Εικόνα 7: Διατροφικές συνήθειες Ελλήνων (Υπουργείο Ανάπτυξης, 2007)

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η παραγωγή γίδινου και πρόβειου γάλακτος αποτελεί σημαντικό κομμάτι της αγροτικής παραγωγής της Ελλάδας, αλλά και της Ευρώπης, με ιδιαίτερα υψηλά ποσοστά κατανάλωσης ως πόσιμο γάλα, αλλά κυρίως υπό τη μορφή προϊόντων γάλακτος.

2.2.3. ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗ ΑΠΟ ΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΟΥ-ΣΥΓΧΡΟΝΑ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΣΚΑΝΔΑΛΑ

Πέρα από την διατροφική επίδραση του γάλακτος και τις πιθανές αλλεργίες ή δυσανεξίες που μπορεί να προκαλεί, το γάλα και τα προϊόντα του ανήκουν στην κατηγορία των τροφίμων υψηλού κινδύνου, καθώς θεωρούνται ιδιαίτερα ευαλλοίωτα. Κατά καιρούς έχουν καταγραφεί σημαντικά διατροφικά σκάνδαλα με εμπλεκόμενα τρόφιμα το γάλα και τα προϊόντα του. Οι εμπλεκόμενοι κίνδυνοι μπορεί να είναι βιολογικοί, χημικοί και φυσικοί (Αρβανιτογιάννης, 2001). Στο σύστημα έκαιρης ειδοποίησης της ΕΕ (Rapid Alert System for Food and Feed-RASFF) από το 2003 έως και σήμερα καταγράφηκαν 480 ειδοποιήσεις που αφορούσαν κυρίως μικροβιακή επιμόλυνση γάλακτος και γαλακτοκομικών (*Listeria monocytogenes*, μύκητες, εντεροβακτηριοειδή) καθώς και παρουσία φυσικών κινδύνων (RASFF, 2013).

Σε διεθνές επίπεδο, κατά την τελευταία δεκαετία, τα διατροφικά σκάνδαλα με εμπλεκόμενο τρόφιμο το γάλα ή τα γαλακτοκομικά προϊόντα αφορούσαν ενδεικτικά την παρουσία αυξητικής ορμόνης σε αγελαδινό γάλα, τα κατάλοιπα φυτοπροστατευτικών και αντιβιοτικών και την παρουσία AFM1 και βαρέων μετάλλων (Khaniki, 2007). Η παρουσία χημικών ρυπαντών στο γάλα έχει ενοχοποιηθεί για μια σειρά επιπτώσεων στην υγεία του ανθρώπου όπως καρκινογένεση, τερατογένεση, μεταλλαξιογένεση, αλλεργίες (Omaye, 2004).

Η αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών και η μη τήρηση των προβλεπόμενων χρόνων αναμονής οδηγεί στην παρουσία καταλοίπων αντιβιοτικών στο γάλα και στα προϊόντα του πάνω από τα ανώτατα επιτρεπτά όρια (Καν. 2377/90). Η παρουσία των καταλοίπων αντιβιοτικών έχει ενοχοποιηθεί καταρχήν για την ανάπτυξη αντιβιοαντοχής στους μικροοργανισμούς, για την εμφάνιση αλλεργιών, την επίδραση στην εντερική χλωρίδα, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις

έχει αναφερθεί η μεταλλαξιογόνος και τερατογόνος δράση τους (Corpet, 2000).

Το πλέον σοβαρό διατροφικό σκάνδαλο των τελευταίων ετών αφορούσε στην παρουσία μελαμίνης σε γάλα. Το πρόβλημα ξεκίνησε το 2008 στην Κίνα, όταν χιλιάδες παιδιά νοσηλεύτηκαν και αρκετά κατέληξαν μετά από κατανάλωση βρεφικού γάλακτος νοθευμένου με μια συνθετική ουσία, τη μελαμίνη. Μέσα σε λίγους μήνες το σκάνδαλο εξαπλώθηκε σε παγκόσμιο επίπεδο. Η τοξικότητα της μελαμίνης αφορά επιδράσεις στο νευρικό και το ουροποιητικό σύστημα (Wei and Liu, 2012).

Αναλογιζόμενοι τους ενδεικτικά προαναφερόμενους, εμπλεκόμενους κινδύνους από την κατανάλωση του γάλακτος και των προϊόντων του, υπάρχουν πολλοί καταναλωτές που τα τελευταία χρόνια, στρέφονται προς τα βιολογικά τρόφιμα, με την πεποίθηση ή την ελπίδα ότι αυτά είναι πιο υγιεινά και ασφαλή.

2.3. ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Εξαιτίας των πολλών διατροφικών σκανδάλων των τελευταίων δεκαετιών, αλλά και της γενικότερης ανησυχίας των καταναλωτών για την ποιότητα και ασφάλεια της διατροφής τους, παρατηρείται μια τάση προτίμησης των βιολογικών τροφίμων. Ένα τρόφιμο για να καλείται βιολογικό πρέπει να πληρεί συγκεκριμένες προϋποθέσεις, τόσο στο στάδιο της παραγωγής όσο και στο στάδιο της μεταποίησης και τυποποίησης του. Πιστοποιημένα βιολογικά τρόφιμα καλούνται αυτά που παράγονται σύμφωνα με τους Ευρωπαϊκούς Κανονισμούς 834/2007 και 889/2008, πιστοποιούνται από διαπιστευμένους φορείς πιστοποίησης και μπορούν να φέρουν την αντίστοιχη επισήμανση με το ευρωπαϊκό λογότυπο (Εικόνα 8).



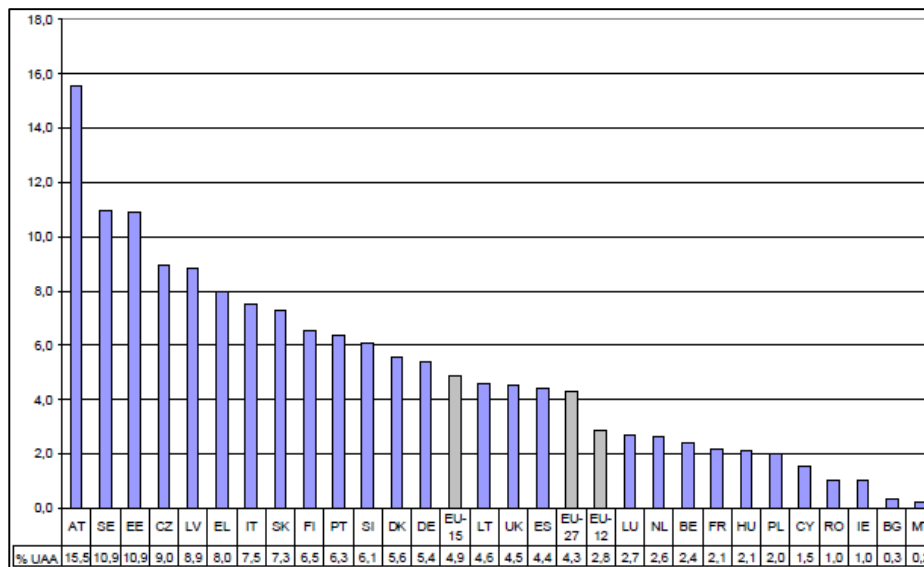
Εικόνα 8: Ευρωπαϊκό Λογότυπο Βιολογικών Προϊόντων (EC, 2013)

Τα βιολογικά τρόφιμα αποτελούν μια εναλλακτική διατροφή που υποστηρίζεται θερμά από μερίδα του καταναλωτικού κοινού για διαφορετικούς λόγους. Σε κάθε περίπτωση, απαιτείται κοινή προσπάθεια όλων των εμπλεκόμενων στην παραγωγή, διακίνηση και πιστοποίηση τους, ώστε να διασφαλίζεται η προστασία του σύγχρονου καταναλωτή σε όλα τα επίπεδα.

2.3.1. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

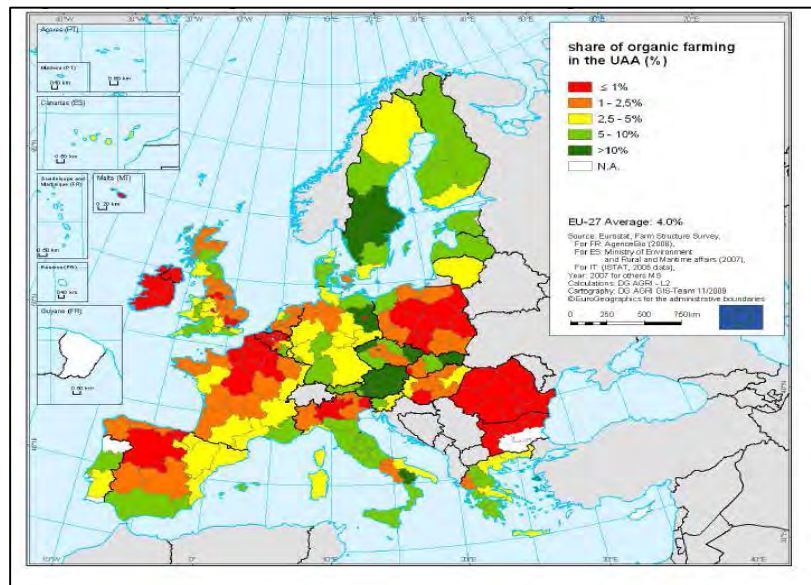
Οι καταναλωτές τα τελευταία χρόνια λόγω των πολλαπλών διατροφικών σκανδάλων είναι πιο ευαισθητοποιημένοι σε θέματα διατροφής, υγιεινής και ασφάλειας τροφίμων (Banati, 2011), με πολλούς να υποστηρίζουν για διάφορους λόγους τα βιολογικά τρόφιμα (Falguera et al., 2012). Αδιαμφισβήτητα, η παραγωγή και κατανάλωση βιολογικών τροφίμων έχει

αυξηθεί και παρουσιάζει διαρκώς αυξητικές τάσεις με την Ευρώπη να κατέχει την πρώτη θέση, με το 54% των παγκόσμιων πωλήσεων βιολογικών τροφίμων (Sahota, 2009). Μέσα στην πρώτη πενταετία παραγωγής και διακίνησης των βιολογικών τροφίμων, η παραγωγή τους διπλασιάστηκε. Τα φρούτα και τα λαχανικά κατέχουν περίπου ένα 40% της αγοράς βιολογικών τροφίμων ενώ το γάλα και τα προϊόντα του το 18%. Η αμερικανική αγορά βιολογικού γάλακτος διπλασιάστηκε από το 16% το 1997 στο 34% το 2007, κυρίως λόγω του διατροφικού σκανδάλου παρουσίας αυξητικής σωματοτροπίνης στο αγελαδινό συμβατικό γάλα (Culleton and Fox, 2002; Liu et al., 2013). Η ραγδαία αύξηση της παραγωγής των βιολογικών τροφίμων συνδέεται με το γεγονός ότι την τελευταία δεκαετία υπάρχει μια έντονη τάση για κατανάλωση βιολογικών τροφίμων με συνέπεια την διαρκώς αυξανόμενη παραγωγή τους. Οι βιολογικές καλλιέργειες στην Ευρώπη κατά το έτος 2007 αντιστοιχούσαν στο 4,3% της καλλιεργήσιμης έκτασης, με την Ελλάδα να κατέχει το 8%, όπως φαίνεται στο Γράφημα 1.



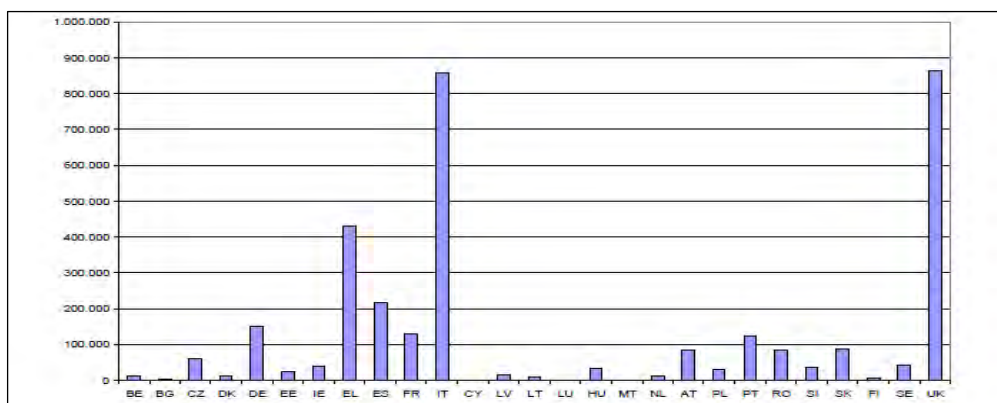
Γράφημα 1: Κατανομή βιολογικών εκτάσεων στην Ευρώπη (EC, 2010)

Αναφορικά με την βιολογική ζωική παραγωγή στην Ελλάδα, το ποσοστό βιολογικών εκτροφών είναι μεταξύ 5-10% του συνόλου των εκτροφών (EC, 2010) (Εικόνα 9).

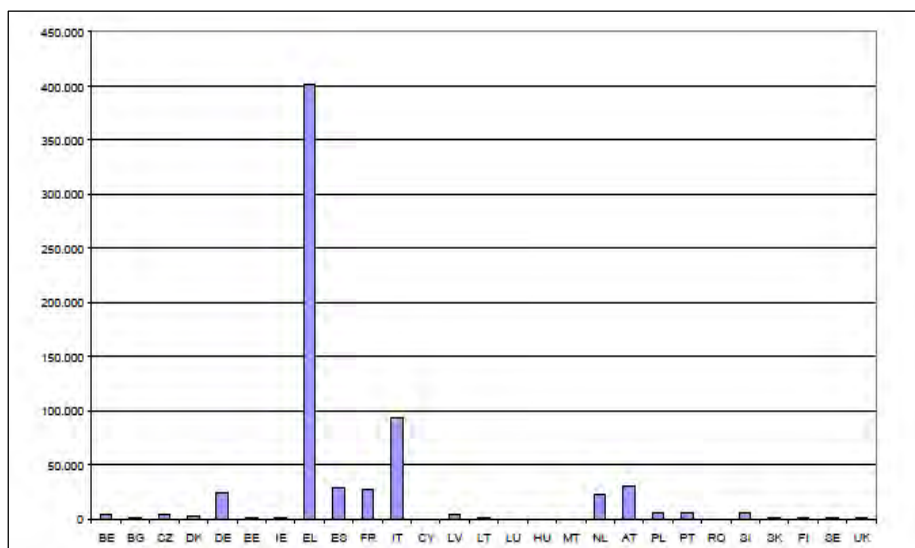


Εικόνα 9: Ποσοστά βιολογικών εκτροφών στην Ευρώπη (EC, 2010)

Ο αριθμός των βιολογικών προβάτων στην Ελλάδα ανέρχεται στις περίπου 450.000, ενώ των βιολογικών αιγών στις 400.000, καταλαμβάνοντας την 1η θέση στην Ευρώπη (EC, 2010) (Γραφήματα 2 και 3).



Γράφημα 2: Αριθμός βιολογικών προβάτων στην Ευρώπη (EC, 2010)



Γράφημα 3: Αριθμός βιολογικών αιγών στην Ευρώπη (EC, 2010)

Η δυσκολία πρόσβασης σε βιολογικά τρόφιμα αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα στην αγορά τους. Μόνο σε ορισμένα ειδικά καταστήματα υπάρχει μεγάλη ποικιλία βιολογικών προϊόντων. Οι δυνατότητες διακίνησης των βιολογικών τροφίμων στη χώρα μας αφορούν τη χονδρική πώληση σε εταιρείες διανομής, τη χονδρική πώληση απευθείας σε καταστήματα, τη λιανική πώληση βιολογικών προϊόντων σε λαϊκές αγορές, τη λιανική πώληση βιολογικών προϊόντων από το κτήμα και τη λιανική πώληση βιολογικών προϊόντων από συλλογικούς φορείς, όπως οι συνεταιρισμοί. Περίπου 25.000 επιχειρήσεις στην Ελλάδα απασχολούνται με τα βιολογικά τρόφιμα (Hellastat, 2011).

Η παραγωγή του βιολογικού γάλακτος στην Ελλάδα, προορίζεται κυρίως για εγχώρια κατανάλωση πόσιμου γάλακτος και γαλακτοκομικών, ενώ μέρος της εξάγεται κυρίως με τη μορφή τυριών. Η ζήτηση βιολογικών τυροκομικών προϊόντων από αίγαιο και πρόβειο γάλα παρουσιάζει σημαντική αύξηση και ήδη λειτουργούν τυροκομεία που παράγουν βιολογική φέτα και άλλα παραδοσιακά τυροκομικά προϊόντα σε διάφορες περιοχές της Ελλάδας (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2007).

2.3.2. ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΚΙΝΗΣΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Για να χαρακτηριστεί ένα τρόφιμο σαν βιολογικό, θα πρέπει να πληρούνται συγκεκριμένες προϋποθέσεις παραγωγής, τυποποίησης και διακίνησης, που περιγράφονται αναλυτικά στους Ευρωπαϊκούς Κανονισμούς 889/2008 και 834/2007. Πρακτικά, ο όρος «βιολογικό» έχει τεχνική και νομική κάλυψη ώστε να διασφαλίζεται ο καταναλωτής ότι τα προϊόντα αυτά ανταποκρίνονται στις συγκεκριμένες προδιαγραφές που περιγράφονται στους Κανονισμούς. Κανένα προϊόν δεν επιτρέπεται να πωλείται ή να διαφημίζεται ως βιολογικό αν δεν έχει παραχθεί και επισήμανθεί σύμφωνα με τους θεσμοθετημένους κανόνες παραγωγής και δεν υπόκειται στο σύστημα ελέγχου και πιστοποίησης που επιβάλλουν οι Κανονισμοί.

Η Ευρωπαϊκή νομοθεσία περιγράφει τις λεπτομέρειες για την βιολογική παραγωγή και την επισήμανση των βιολογικών προϊόντων (834/2007), καθώς και το βιολογικό τρόπο παραγωγής, την επισήμανση και τον έλεγχο των προϊόντων (889/2008). Ουσιαστικά η νομοθεσία χαρακτηρίζει τη βιολογική παραγωγή ως ένα σύστημα διαχείρισης γεωργικών εκμεταλλεύσεων και παραγωγής τροφίμων, το οποίο συνδυάζει βέλτιστες περιβαλλοντικές πρακτικές, υψηλό βαθμό βιοποικιλότητας, διατήρηση των φυσικών πόρων, ευζωία των ζώων και παραγωγή που ανταποκρίνεται στην προτίμηση ορισμένων καταναλωτών για προϊόντα που παράγονται με φυσικές ουσίες και διεργασίες. Ενδεικτικά οι κανονισμοί βιολογικής ζωικής παραγωγής αφορούν στα ακόλουθα:

- Στις βιολογικές εκτροφές συνιστάται η χρήση φυλών και τύπων ζώων με καλή προσαρμοστικότητα και μεγάλη ανθεκτικότητα, όπως είναι οι εγχώριες φυλές.
- Τα αιγοπρόβατα και βοοειδή πρέπει να έχουν πρόσβαση στους βοσκοτόπους όποτε το επιτρέπουν οι καιρικές συνθήκες. Οι προαύλιοι χώροι και οι βοσκότοποι πρέπει να πληρούν τις απαιτήσεις των Κανονισμών και ως εκ τούτου πρέπει να ενταχθούν στο σύστημα ελέγχου. Οι χώροι βόσκησης που περιλαμβάνουν καλλιεργήσιμες

εκτάσεις (δημητριακά-ψυχανθή) ή βρίσκονται μέσα σε δενδρώδεις καλλιέργειες υπόκεινται στο σύστημα ελέγχου και πρέπει να περάσει η απαραίτητη περίοδος μετατροπής προκειμένου να χρησιμοποιηθούν από ζώα που εκτρέφονται με βιολογικό τρόπο.

- Στο βιολογικό τρόπο εκτροφής τα ζώα τρέφονται με ζωοτροφές βιολογικής παραγωγής. Τα μηρυκαστικά παίρνουν το μέγιστο δυνατό ποσοστό τροφής από τη βοσκή. Οι συμπληρωματικές ζωοτροφές πρέπει κι αυτές να προέρχονται από βιολογικές εκτροφές. Απαγορεύεται η χρήση ζωοτροφών που προέρχονται από Γενετικά Τροποποιημένους Οργανισμούς (Γ.Τ.Ο).
- Οι συνθήκες σταβλισμού πρέπει να ικανοποιούν τις βιολογικές ανάγκες όπως και τις ανάγκες συμπεριφοράς των ζώων. Στις σταβλικές εγκαταστάσεις πρέπει να τηρούνται συγκεκριμένες πυκνότητες. Τα ζώα πρέπει να έχουν ελευθερία κίνησης μέσα στο στάβλο, ενώ τα κτίρια πρέπει να διευκολύνουν τον αερισμό και την είσοδο του φυσικού φωτός στο εσωτερικό τους. Ο καθαρισμός και η απολύμανση των σταβλικών εγκαταστάσεων και του εξοπλισμού πρέπει να γίνονται με ειδικά και επιτρεπόμενα από τον Κανονισμό προϊόντα.
- Στην βιολογική κτηνοτροφία ιδιαίτερη σημασία έχει η πρόληψη των ασθενειών που διασφαλίζεται με την επιλογή εγχώριων φυλών, την καλή διατροφή, την τακτική άσκηση των ζώων κλπ. Αν ωστόσο ένα ζώο αρρωστήσει ή τραυματιστεί το πρόβλημα πρέπει να αντιμετωπιστεί άμεσα. Ενθαρρύνεται η χρήση ομοιοπαθητικών σκευασμάτων. Αντιβιοτικά ή άλλα χημικά φάρμακα (αλλοπαθητικά) δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αυξητικοί παράγοντες ή για προληπτικούς λόγους. Αν μια ασθένεια δεν μπορεί να αντιμετωπιστεί με άλλο τρόπο τότε επιτρέπεται η περιορισμένη χρήση αλλοπαθητικών φαρμάκων. Στην περίπτωση αυτή η περίοδος αναμονής πρέπει να είναι διπλάσια από αυτή που αναγράφεται στο σκεύασμα. Εάν ένα ζώο δεχθεί περισσότερες από τρεις φαρμακευτικές αγωγές τότε χάνει τη βιολογική του ιδιότητα. Η καταπολέμηση των παρασίτων πρέπει να αντιμετωπίζεται με ορθή

διαχείριση του βοσκότοπου. Η χρήση αντιπαρασιτικών σκευασμάτων είναι δυνατή, όχι όμως συστηματικά. Οι εμβολιασμοί επιτρέπονται στα πλαίσια της πρόληψης των ασθενειών (Καν 834/2007).

Πέρα των προδιαγραφών βιολογικής παραγωγής, ο Κανονισμός 889/2008, αναφέρεται και στους ελέγχους που θα πρέπει να υπόκειται κάθε κτηνοτρόφος βιολογικής κτηνοτροφίας τουλάχιστον μια φορά το χρόνο, αναφορικά με την συμμόρφωσή του ως προς τους Κανονισμούς. Στο πλαίσιο αυτό, κάθε κράτος μέλος της ΕΕ έχει ορίσει μια αρμόδια αρχή, το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων με τον Οργανισμό Πιστοποίησης και Επίβλεψης Αγροτικών Προϊόντων (AGROCERT) για την Ελλάδα, που εποπτεύει το σύστημα ελέγχου των βιολογικών τροφίμων και εγκρίνει ιδιωτικούς οργανισμούς ελέγχου (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2012a). Οι μονάδες βιολογικής καλλιέργειας/εκτροφής στην Ελλάδα καθώς και τα βιολογικά προϊόντα προκειμένου να διακινηθούν στην αγορά ως βιολογικά, θα πρέπει να είναι πιστοποιημένα. Η διαδικασία της πιστοποίησης από τους εγκεκριμένους πιστοποιητικούς οργανισμούς υπόκειται σε διαδικασίες διαπίστευσης από το Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης (ΕΣΥΔ, 2012).

Με την ολοκλήρωση της πιστοποίησης μιας βιολογικής μονάδας, επιβάλλεται η επισήμανση των βιολογικών τροφίμων με τον εγκεκριμένο λογότυπο της ΕΕ. Απαγορεύεται η χρήση όρων ή εμπορικών σημάτων, που μπορεί να παραπλανήσουν τον καταναλωτή υπονοώντας ότι ένα προϊόν είναι βιολογικό (Καν. 834/2007). Κατά την επισήμανση ή διαφήμιση των προϊόντων βιολογικής γεωργίας θα πρέπει να υπάρχουν οι εξής ενδείξεις: κωδικός αριθμός έγκρισης του Οργανισμού Ελέγχου & Πιστοποίησης, κοινοτικός λογότυπος, το εθνικό σήμα αναγνώρισης πιστοποιημένων προϊόντων βιολογικής γεωργίας, η ένδειξη «ΠΡΟΪΟΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΓΕΩΡΓΙΑΣ» σε συνδυασμό με την ονομασία πώλησης του προϊόντος (Καν. 834/2007).

2.3.3. ΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗ ΑΠΕΝΑΝΤΙ ΣΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ

Η στάση του καταναλωτή για την αγορά των βιολογικών τροφίμων επηρεάζεται κυρίως από κοινωνικούς, οικονομικούς και πολιτισμικούς λόγους

(Bravo et al., 2013; Liu et al., 2013). Οι λόγοι επιλογής ή όχι των βιολογικών τροφίμων επηρεάζονται ουσιαστικά από τις πηγές πληροφόρησης των καταναλωτών, που διαφέρουν σημαντικά πολλές φορές από χώρα σε χώρα. Για παράδειγμα στην Τουρκία, όπου η βιολογική παραγωγή είναι περιορισμένη, το ποσοστό αυτών που γνωρίζουν τα βιολογικά ανέρχεται σε 9% (Rundgren, 2000), ενώ στην Ελλάδα το αντίστοιχο ποσοστό ανέρχεται σε 81,5% (Φωτόπουλος και Κρυστάλλης, 2002). Οι καταναλωτές στη Σικελία ενημερώνονται κυρίως από την τηλεόραση και δευτερευόντως από περιοδικά με ειδικά θέματα για τα βιολογικά προϊόντα (Chinnici et al., 2002), ενώ στην Ελλάδα από τα μέσα μαζικής ενημέρωσης και τον κοινωνικό τους περίγυρο, ενώ θεωρείται ότι το σχολείο και οι ενημερωτικές καμπάνιες, που θα διοργανώνονται από το κράτος και που θα προβάλλονται από τα ΜΜΕ θα μπορούσαν να αποτελέσουν σημαντικό οδηγό πληροφόρησης (Papadaki, 2003). Γενικά οι καταναλωτές επιζητούν περισσότερη πληροφόρηση για τα βιολογικά τρόφιμα και κυρίως για τις διαφορές τους με τα συμβατικά (Zanoli and Naspetti, 2002).

Ένας από τους σημαντικότερους λόγους για τον οποίο οι καταναλωτές επιλέγουν για τη διατροφή τους τα βιολογικά τρόφιμα είναι ότι τα θεωρούν πιο ασφαλή και ποιοτικά (Magkos et al., 2003; Lairon, 2010; Williams, 2002; Chinnici et al., 2002). Άλλοι λόγοι για την επιλογή των βιολογικών προϊόντων είναι η περιέργεια του καταναλωτικού κοινού, η αντίληψη ότι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους υπερτερούν, το ενδιαφέρον του καταναλωτή για την αειφορία της παραγωγής μέσω των φιλικών πρακτικών προς το περιβάλλον που εφαρμόζονται στη βιολογική παραγωγή και τις πρακτικές προστασίας της ευζωίας των ζώων. Επιπλέον, η επιλογή των βιολογικών τροφίμων θεωρείται κατά πολλούς σύγχρονη διατροφική «μόδα», ενώ άλλοι ισχυρίζονται ότι επιλέγουν βιολογικά τρόφιμα γιατί είναι πιο γευστικά και παράγονται με πιο παραδοσιακούς τρόπους. Ωστόσο, η άποψη των καταναλωτών συγκλίνει όταν πρόκειται για την τιμή πώλησης των βιολογικών τροφίμων και αυτή εστιάζεται στο ότι οι τιμές είναι αρκετά πιο υψηλές σε σχέση με τα συμβατικά. Άλλοι λόγοι που ενδεχομένως αποτρέπουν τους καταναλωτές από το να αγοράζουν βιολογικά τρόφιμα αφορούν στην

περιορισμένη διαθεσιμότητα στην αγορά, την ικανοποίηση τους από τα τρόφιμα συμβατικής παραγωγής και στην αντίληψη ότι ίσως τα βιολογικά τρόφιμα δεν προσφέρουν κάτι παραπάνω από τα συμβατικά. Οι άνθρωποι που αγοράζουν βιολογικά τρόφιμα συνήθως είναι μεγαλύτερης ηλικίας, έχουν υψηλότερο μορφωτικό επίπεδο και υψηλότερο οικογενειακό εισόδημα από αυτούς που δεν τα επιλέγουν, ενώ οι γυναίκες τα προμηθεύονται συχνότερα σε σχέση με τους άνδρες (Justin and Jyoti, 2012; Tsakiridou et al., 2008; Yiridoe et al., 2005; Krystallis et al., 2006; Chinnici et al., 2002; Charatsari and Tzimitra-Kalogianni, 2007; Magnusson et al., 2003). Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Ολλανδία διαπιστώθηκε ότι οι γυναίκες προτιμούν βιολογικά τρόφιμα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (Torjusen et al., 2010).

2.3.4. ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ

Σημαντικότερος λόγος ανάπτυξης της βιολογικής γεωργίας και κτηνοτροφίας αποτέλεσε η ανθρώπινη υγεία, που προστατεύεται από την βιολογική παραγωγή καθώς ο άνθρωπος δεν εκτίθεται σε χημικές ουσίες λόγω επαγγελματικής χρήσης, όπως συμβαίνει με τους παραγωγούς συμβατικών προϊόντων (Trewavas, 2001; FAO, 2001). Επιπλέον, υπάρχουν πολλές αναφορές στη βιβλιογραφία για τα οφέλη κατανάλωσης βιολογικών τροφίμων, με αντικρουόμενες απόψεις σε αρκετές περιπτώσεις αναφορικά με τις ευεργετικές τους επιδράσεις στην υγεία. Τα βιολογικά τρόφιμα έχουν χαρακτηριστεί ως τρόφιμα υψηλής βιολογικής και διαθρεπτικής αξίας, αν και κάποιοι μελετητές ισχυρίζονται πως δεν υπάρχουν διαφορές από τα συμβατικά τρόφιμα (Yiridoe et al.; 2005; Dangour et al., 2009; Rosen, 2010; Forman and Silverstein, 2012). Σε κάθε περίπτωση, οι παραπάνω απόψεις δεν είναι πάντα τεκμηριωμένες, καθώς η διαθέσιμη βιβλιογραφία είναι περιορισμένη τόσο ποσοτικά όσο και γεωγραφικά (Magkos et al., 2003; FSA, 2009).

Μοιάζει προφανές, προϊόντα που παράγονται χωρίς τη χρήση χημικών, να παρουσιάζουν μικρότερο κίνδυνο για την υγεία του ανθρώπου σε σύγκριση με τα συμβατικά, στα οποία ενδεχομένως χρησιμοποιούνται χημικές ουσίες. Σε μελέτη για την παρουσία παρασιτοκτόνων σε βιολογικά και συμβατικά τρόφιμα δεν διαπιστώθηκαν διαφορές (Tasiopoulou et al., 2007). Παρόλα αυτά,

ανάμεσα στις διάφορες παραμέτρους που διερευνώνται προκειμένου να χαρακτηριστεί ένα τρόφιμο ως ασφαλές ή ποιοτικό περιλαμβάνονται τόσο χημικοί όσο και μικροβιολογικοί παράγοντες. Απόκλιση έστω και σε μια από τις ελεγχόμενες παραμέτρους καθιστά αυτόματα το τρόφιμο μη ασφαλές. Κατά συνέπεια η έννοια της ασφάλειας τροφίμων είναι πολυπαραγοντική και ως εκ τούτου, η βιολογική ή συμβατική προέλευση του τροφίμου δεν πρέπει να αποτελεί αποκλειστικό κριτήριο για την ασφάλεια του (Lairon, 2010; Magkos et al., 2003; Justin and Jyoti 2012). Η άποψη ότι τα βιολογικά τρόφιμα είναι πιο υγιεινά βασίζεται κυρίως στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους, στο γεγονός ότι περιέχουν λιγότερα ή καθόλου κατάλοιπα φαρμάκων, λιπασμάτων κλπ και έχουν μεγαλύτερα ποσοστά θρεπτικών συστατικών και προστατευτικών φυτοχημικών (Williams, 2002). Στον αντίποδα αυτής της άποψης όμως, ερωτηματικά δημιουργούνται για το εάν η μειωμένη χρήση αντιβιοτικών και μυκητοκτόνων οδηγεί σε μεγαλύτερη μόλυνση των βιολογικών τροφίμων με μικροοργανισμούς και τοξίνες. Η περιεκτικότητα των βιολογικών τροφίμων σε θρεπτικά συστατικά έχει συγκριθεί με αυτή των συμβατικών με αντικρουόμενα συμπεράσματα (Πίνακας 14).

Πίνακας 14: Αποτελέσματα συγκριτικών μελετών της χημικής σύστασης βιολογικών και συμβατικών τροφίμων (Williams, 2002)

Θρεπτικό Συστατικό	Αυξημένο στα βιολογικά	Μειωμένο στα βιολογικά	Ίδιο
Πρωτεΐνη	3	0	0
Άζωτο	5	10	25
Βιταμίνη C	21	12	3
B-καροτένια	5	5	3
Βιταμίνες B	2	12	2
Ασβέστιο	21	20	6
Μαγνήσιο	17	24	4
Σίδηρος	15	14	6
Ψευδάργυρος	4	9	3

Τα μέχρι σήμερα επιστημονικά στοιχεία δεν είναι αρκετά ώστε να μπορούμε να εξάγουμε συμπεράσματα για την ασφάλεια και την θρεπτική αξία των βιολογικών προϊόντων σε σύγκριση με τα συμβατικά και ως εκ τούτου απαιτείται περαιτέρω και πλήρως τεκμηριωμένη διερεύνηση.

2.3.5. ΤΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΓΑΛΑ

Το βιολογικό γάλα είναι ένα προϊόν που έχει παραχθεί σύμφωνα με τους κανόνες της βιολογικής γεωργίας, ενώ κατά την τυποποίηση και διακίνησή του εφαρμόζονται κοινές μέθοδοι με τα συμβατικά. Από έρευνα αγοράς, στην Ελλάδα κυκλοφορεί βιολογικό γάλα παστεριωμένο, μακράς διάρκειας, εβαπορέ και σε σκόνη. Το βιολογικό γάλα στην Ελλάδα βρίσκεται σε περιορισμένες ποσότητες εγχώριας προέλευσης (Κοζάνη, Λάρισα, Μαγνησία) και σε μεγαλύτερες ποσότητες Ευρωπαϊκής προέλευσης (Γερμανία, Ιταλία, Ολλανδία, Ρουμανία).

2.3.5.1. Χημική σύσταση βιολογικού γάλακτος

Η χημική σύσταση του γάλακτος επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως το γενετικό υλικό του ζώου (είδη και φυλές), το στάδιο της γαλακτικής περιόδου, την ηλικία του ζώου, την υγεία του ζώου, τη διατροφή, την εποχή, την ώρα της άμελης (Μάντης, 2000). Αναφορικά με τη χημική σύσταση του βιολογικού γάλακτος, όπως και για τα υπόλοιπα βιολογικά τρόφιμα, οι απόψεις στη βιβλιογραφία ποικίλουν (Πίνακας 15). Συγκεκριμένα, οι Toledo et al. (2002) παρατήρησαν ότι δεν υπάρχει ουσιαστική διαφορά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στα θρεπτικά συστατικά μεταξύ βιολογικού και συμβατικού γάλακτος, ενώ οι Pirisi et al. (2002) διαπίστωσαν διαφοροποιήσεις στην ποσότητα του παραγόμενου γάλακτος, με το συμβατικό να εμφανίζει μεγαλύτερα ποσοστά. Παρόμοια αποτελέσματα είχαν και οι Zervas et al. (2000).

Η σύσταση του βιολογικού γάλακτος βρέθηκε παρόμοια με το συμβατικό με τη διαφορά μεγαλύτερης περιεκτικότητας σε καζεΐνη στα βιολογικά (Pirisi et al., 2002). Ο Lund (1991) διαπίστωσε ότι το βιολογικό γάλα περιέχει περισσότερα στερεά συστατικά, ενώ άλλες μελέτες υποστηρίζουν ότι η περιεκτικότητα σε στερεά συστατικά, ιδιαίτερα πρωτεΐνης, στο βιολογικό γάλα είναι χαμηλότερη (Luukkonen et al., 2005; Roesch et al., 2005). Επίσης, έχει αναφερθεί ότι το βιολογικό γάλα έχει βρεθεί να περιέχει περισσότερο λακτόζη από το συμβατικό (Olivo et al., 2005).

Μελετητές θεωρούν το βιολογικό γάλα πιο πλούσιο σε συζευγμένο λινολεϊκό οξύ (CLA), συστατικό χαρακτηριστικό της αυθεντικότητας του (Nudda et al., 2007; Williams, 2002; Bergamo et al., 2003; Butler et al., 2008 ; Chin et al., 1992; Jahreis et al., 1997; Prandini et al., 2009b), ενώ άλλοι διαπιστώνουν ότι δεν υπάρχουν ουσιαστικές διαφορές (Toledo et al., 2002; Nielsen et al., 2004; Ellis et al., 2006). Επίσης, το βιολογικό γάλα βρέθηκε να είναι πιο πλούσιο σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και ω-3 λιπαρά οξέα (Ellis et al., 2006; Butler et al., 2009; Collomb et al., 2008; Popovic-Vranjes et al., 2011; Tsiplakou et al., 2010; Butler et al., 2011). Οι Dewhurst et al. (2003) αναφέρουν ότι το ποσοστό των επιθυμητών ακόρεστων λιπαρών οξέων στο βιολογικό γάλα είναι κατά 66% περισσότερο από ότι στο συμβατικό γάλα.

Πίνακας 15: Αριθμός μελετών συγκριτικής μελέτης βιολογικού και συμβατικού γάλακτος (Matt et al., 2011)

	Υψηλότερο στα βιολογικά	Ίδιο	Χαμηλότερο στα βιολογικά
Στερεά Συστατικά	2	1	0
Πρωτεΐνες	1	1	4
Λίπος	3	2	3
CLA	8	3	
PUFA	3		
Ω-3 λ.ο.	3		3
Ca	2	1	
Mo	1		
Zn			3
Cu		1	1
Βιταμίνη E	3		
Βιταμίνη C	1		
Βιταμίνη A			1
Καροτενοειδή	3		
Σωματικά κύτταρα	4	2	3
Μικροβιακό φορτίο	2		2

Το προφίλ των λιπαρών οξέων επηρεάζεται σημαντικά από το ίδιο το ζώο, τη διατροφή του αλλά και την εποχή του έτους (Μάντης, 2000) και ως εκ τούτου

η εξαγωγή ξεκάθαρων συμπερασμάτων θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη όλους τους εμπλεκόμενους παράγοντες.

Αναφορικά με τις διαφορές του βιολογικού και του συμβατικού γάλακτος σε σχέση με την περιεκτικότητα σε βιταμίνες, οι Bergamo et al. (2003) διαπίστωσαν υψηλότερα ποσοστά α-τοκοφερόλης και β-καροτενίου σε βιολογικό γάλα και τυρί. Η βιταμίνη E και τα καροτενοειδή βρέθηκαν να υπερτερούν στο βιολογικό γάλα (Nielsen et al., 2004; Butler et al., 2009). Ο Lund (1991) διαπίστωσε ότι το βιολογικό γάλα περιείχε περισσότερη βιταμίνη C σε σύγκριση με το συμβατικό. Η πιθανή διαφοροποίηση που μπορεί να εμφανιστεί στην περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνες, ενδεχομένως να οφείλεται κυρίως στο σχήμα διατροφής και όχι τόσο στο τύπο εκτροφής (βιολογικός/συμβατικός).

Παρόμοιες διαφοροποιήσεις αναφέρονται στην βιβλιογραφία και για την περιεκτικότητα του βιολογικού γάλακτος σε μέταλλα και ιχνοστοιχεία. Δεδομένου ότι δεν επιτρέπεται η προσθήκη συμβατικών μεταλλικών στοιχείων στις βιολογικές ζωοτροφές (834/2007), είναι αναμενόμενο να διαπιστώνονται μεγαλύτερες περιεκτικότητες των στοιχείων αυτών στο συμβατικό γάλα. Οι Coonan et al. (2002), παρατήρησαν μειωμένα ποσοστά χαλκού, σεληνίου, ιωδίου και μολυβδενίου σε βιολογικό γάλα.

2.3.5.2. Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά βιολογικού γάλακτος

Το ποσοστό των σωματικών κυττάρων στο γάλα αποτελεί ένδειξη της υγιεινής του μαστού (Μάντης, 2000) και ως εκ τούτου καθορίζει τα μικροβιολογικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου γάλακτος. Οι Bennedsgaard et al. (2003), Hardeng and Edge (2001) και οι Haskell et al. (2009) δεν διαπίστωσαν διαφορές στο ποσοστό σωματικών κυττάρων μεταξύ βιολογικού και συμβατικού γάλακτος. Αντίθετα οι Toledo et al. (2002), Sato et al. (2005) και Olivo et al. (2005) διαπίστωσαν χαμηλότερα ποσοστά σωματικών κυττάρων στο βιολογικό γάλα, ενώ οι Luukkonen et al. (2005), Roesch et al. (2005), Ellis et al. (2006) και οι Nauta et al. (2006) διαπίστωσαν υψηλότερα ποσοστά σωματικών κυττάρων στο βιολογικό γάλα. Σε μελέτη για το επίπεδο

καθαρότητας και εμφάνισης μαστίτιδων διαπιστώθηκε ότι τα βιολογικά ζώα ήταν σε καλύτερο επίπεδο (Ellis et al., 2007) και κατά συνέπεια οι πιθανότητες το γάλα να είναι ποιοτικότερο από το συμβατικό είναι περισσότερες.

Σε σχέση με το μικροβιακό προφίλ του βιολογικού γάλακτος έχει αναφερθεί χαμηλότερο φορτίο με *Streptococcus agalactiae* και *Streptococcus aureus* στο βιολογικό γάλα και υψηλότερα ποσοστά *E. coli* και *Neisseria* sp. Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι τα θερμοανθεκτικά βακτήρια και τα βακτήρια που προκαλούν μαστίτιδα είναι λιγότερα στο βιολογικό γάλα, ενώ τα ποσοστά κολοβακτηριοειδών ανευρίσκονται σε υψηλότερα ποσοστά από ότι στο συμβατικό γάλα (Matt et al., 2011). Οι Coorevits et al (2008) δεν διαπίστωσαν ουσιαστικές διαφορές στο μικροβιακό προφίλ βιολογικού και συμβατικού γάλακτος με εξαίρεση την παρουσία υψηλότερου αριθμού *Bacillus cereus* στο βιολογικό γάλα.

2.3.5.3. Χημικοί ρυπαντές βιολογικού γάλακτος

Αναφορικά με τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του βιολογικού γάλακτος, σε σχέση με τους χημικούς ρυπαντές, η διαθέσιμη βιβλιογραφία είναι σχετικά περιορισμένη. Η απαγόρευση χρήσης χημοπροστατευτικών ουσιών στη βιολογική καλλιέργεια και εκτροφή, μειώνουν ή ακόμα και εξαλείφουν τις πιθανότητες εμφάνισης καταλοίπων τους στο βιολογικό γάλα. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στις ΗΠΑ βρέθηκε το 27% των δειγμάτων συμβατικού γάλακτος να περιέχει πυρεθροειδή, ενώ το ποσοστό ήταν σχεδόν μηδενικό στα αντίστοιχα δείγματα βιολογικού γάλακτος (Benbrook, 2005). Επίσης, στην συμβατική παραγωγή, χρησιμοποιούνται αντιβιοτικά συχνά για λόγους προφύλαξης και όχι μόνο θεραπείας, όπως στα βιολογικά, με αποτέλεσμα την παρουσία καταλοίπων αντιβιοτικών συχνότερα στα συμβατικά γάλατα από ότι στα βιολογικά (Matt et al., 2011). Σε μελέτη αναφορικά με την παρουσία βαρέων μετάλλων δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα βιολογικά και στα συμβατικά δείγματα γάλακτος (Gabryszuk et al., 2008).

2.3.5.4. Βιολογικό γάλα και Αφλατοξίνη M1

Τα πρώτα δημοσιευμένα αποτελέσματα για την παρουσία AFM1 στο γάλα χρονολογούνται τουλάχιστον μία δεκαετία πριν (Woese et al., 1997; Lund, 1991) και ο FAO (2000) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει επαρκής τεκμηρίωση για το γεγονός ότι το βιολογικό γάλα περιέχει λιγότερη AFM1 σε σύγκριση με το συμβατικό. Ακόμα όμως και σήμερα οι απόψεις των ερευνητών στο συγκεκριμένο ζήτημα ποικίλουν. Στο Ηνωμένο Βασίλειο οι αρμόδιες αρχές ισχυρίζονται πως οι μυκοτοξίνες ανευρίσκονται σε μεγαλύτερα ποσοστά στο συμβατικό γάλα σε σχέση με το βιολογικό (DEFRA, 2008; FSA, 2001). Οι πρακτικές που χρησιμοποιούνται στις συμβατικές καλλιέργειες ενισχύουν την παραπάνω άποψη καθώς παρατηρείται αύξηση των ποσοστών μυκοτοξινών στα φυτά και κατ' επέκταση στις ζωοτροφές των συμβατικά εκτρεφόμενων ζώων (Leifert et al., 2007). Τα ζώα βιολογικής εκτροφής διατρέφονται κυρίως σε βοσκοτόπους (όπου η πιθανότητα εμφάνισης μυκοτοξινών είναι περιορισμένη) και κατά συνέπεια έχουν μικρότερες πιθανότητες να εκκρίνουν AFM1 στο γάλα. Η εναλλαγή καλλιεργειών στις βιολογικές εκτάσεις και η δέσμευση ότι τα βιολογικής εκτροφής ζώα πρέπει να διατρέφονται σε τέτοιες εκτάσεις (Καν. 834/2007) δεν ευνοούν την ανάπτυξη μυκήτων και κατά συνέπεια την παρουσία μυκοτοξινών στα βιολογικά προϊόντα (Pussemier et al., 2006).

Στον αντίποδα αυτού αναφέρεται ότι στα ζώα βιολογικής εκτροφής που τρέφονται με βιολογικές ζωοτροφές, οι οποίες παράγονται χωρίς τη χρήση μυκητοκτόνων, παρατηρούνται να έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες ανίχνευσης μυκοτοξινών στο παραγόμενο γάλα (Marx et al., 1995; DEFRA, 2008). Τέλος καταγράφεται και η άποψη πως δεν υπάρχει καμία διαφορά μεταξύ βιολογικού και συμβατικού γάλακτος ως προς την παρουσία μυκοτοξινών, καθώς δεν προκύπτει διαφορά μεταξύ βιολογικών και συμβατικών ζωοτροφών (FAO, 2000; Eltun, 1996; Mader et al., 2007). Ακόμη και σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στην ίδια περιοχή διατυπώθηκαν αντικρουόμενα συμπεράσματα. Συγκεκριμένα στην Ιταλία, οι Ghidini et al. (2005) διαπίστωσαν υψηλότερα ποσοστά AFM1 σε βιολογικό γάλα, ενώ οι Vallone et al. (2006), χαμηλότερα. Μελέτες που εστίασαν στο αν η εκτροφή είναι

εντατικού ή εκτατικού τύπου καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι τα επίπεδα μόλυνσης με AFM1 είναι μεγαλύτερα στις εντατικές εκτροφές, οι οποίες προσομοιάζουν κατά κάποιο τρόπο στις συμβατικές σύγχρονες εκτροφές (Virdis et al., 2008).

Οι γνωστές σε εμάς, πέντε συγκριτικές ερευνητικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε γάλα δεν κρίνονται επαρκείς προκειμένου να τεκμηριωθεί ότι το βιολογικό γάλα περιέχει λιγότερο ή και καθόλου AFM1 (Πίνακας 16).

Πίνακας 16: Αποτελέσματα συγκριτικών μελετών σε βιολογικό και συμβατικό γάλα για την παρουσία Αφλατοξίνης M1

Μελέτη	Ποσοστό Αφλατοξίνης M1
Lund, 1991	χαμηλότερο στα βιολογικά
Woese et al., 1997	χαμηλότερο στα βιολογικά
FSA, 2001	χαμηλότερο στα βιολογικά
Ghidini et al., 2005	υψηλότερο στα βιολογικά
Vallone et al., 2006	χαμηλότερο στα βιολογικά

Ο περιορισμός χρήσης μυκητοκτόνων ουσιών στις βιολογικές καλλιέργειες μπορεί να επηρεάζει την παρουσία AFB1 στις ζωοτροφές. Το γεγονός όμως ότι διαχρονικά δεν υπάρχει ξεκάθαρη άποψη στο ζήτημα αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στην επίδραση και των υπολοίπων παραγόντων επικινδυνότητας για την παρουσία AFM1, ανεξάρτητα από τον τύπο της εκτροφής (βιολογική/συμβατική).

2.4. ΣΚΟΠΟΣ

Βάσει των μοντέλων πρόβλεψης για την παρουσία της AB1 στις ζωοτροφές, τα οποία κατηγοριοποιούν την Ελλάδα στις επικίνδυνες ζώνες, το πρόβλημα των AFs ενδέχεται να γίνει εντονότερο τα επόμενα χρόνια, αν αναλογιστούμε την εκτιμώμενη κλιματική αλλαγή στον πλανήτη. Επιπλέον με δεδομένο την κατανάλωση πολλών γαλακτοκομικών προϊόντων (γιαούρτη, τυρί) στην Ελλάδα από κατσικίσιο και πρόβειο γάλα, τα οποία δεν ελέγχονται το ίδιο εντατικά στην Ελλάδα και στην Ευρώπη, θεωρείται σοβαρό το ενδεχόμενο να εμφανίζονται AFM1. Άλλωστε, γνωρίζοντας από την βιβλιογραφία ότι η AM1 δεν καταστρέφεται με τους τεχνολογικούς χειρισμούς τυροκόμησης, οι μετρήσεις σε γάλα από την πρωτογενή παραγωγή βοηθούν προς την κατεύθυνση εξαγωγής συμπερασμάτων και για τα επίπεδα AFM1 στο τελικό προϊόν. Τέλος, η πεποίθηση πολλών καταναλωτών ότι τα βιολογικά τρόφιμα είναι γενικά ασφαλέστερα σε σύγκριση με τα συμβατικά, σε συνδυασμό με τα παραπάνω αποτέλεσαν τη βάση για το σχεδιασμό της παρούσας έρευνας.

Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι δεν υπάρχουν γνωστές μελέτες σε εμάς που να συγκρίνουν τα επίπεδα AFM1 σε βιολογικό και συμβατικό νωπό γάλα στην Ελλάδα, ενώ στην Ευρώπη είναι λίγες (FSA, 2001; Ghidini et al., 2005; Vallone et al., 2006) και με αντικρουόμενες απόψεις, κρίθηκε σκόπιμο και χρήσιμο για λόγους Δημόσιας Υγείας και προστασίας του καταναλωτή να διερευνηθεί η τρέχουσα κατάσταση στην Ελλάδα. Κύριος σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να αποτυπωθούν τα επίπεδα AFM1 σε αίγιο και πρόβειο νωπό γάλα, προερχόμενο από βιολογικές και συμβατικές εκτροφές ζώων και να εκτιμηθούν οι εμπλεκόμενοι παράγοντες επικινδυνότητας, με απώτερο σκοπό τη διασφάλιση της Δημόσιας Υγείας.

Αναλυτικά οι επιμέρους στόχοι της μελέτης αφορούσαν τα ακόλουθα:

- Σύγκριση των χαρακτηριστικών βιολογικών και συμβατικών εκτροφών αιγών και προβάτων στη Θεσσαλία.
- Εκτίμηση των ποσοστών AFM1 σε αίγιο και πρόβειο γάλα στην περιοχή της Θεσσαλίας.

- Εκτίμηση των ποσοστών AFM1 σε βιολογικό και συμβατικό αίγαιο και πρόβειο γάλα στη περιοχή της Θεσσαλίας
- Διερεύνηση των εμπλεκόμενων παραγόντων επικινδυνότητας για την παρουσία AFM1 σε βιολογικό και συμβατικό αίγαιο και πρόβειο γάλα στη περιοχή της Θεσσαλίας
- Έμμεση εκτίμηση των επιπτώσεων στην υγεία με βάση τα διαπιστωμένα επίπεδα παρουσίας AFM1 σε βιολογικό και συμβατικό αίγαιο και πρόβειο γάλα στη περιοχή της Θεσσαλίας
- Σύγκριση της μεθόδου διαλογής (screening) με τη μέθοδο αναφοράς (HPLC-FLD) για τον προσδιορισμό της AFM1 σε νωπό αίγαιο και πρόβειο γάλα
- Εκτίμηση των συγκριτικών πλεονεκτημάτων ή μειονεκτημάτων για τον καταναλωτή από την κατανάλωση βιολογικού γάλακτος.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

3.1. ΠΕΡΙΟΧΗ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ως περιοχή μελέτης επιλέχτηκε η Περιφέρεια Θεσσαλίας και συγκεκριμένα οι νομοί Καρδίτσας, Λάρισας και Μαγνησίας. Η συγκεκριμένη περιοχή επιλέχτηκε καθώς είναι κυρίως κτηνοτροφική περιοχή με σημαντικά ποσοστά ζωικού κεφαλαίου, με ποικιλία στην εφαρμογή κτηνοτροφικών πρακτικών (βιολογική και συμβατική), με σημαντική παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων και ποικιλία στα γεωκλιματικά χαρακτηριστικά της.

Στη Θεσσαλία, κατά το έτος 2010, εκτρέφονταν 1.417.855 πρόβατα και 597.679 αίγες σε σύνολο στην επικράτεια 10 εκ. και 5 εκ. αντίστοιχα (Ελληνική Στατιστική Υπηρεσία, 2012). Στην Θεσσαλία παράγονται 10,2% αίγειου γάλακτος, 14,2% πρόβειου γάλακτος και 24,4% γαλακτοκομικών προϊόντων της συνολικής ελληνικής παραγωγής (Ελληνική Στατιστική Υπηρεσία, 2012; EUROSTAT, 2012). Οι εγκεκριμένοι εκτροφείς βιολογικής παραγωγής αιγών και προβάτων στη Θεσσαλία για το 2010 ήταν 258. Συγκεκριμένα, 56 στο νομό Λάρισας, 21 στο νομό Καρδίτσας, 156 στο Νομό Μαγνησίας και 25 στο νομό Τρικάλων (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2012c).

Τα δεδομένα βιο-εκτροφών αιγών και προβάτων δεν είναι αντίστοιχα των εγκαταστάσεων, καθώς μια εγκατάσταση μπορεί να συστεγάζει πάνω από 2 εκτροφείς. Οι ενεργοί βιολογικοί εκτροφείς αιγών και προβάτων στη Θεσσαλία για το 2010 ήταν περίπου 143 (Διεύθυνση Αγροτικής Ανάπτυξης και Κτηνιατρικής, Περιφέρεια Θεσσαλίας, 2010) (Πίνακας 17).

Η Θεσσαλία χαρακτηρίζεται από την κεντρική-ανατολική θέση της στον ηπειρωτικό κορμό της Ελλάδας, με έκταση 14.307 τετρ. χλμ., η οποία αντιπροσωπεύει το 10,6% της συνολικής έκτασης της Ελληνικής Επικράτειας. Το ανάγλυφο του εδάφους της Περιφέρειας Θεσσαλίας στη χερσαία έκτασή της χαρακτηρίζεται από εκτεταμένο πεδινό τμήμα, το οποίο περιβάλλεται δυτικά, βόρεια και νότια από ορεινούς όγκους, ενώ ανατολικά βρέχεται από το

Αιγαίο Πέλαγος, σε άμεση προσέγγιση με το νησιωτικό της χώρας τις Βόρειες Σποράδες. Οι ορεινές περιοχές της Περιφέρειας καταλαμβάνουν το 46% της συνολικής έκτασής της. Αναφορικά με το κλίμα, η Θεσσαλία παρουσιάζει Ορεινό, Ηπειρωτικό και Μεσογειακό κλίμα ανάλογα με την περιοχή (Περιφέρεια Θεσσαλίας, 2011).

Πίνακας 17: Δεδομένα κτηνοτροφικής παραγωγής στην περιοχή της Θεσσαλίας (Ελληνική Στατιστική Υπηρεσία, 2012)

	Αίγες	Αίγιο γάλα (τν)	Πρόβατα	Πρόβειο γάλα (τν)	Γαγκατοκομικά (τν)	Βιολογικές Αίγες	Βιολογικά Πρόβατα
Ελλάδα	5,401,865	503,495	8,831,042	753,470	181,230	226,556	288,923
Λάρισα	230,629	27,232	596,760	58,694	8,474	12,585	7,593
Μαγνησία	113,512	9,838	125,047	13,281	2,921	45,570	10,659
Καρδίτσα	50,583	3,966	169,557	13,265	1,419	1,277	2,831
Τρίκαλα	96,364	10,354	213,364	21,824	31,428	962	4,655

3.2. ΕΠΙΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Η εξεύρεση εκτροφών για τη συλλογή δειγμάτων γάλακτος και η ένταξη τους στη μελέτη ξεκίνησε τον Ιούνιο του 2009 σε συνεργασία με τη Διεύθυνση Κτηνιατρικής και τη Διεύθυνση Αγροτικής Ανάπτυξης της Περιφέρειας Θεσσαλίας, με πιστοποιητικούς οργανισμούς βιολογικών εκτροφών, με ιδιώτες κτηνιάτρους και με ομάδες παραγωγών. Καταρτίστηκε κατάλογος με όλες τις βιολογικές εκτροφές της περιφέρειας, ο οποίος ενημερωνόταν κατά τη διάρκεια της μελέτης, αφού στο μεσοδιάστημα αρκετοί εκτροφείς εγκατέλειψαν την βιολογική εκτροφή. Από τους 143 βιολογικούς εκτροφείς αιγών και προβάτων, στην συγκεκριμένη μελέτη επιλέχτηκαν τυχαία και με τη βοήθεια της Διεύθυνσης Κτηνιατρικής της Περιφέρειας Θεσσαλίας, 43 φάρμες. Κατά την επίσκεψη στις εκτροφές, ζητήθηκε πιστοποιητικό βιολογικής εκτροφής σε ισχύ. Δεδομένου ότι κάποιοι εκτροφείς εγκατέλειψαν την βιολογική εκτροφή κατά τη διάρκεια της μελέτης, τελικά στην μελέτη συμμετείχαν 39 βιολογικές εκτροφές αιγών και προβάτων, που αντιστοιχούσαν σε περίπου 120 εκτροφείς. Για την συγκριτική αξιολόγηση της μελέτης επιλέχτηκε ίσος αριθμός (39) συμβατικών εκτροφών τυχαία από τα αρχεία των κατά τόπους Αγροτικών Κτηνιατρείων σε γειτονικές περιοχές και με τα ίδια είδη ζώων (αίγες/πρόβατα).

3.3. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟΥ–ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ

Για την πλήρη περιγραφή των εκτροφών που συμμετείχαν στη μελέτη αλλά και προκειμένου να συσχετιστούν τα αναλυτικά αποτελέσματα με πιθανούς παράγοντες κινδύνου για την παρουσία AFM1, δημιουργήθηκε ερωτηματολόγιο μετά από ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας για ζητήματα εκτροφής βιολογικών αιγών και προβάτων (Σπαής, 1997; Ζυγογιάννης, 1999; Ζυγογιάννης και Κατσαούνης 1994; Rahmann, 2008, Καν. 889/2008; Καν. 834/2007; Λουκέρη, 2000). Η διατύπωση των ερωτήσεων έγινε με τέτοιο τρόπο ώστε να επιτρέπει τη συλλογή ποιοτικών και ποσοτικών δεδομένων, τα οποία να μπορούν να επεξεργαστούν στατιστικά στη συνέχεια. Το ερωτηματολόγιο ελέγχθηκε πιλοτικά με συνέντευξη από το ίδιο άτομο σε 10 παραγωγούς με επιτόπου επισκέψεις τις εκτροφές. Κατά την διάρκεια της πιλοτικής συμπλήρωσης του ερωτηματολογίου δεν προέκυψαν προβλήματα, οι ερωτήσεις ήταν κατανοητές και η αποτύπωση των απαντήσεων επαρκής. Η επιτόπου συμπλήρωση του ερωτηματολογίου είχε διάρκεια κατά μέσο όρο 30 λεπτά.

Το προτυποποιημένο ερωτηματολόγιο εκτροφής περιείχε 70 ερωτήσεις, κατηγοριοποιημένες σε 13 ενότητες. Ενδεικτικά ακολουθούν τα πεδία του ερωτηματολογίου:

- **Στοιχεία εκτροφής:** ονοματεπώνυμο, τοποθεσία, στοιχεία επικοινωνίας
- **Κτηνιατρική παρακολούθηση:** αγροτικός και ιδιώτης κτηνίατρος με στοιχεία επικοινωνίας
- **Στοιχεία ζωικού κεφαλαίου:** είδος, φυλές, αριθμός ζώων ανά κατηγορία, απώλειες, νεοεισερχόμενο ζωικό κεφάλαιο
- **Σταβλικές εγκαταστάσεις:** διαμονή, έκταση, διαμόρφωση, πρόσβαση σε βοσκότοπο, σιλό, αποθήκες
- **Διατροφή–Νερό:** προέλευση, σύστημα, είδος, χαρακτηριστικά βοσκοτόπου, σιτηρέσιο, αποθήκευση, προέλευση νερού
- **Τύπος Εκτροφής:** μετακινούμενη, βιολογική, πιστοποίηση

- **Προφίλ Υγείας:** εμβολιασμοί, αποπαρασιτώσεις, νοσήματα, διαγνωστικά τεστ, φαρμακευτική αγωγή
- **Σύστημα Ταυτοποίησης**
- **Αναπαραγωγική Διαδικασία**
- **Γαλακτοπαραγωγική Διαδικασία:** διάρκεια, τρόπος, υγιεινή, έλεγχοι, ποσότητες, χειρισμός
- **Ευζωία Ζώων:** με βάση τις απαιτήσεις των Κανονισμών Βιολογικής Εκτροφής
- **Περιβάλλον:** διαχείριση αποβλήτων
- **Παραγόμενα Προϊόντα:** κρέας, γάλα

Το ερωτηματολόγιο παρουσιάζεται στο Παράρτημα 1

Η κατηγοριοποίηση των απαντήσεων σε περιπτώσεις που η απάντηση ήταν περιγραφική έγινε ως εξής:

- **Επίπεδο Υγείας:**
 - Άριστο: Χωρίς νοσήματα το τελευταίο έτος
 - Μέτριο: Με προβλήματα μαστίτιδας πάνω από το 10% του κοπαδιού
 - Χαμηλό: Εμφάνιση και άλλων νοσημάτων (π.χ. εντεροτοξιναιμία, αγαλαξία) σε ποσοστό πάνω από 50% του κοπαδιού
- **Ποιότητα Αποθήκευσης:**
 - Χαμηλή: Εγκαταλελειμμένες εγκαταστάσεις, εγκαταστάσεις από υλικά που δεν προστατεύουν το προϊόν
 - Καλή: Κλειστές εγκαταστάσεις χωρίς δείγματα πιθανής επιμόλυνσης του προϊόντος
- **Υγιεινή Χώρου Άμλεξης:**
 - Κακή: Με πολύ έντονα δείγματα επιμόλυνσης
 - Μέτρια: Άμελη στο εξωτερικό περιβάλλον

- Καλή: Ξεχωριστός χώρος άμελης με δείγματα πιθανής επιμόλυνσης του γάλακτος
- Πολύ καλή: Ξεχωριστός χώρος άμελης χωρίς δείγματα πιθανής επιμόλυνσης του γάλακτος

- **Υγιεινή γαλακτοδοχείων:**

- Κακή: Με πολύ έντονα δείγματα επιμόλυνσης
- Μέτρια: Με ορατά δείγματα επιμόλυνσης
- Καλή: Χωρίς ορατά δείγματα πιθανής επιμόλυνσης
- Πολύ καλή: Χωρίς όρατά δείγματα πιθανής επιμόλυνσης και με προστατευμένη αποθήκευση

- **Υγιεινή μαστών:**

- Κακή: Με πολύ έντονα δείγματα επιμόλυνσης
- Μέτρια: Με ορατά δείγματα επιμόλυνσης
- Καλή: Χωρίς ορατά δείγματα πιθανής επιμόλυνσης
- Πολύ καλή: Απολύμανση μαστών πριν την άμελη

Επιπλέον σχεδιάστηκε πρωτόκολλο δειγματοληψίας (Παράρτημα 2) προκειμένου να τυποποιηθεί η συλλογή των δειγμάτων γάλακτος, συλλέγοντας πληροφορίες που αφορούσαν το κάθε δείγμα. Συγκεκριμένα το πρωτόκολλο δειγματοληψίας περιείχε ερωτήσεις αναφορικά με τη διατροφή, την ώρα άμελης και τη χορήγηση φαρμακευτικών σκευασμάτων το προηγούμενο της δειγματοληψίας διάστημα. Το πρωτόκολλο δειγματοληψίας ελέγχθηκε πιλοτικά παράλληλα με το ερωτηματολόγιο εκτροφής, χωρίς να υπάρξουν προβλήματα.

3.4. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ-ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Σε συνεργασία με 78 επιλεγμένους παραγωγούς στην περιοχή της Θεσσαλίας καταστρώθηκε σχέδιο δειγματοληψίας που αφορούσε τη συλλογή τριών δειγμάτων γάλακτος 500ml μετά την ολοκλήρωση της πρωινής ή απογευματινής άμλεξης, από κάθε παραγωγό, στη διάρκεια μιας γαλακτικής περιόδου και συγκεκριμένα στην αρχή (Δεκέμβριος-Φεβρουάριος), μέση (Μάρτιος-Απρίλιος) και τέλος (Μάιος-Ιούλιος) της γαλακτικής περιόδου. Οι δειγματοληψίες ξεκίνησαν το Δεκέμβριο του 2010 και ολοκληρώθηκαν τον Ιούλιο του 2011. Συνολικά συλλέχθηκαν 234 δείγματα νωπού γάλακτος. Η συλλογή έγινε σε αποστειρωμένους γυάλινους περιέκτες με κατά το δυνατόν άσηπτους χειρισμούς. Αμέσως μετά την κάθε δειγματοληψία τα δείγματα υπό συνθήκες ψύξης, έφταναν στο εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας για περαιτέρω χειρισμούς. Το κάθε δείγμα 500ml διαμοιράστηκε σε πλαστικούς περιέκτες και δημιουργήθηκαν 3 σειρές όμοιων δειγμάτων που αποθηκεύτηκαν σε βαθιά κατάψυξη (-80°C), μέχρι την εκτέλεση των αναλύσεων. Τα δείγματα καθώς και οι ημερομηνίες που αυτά συλλέχθηκαν παρουσιάζονται αναλυτικά στο Παράρτημα 3.

Κατά την επόμενη γαλακτική περίοδο (2011-2012) συλλέχθηκαν δείγματα από τους παραγωγούς που είχαν γάλα με θετικά αναλυτικά αποτελέσματα, με σκοπό την αξιολόγηση της ανταπόκρισής τους στην ενημέρωση για θετικά δείγματα. Η μεθοδολογία δειγματοληψίας που ακολουθήθηκε ήταν η ίδια με αυτήν της πρώτης γαλακτικής περιόδου.

Κατά τη διάρκεια της πρώτης δειγματοληψίας σε κάθε εκτροφή συμπληρώθηκαν μετά από συνέντευξη των παραγωγών και επιτόπια επιθεώρηση, 78 ερωτηματολόγια. Επιπλέον παράλληλα με τη συλλογή των δειγμάτων και σε όλες τις περιόδους, συμπληρώθηκαν με συνέντευξη των παραγωγών 234 πρωτόκολλα δειγματοληψίας.

3.5. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Τα δείγματα αναλύθηκαν για προσδιορισμό AFM1 με εφαρμογή της μεθόδου ELISA και τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν με εφαρμογή της μεθόδου HPLC-FLD. Επίσης, προσδιορίστηκε η χημική σύσταση των δειγμάτων γάλακτος με εφαρμογή της μεθόδου ακτινοβολίας υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (Fourier Transformed Infra Red-FTIR). Πριν από κάθε ανάλυση προσδιοριζόταν το pH του προς εξέταση δείγματος για διαπίστωση της καταλληλότητας του προς ανάλυση (αποδεκτό $\text{pH} \geq 6,5$).

3.5.1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ M1 ΜΕ ELISA

Συνολικά, 234 δείγματα γάλακτος αναλύθηκαν με ELISA (AFLA M1 MILK Cat. N. MA440/MA441, Tecna s.r.l., Trieste, Italy) για την αρχική διαλογή (screening) των δειγμάτων, με όριο ανίχνευσης τα 5 ng l^{-1} . Η εμπορική συσκευασία ELISA που χρησιμοποιήθηκε, ελέγχθηκε ως προς τα χαρακτηριστικά επίδοσης της πριν τη χρήση και κρίθηκε αξιόπιστη για την ποσοτικοποίηση της AFM1 στο επίπεδο του ανώτατου επιτρεπόμενου ορίου (Χριστοφορίδου και συν., 2011).

Τα δείγματα προετοιμάστηκαν και αναλύθηκαν σύμφωνα με τις οδηγίες του Κατασκευαστή Οίκου (Παράρτημα 4). Ενδεικτικά, μετά τη φυγοκέντρηση των δειγμάτων για 10 λεπτά, στα 2000g και στους 2°C , σε φυγόκεντρο EPPENDORF 5810R, απομακρύνθηκε η επιφανειακή στιβάδα του λίπους. Στη συνέχεια, προστέθηκαν στην πλάκα μικροτιτλοδότησης 100μl από 7 πρότυπα διαλύματα και από τα δείγματα με τη χρήση διακριβωμένης πιπέτας μεταβλητού όγκου (PROLINE) και η πλάκα επώαστηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 45 λεπτά. Με την ολοκλήρωση της επώασης το περιεχόμενο της πλάκας απορρίφθηκε και ακολούθησε πλύσιμο των βοθρίων με το διάλυμα πλυσίματος (washing solution) 4 φορές. Στα βοθρία προστέθηκε 100μl διαλύματος σύζευξης (conjugate solution) με τη χρήση διακριβωμένης πολυκάναλης πιπέτας ρυθμιζόμενου όγκου (BRAND TRANSFERPETTE) και ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 15 λεπτά. Αφού η πλάκα πλύθηκε εκ νέου με το διάλυμα πλυσίματος,

προστέθηκε στα βοθρία 100μl διαλύματος υποστρώματος (substrate solution) με τη χρήση της πολυκάναλης πιπέτας και ακολούθησε επώαση για 15 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και σε σκοτεινό χώρο. Μετά την ολοκλήρωση της επώασης προστέθηκαν 50μl διαλύματος διακοπής (stop solution) με τη χρήση της πολυκάναλης πιπέτας και ακολούθησε η φωτομέτρηση της μικροπλάκας σε φωτόμετρο PR 2100 SANOFI, ρυθμισμένο στα 450nm.

Τα επίπεδα AFM1 στα δείγματα υπολογίστηκαν με τη δημιουργία πρότυπης καμπύλης με τη χρήση των διαθέσιμων, στην εμπορική συσκευασία που χρησιμοποιήθηκε, πρότυπων διαλυμάτων (εύρος συγκεντρώσεων από 5 έως 250ng l⁻¹). Τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν και με τη χρήση του προτεινόμενου από τον Οίκο λογισμικού (TECNA spreadsheet for I' screen AM1-Cod.MA 418-419, Cod. MA 440-441). Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, τον Ιούνιο του 2011. Το πρωτόκολλο ανάλυσης παρουσιάζεται αναλυτικά στο Παράρτημα 4.

3.5.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΜΕ HPLC

Τα θετικά σε AFM1 δείγματα με ELISA, συμπεριλαμβανομένων όλων των δειγμάτων άνω του ανώτατου ορίου και έναν αναλογικό αριθμό θετικών στα επιτρεπτά όρια, αναλύθηκαν με την μέθοδο αναφοράς HPLC-FLD (ISO 14501:2007) με σκοπό την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων. Αρνητικά από την ELISA δείγματα συμπεριλήφθηκαν ως δείγματα ελέγχου στην ανάλυση με HPLC. Επιπλέον, δείγματα από την επανάληψη της δειγματοληψίας σε εκτροφές που αρχικά έδωσαν δείγματα με AFM1 άνω του επιτρεπόμενου ορίου, αναλύθηκαν με HPLC-FLD. Συνολικά 27 δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν.

Η ανάλυση συμπεριελάμβανε 2 κύρια στάδια. Αρχικά έγινε εκχύλιση της Αφλατοξίνης Μ1 από το δείγμα και στη συνέχεια το εκχύλισμα αναλύθηκε με HPLC-FLD. Ειδικότερα, η εκχύλιση και ο καθαρισμός των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με στήλες ανοσοσυγγένειας (AFLAPREP M, P04, K-Biopharm Rhone Ltd, Glasgow, UK), όπου αρχικά η AFM1 συγκρατήθηκε από

τα ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα σε εναιώρημα γέλης και στη συνέχεια εκλούστηκε με ακετονιτρίλιο. Το εκχύλισμα υποβλήθηκε σε ανάλυση με την HPLC-FLD, που πραγματοποιήθηκε σε σύστημα HPLC Alliance (Waters Milford, MA, USA), και αποτελούνταν από ένα τμήμα χρωματογραφικού διαχωρισμού (Waters 2695 separation model) εφοδιασμένο με στήλη Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 250mm, 5μm) (Agilent Technologies, USA) και ανιχνευτή φθορισμού (Waters 2475 FLR). Τα αναλυτικά δεδομένα που ανακτήθηκαν, αναλύθηκαν με το λογισμικό Millennium 32 (Waters Milford, MA, USA). Η ανάλυση διεξήχθη σε ισοκρατικές συνθήκες, με διαλύτη έκλουσης μίγμα ακετονιτρίλιο:νερό (25:75 v/v) σε ταχύτητα ροής 1ml/min, στήλη στους 30°C και όγκο έγχυσης 50μL. Ο ανιχνευτής φθορισμού ρυθμίστηκε στα 365nm ως μήκος κύματος διέγερσης και στα 435nm ως μήκος κύματος εκπομπής.

Για την ποσοτικοποίηση της AFM1 στα αναλυθέντα δείγματα δημιουργήθηκε καμπύλη βαθμονόμησης έξι επιπέδων με τη χρήση προτύπων διαλυμάτων AFM1 σε ακετονιτρίλιο, σε συγκεντρώσεις 0,0125, 0,025, 0,050, 0,100, 0,200, 0,400μgkg⁻¹ που παρασκευάστηκαν από το εμπορικά διαθέσιμο πρότυπο AFM1 συγκέντρωσης 10mg L⁻¹ (Supelco Αναλυτικό 10mg l⁻¹). Το όριο ανίχνευσης (Limit of Detection-LOD) της μεθόδου προσδιορίστηκε στα 0,004μg kg⁻¹, ενώ ως όριο ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification-LOQ) έγινε αποδεκτό το χαμηλότερο σημείο της βαθμονόμησης (0,0125μg kg⁻¹). Η απόκριση του ανιχνευτή στις παραπάνω συγκεντρώσεις ήταν αυστηρά γραμμική με συσχέτιση R²=0,9997. Ένα πρότυπο δείγμα επιμολυσμένο με AFM1 σε συγκέντρωση 0,050μg kg⁻¹ χρησιμοποιήθηκε για ποιοτικό έλεγχο, μετά την ανάλυση κάθε 10 δειγμάτων. Τα δείγματα αναλύθηκαν στο Εθνικό Εργαστήριο Αναφοράς για μυκοτοξίνες στο Κέντρο Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων Αθηνών του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, κατά το διάστημα Σεπτέμβριος–Οκτώβριος 2011 και Μάιος 2012. Η αναλυτική πορεία περιγράφεται αναλυτικά στο Παράρτημα 5.

3.5.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΜΕ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ FOURIER (FOURIER TRANSFORMED INFRA RED-FTIR)

Η χημική σύσταση των δειγμάτων γάλακτος και συγκεκριμένα το λίπος, οι πρωτεΐνες, η λακτόζη και τα ολικά στερεά προσδιορίστηκαν συνολικά σε 234 δείγματα με την χρήση αυτόματου αναλυτή γάλακτος (MILCOSCAN-FT1, FOSS), βασισμένου στη μεθοδολογία φασματοσκοπίας υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier. Οκτώ ml δείγματος, σε θερμοκρασία δωματίου, αναλύθηκαν με ακρίβεια <1% και επαναληψιμότητα <0,25% (Παράρτημα 6). Τα δείγματα αναλύθηκαν στο Εργαστήριο Τροφίμων του Τμήματος Ζωικής Παραγωγής του ΤΕΙ Ηπείρου, τον Δεκέμβριο του 2011.

3.6. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

3.6.1. ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΒΑΣΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Δημιουργήθηκαν τρεις συνδεδεμένες βάσεις δεδομένων χρησιμοποιώντας το λογισμικό Epi Info (v.3.4.3) (Παράρτημα 7):

- Βάση δεδομένων με καταγραφή ερωτηματολογίων εκτροφής
- Βάση δεδομένων με καταγραφή πρωτοκόλλων δειγματοληψίας
- Βάση δεδομένων με καταγραφή αναλυτικών αποτελεσμάτων ELISA και HPLC-FLD

Στη συνέχεια έγινε εξαγωγή των δεδομένων στο SPSS v.19 (SPSS Inc., USA) για περαιτέρω ανάλυση.

3.6.2. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Για την στατιστική επεξεργασία των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS v.19 (SPSS Inc., USA). Οι ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση τιμή με την τυπική απόκλιση ή ως διάμεσος με το ενδοτεταρτημοριακό εύρος (Interquartile Range-IQR) (25^ο-75^ο ποσοστημόριο) και οι ποιοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες συχνότητες με τα αντίστοιχα ποσοστά, με όρια αξιοπιστίας 95%.

Το t-test ή η Ανάλυση Διακύμανσης (Anova) χρησιμοποιήθηκαν για τη διερεύνηση σχέσεων μεταξύ ποσοτικών και ποιοτικών μεταβλητών για κανονικά κατανομημένα δεδομένα, ενώ για μη κανονικά κατανομημένα δεδομένα χρησιμοποιήθηκε το Mann-Whitney test ή το Kruskal-Wallis test. Ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman (Spearman correlation's coefficient) χρησιμοποιήθηκε για την διερεύνηση συσχέτισης μεταξύ ποσοτικών μεταβλητών. Το Wilcoxon test εφαρμόστηκε για τον έλεγχο διαφορών ποσοτικών μεταβλητών κατά ζεύγη. Ο συντελεστής kappa του Cohen χρησιμοποιήθηκε για να εκτιμηθεί η συμφωνία αποτελεσμάτων των αναλυτικών τεχνικών (ELISA, HPLC) (Wood, 2007; SPSS, 2011).

Η δοκιμασία Χ-τετράγωνο (Chi-square test) ή η ακριβής δοκιμασία του Fisher (Fisher's exact test) χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο ομοιογένειας των

χαρακτηριστικών των δειγμάτων, στο είδος εκτροφής (βιολογική/συμβατική). Επιπλέον το Χ-τετράγωνο χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση σχέσεων μεταξύ ποιοτικών μεταβλητών (παραγόντων) και AFM1 υπολογίζοντας τους σχετικούς κινδύνους (Relative Risk-RR) με τα αντίστοιχα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (95% ΔΕ). Η δοκιμασία Χ-τετράγωνο για τάση (Chi-square test for trend) χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση γραμμικής σχέσης μεταξύ διατάξιμων μεταβλητών και AFM1.

Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, πραγματοποιήθηκε ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης, χρησιμοποιώντας το Wald test, προκειμένου να εκτιμηθούν οι παράγοντες που επηρεάζουν την παρουσία της AMF1, υπολογίζοντας τα odds ratios (OR) με τα αντίστοιχα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (95% ΔΕ). Η παρουσία της AFM1 (\geq LOD) χρησιμοποιήθηκε ως εξαρτημένη μεταβλητή και ως συγχυτικοί παράγοντες (confounders) χρησιμοποιήθηκαν οι μεταβλητές που βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές στη μονοπαραγοντική ανάλυση (p -value $<$ 0,05). Ένα αποτέλεσμα θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό όταν η τιμή του p -value ήταν μικρότερη ή ίση με 0,05.

Για τη γραφική απεικόνιση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκαν ραβδογράμματα. Η στατιστική επεξεργασία και η συσχέτιση των αναλυτικών αποτελεσμάτων με όλες τις παραμέτρους των ερωτηματολογίων με χρήση και της βάσης δεδομένων, πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

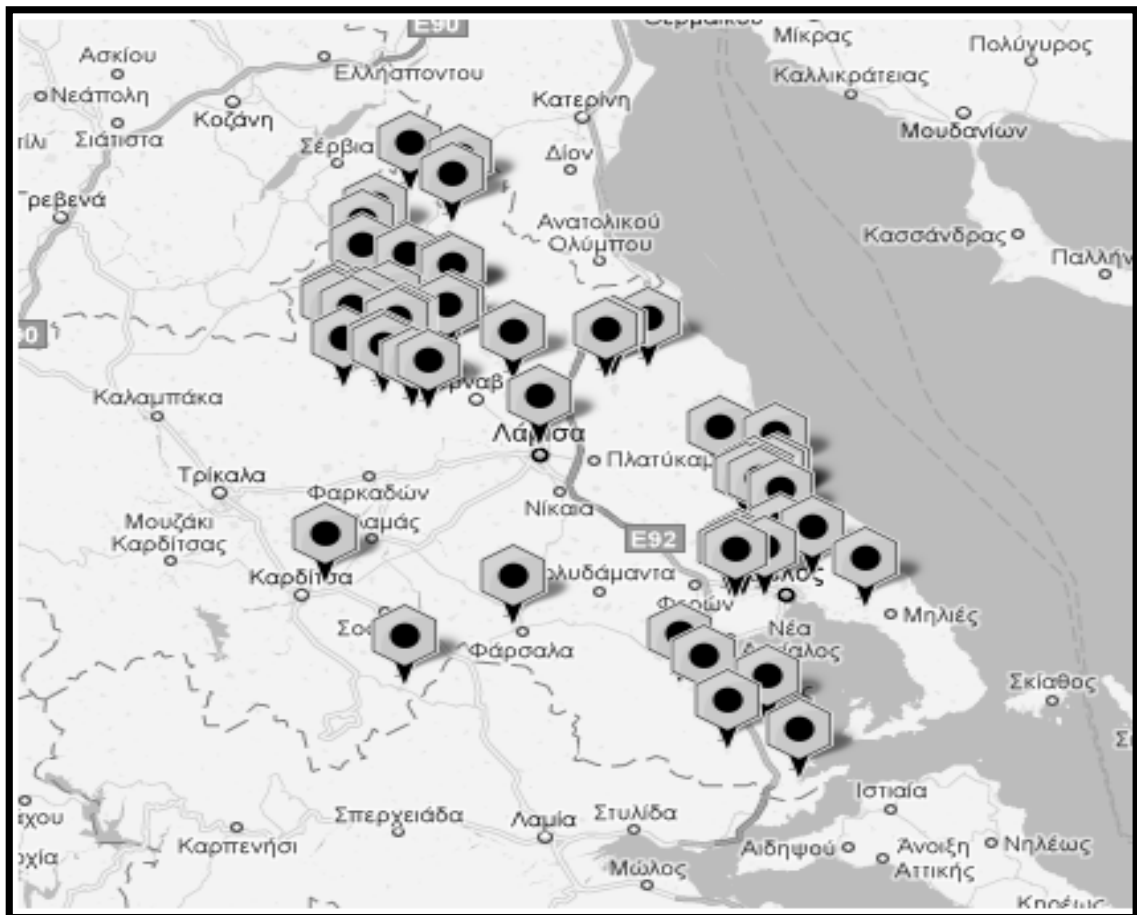
3.7. ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑ ΕΡΕΥΝΑΣ

Το πρωτόκολλο της παρούσας μελέτης εγκρίθηκε από την 12^η Γενική Συνέλευση Ειδικής Σύθεσης του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στις 9-12-2009. Οι συμμετέχοντες παραγωγοί ενημερώθηκαν προφορικά για το αντικείμενο της έρευνας, τη διαδικασία συλλογής δειγμάτων και το απόρρητο των αποτελεσμάτων τους. Η επίσκεψη στις εγκαταστάσεις τους γινόταν μετά από τηλεφωνική συνεννόηση και δεν υπήρξε χρηματική συναλλαγή με κανέναν από τους συμμετέχοντες. Τα προσωπικά δεδομένα των συμμετεχόντων είναι απόρρητα και προορίζονται μόνο για χρήση από την ερευνητική ομάδα που τα μελετά.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΚΤΡΟΦΩΝ ΚΑΙ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Από σύνολο 143 βιολογικών εκτροφών στη Θεσσαλία, στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 120 που αντιστοιχούσαν σε 39 εκτροφές, διαμορφώνοντας ποσοστό συμμετοχής 83,91%. Τα δείγματα γάλακτος για την εκπόνηση της παρούσας μελέτης συλλέχθηκαν από 78 εκτροφές αιγών και προβάτων στην περιφέρεια Θεσσαλίας (39 βιολογικές και 39 συμβατικές) και συγκεκριμένα: 40 εκτροφές από το νομό Λάρισας, 36 από το νομό Μαγνησίας και 2 από το νομό Καρδίτσας (Εικόνα 10).



Εικόνα 10: Τοποθεσία εκτροφών μελέτης

Οι εκτροφές ήταν διάσπαρτες, τόσο στον ορεινό, όσο και στον ημι-ορεινό και πεδινό όγκο της Θεσσαλίας. Εξήντα δύο από τις μονάδες ήταν εκτροφές αιγών και 16 ήταν εκτροφές προβάτων, με πληθυσμό που παρουσιάζεται στον Πίνακα 18.

Πίνακας 18: Πληθυσμοί αιγών και προβάτων μελέτης

	Αίγες					Πρόβατα				
	Μέσος	Απόκλιση	Διάμεσος	IQR	Εύρος	Μέσος	Απόκλιση	Διάμεσος	IQR	Εύρος
Βιολογικά	438	282	400	250-550	60-1250	1216	896	1050	440-2000	250-2500
Συμβατικά	402	253	400	300-500	10-1260	368	142	355	285-450	150-612

Η εκτιμώμενη ετήσια παραγωγή γάλακτος των συμμετεχόντων ήταν 2.600 τόνοι γίδινο γάλα και 1.000 τόνοι πρόβειο, ενώ 1.200 τόνοι αφορούσαν βιολογικό γίδινο και 660 τόνοι βιολογικό πρόβειο γάλα. Τα περιγραφικά χαρακτηριστικά όλων των εκτροφών που συμμετείχαν στη μελέτη, όπως προέκυψαν από τα ερωτηματολόγια που συμπληρώθηκαν, παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 19. Συνολικά συλλέχθηκαν 234 δείγματα γάλακτος, 78 σε κάθε μια από τις τρεις δειγματοληψίες κατά τη διάρκεια μιας γαλακτικής περιόδου. Εκατόν δέκα επτά (117) δείγματα προήλθαν από βιολογικές εκτροφές και ίσος αριθμός (117) δειγμάτων από συμβατικές. Συνολικά, 186 ήταν αίγεια και 48 πρόβεια δείγματα γάλακτος. Συγκρίνοντας τα περιγραφικά χαρακτηριστικά δειγμάτων γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές εκτροφές προέκυψαν ορισμένες στατιστικά σημαντικές διαφορές. Συγκεκριμένα οι διαφορές αυτές αφορούσαν την περιοχή εκτροφής, τα βοσκοτόπια, την χρήση κριθαριού και μπιζελιού ως ζωοτροφή, την ποιότητα αποθήκευσης των ζωοτροφών, τη διεξαγωγή αναλύσεων στο παραγόμενο γάλα, την υγιεινή της παγολεκάνης, των γαλακτοδοχείων, των μαστών, την διάθεση των προϊόντων και το τελικό παραγόμενο προϊόν (Πίνακας 20).

Πίνακας 19: Περιγραφικά χαρακτηριστικά εκτροφών

Χαρακτηριστικό		Συχνότητα	%	Χαρακτηριστικό		Συχνότητα	%	Χαρακτηριστικό		Συχνότητα	%					
Νομός	Καρδίτσα	2	2,6	Βοσκότοπος	Φυσικός	59	75,6	Υγιεινή γαλακτοδοχείων	Μέτρια	19	30,2					
	Λάρισα	40	51,3		Τεχνητός	4	5,13		Καλή	27	42,9					
	Μαγνησία	36	46,2		Και τα δύο	15	19,2		Πολύ καλή	17	27,0					
Περιοχή	Ημιορεινή Ορεινή Πεδινή	51 8 18	66,2 10,4 23,4	Τροφές	Βρώμη	6	7,7	Υγιεινή παγολεκάνης	Μέτρια	5	8,3					
					Κριθάρι	68	87,2		Καλή	26	43,3					
					Καλαμπόκι	76	97,4		Πολύ καλή	29	48,3					
					Σιτάρι	34	43,6	Υγιεινή μαστού	Μέτρια	10	13,0					
Μηδική	7	9,0	Καλή	54	70,1											
Τριφύλλι	52	66,7	Πολύ καλή	13	16,9											
Κτηνιατρική επίβλεψη	Ναι	52	66,7	Αποθήκευση τροφής	Ναι	76	97,4	Διαχείριση γάλακτος	Παγολεκάνη	40	51,3					
					Μπιζέλι	7	9,0		Γαλακτοδοχεία	16	20,5					
Είδος	Αίγες	62	79,5	Ποιότητα αποθήκευσης τροφής	Χαμηλή	21	26,9		Χρόνος παραμονής γάλακτος (h)	< 12	20	25,6				
	Πρόβατα	16	20,5		Καλή	57	73,1	12-24		39	50,0					
Φυλή	Ελληνική	69	88,5		Τρόπος αποθήκευσης τροφής	Αποθήκη	28	35,9		Τέστ γάλακτος	Ναι	49	63,0			
	Άλλη	9	11,5	Υπόστεγο		10	12,8	Διάθεση γάλακτος	Βιομηχανία		40	51,2				
Επίπεδο υγείας	Υψηλό	17	21,8	Όλα και σιλό	Αποθήκη και Υπόστεγο	31	39,7		Τοπικά τυροκομεία		35	44,9				
	Μέτριο	34	43,6		Προμήθεια τροφής	Άπαξ Σταδιακά	17 61		21,8 78,2	Τελικό προϊόν	Γάλα	3	3,9			
	Χαμηλό	27	34,6					Μετακινούμενη εκτροφή			Ναι	12	15,4	Και τα δύο	Και τα δύο	36
Εγκαταστάσεις	Κλειστές	72	93,5	Διαγνωστικά τέστ	Ναι	6	7,7		Ιδιοκατανάλωση (tn)	0-1					28	36,0
	Ημισυμπαίθριες	5	6,5					Τρόπος άμελης		Χειρονακτικά	63	80,8	1	6	7,7	
Πρόελευση τροφής	Βιολογική	39	50,0	Σχήμα διατροφής	Μόνο βόσκηση Μόνο συμπακνωμένες Και τα δύο	16 60 2	20,5 76,9 2,6						Μέση ετήσια παραγωγή (tn)	< 20	13	16,7
	Συμβατική	39	50,0					Σιτηρέσιο	Εμπειρικό Ζωοτεχνικό	42 35	54,5 45,5	20 - < 50		33	42,3	
	Τύπος τροφής	Βοσκότοπος	78									100,0		Υγιεινή χώρου άμελης	Μέτρια Καλή Πολύ καλή	23 36 19
Συμπυκνωμένη		77	98,7	Διαγνωστικά τέστ	Ναι	6	7,7	>100	7	8,9						
Χονδροειδής		66	84,6					Τρόπος άμελης	Χειρονακτικά Αλμεκτική μηχανή Αυτοματοποιημένο Αλμεκτήριο	63 1 14	80,8 1,3 17,9	Μέση ετήσια παραγωγή (tn)	< 20			
Σχήμα διατροφής	Μόνο βόσκηση	16	20,5										Υγιεινή χώρου άμελης	Μέτρια Καλή Πολύ καλή	23 36 19	29,5 46,2 24,4
	Μόνο συμπακνωμένες	60	76,9	Υγιεινή χώρου άμελης	Μέτρια Καλή Πολύ καλή	23 36 19	29,5 46,2 24,4									
	Και τα δύο	2	2,6					Υγιεινή χώρου άμελης	Μέτρια Καλή Πολύ καλή	23 36 19	29,5 46,2 24,4	>100				
Σιτηρέσιο	Εμπειρικό	42	54,5									Υγιεινή χώρου άμελης	Μέτρια Καλή Πολύ καλή	23 36 19	29,5 46,2 24,4	Μέση ετήσια παραγωγή (tn)
	Ζωοτεχνικό	35	45,5	Υγιεινή χώρου άμελης	Μέτρια Καλή Πολύ καλή	23 36 19	29,5 46,2 24,4									
Σιτηρέσιο	Εμπειρικό	42	54,5					Υγιεινή χώρου άμελης	Μέτρια Καλή Πολύ καλή	23 36 19	29,5 46,2 24,4					
	Ζωοτεχνικό	35	45,5									Υγιεινή χώρου άμελης	Μέτρια Καλή Πολύ καλή	23 36 19	29,5 46,2 24,4	Μέση ετήσια παραγωγή (tn)

Πίνακας 20: Περιγραφικά χαρακτηριστικά δειγμάτων γάλακτος, συμβατικής και βιολογικής προέλευσης

Χαρακτηριστικό	Βιολογική		Συμβατική			Χαρακτηριστικό	Βιολογική		Συμβατική				
	Συχνότητα	%	Συχνότητα	%	p-value		Συχνότητα	%	Συχνότητα	%	p-value		
Περιοχή	Πεδινή	35	29,9	18	15,4	0,004*	Είδος τροφής	Βρώμη	9	7,7	9	7,7	0,999*
	Ημιορεινή	62	53,0	86	73,5			Κριθάρι	108	92,3	96	82,1	0,019*
	Ορεινή	20	17,1	13	11,1			Καλαμπόκι	114	97,4	114	97,4	0,999**
Σχήμα διατροφής	Μόνο βόσκηση	24	20,5	24	20,5	0,326**	Σιτάρι	54	46,2	48	41,0	0,429*	
	Και τα δύο	88	75,2	92	78,6		Μηδική	12	10,3	9	7,7	0,493*	
	Μόνο συμπεκνωμένες	5	4,3	1	0,9		Τριφύλλι	84	71,8	72	61,5	0,096*	
Προμήθεια ζωοτροφής	Άπαξ	27	23,1	24	20,5	0,635*	Μπιζέλι	15	12,8	6	5,1	0,040*	
	Σταδιακά	90	76,9	93	79,5		Βίκος	18	15,4	9	7,7	0,066*	
Τρόπος αποθήκευσης τροφής	Αποθήκη	39	33,3	45	38,5	0,835*	Επίπεδο υγείας	Υψηλό	24	20,5	27	23,1	0,726*
	Υπόστεγο	15	12,8	15	12,8			Μέτριο	54	46,2	48	41,0	
	Αποθήκη και υπόστεγο	48	41,0	45	38,5			Χαμηλό	39	33,3	42	35,9	
Ποιότητα αποθήκευσης	Όλα και σιλό	15	12,8	12	10,3		Φυλές	Ελληνική	102	87,2	105	89,7	0,539*
	Καλή	99	84,6	84	71,8			0,018*	Άλλη	15	12,9	12	10,3
Χαμηλή	18	15,4	33	28,2		Βοσκότοπος	Φυσικός	93	79,5	84	71,8	0,002*	
	Τεχνητός	0	0,0	12			10,3	Και τα δύο	24	20,5	21	17,9	
Μετακινούμενη εκτροφή	Ναι	18	15,4	18	15,4	0,999*	Σιτηρεσιο	Εμπειρικό	57	48,7	69	60,5	0,720*
Τεστ γάλακτος	Ναι	90	76,9	57	48,7	<0,001*		Ζωοτεχνικό	60	51,3	45	39,5	
Υγιεινή χώρου άμελης	Μέτρια	39	33,3	30	25,6	0,264*	Διάθεση γάλακτος	Βιομηχανία	75	64,1	48	41,0	<0,001**
	Καλή	48	41,0	60	51,3			Τοπικά τυροκομεία	39	33,3	63	53,8	
	Πολύ καλή	30	25,6	27	23,1			Ιδιοκατανάλωση	3	2,6	6	5,1	
Υγιεινή γαλακτοδοχείων	Κακή	3	3,0	3	3,3	0,019**	Τελικό προϊόν	Γάλα	0	0,0	12	10,3	<0,001*
	Μέτρια	27	27,3	24	26,7			Γαλακτοκομικά	42	35,9	72	61,5	
	Καλή	51	51,5	30	33,3			Και τα δύο	75	64,1	33	28,2	
	Πολύ καλή	18	18,2	33	36,7								
Υγιεινή παγολεκάνης	Μέτρια	12	13,8	3	3,2	0,020*	Ιδιοκατανάλωση (tn)	0-1	33	28,2	51	43,6	0,094*
	Καλή	39	44,8	39	41,9			1	9	7,7	9	7,7	
	Πολύ καλή	36	41,4	51	54,8			>1	18	15,4	15	12,8	
Υγιεινή μαστών	Μέτρια	21	17,9	9	7,9	0,033*	Μέση ετήσια παραγωγή (tn)	< 20	18	15,4	21	17,9	0,231*
	Καλή	81	69,2	81	71,1			20 - < 50	48	41,0	51	43,6	
	Πολύ καλή	15	12,8	24	21,1			50 - < 100	36	30,8	39	33,3	
								>100	15	12,8	6	5,1	

* χ^2 -test

** Fischer's exact test

4.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης της χημικής σύστασης των δειγμάτων ανά είδος ζώου (αίγες/πρόβατα) παρουσιάζονται στον Πίνακα 21.

Πίνακας 21: Χημική σύσταση δειγμάτων γάλακτος ανά είδος ζώου

	Αίγες		Πρόβατα		p-value
	Μέσος/Διάμεσος	SD/IQR	Μέσος/Διάμεσος	SD/IQR	
pH	6,50	6,40-6,60	6,50	6,40-6,70	0,008*
Λίπος	4,92	0,94	6,18	1,44	<0,001**
Πρωτεΐνη	3,67	3,52-3,85	5,40	5,11-5,80	<0,001*
Λακτόζη	4,49	0,22	4,69	0,26	<0,001**

*Mann-Whitney test
**t-test

Αναλυτικά τα αποτελέσματα χημικής σύστασης παρουσιάζονται στο Παράρτημα 8. Συγκρίνοντας τη χημική σύσταση συμβατικού και βιολογικού γάλακτος παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά αναφορικά με την περιεκτικότητα σε λακτόζη (p-value=0,027) και λίπος (p-value=0,002) (Πίνακας 22).

Πίνακας 22: Χημική σύσταση δειγμάτων βιολογικού και συμβατικού γάλακτος

	Βιολογικά		Συμβατικά		p-value
	Μέσος/Διάμεσος	SD/IQR	Μέσος/Διάμεσος	SD/IQR	
pH	6,50	6,40-6,60	6,50	6,40-6,60	0,425*
Λακτόζη	4,57	0,25	4,50	0,22	0,027**
Λίπος	5,29	4,74-6,01	4,81	4,23-5,67	0,002*
Πρωτεΐνη	3,75	3,59-4,56	3,70	3,49-4,25	0,096*

*Mann-Whitney test
** t-test

Η χημική σύσταση των δειγμάτων γάλακτος παρουσιάζει διαφορές ανάλογα με το σχήμα διατροφής, την περιοχή της εκτροφής και τον τύπο του βοσκότοπου, όπως αναλυτικά παρουσιάζονται στον Πίνακα 23.

Πίνακας 23: Παράγοντες που επηρεάζουν τη χημική σύσταση του γάλακτος

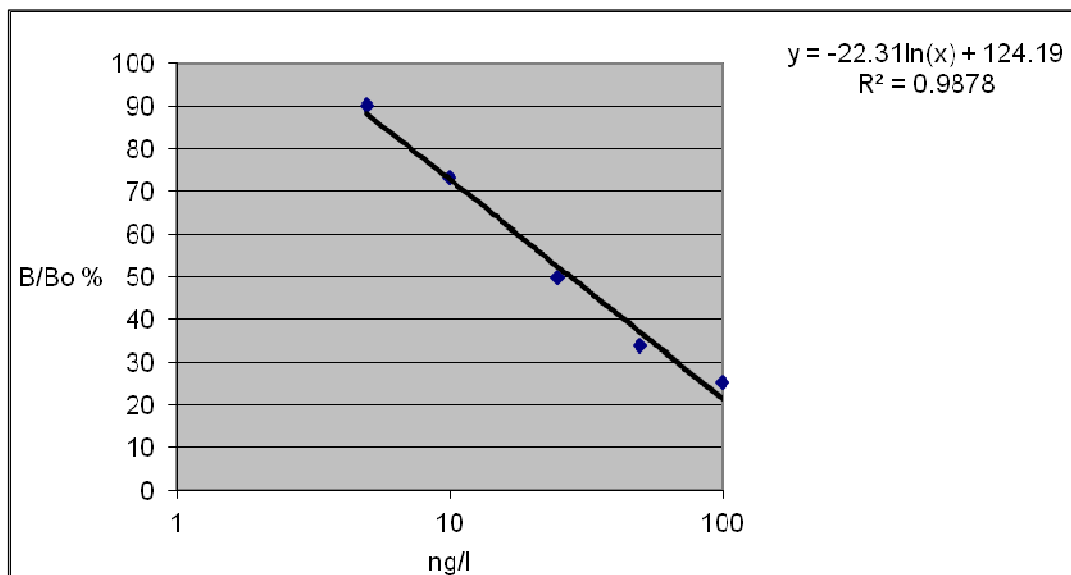
		pH			Λίπος			Πρωτεΐνη			Λακτόζη		
		Διάμεσος	IQR	p-value	Διάμεσος	IQR	p-value	Διάμεσος	IQR	p-value	Μέσος/Διάμεσος	SD/IQR	p-value
Σχήμα διατροφής	Μόνο βόσκηση	6,50	6,40-6,50	0,148*	5,11	4,60-6,17	<0,001*	3,82	3,58-5,09	0,067*	4,40	4,26-4,57	0,001*
	Βόσκηση και τροφές	6,50	6,40-6,60		5,01	4,38-5,66		3,73	3,54-4,05		4,57	4,42-4,69	
	Μόνο τροφές	6,65	6,50-6,80		7,50	6,80-8,19		4,89	4,56-5,34		4,80	4,44-4,85	
Περιοχή	Πεδινή	6,40	6,40-6,60	0,137*	5,05	4,43-5,40	0,095*	3,68	3,45-3,91	0,021*	4,48	0,22	0,017**
	Ημιορεινή	6,50	6,40-6,60		5,01	4,49-5,77		3,75	3,56-4,42		4,53	0,24	
	Ορεινή	6,50	6,40-6,60		5,67	4,42-7,29		3,87	3,64-5,39		4,63	0,26	
Βοσκότοπος	Φυσικός	6,50	6,40-6,60	0,262*	5,07	4,55-5,65	0,703*	3,72	3,57-3,99	0,045*	4,51	0,23	0,003**
	Τεχνητός	6,50	6,40-6,55		4,79	3,64-6,07		4,30	3,26-5,28		4,60	0,22	
	Φυσικός και τεχνητός	6,50	6,40-6,60		5,20	4,17-6,63		3,97	3,60-5,41		4,64	0,26	

*Kruskal-Wallis test

**Anova

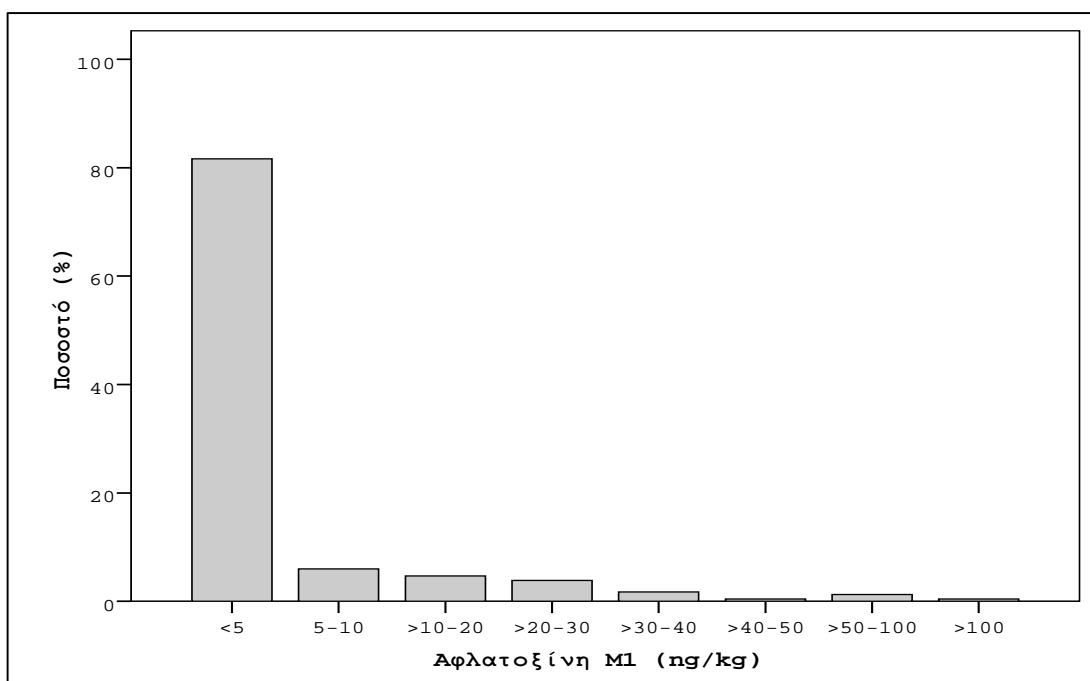
4.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΜΕ ELISA

Κατά την ανάλυση των δειγμάτων με ELISA δημιουργήθηκαν πρότυπες καμπύλες 6 επιπέδων (Παράρτημα 9) και διαπιστώθηκε γραμμική συσχέτιση R^2 που κυμαίνονταν από 0,97 έως 0,98. Ενδεικτικά στο Γράφημα 4 παρουσιάζεται πρότυπη καμπύλη. Αναλυτικά όλες οι πρότυπες καμπύλες και οι σχετικές εξισώσεις υπολογισμού της ποσότητας AFM1 παρουσιάζονται στο Παράρτημα 9. Με βάση τις εξισώσεις των γραφημάτων προέκυψε η ποσοτικοποίηση AFM1 στα αναλυθέντα δείγματα (Παράρτημα 10).



Γράφημα 4: Πρότυπη καμπύλη ELISA

Συνολικά, αναλύθηκαν με ELISA 234 δείγματα γάλακτος, εκ των οποίων σε 43 (18,4%) ανιχνεύτηκε AFM1, ενώ 4 (1,7%) βρέθηκαν να υπερβαίνουν το ανώτατο επιτρεπτό όριο των 50ng kg^{-1} (Πίνακας 24). Το εύρος των επιπέδων AFM1 βρέθηκε από <5 έως $148,93\text{ng kg}^{-1}$ (Πίνακας 25), ενώ η συχνότητα κατανομής των επιπέδων της AFM1 παρουσιάζεται στο Γράφημα 5.



Γράφημα 5: Συχνότητα κατανομής των επιπέδων της Αφλατοξίνης M1 σε δείγματα γάλακτος

Πίνακας 24: Συχνότητα κατανομής των επιπέδων της Αφλατοξίνης M1 σε δείγματα γάλακτος

	Συγκέντρωση Αφλατοξίνης M1 (ng/kg) σε δείγματα γάλακτος															
	<5		>5-10		>10-20		>20-30		>30-40		>40-50		>50-100		>100	
	Συχνότητα	%	Συχνότητα	%	Συχνότητα	%	Συχνότητα	%	Συχνότητα	%	Συχνότητα	%	Συχνότητα	%	Συχνότητα	%
Βιολογικά (n=117)	92	78.6	6	5.1	7	6.0	6	5.1	2	1.7	0	0.0	3	2.6	1	0.9
Συμβατικά (n=117)	99	84.6	8	6.8	4	3.4	3	2.6	2	1.7	1	0.9	0	0.0	0	0.0
Συνολικά (n=234)	191	81.6	14	6.0	11	4.7	9	3.8	4	1.7	1	0.4	3	1.3	1	0.4

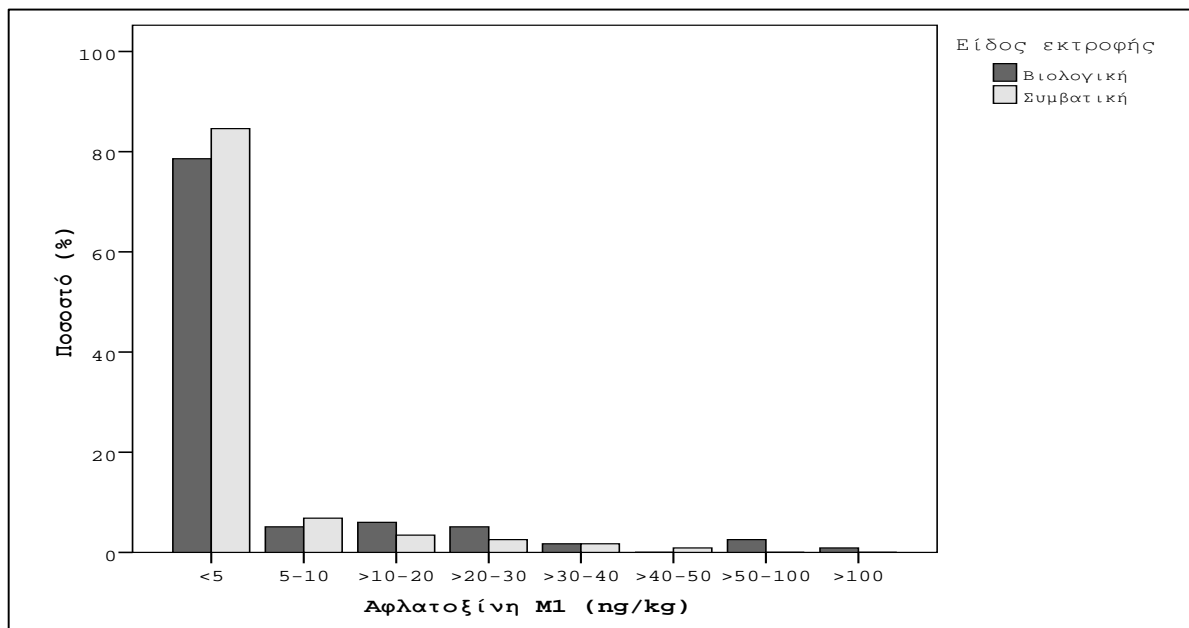
Συγκρίνοντας τα επίπεδα AFM1 στα βιολογικά και συμβατικά δείγματα γάλακτος, διαπιστώθηκε AFM1 σε 25 (21,4%) βιολογικά και σε 18 (15,4%) συμβατικά δείγματα γάλακτος, χωρίς όμως να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά (p -value=0,237). Σε κανένα συμβατικό δείγμα γάλακτος δεν βρέθηκε AFM1 άνω του επιτρεπόμενου ορίου των 50ng kg^{-1} , ενώ 4 (3,4%) βιολογικά δείγματα γάλακτος βρέθηκαν άνω του ορίου, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (p -value=0,122) (Πίνακας 25). Το εύρος των επιπέδων AFM1 βρέθηκε για τα βιολογικά δείγματα γάλακτος από <5 έως $148,93\text{ng kg}^{-1}$ και για τα συμβατικά από <5 έως $41,48\text{ng kg}^{-1}$ (Πίνακας 29), ενώ η συχνότητα

κατανομής των επιπέδων της Αφλατοξίνης Μ1 στα βιολογικά και συμβατικά δείγματα γάλακτος παρουσιάζεται στο Γράφημα 6.

Πίνακας 25: Ομαδοποίηση παρουσίας Αφλατοξίνης Μ1 σε δείγματα γάλακτος βιολογικής και συμβατικής προέλευσης

	Δείγματα Γάλακτος						
	Βιολογικά (n=117)		Συμβατικά (n=117)		RR	95% CI	p-value
	Συχνότητα	%	Συχνότητα	%			
Αφλατοξίνη Μ1 (>LOD vs <LOD)	25	21,4	18	15,4	1,39	0,80-2,40	0,237*
Αφλατοξίνη Μ1 (>ML vs <ML)	4	3,4	0	0,0	NA	NA	0,122**

*Chi-square test
**Fischer's exact test



Γράφημα 6: Συχνότητα κατανομής των επιπέδων της Αφλατοξίνης Μ1 σε δείγματα βιολογικού και συμβατικού γάλακτος

Η μέση συγκέντρωση AFM1 σε όλα τα δείγματα γάλακτος βρέθηκε 4,42ng kg¹. Συγκεκριμένα, για τα βιολογικά δείγματα γάλακτος ήταν 6,37ng kg⁻¹ και για τα συμβατικά 2,47ng kg⁻¹, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (p-value=0,168) (Πίνακας 26).

Πίνακας 26: Μέση συγκέντρωση Αφλατοξίνης M1 σε δείγματα γάλακτος

	Συγκέντρωση Αφλατοξίνης M1(ng/kg) σε δείγματα γάλακτος						p-value*
	Μέσος	SD	Διάμεσος	IQR	Min	Max	
Βιολογικά (n=117)	6,37	19,45	0	0	0	148,93	0,168
Συμβατικά (n=117)	2,47	7,20	0	0	0	41,48	
Συνολικά (n=234)	4,42	14,76	0	0	0	148,93	

*Mann-Whitney test

Σε επίπεδο εκτροφών, από τις 78 που συμμετείχαν στη μελέτη, οι 45 (57,7%) δεν παρουσίασαν καθόλου AFM1 σε καμία από τις τρεις δειγματοληψίες, ενώ σε 33 (42,3%) ανιχνεύθηκε AFM1. Σε 2 από τις 33 (2,6%) βρέθηκαν επίπεδα AFM1 πάνω από το ανώτατο επιτρεπτό όριο.

Συγκρίνοντας βιολογικές και συμβατικές εκτροφές διαπιστώθηκε ότι σε 18 (46,2%) βιολογικές και 15 (38,5%) συμβατικές ανιχνεύθηκε AFM1, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (p-value=0,492). Από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι είναι πιο πιθανό για μια βιολογική εκτροφή να περιέχει AFM1 χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (RR 1,20, 95% CI 0,71-2,02, p-value=0,492). Δεν βρέθηκαν συμβατικές εκτροφές με επίπεδα AFM1 άνω του ορίου των 50ng kg⁻¹, ενώ 2 (5,1%) βιολογικές εκτροφές υπερέβαιναν το όριο, χωρίς αυτό να συσχετίζεται στατιστικά (p-value=0,494) (Πίνακας 27).

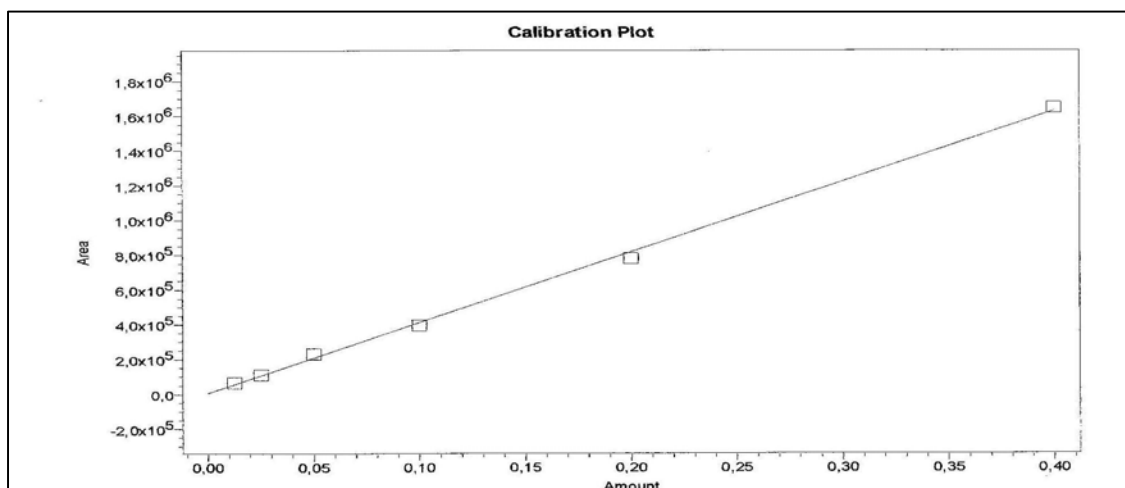
Πίνακας 27: Ομαδοποίηση παρουσίας Αφλατοξίνης M1 σε βιολογικές και συμβατικές εκτροφές αιγών και προβάτων

	Εκτροφές αιγών και προβάτων				RR	95% CI	p-value
	Βιολογικές (n=39)		Συμβατικές (n=39)				
	Συχνότητα	%	Συχνότητα	%			
Αφλατοξίνη M1 (>LOD vs <LOD)	18	46,2	15	38,5	1,2	0,71-2,02	0,492*
Αφλατοξίνη M1 (>ML vs <ML)	2	5,1	0	0,0	NA	NA	0,494**

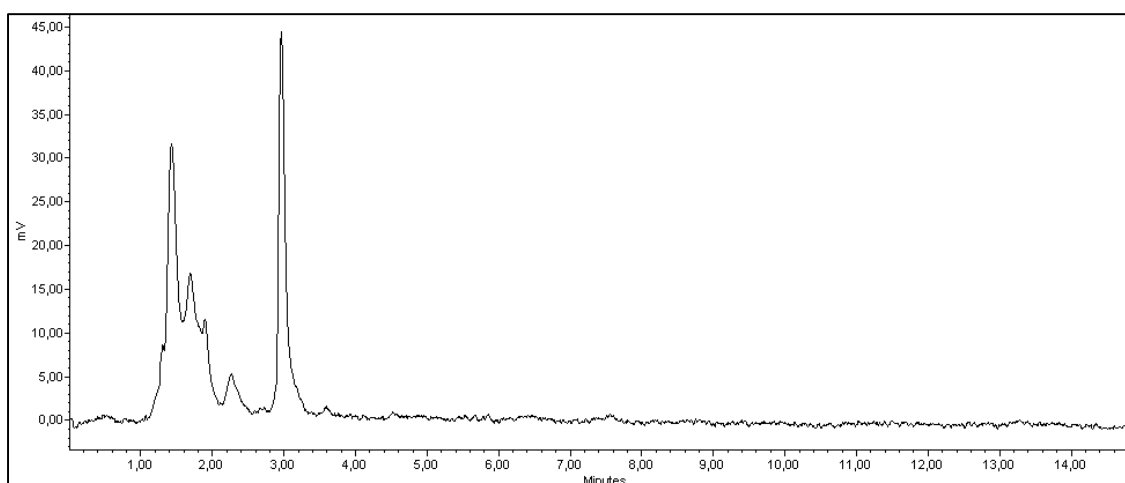
*Chi-square test
 **Fischer's exact test

4.4.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΜΕ HPLC

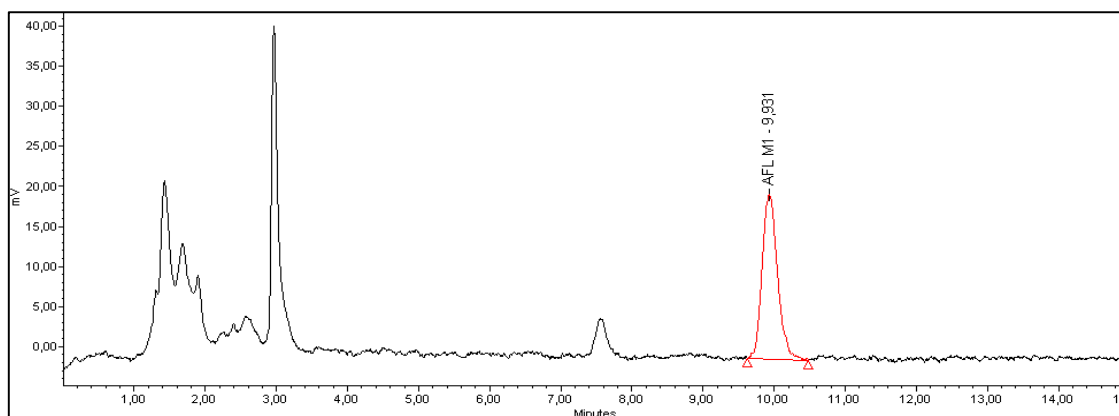
Από τα δείγματα που αναλύθηκαν με ELISA, 25 αναλύθηκαν περαιτέρω με HPLC-FLD για επιβεβαίωση. Τα 25 δείγματα περιελάμβαναν 4 δείγματα με AFM1 άνω του επιτρεπόμενου ορίου, 11 με ανιχνεύσιμη AFM1 και 10 αρνητικά που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Ενδεικτικά στα Γραφήματα 7, 8 και 9 παρουσιάζονται η πρότυπη καμπύλη, χρωματογράφημα αρνητικού δείγματος και χρωματογράφημα θετικού δείγματος. Αναλυτικά τα χρωματογραφήματα της ανάλυσης όλων των δειγμάτων παρουσιάζονται στο Παράρτημα 11.



Γράφημα 7: Πρότυπη καμπύλη HPLC



Γράφημα 8: Χρωματογράφημα HPLC-FLD αρνητικού για Αφλατοξίνης Μ1 δείγματος γάλακτος



Γράφημα 9: Χρωματογράφημα HPLC-FLD θετικού για Αφλατοξίνης M1 δείγματος γάλακτος, με AFM1 να ανιχνεύεται σε χρόνο έκλουσης 9,93min

Συγκριτικά, τα αποτελέσματα με HPLC-FLD και ELISA παρουσιάζονται στον Πίνακα 28, ενώ αναλυτικά τα επίπεδα AFM1 με ELISA και HPLC παρουσιάζονται στο Παράρτημα 12.

Πίνακας 28: Συγκριτικά αποτελέσματα επιπέδων Αφλατοξίνης M1 με ELISA και HPLC-FLD

	Αριθμός Δειγμάτων		Εύρος τιμών Αφλατοξίνης M1 (ng/kg)	
	ELISA	HPLC	ELISA	HPLC
Θετικά ([AFM1] > ML)	4	4	50,00-148,93	52,00-137,5
Θετικά (LOD < [AFM1] < ML)	10	6	7,70-41,48	19,50-36,00
Αρνητικά ([AFM1] < LOD)	11	15		

Το Wilcoxon test εφαρμόστηκε για τον έλεγχο διαφορών κατά ζεύγη στις μετρήσεις AMF1 μεταξύ ELISA και HPLC-FLD. Η ELISA παρουσίασε στατιστικά σημαντική υπερεκτίμηση των επιπέδων AFM1, όταν ελέγχθηκαν τα αποτελέσματα σε ζεύγη (Πίνακας 29), σε σύγκριση με τα αποτελέσματα της HPLC-FLD (p-value=0,009).

Επίσης, προκειμένου να μετρηθεί η συμφωνία μεταξύ ELISA και HPLC-FLD ως προς την ομαδοποίηση παρουσίας AMF1 χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής kappa του Cohen. Άριστη συμφωνία των αποτελεσμάτων διαπιστώθηκε μόνο στο επίπεδο του ανώτατου επιτρεπόμενου ορίου (maximum level-ML) για AFM1 στο γάλα (kappa value=1,00) (Πίνακας 30).

Πίνακας 29: Σύγκριση αποτελεσμάτων ELISA και HPLC-FLD κατά ζεύγη

	Μέσος	Τυπική Απόκλιση	Διάμεσος	IQR	p- value*
ELISA	24,88	37,03	8,6	0-34,33	0,009
HPLC	21,98	36,22	0,0	0-31,50	

**Wilcoxon test*

Πίνακας 30: Σύγκριση συμφωνίας αποτελεσμάτων ELISA με HPLC-FLD, σε διάφορα επίπεδα Αφλατοξίνης M1

Ομάδες σύγκρισης επιπέδων Αφλατοξίνης M1	Kappa value
[AFM1] < ML / [AFM1] >= ML	1,00
[AFM1] < LOD / [AFM1] < ML / [AFM1] >= ML	0,74
[AFM1] < LOD / [AFM1] >= LOD	0,68

Επιπλέον με HPLC-FLD αναλύθηκαν 2 δείγματα γάλακτος, τα οποία συλλέχθηκαν εκ νέου από τις εκτροφές που κατά την κυρίως δειγματοληψία βρέθηκαν να έχουν δείγματα με επίπεδα AFM1 άνω του επιτρεπόμενου ορίου. Τα δείγματα αυτά βρέθηκαν αρνητικά .

4.5. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΤΟ ΑΙΓΕΙΟ ΚΑΙ ΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΑ

Μετά την επεξεργασία των ερωτηματολογίων και τη συσχέτιση των δεδομένων με τα αναλυτικά αποτελέσματα προέκυψαν μια σειρά από παράγοντες επικινδυνότητας που σχετίζονται με την παρουσία της AFM1 στο γάλα.

Η μονοπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι υπάρχουν διαφορετικοί παράγοντες που σχετίζονται με την παρουσία AFM1, είτε σε επίπεδα άνω του επιτρεπόμενου ορίου (ML), είτε σε επίπεδα πάνω από το όριο ανίχνευσης (LOD). Ενδεικτικά οι παράγοντες αυτοί αφορούν τις φυλές των ζώων, τις εγκαταστάσεις των εκτροφών, τον τύπο του βοσκοτόπου, τη χρήση κτηνοτροφικού μπιζελιού, τριφυλλιού και βίκου ως ζωοτροφή, τις πρακτικές αποθήκευσης των ζωοτροφών, την εφαρμογή ελέγχων στο παραγόμενο γάλα, την εποχή και το σχήμα διατροφής. Αναλυτικά αυτοί παρουσιάζονται στον Πίνακα 31.

Οι στατιστικά σημαντικοί παράγοντες επικινδυνότητας, που προέκυψαν από την μονοπαραγοντική ανάλυση, συμπεριλήφθηκαν και αναλύθηκαν περαιτέρω με πολυπαραγοντική ανάλυση, λαμβάνοντας υπόψη και τον τύπο της εκτροφής (βιολογική/συμβατική). Οι παράγοντες που ανεξάρτητα συσχετίστηκαν με την ανίχνευση της AFM1 ήταν η αποθήκευση, η εποχή και η διατροφή με κτηνοτροφικό μπιζέλι, όπως αναλυτικά παρουσιάζονται στον Πίνακα 32.

Πίνακα 31: Παράγοντες επικινδυνότητας για παρουσία Αφλατοξίνης M1 στο γάλα

Χαρακτηριστικό		[AFM1] >=LOD					[AFM1] >=50 ng/kg				
		Συχνότητα	%	RR	95% CI	p-value	Συχνότητα	%	RR	95% CI	p-value
Είδος	Πρόβατα	11/48	22,9	1,33	0,73-2,44	0,362*	1/47	2,1	1,29	0,14-12,14	0,999**
	Αίγες	32/186	17,2				3/183	1,6			
Φυλή	Ελληνική	33/207	15,9	0,43	0,24-0,77	0,015**	1/207	0,5	0,04	0,01-0,40	0,005**
	Άλλη	10/27	37,0				3/27	14,3			
Περιοχή	Πεδινή	7/53	13,2			0,190***	0/53	0,0			0,005****
	Ημιορεινή	28/148	18,9				1/147	0,7			
	Ορεινή	8/33	24,2				3/30	9,1			
Εποχή	Χειμώνας	20/78	25,6			0,039****	1/77	1,3			0,538****
	Άνοιξη	13/78	16,7				1/77	1,3			
	Καλοκαίρι	10/78	12,8				2/76	2,6			
Εγκαταστάσεις	Αποδεκτές	33/201	16,4	0,54	0,30-0,99	0,056*	1/201	0,5	0,05	0,01-0,51	0,009**
	Μη αποδεκτές	10/33	30,3				3/33	9,1			
Μετακινούμενη	Ναι	7/29	19,4	1,07	0,52-2,21	0,857*	1/36	2,8	1,83	0,20-17,14	0,490**
	Όχι	36/162	18,2				3/198	1,5			
Επίπεδο υγείας	Υψηλό	9/51	17,6			0,731***	0/51	0,0			0,747****
	Μέτριο	21/102	20,6				4/102	3,9			
	Χαμηλό	13/81	16,0				0/81	0,0			
Σχήμα διατροφής	Βόσκηση	4/48	8,3			0,027**	0/48	0,0			0,623**
	Βόσκηση και τροφές	36/180	20,0				4/180	2,2			
	Τροφές	3/6	50,0				0/6	0,0			
Βοσκότοπος	Φυσικός	30/177	16,9			0,044*	1/177	0,6			0,054**
	Τεχνητός	0/12	0,0				0/12	0,0			
	Και τα δύο	13/45	28,9				3/45	6,7			

(Ο Πίνακας συνεχίζεται)

(συνέχεια Πίνακα)

Χαρακτηριστικό		[AFM1] >=LOD					[AFM1] >=50 ng/kg				
		Συχνότητα	%	RR	95% CI	p-value	Συχνότητα	%	RR	95% CI	p-value
Σπηρέσιο	Εμπειρικό	26/100	20,6	1,35	0,77-2,39	0,290*	4/126	3,2			0,128**
	Ζωοτεχνικό	16/89	15,2				0/105	0,0			
Είδη τροφής											
	Βρώμη										
Κριθάρι	Ναι	2/18	11,1	0,59	0,15-2,23	0,539**	0/18	0,0			0,999**
	Όχι	41/216	19,0				4/216	1,9			
Καλαμπόκι	Ναι	39/204	19,1	1,43	0,55-3,73	0,445*	4/204	2,0			0,999**
	Όχι	4/30	13,3				0/30	0,0			
Σπάρη	Ναι	43/228	18,9			0,596**	4/228	1,8			0,999**
	Όχι	0/6	0,0				0/6	0,0			
Τριφύλλι	Ναι	18/102	17,6	0,93	0,54-1,61	0,800*	4/102	3,9			0,035**
	Όχι	25/132	18,9				0/132	0,0			
Μηδική	Ναι	3/21	14,3	0,76	0,26-2,25	0,773**	2/21	9,5	10,1	1,51-68,36	0,041**
	Όχι	40/213	18,8				2/213	0,9			
Μπιζέλι	Ναι	28/156	17,9	0,93	0,53-1,64	0,811*	3/156	1,9	1,5	0,16-14,19	0,999**
	Όχι	15/78	19,2				1/78	1,3			
Βίκος	Ναι	9/21	42,9	2,68	1,50-4,81	0,006**	3/21	14,3	30,4	3,31-279,70	0,002**
	Όχι	34/213	16,0				1/213	0,5			
Προμήθεια τροφής	Ναι	8/27	29,6	1,75	0,91-3,37	0,117**	3/27	11,1	23,0	2,48-213,33	0,005**
	Όχι	35/207	16,9				1/207	0,5			
Αποθήκευση τροφής	Άπαξ	13/51	25,5	1,55	0,88-2,76	0,138*	3/51	5,9	10,8	1,14-101,30	0,033**
	Σταδιακά	30/183	16,4				1/183	0,5			
Αποθήκευση τροφής	Αποθήκη	22/84	26,2			0,035*	0/84	0,0	NA	NA	0,188**
	Υπόστεγο	2/30	6,7				0/30	0,0			
	Και τα δύο	19/120	8,0				4/120	12,2			
Ποιότητα αποθήκευσης	Αποδεκτή	32/183	17,5	0,81	0,44-1,49	0,506*	1/183	0,5	0,1	0,01-0,87	0,033**
	Μη αποδεκτή	11/51	21,6				3/51	5,9			
Έλεγχος γάλακτος	Ναι	25/147	17,0	0,82	0,48-1,42	0,482*	0/147	0,0	NA	NA	0,018**
	Όχι	18/87	20,7				4/87	4,6			

* χ^2 test

** Fisher's exact test

*** χ^2 test for trend

**** χ^2 test (exact) for trend

NA: not applicable/δεν ισχύει

Πίνακας 32: Πολυπαραγοντική ανάλυση-Παράγοντες επικινδυνότητας παρουσίας Αφλατοξίνης M1

Χαρακτηριστικά		OR	95% CI	p-value*
Αποθήκευση τροφής	Αποθήκη vs. Υπόστεγο	2,69	1,25-5,79	0,011
Φυλή	Ελληνική vs. Άλλη	0,40	0,98-7,11	0,055
Εποχή	Χειμώνας vs. Καλοκαίρι	2,58	1,07-6,24	0,036
Τροφή	Κτηνοτροφικό μπιζέλι (Ναι/Όχι)	4,17	1,41-12,32	0,010

**Wald test*

4.6. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ M1 ΜΕ ΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Σε σύγκριση της επίδρασης της παρουσίας/απουσίας AFM1 στα χημικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων διαπιστώθηκε ότι επηρεάζεται η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και λακτόζη παρουσία AFM1 (Πίνακας 33).

Πίνακας 33: Επίδραση της Αφλατοξίνης M1 στη χημική σύσταση του γάλακτος

	[AFM1] ≥ LOD		[AFM1] < LOD		p-value
	Μέσος/Διάμεσος	SD/IQR	Μέσος/Διάμεσος	SD/IQR	
pH	6,50	6,40-6,60	6,50	6,40-6,60	0,988*
Λίπος	5,30	4,56-6,26	5,00	4,44-5,71	0,110*
Πρωτεΐνη	3,85	3,65-5,08	3,72	3,54-4,25	0,049*
Λακτόζη	4,61	0,20	4,52	0,25	0,035**

* Mann-Whitney test
** t- test

Πραγματοποιήθηκε επίσης, ανάλυση συσχέτισης με την εφαρμογή του συντελεστή Spearman για την διαπίστωση τυχόν συσχετίσεων μεταξύ της συγκέντρωσης της AFM1 και των χαρακτηριστικών χημικής σύστασης του γάλακτος. Βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ της AFM1 και των πρωτεϊνών ($\rho=0,138$, $p\text{-value}=0,039$) και μεταξύ της AFM1 και της λακτόζης ($\rho=0,172$, $p\text{-value}=0,010$) (Πίνακας 34). Ωστόσο η συσχέτιση θεωρείται χαμηλή καθώς οι τιμές του συντελεστή ήταν $<0,300$.

Πίνακας 34: Συσχέτιση χημικής σύστασης γάλακτος με την παρουσία Αφλατοξίνης M1, κατά Spearman

	Αφλατοξίνη M1	Χημική σύσταση γάλακτος			
		pH	Λίπος	Πρωτεΐνη	Λακτόζη
Συντελεστής Spearman (ρ)	1,000	0,004	0,109	0,138	0,172
p-value		0,954	0,102	0,039	0,010

Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της συγκέντρωσης της AFM1 ούτε με την παραγόμενη ποσότητα αλλά ούτε και με την διάθεση των γαλακτοκομικών προϊόντων (Πίνακας 35).

Πίνακας 35: Συσχέτιση της παρουσίας Αφλατοξίνης M1 με τα παραγόμενα προϊόντα γάλακτος

Χαρακτηριστικό	[AFM1] \geq LOD		[AFM1] $<$ LOD		p-value*	
	Συχνότητα	%	Συχνότητα	%		
Διάθεση γάλακτος	Βιομηχανία	21	48.8	102	53.4	0.678
	Τυροκομείο	21	48.8	81	42.4	
	Όλο ιδιοκατανάλωση	1	2.3	8	4.2	
Τελικό προϊόν	Γάλα	1	2.3	11	5.8	0.646
	Γαλακτοκομικά	22	51.2	92	48.2	
	Και τα δύο	20	46.5	88	46.1	
Ιδιοκατανάλωση (tn)	<1	16	37.2	68	35.6	0.872
	1	2	4.7	16	8.4	
	>1	6	14.0	27	14.1	
	0	19	44.2	80	41.9	
Ποσότητα γάλακτος (tn)	< 20	6	14.0	33	17.3	0.569
	20 - < 50	19	44.2	80	41.9	
	50 - < 100	12	27.9	63	33.0	
	>100	6	14.0	15	7.9	

* χ^2 test

Αξιοσημείωτο είναι ότι τα θετικά σε AFM1 γάλατα προορίζονταν κυρίως για τοπικά τυροκομεία (51,2%).

4.7. ΣΥΝΟΨΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Χαρακτηριστικά Εκτροφών: Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα χαρακτηριστικά εκτροφής μεταξύ βιολογικών και συμβατικών εκτροφών. Συγκεκριμένα τα χαρακτηριστικά αυτά αφορούσαν την περιοχή εκτροφής, την ποιότητα αποθήκευσης ζωοτροφών, τη διεξαγωγή αναλύσεων γάλακτος, την υγιεινή γαλακτοδοχείων, λεκάνης και μαστών, τη χρήση κριθαριού και μπιζελιού στη διατροφή, τη χρήση φυσικών βοσκοτόπων, τη διάθεση του γάλακτος και το είδος του τελικά παραγόμενου προϊόντος (p-value=0,004, 0,018, 0,001, 0,019, 0,020, 0,033, 0,019, 0,040, 0,002, 0,001 και 0,001 αντίστοιχα).

Χημική Σύσταση: Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα συστατικά του γάλακτος συγκρίνοντας αίγαιο με πρόβειο γάλα, ενώ οι διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές συγκρίνοντας το βιολογικό με το συμβατικό γάλα, μόνο για τη λακτόζη και το λίπος (p-value=0,027 και 0,002 αντίστοιχα). Το σχήμα διατροφής, ο τύπος του βοσκότοπου και η περιοχή βρέθηκαν να συσχετίζονται με τις διαφορές στη χημική σύσταση του γάλακτος. Συγκεκριμένα, το ποσοστό του λίπους συσχετίστηκε με το σχήμα διατροφής (συμπυκνωμένες τροφές-p-value=<0,001), το ποσοστό της πρωτεΐνης με την ορεινή περιοχή (p-value=0,021) και τη χρήση τεχνητού βοσκότοπου (p-value=0,045) και το ποσοστό της λακτόζης με το σχήμα διατροφής (συμπυκνωμένες τροφές), την ορεινή περιοχή και τη χρήση φυσικού και τεχνητού βοσκότοπου (p-value=0,001, 0,017 και 0,003 αντίστοιχα).

Συνολικά επίπεδα AFM1: AFM1 ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 18,4% των δειγμάτων, ενώ 1,7% βρέθηκαν να υπερβαίνουν το ανώτατο επιτρεπτό όριο των 50ng kg⁻¹. Το εύρος των επιπέδων AFM1 βρέθηκε από <5 έως 148,93ng kg⁻¹. Σε επίπεδο εκτροφών, το 57,7% δεν παρουσίασε καθόλου AFM1. Στο 2,6% των εκτροφών βρέθηκαν επίπεδα AFM1 πάνω από το ανώτατο επιτρεπτό όριο.

Επίπεδα AFM1 σε βιολογικό και συμβατικό γάλα: Συγκρίνοντας τα επίπεδα AFM1 στα βιολογικά και συμβατικά δείγματα γάλακτος, διαπιστώθηκε AFM1 σε 21,4% των βιολογικών και σε 15,4% των συμβατικών δειγμάτων γάλακτος, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (p-

value=0,237). Σε κανένα συμβατικό δείγμα γάλακτος δεν βρέθηκε AFM1 άνω του επιτρεπόμενου ορίου των 50ng kg⁻¹, ενώ 3,4% των βιολογικών βρέθηκαν άνω του ορίου, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (p-value=0,122). Το εύρος των επιπέδων AFM1 βρέθηκε για τα βιολογικά δείγματα γάλακτος από <5 έως 148,93ng kg⁻¹ και για τα συμβατικά από <5 έως 41,48ng kg⁻¹. Η μέση συγκέντρωση AFM1 σε όλα τα δείγματα γάλακτος βρέθηκε 4,42ng kg⁻¹. Συγκεκριμένα, για τα βιολογικά δείγματα γάλακτος ήταν 6,37ng kg⁻¹ και για τα συμβατικά 2,47ng kg⁻¹, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (p-value=0,168). Συγκρίνοντας βιολογικές και συμβατικές εκτροφές διαπιστώθηκε ότι σε 46,2% των βιολογικών και σε 38,5% των συμβατικών ανιχνεύτηκε AFM1, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (p-value=0,492). Βρέθηκε αυξημένη εμφάνιση AFM1 σε γάλα βιολογικής εκτροφής χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (RR 1,20, 95% CI 0,71-2,02, p-value=0,492). Δεν βρέθηκαν συμβατικές εκτροφές με επίπεδα AFM1 άνω του ορίου των 50ng kg⁻¹, ενώ 5,1% των βιολογικών υπερέβαιναν το όριο (p-value=0,494).

Σύγκριση ELISA με HPLC-FLD: Σε έλεγχο διαφορών κατά ζεύγη στις μετρήσεις AFM1 μεταξύ ELISA και HPLC-FLD, η ELISA παρουσίασε στατιστικά σημαντική υπερεκτίμηση των επιπέδων AFM1 (p-value=0,009), ενώ διαπιστώθηκε άριστη συμφωνία των αποτελεσμάτων μόνο στο επίπεδο του ανώτατου επιτρεπόμενου ορίου της AFM1 στο γάλα (kappa value=1,00).

Παράγοντες κινδύνου παρουσίας AFM1 (>LOD ή/και >ML)-Μονοπαραγοντική ανάλυση: Στατιστικά σημαντικοί παράγοντες βρέθηκαν να είναι οι φυλές, η περιοχή, η εποχή, οι εγκαταστάσεις των εκτροφών, το σχήμα διατροφής, ο τύπος του βοσκότοπου, η χρήση κτηνοτροφικού μπιζελιού, σιταριού, τριφυλλιού και βίκου ως ζωοτροφή, οι πρακτικές αποθήκευσης των ζωοτροφών, η ποιότητα αποθήκευσης και η διεξαγωγή αναλύσεων γάλακτος (p-value=0,005, 0,005, 0,039, 0,009, 0,027, 0,044, 0,002, 0,035, 0,041, 0,005, 0,035, 0,033 και 0,018 αντίστοιχα).

Παράγοντες κινδύνου παρουσίας AFM1-Πόλυπαραγοντική ανάλυση (βιολογικό/συμβατικό): Στατιστικά σημαντικοί παράγοντες βρέθηκαν να είναι: η αποθήκευση των ζωοτροφών, η εποχή και η διατροφή με

κτηνοτροφικό μπιζέλι (p-value=0,011, 0,036 και 0,010 αντίστοιχα), ενώ οριακά μη στατιστικά σημαντική βρέθηκε να είναι η φυλή του ζώου (p-value=0,055).

AFM1 και τελικό προϊόν: Βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων AFM1 και της χημικής σύστασης του γάλακτος. Σε παρουσία $AFM1 \geq LOD$ η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και λακτόζη ήταν αυξημένη (p-value=0,049 και 0,035), ενώ βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας AFM1 και του ποσοστού των πρωτεϊνών ($\rho=0,138$, p-value=0,039) και μεταξύ της AFM1 και του ποσοστού της λακτόζης ($\rho=0,172$, p-value=0,010). Η συσχέτιση θεωρείται όμως χαμηλή καθώς οι τιμές του συντελεστή ήταν $<0,300$. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της συγκέντρωσης της AFM1 ούτε με την παραγόμενη ποσότητα, αλλά ούτε και με τη διάθεση των γαλακτοκομικών προϊόντων, ενώ τα θετικά σε AFM1 γάλατα προορίζονταν κυρίως για τοπικά τυροκομεία (51,2%), χωρίς όμως στατιστικά σημαντική διαφορά.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρουσία της AFM1 στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι ένα πρόβλημα που διαχρονικά απασχολεί τις Μεσογειακές χώρες, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας (EFSA, 2012). Οι συνέπειες για την υγεία του καταναλωτή από πρόσληψη AFM1 είναι αρκετές και σοβαρές, με κυριότερη την πιθανή πρόκληση καρκίνου (IARC, 1993). Το γάλα και τα γαλακτοκομικά καταναλώνονται σε μεγάλες ποσότητες από το ευρύ καταναλωτικό κοινό και κυρίως από βρέφη και παιδιά που αποτελούν και τον εν γένει ευαίσθητο πληθυσμό. Τα αποτελέσματα των μελετών επιτήρησης των επιπέδων AFM1 έως σήμερα παρουσιάζουν διακυμάνσεις (Roussi et al., 2002; Kaniou-Grigoriadou et al., 2005; Oliveira and Ferraz, 2007), γεγονός αναμενόμενο δεδομένης της κλιματικής αλλαγής στον πλανήτη (Garcia et al., 2009) και των αλλαγών στις διατροφικές συνήθειες που καταδεικνύουν την ανάγκη για διαρκή παρακολούθηση του προβλήματος των AFs.

Από την άλλη πλευρά, οι καταναλωτές δείχνουν την τάση να επιλέγουν βιολογικό γάλα στην προσπάθειά τους να προασπίσουν την υγεία τους από διάφορους κινδύνους, όπως ενδεχομένως και η AFM1, αν και μερίδα ερευνητών θεωρούν ότι πρακτικά δεν υπάρχουν ουσιαστικές διαφορές σε σύγκριση με το συμβατικό (Yiridoe et al.; 2005; Dangour et al., 2009; Rosen, 2010; Forman and Silverstein, 2012). Λαμβάνοντας υπόψη την σύγχρονη τάση του Έλληνα καταναλωτή για επιλογή του βιολογικού γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων αλλά και τη σοβαρότητα των επιπτώσεων στην υγεία από πρόσληψη AFM1, κρίθηκε σκόπιμο να διερευνηθεί η τρέχουσα κατάσταση στην Ελλάδα αναφορικά με τα επίπεδα μόλυνσης του βιολογικού και συμβατικού νωπού γάλακτος με AFM1, αλλά και να αποτυπωθούν οι εμπλεκόμενοι παράγοντες κινδύνου και οι πιθανές επιπτώσεις στη Δημόσια Υγεία.

5.1. ΠΟΣΟΣΤΟ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η συμμετοχή στη μελέτη (83,9% των βιολογικών εκτροφών αιγών και προβάτων της Θεσσαλίας) κρίνεται ικανοποιητική και εξασφαλίζει σχετική αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος, λαμβάνοντας υπόψη και την επιφυλακτικότητα που συχνά οι εκτροφείς δείχνουν σε ελέγχους που αφορούν τα παραγόμενα προϊόντα τους και τη δυσκολία προσέγγισης πολλών εκτροφών που βρίσκονται διάσπαρτες στον ορεινό όγκο της Θεσσαλίας. Το 16,1% των παραγωγών που δεν συμμετείχαν στη μελέτη, ενδεχομένως να μην εφαρμόζαν καλές πρακτικές και για το λόγο αυτό προτίμησαν να μην εκτεθούν. Για να ξεπεραστούν οι παραπάνω δυσκολίες, κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας για επιλογή των εκτροφών που θα συμμετείχαν έγιναν ενημερώσεις σε ομάδες παραγωγών, όπου αναφέρθηκαν αναλυτικά οι στόχοι της μελέτης. Οι περισσότεροι παραγωγοί προσεγγίστηκαν με τη συνδρομή τοπικών επιχειρήσεων γάλακτος και κτηνιάτρων (ιδιωτών και δημόσιων).

Η εθελοντική συμμετοχή των βιολογικών εκτροφών ενδεχομένως να δημιουργεί προβλήματα αντιπροσωπευτικότητας, αλλά δεν ήταν δυνατόν να γίνει άλλου είδους επιλογή των συμμετεχόντων δεδομένης της δυσκολίας στην προσέγγιση των εκτροφών. Επιπλέον επειδή πολλοί από τους εκτροφείς εγκατέλειπαν τη βιολογική εκτροφή κατά την εξέλιξη της μελέτης, η επιλογή τους μπορούσε να στηριχθεί μόνο στον εθελοντισμό τους. Η αρχική επιλογή των εκτροφών μπορεί να λειτούργησε περιοριστικά στη μελέτη καθώς βασίστηκε στις διαθέσιμες από τις αρμόδιες αρχές λίστες βιολογικών εκτροφών και ήταν τυχαία. Για να μειώσουμε την ένταση αυτού του πιθανού συστηματικού λάθους διευρύνσαμε τη δειγματοληψία σε όλους τους νομούς της Θεσσαλίας και διασπείραμε το δείγμα, κατά το δυνατόν γεωγραφικά. Το συγκεκριμένο πρόβλημα μετριάστηκε με την επιλογή αντίστοιχου αριθμού συμβατικών εκτροφών με χαρακτηριστικά παρόμοια με αυτά των βιολογικών, προκειμένου να πραγματοποιηθεί αξιόπιστη σύγκριση, τόσο αναφορικά με τα περιγραφικά χαρακτηριστικά, όσο και με τα επίπεδα AFM1 που ήταν και ο κύριος στόχος της μελέτης.

5.2. ΑΞΙΟΠΙΣΤΙΑ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1

Για την ανάλυση των δειγμάτων γάλακτος και τον προσδιορισμό της AFM1 επιλέχτηκε ο συνδυασμός της εφαρμογής της ELISA σε όλα τα δείγματα και η επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων με την HPLC, συνδυασμός που θεωρείται εξάλλου ως ο πιο ακριβής (Shephard, 2009). Το συγκεκριμένο σχήμα ανάλυσης έχει επίσης χρησιμοποιηθεί και από άλλους ερευνητές σε αντίστοιχες μελέτες (Kim et al., 2000; Markaki and Melissari, 1997; Rodriguez et al., 2003). Της ανάλυσης προηγήθηκε μια εκτενής αξιολόγηση των διαθέσιμων σε εμάς εμπορικών συσκευασιών ELISA για τον προσδιορισμό AFM1 σε γάλα (Χριστοφορίδου και συν., 2011), με στόχο να επιλεγεί η καταλληλότερη εμπορική συσκευασία για χρήση στην παρούσα μελέτη. Όπως έχει αναφερθεί και από άλλους ερευνητές, η ELISA παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία και ακρίβεια στον προσδιορισμό της AFM1, (Rubio et al., 2009; Rosi et al., 2007), αλλά παρατηρούνται διαφορές στα χαρακτηριστικά επίδοσης ανάμεσα στις διάφορες εμπορικές συσκευασίες.

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της ELISA με αυτά της HPLC, διαπιστώθηκε απόλυτη συμφωνία στο επίπεδο του ανώτατου επιτρεπτού επιπέδου (100%) ενώ υπερεκτίμηση των επιπέδων της AFM1 διαπιστώθηκε με την ELISA σε χαμηλές συγκεντρώσεις, συμπέρασμα που είναι σε συμφωνία με άλλους ερευνητές (Rosi et al., 2007; Rubio et al., 2009; Kim et al., 2000; Markaki and Melissari, 1997; Rodriguez et al., 2003). Σε κάθε περίπτωση, χρήση της μεθόδου αναφοράς (HPLC-FLD) κρίνεται απαραίτητη για την επιβεβαίωση των θετικών αποτελεσμάτων της ELISA.

5.3. ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΕ ΑΙΓΕΙΟ ΚΑΙ ΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΑ

Στο 1,7% των αναλυθέντων δειγμάτων γάλακτος βρέθηκε AFM1 πάνω από το ανώτατο επιτρεπτό όριο των 50ng kg^{-1} , αποτέλεσμα σε συμφωνία με τα διαθέσιμα Ευρωπαϊκά και Εθνικά δεδομένα επιτήρησης του επιπέδου της AFM1 στο γάλα. Σύμφωνα με τα ευρωπαϊκά δεδομένα επιτήρησης της AFM1 τα μη συμμορφούμενα με τους Κανονισμούς δείγματα γάλακτος στην Ευρώπη κατά το έτος 2010 ήταν 1,2% (EFSA, 2010), ενώ δεν υπάρχουν δεδομένα για τα επίπεδα AFM1 μέσα στα προβλεπόμενα όρια. Από επίσημα δεδομένα του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, τα επίπεδα δειγμάτων γάλακτος με AFM1 πάνω από το ανώτατο επιτρεπτό όριο για το 2009 ήταν 2,72%, ενώ για το 2010 0%, χωρίς να προκύπτουν στοιχεία για τα επίπεδα AFM1 που προσδιορίστηκαν στα ελεγχθέντα δείγματα (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2012b) και που ενδεχομένως θα έδειχναν την τάση στην εξέλιξη του προβλήματος των AFs. Στην πλειοψηφία τους τα δείγματα που αναλύθηκαν (81,6%) δεν βρέθηκαν να είναι μολυσμένα με AFM1, κάτι που καταδεικνύει ότι οι συμμετέχουσες εκτροφές εφαρμόζαν ασφαλή συστήματα εκτροφής και χρησιμοποιούσαν ασφαλείς τροφές. Παρόλα αυτά AFM1 βρέθηκε στο 18,4% των δειγμάτων γάλακτος, ποσοστό που θεωρείται κρίσιμο για την ανάλυση επικινδυνότητας της AFM1, καθώς οι τάσεις μόλυνσης ή υπέρβασης του ανώτατου επιτρεπόμενου ορίου μπορούν να αναγνωριστούν έγκαιρα και μπορούν να λειτουργήσουν προειδοποιητικά για τους παραγωγούς αλλά και τις βιομηχανίες που επεξεργάζονται το γάλα. Σε άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ελλάδα βρέθηκε ποσοστό 1,79% δειγμάτων γάλακτος που υπερέβαιναν το ανώτατο επιτρεπτό όριο, ενώ AFM1 ανιχνεύτηκε στο 73,3% και στο 66,7% σε πρόβειο και γίδινο γάλα αντίστοιχα (Roussi et al., 2002). Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, παρατηρείται μια μείωση στο ποσοστό θετικών σε AFM1 δειγμάτων, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στα αυστηρότερα μέτρα ελέγχου και επιτήρησης από τις αρμόδιες αρχές στην Ελλάδα, στην ενημέρωση σχετικά με το θέμα, που σήμερα διαθέτει η πλειοψηφία των παραγωγών καθώς και στους εντατικούς αυτοελέγχους που εφαρμόζει σήμερα η βιομηχανία γάλακτος στην Ελλάδα. Επιπλέον οι

γεωκλιματικές συνθήκες καθώς και το μέγεθος και η διάρκεια της δειγματοληψίας μπορεί να σχετίζονται με τις διαφορές στα ευρήματα. Σε κάθε περίπτωση, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι σε συμφωνία με τα επίσημα δεδομένα επιτήρησης της AFM1 στο γάλα, αλλά συμπεραίνεται ότι η AFM1 είναι ένας σημαντικά πιθανός ρυπαντής του γάλακτος που απαιτεί συνεχή έλεγχο προκειμένου να διασφαλιστεί η παραγωγή και διάθεση ασφαλούς γάλακτος και προϊόντων γάλακτος στον καταναλωτή.

Σε άλλες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε Μεσογειακές ή Ασιατικές χώρες παρουσιάζονται ποικίλα ποσοστά AFM1 σε γάλα και προϊόντα γάλακτος. Ενδεικτικά, σε μελέτες επιτήρησης στην Ισπανία διαπιστώθηκε ποσοστό 3,3% (Rodriguez et al., 2003), 31,5% στη Σαρδηνία (Virdis et al., 2009), 16,6% στην Ιταλία (Montagna et al., 2008), ενώ σε μελέτες επιτήρησης σε ασιατικές χώρες διαπιστώνονται ακόμα υψηλότερα ποσοστά, ακόμα έως και 100% στο Ιράν (Karimi et al, 2007; Ghazani, 2009). Τα ποικίλα ποσοστά AFM1 που αναφέρονται στις μεσογειακές και ασιατικές χώρες μπορεί καταρχήν να οφείλονται στις ποικίλες πρακτικές εκτροφής που εφαρμόζονται, αλλά και στις κλιματικές συνθήκες που επικρατούν στις χώρες αυτές, που επηρεάζουν την ανάπτυξη των αφλατοξινογόνων μυκήτων και κατά συνέπεια την παραγωγή AFB1 (EFSA, 2012; Magan et al., 2011).

5.4. ΛΟΓΟΙ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΑΙΓΕΙΟΥ ΚΑΙ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Στη συγκεκριμένη μελέτη επιλέχθηκε να πραγματοποιηθεί προσδιορισμός της AFM1 σε αίγιο και πρόβιο γάλα, δεδομένου ότι τα είδη αυτά δεν έχουν διερευνηθεί επαρκώς σε χώρες που οι κλιματικές συνθήκες δεν ευνοούν την εμφάνιση AF και που επίσης, η παραγωγή αίγιου και πρόβιου γάλακτος είναι περιορισμένη. Σε κάθε περίπτωση, είναι κρίσιμο ζήτημα για τις μεσογειακές χώρες, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας, όπου το γίδινο και το πρόβιο γάλα καταναλώνονται ιδιαίτερα, κυρίως ως προϊόντα γάλακτος (τυριά, γιαούρτια). Η κλιματική αλλαγή στο πλανήτη μπορεί να αυξήσει την επικινδυνότητα για τις AFs ακόμα και σε χώρες που σήμερα θεωρούνται ότι δεν έχουν πρόβλημα. Επιπλέον, λόγω της αυξημένης κατανάλωσης προϊόντων όπως τυρί φέτα και παραδοσιακή ελληνική γιαούρτη που εξαγονται ανά τον κόσμο, το ενδιαφέρον για την παρουσία AFM1 στα προϊόντα αυτά μπορεί να ενταθεί τα επόμενα χρόνια.

Λίγες είναι οι μέχρι σήμερα διαθέσιμες σε εμάς μελέτες που ασχολήθηκαν με την παρουσία AFM1 σε πρόβιο και αίγιο γάλα και παρουσιάζουν ποικίλα αποτελέσματα: 31,3% (Montanga et al., 2008), 84,5% (Ozdemir, 2007), 81% (Bognanno et al., 2006). Συγκρίνοντας τα παραπάνω δεδομένα με τα δικά μας αποτελέσματα διαπιστώνεται ότι στην Ελλάδα τα ποσοστά παρουσίας AFM1 είναι σχετικά χαμηλά, ενδεχομένως λόγω μικρότερης γεωκλιματικής επικινδυνότητας (EFSA, 2012; Magan et al., 2011). Άλλοι πιθανοί λόγοι εμφάνισης χαμηλών ποσοστών AFM1 μπορεί να σχετίζονται με την εφαρμογή πιο ασφαλών πρακτικών εκτροφής. Η διαφορά στα αποτελέσματα με μελέτες άλλων χωρών ίσως οφείλεται και στη χρονική περίοδο εκτέλεσης των μελετών, κατά τη διάρκεια των οποίων ενδέχεται να επικρατούσαν διαφορετικές κλιματικές συνθήκες.

5.5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΠΟΣΟΣΤΩΝ AFM1 ΜΕ ΤΑ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

Σε κάθε περίπτωση τα χαμηλά ποσοστά παρουσίας AFM1 που διαπιστώνονται στην παρούσα μελέτη δεν θα πρέπει να εφησυχάζουν την βιομηχανία γάλακτος, καθώς έχει αναφερθεί ότι η AFM1 προσκολλάται στις καζείνες και σταδιακά συμπυκνώνεται κατά τη παραγωγική διαδικασία παραγωγής προϊόντων γάλακτος (Oruc et al, 2006; Kaniou-Grigoriadou et al., 2005), με αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό της περιεκτικότητας της AFM1 στα προϊόντα αυτά. Με βάση το γεγονός αυτό, ποσοστό παρουσίας AFM1 της τάξης του 18,4% σε γίδινο και πρόβειο γάλα στη Θεσσαλία, θα πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψη αναλογιζόμενοι ότι το 51,2% του γάλακτος που ελέγχθηκε προοριζόταν για την παρασκευή προϊόντων γάλακτος. Αξιοσημείωτο είναι ότι κατά την περίοδο των δειγματοληψιών στην περιοχή διενέργειας της μελέτης, υπήρξε ανάκληση γιαουρτιού επιμολυσμένου με AFM1, από τον Ενιαίο Φορέα Ελέγχου Τροφίμων (ΕΦΕΤ, 2011). Κατά την διερεύνηση που πραγματοποιήσαμε, με επαναληπτικές επισκέψεις στις εκτροφές που παρουσίασαν αποτελέσματα AFM1 πάνω από το ανώτατο επιτρεπτό όριο, προέκυψε ότι την συγκεκριμένη περίοδο και στη συγκεκριμένη περιοχή διοχετεύθηκε από έναν προμηθευτή παρτίδα καλαμποκιού που πιθανόν να ήταν ο αιτιολογικός παράγοντας εμφάνισης πολλών μη συμμορφούμενων με τη νομοθεσία δειγμάτων. Κατά την επαναληπτική αξιολόγηση των εμπλεκόμενων παραγωγών με τα μη συμμορφούμενα δείγματα γάλακτος, δεν διαπιστώθηκε παρουσία AFM1 σε κανένα δείγμα και οι εκτροφείς επέδειξαν υψηλό επίπεδο αντίληψης του προβλήματος και ετοιμότητας για την αντιμετώπιση τυχόν επανεμφάνισής του.

Αναφορικά με την πιθανή συσχέτιση της παρουσίας AFM1 με τη χημική σύσταση του γάλακτος, παρόλο που υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση της παρουσίας AFM1 με τα επίπεδα πρωτεΐνης και λακτόζης, ο συντελεστής συσχέτισης βρέθηκε χαμηλός ($<0,300$). Η χημική σύσταση του γάλακτος επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, ενδεικτικά αναφέρονται η φάση της γαλακτικής περιόδου, η εποχή, το σχήμα διατροφής και η φυλή (Μάντης, 2000). Με βάση τα παραπάνω κρίνεται δύσκολο να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα για την επίδραση της AFM1 στη

χημική σύσταση του γάλακτος χωρίς να ληφθούν υπόψη όλοι οι πιθανοί εμπλεκόμενοι παράγοντες. Οι διαφοροποιήσεις στη χημική σύσταση λόγω της AFM1 δεν έχουν διερευνηθεί εκτενώς έως σήμερα, εκτός από μια μείωση στο επίπεδο του λίπους που αναφέρεται στη διεθνή βιβλιογραφία (Kourousekos et al., 2012). Οι Battacone et al., (2003) δεν διαπίστωσαν διαφορές στις συγκεντρώσεις του λίπους, των πρωτεϊνών και της λακτόζης του γάλακτος σε σχέση με την AFM1, γεγονός που συσχετίζεται με την χαμηλή συσχέτιση που διαπιστώθηκε στη μελέτη μας.

5.6. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΙ ΣΥΜΒΑΤΙΚΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Αναφορικά με τα χαρακτηριστικά των βιολογικών και συμβατικών εκτροφών προέκυψαν αρκετές στατιστικά σημαντικές διαφορές, όπως αναλυτικά παρουσιάστηκαν στον Πίνακα 19. Οι διαφορές αφορούσαν κυρίως το σχήμα και το είδος της διατροφής, τις πρακτικές αποθήκευσης των ζωοτροφών, το επίπεδο υγιεινής κατά τη συλλογή του γάλακτος, αλλά και την εφαρμογή ελέγχων γάλακτος από τους πελάτες τους. Οι διαφορές που διαπιστώθηκαν σε σύγκριση με τις συμβατικές εκτροφές ενδεχομένως να σχετίζονται με την εφαρμογή καλύτερων πρακτικών εκτροφής που πηγάζουν από την εφαρμογή των κανονισμών της βιολογικής παραγωγής, ενώ άλλες διαφοροποιήσεις μπορεί να οφείλονται στη θετική στάση που γενικά διαπιστώνεται για τους εκτροφείς βιολογικών ζώων. Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ότι οι εκτροφείς βιολογικών ζώων επιδεικνύουν υψηλότερο ποσοστό αντίληψης των κινδύνων στην εκτροφή των ζώων και γενικά θεωρούνται πιο προορατικοί και με θετική διάθεση στο να παράγουν τρόφιμα υψηλής ποιότητας (Padel, 2008; Sadati et al., 2010). Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι όντως οι βιολογικοί εκτροφείς παρουσιάζουν συγκριτικά πλεονεκτήματα στη διαχείριση της εκτροφής. Συγκρίνοντας τη χημική σύσταση βιολογικού και συμβατικού γάλακτος διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην περιεκτικότητα της λακτόζης και του λίπους, με το βιολογικό γάλα να υπερέχει του συμβατικού. Η σύσταση του γάλακτος ωστόσο, σχετίζεται με πολλούς παράγοντες όπως ενδεικτικά με το σχήμα διατροφής, τη φυλή του ζώου, τον τρόπο άμελξης (Μάντης, 2000) και ως εκ τούτου είναι δύσκολο να εξαχθούν ξεκάθαρα συμπεράσματα στηριζόμενοι μόνο στο τύπο της εκτροφής (βιολογική/συμβατική). Το αυξημένο ποσοστό λίπους στο βιολογικό γάλα όμως, αναφέρουν και άλλοι μελετητές (Stergiadis et al., 2012; Tudisco et al., 2012), όπως και το αυξημένο ποσοστό λακτόζης (Olivo et al., 2005) πιθανά αποδίδεται κυρίως στις διαφορές στη διατροφή μεταξύ των δύο παραγωγικών σχημάτων (βιολογική/συμβατική εκτροφή). Υπάρχουν όμως και μελετητές που αναφέρουν ότι δεν υπάρχει ουσιαστική διαφορά στη χημική σύσταση βιολογικού και συμβατικού γάλακτος (Toledo et al., 2002). Από τους παράγοντες που αποτυπώθηκαν στα ερωτηματολόγια διαπιστώθηκε ότι η κατανάλωση συμπυκνωμένων τροφών

σχετίζονται θετικά με τα αυξημένα ποσοστά λίπους γεγονός αναμενόμενο, δεδομένου ότι οι διαφοροποιήσεις στο σχήμα και το είδος της διατροφής μπορούν ουσιαστικά να επηρεάσουν τη χημική σύσταση του γάλακτος ανεξάρτητα της βιολογικότητας του (Μάντης, 2000).

Τέλος, συγκρίνοντας τα επίπεδα AFM1 στο βιολογικό και το συμβατικό γάλα διαπιστώθηκε ότι είναι πιο πιθανό να υπάρχει AFM1 στο βιολογικό γάλα, χωρίς όμως να είναι στατιστικά σημαντικό, ενδεχομένως λόγω του σχετικά περιορισμένου δείγματος που εξετάστηκε. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι σε συμφωνία με μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ιταλία (Ghidini et al., 2005), ενώ αντίθετα αποτελέσματα διατυπώνονται σε μελέτη που επίσης πραγματοποιήθηκε στην Ιταλία (Vallone et al., 2006). Διαχρονικά, το ερώτημα για το ποιο είδος γάλακτος είναι πιο πιθανό να είναι επιμολυσμένο με AFM1 έχει απασχολήσει τους ερευνητές με αντιφατικά αποτελέσματα να διατυπώνονται (Woese et al., 1997; Lund, 1991; FAO, 2000; DEFRA, 2008; FSA, 2001). Ο περιορισμός στη χρήση μυκητοκτόνων στη βιολογική παραγωγή είναι μια σημαντική παράμετρος που επηρεάζει την ποιότητα των ζωοτροφών (Marx et al., 1995; Leifert et al., 2007) και συνάδει με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας για μεγαλύτερες πιθανότητες εμφάνισης AFM1 στο βιολογικό γάλα. Η διατροφή των βιολογικών ζώων κυρίως σε βοσκότοπους και όχι με συμπυκνωμένη τροφή που ενισχύει την άποψη της απουσίας AFM1 στο βιολογικό γάλα (Pussemier et al., 2006), δεν συνδέεται με τα δεδομένα του δείγματος που ελέγχθηκε μιας και συμβατικά και βιολογικά ζώα διατρέφονταν κυρίως σε βοσκότοπους. Συμπέρασμα όμως που μπορεί να εξαχθεί από την παρούσα μελέτη είναι ότι το βιολογικό γάλα δεν παρουσιάζει χαμηλότερα ποσοστά AFM1 από το συμβατικό, όπως αρκετές μελέτες υποστηρίζουν. Σε κάθε περίπτωση η μη ξεκάθαρη άποψη στη βιβλιογραφία σχετικά με την παρουσία της AFM1 στο βιολογικό και συμβατικό γάλα, καταδεικνύει ότι ενδεχομένως αυτή να επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες επικινδυνότητας, ενδεχομένως ανεξαρτήτως του τύπου εκτροφής (βιολογική/συμβατική).

5.7. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ AFM1 ΣΤΟ ΣΥΜΒΑΤΙΚΟ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΓΑΛΑ

Επιπλέον των ποσοστών παρουσίας AFM1, που διερευνήθηκαν σε αυτή τη μελέτη, από την επεξεργασία των δεδομένων των ερωτηματολογίων και των πρωτοκόλλων δειγματοληψίας που συμπληρώθηκαν, διαπιστώθηκε η συσχέτιση της παρουσίας AFM1 με διάφορους παράγοντες επικινδυνότητας, όπως παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 31. Από τη διαθέσιμη σε εμάς βιβλιογραφία δεν προκύπτει η ύπαρξη άλλης μελέτης που να αξιολογεί μια τόσο διευρυμένη ποικιλία πιθανών παραγόντων επικινδυνότητας για την εμφάνιση της AFM1 στο γάλα. Οι παράγοντες με στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με την παρουσία AFM1 στο γάλα, είτε σε επίπεδα πάνω από το κατώτατο ανιχνεύσιμο όριο, είτε πάνω από το ανώτατο επιτρεπτό όριο αφορούσαν τις φυλές, το είδος του βοσκοτόπου, την διατροφή με μπιζέλι και την αποθήκευση. Επιπλέον, ο χειμώνας και η χορήγηση καρπών συσχετίστηκαν θετικά με την παρουσία AF πάνω από το κατώτατο όριο ανίχνευσης. Τέλος, εκτροφές στα ορεινά, που χρησιμοποιούσαν τριφύλλι και βίκο, προμηθεύονταν τις ζωτροφές μια φορά το χρόνο και όχι τμηματικά, είχαν χαμηλού επιπέδου εγκαταστάσεις, ανεπαρκή αποθήκευση των ζωτροφών και οι πελάτες τους δεν πραγματοποιούσαν ελέγχους στο γάλα συσχετίστηκαν με παρουσία AFM1 πάνω από το ανώτατο επιτρεπόμενο όριο. Τα αποτελέσματα μας είναι σε συμφωνία με άλλες μελέτες, όπου έχουν αναγνωριστεί παρόμοιοι παράγοντες επικινδυνότητας συμπεριλαμβάνοντας ενδεικτικά το είδος της διατροφής, τις πρακτικές εκτροφής και το κλίμα (Viridis et al, 2008; Prandini et al., 2009a; Kensler et al., 2011), με τη διαφορά ότι στην παρούσα μελέτη οι παράγοντες αυτοί εξειδικεύονται και μπορούν έτσι να λειτουργήσουν σαν παράμετροι σε μοντέλα πρόβλεψης εμφάνισης AF. Αναλυτικά, οι παράγοντες που αναγνωρίστηκαν από τη μονοπαραγοντική ανάλυση να επηρεάζουν την παρουσία AFM1 στο γάλα αφορούν:

Φυλή: Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκαν μικρότερα ποσοστά AFM1 σε γάλα από εγχώριες φυλές σε σύγκριση με άλλες. Ανθεκτικότητα στην εμφάνιση AFM1 έχει αναφερθεί για διαφορετικά είδη ζώων (Niranjan et al., 1986; Gorelick, 1990), όπως επίσης έχει αναφερθεί ότι και η φυλή επηρεάζει το ρυθμό μετατροπής της AFB1 σε M1 (Prandini et al., 2009a;

Martins and Martins, 2000; Masoero et al., 2007). Η πιθανή ανθεκτικότητα όμως διαφορετικών φυλών αιγών και προβάτων ενδεχομένως να οφείλεται στην καλύτερη προσαρμοστικότητα των εγχώριων φυλών, αλλά σε κάθε περίπτωση θα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω για να μπορούν να εξαχθούν τεκμηριωμένα συμπεράσματα.

Εποχή: Διαπιστώθηκε ότι κατά τη διάρκεια του χειμώνα υπήρχε μεγαλύτερο ποσοστό δειγμάτων με AFM1, κάτι που είναι αναμενόμενο λόγω των κλιματικών συνθηκών. Τα ζώα την περίοδο αυτή καταναλώνουν περισσότερο καρπό, που κυρίως ενοχοποιείται για την εμφάνιση AFM1. Τα αποτελέσματά μας είναι σε συμφωνία με άλλες μελέτες παρακολούθησης των επιπέδων μόλυνσης του γάλακτος κατά τη διάρκεια του έτους σε ασιατικές και μεσογειακές χώρες, οι οποίες καταλήγουν ότι τα ποσοστά είναι υψηλότερα κατά του χειμερινούς μήνες (Kamkar, 2005; Bakirci, 2001; Tajkarimi et al., 2008 Deveci and Sezgin, 2005; Unusan, 2006; Mohammadian et al., 2010; Celik et al., 2005).

Τοποθεσία εκτροφής: Στη παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι η ορεινή τοποθεσία της εκτροφής συσχετίζεται με μεγαλύτερα ποσοστά AFM1. Οι κλιματικές συνθήκες μιας περιοχής σίγουρα επηρεάζουν τόσο την ανάπτυξη των μυκήτων όσο και την παραγωγή μυκοτοξινών πριν τη συγκομιδή, κατά τη συγκομιδή και κατά την αποθήκευση των ζωοτροφών (Magan et al., 2011). Η ευνοϊκή θερμοκρασία όμως κυμαίνεται από 30°C και άνω (Paterson and Lima, 2010), κάτι που δεν ισχύει για τη συγκεκριμένη περιοχή. Ενδεχομένως, λόγω του ορεινού κλίματος, τα ζώα να διατρέφονταν για περισσότερο διάστημα με συμπυκνωμένες ζωοτροφές, οι οποίες και εμφανίζουν υψηλότερη επικινδυνότητα για παρουσία AFB1. Το συγκεκριμένο αποτέλεσμα ενδεχομένως να προέκυψε από το γεγονός ότι 3 από τα 4 δείγματα >ML προέρχονταν από την ίδια εκτροφή στον ορεινό όγκο της Θεσσαλίας. Η αντίστοιχη σύγκριση για τα επίπεδα ανιχνεύσιμης ή μη AFM1 δε βρέθηκε να δίνει στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα και ως εκ τούτου δεν κρίνεται η συγκεκριμένη παράμετρος (τοποθεσία εκτροφής) ως ξεκάθαρος παράγοντας επικινδυνότητας για την παρουσία AFM1 στο γάλα.

Διατροφή: Η ποικιλία κτηνοτροφικών φυτών που χορηγούνται ως καρπός ή ως χονδροειδής τροφή ή που αποτελούν τη χλωρίδα των βοσκοτόπων, θεωρούνται ως οι κύριοι εμπλεκόμενοι παράγοντες στην παρουσία AFM1

(Jounay, 2007). Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι το σιτάρι, το τριφύλλι, ο βίκος και το μπιζέλι συσχετίζονται με την παρουσία AFM1 στο γάλα. Γενικά, ως ζωτροφές υψηλού κινδύνου για την παρουσία AFs θεωρούνται το καλαμπόκι, το σιτάρι, η βρώμη, το κριθάρι, η σίκαλη και η βαμβακόπιτα (EFSA, 2012; Creppy, 2002; Streit et al., 2012), χωρίς να αποκλείονται και τα υπόλοιπα κτηνοτροφικά φυτά που μπορούν να επιδείξουν ανθεκτικότητα ή ευαισθησία στους αφλατοξινογόνους μύκητες ανάλογα με την ποικιλία που χρησιμοποιείται (Menkir et al., 2006; Yu et al., 2005). Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε με τη χορήγηση καρπών σε σύγκριση με τη βόσκηση, εύρημα αναμενόμενο. Οι χειρισμοί κατά την συλλογή και επεξεργασία των φυτών αλλά και οι χειρισμοί κατά την αποθήκευση επηρεάζουν σημαντικά τα ποσοστά εμφάνισης AFB1 (Magan and Aldred, 2007). Από τις τροφές που προέκυψαν ως παράγοντες κινδύνου στη παρούσα μελέτη μόνο το μπιζέλι συνδέεται με την παρουσία AFM1, ενώ οι υπόλοιπες αφορούσαν μόνο τα 4 θετικά δείγματα (>ML), επομένως δεν κρίνεται σκόπιμο να εξαχθεί γενικευμένο συμπέρασμα. Αναφορικά όμως, με το κτηνοτροφικό μπιζέλι, (*Pisum sativum* L.) κρίνεται ότι μπορεί να είναι ένας ακόμα παράγοντας επικινδυνότητας, αν και μόνο το 13% των βιολογικών εκτροφών και 5% των συμβατικών το χρησιμοποιούσαν ως μέρος του σιτηρεσίου που χορηγούσαν στα ζώα. Το κτηνοτροφικό μπιζέλι έχει αναφερθεί ότι εμφανίζει ανθεκτικότητα και ανασταλτική δράση στους αφλατοξινογόνους μύκητες (Pena-Valdivia and Torres, 1995; El-Kady et al., 1996) και ως εκ τούτου δεν συγκαταλέγεται στις ζωτροφές υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση AFB1. Παρόλα αυτά, υπάρχουν αρκετές αναφορές στη βιβλιογραφία για επιμολυσμένο με *Aspergillus* ή AFB1 κτηνοτροφικό μπιζέλι (Logrieco et al., 2003; Youssef et al., 2008; Khoshpey et al., 2011). Μια πιθανή αλλαγή σε μια λιγότερο ανθεκτική ποικιλία κτηνοτροφικού μπιζελιού που καλλιεργήθηκε ή χρησιμοποιήθηκε στην περιοχή μελέτης μπορεί να οδήγησε στο συγκεκριμένο αποτέλεσμα. Σε κάθε περίπτωση, η παρούσα μελέτη δεν συμπεριελάμβανε δειγματοληψίες και αναλύσεις ζωοτροφών και κατά συνέπεια δεν μπορούν να εξαχθούν ξεκάθαρα συμπεράσματα για το συγκεκριμένο ζήτημα που ωστόσο, θα ήταν χρήσιμο να διερευνηθεί περαιτέρω.

Κτηνοτροφικές πρακτικές: Διαπιστώθηκε ότι η αποθήκευση σε χαμηλής ποιότητας αποθηκευτικούς χώρους, με πιθανότητα επιμόλυνσης των ζωοτροφών συνδέεται με την παρουσία AFM1 στο γάλα. Αρκετοί μελετητές έχουν καταλήξει στο ίδιο συμπέρασμα διατυπώνοντας ότι σε περίπτωση προσβολής των καρπών από έντομα, σε αυξημένες θερμοκρασίες και υγρασία κατά την αποθήκευσή τους, ανάλογα και με την ευαισθησία τους, μπορούν να εμφανίσουν υψηλά ποσοστά AFs (Kensler et al., 2011). Για παράδειγμα το καλαμπόκι και το ενσίρωμα καλαμποκιού θεωρούνται από τις πιο επικίνδυνες ζωοτροφές για την παρουσία AFs, εξαιτίας της ευαισθησίας τους κατά την αποθήκευση (Prandini et al., 2009a). Επιπλέον, στη παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι η προμήθεια των ζωοτροφών άπαξ και όχι τμηματικά συνδέεται με την παρουσία AFM1 στο γάλα, γεγονός που είναι αναμενόμενο δεδομένου ότι αποθηκεύονται επί μακρόν και ως εκ τούτου εκτίθενται σε περισσότερους παράγοντες υποβάθμισης τους. Τέλος, η διεξαγωγή τακτικών ελέγχων στο γάλα παρατηρήθηκε ότι λειτουργεί αποτρεπτικά στην παρουσία AFM1 στο γάλα, κάτι που δικαιολογείται από το ότι οι έλεγχοι επιτρέπουν την έγκαιρη παρέμβαση στον αιτιολογικό παράγοντα εμφάνισης της AFM1 και την διασφάλιση των μελλοντικά παραγόμενων ποσοτήτων γάλακτος.

Από την πολυπαραγοντική ανάλυση αναφορικά με τους παράγοντες που επηρεάζουν την παρουσία AFM1 στο γάλα, λαμβάνοντας υπόψη και τον τύπο της εκτροφής (βιολογική/συμβατική), προέκυψε ότι ανεξάρτητοι παράγοντες επικινδυνότητας για την παρουσία της AFM1 με στατιστικά σημαντική διαφορά είναι η εποχή (χειμώνας) και η αποθήκευση των ζωοτροφών (κλειστές αποθήκες). Επιπλέον, η πολυπαραγοντική ανάλυση των παραγόντων επικινδυνότητας για την παρουσία AFM1 στο γάλα, επιβεβαιώνει τα αποτελέσματα της μονοπαραγοντικής ανάλυσης, όπως αναφέρθηκαν παραπάνω, και καταδεικνύει ότι το κτηνοτροφικό μπιζέλι λειτούργησε επιβαρυντικά στην παρουσία AFM1 στο γάλα, ενώ οι ντόπιες φυλές ζώων προστατευτικά, αν και οριακά δεν βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντικός παράγοντας. Αξίζει, τέλος, να σημειωθεί ότι κατά τη διερεύνηση στις εκτροφές με αποτελέσματα AFM1 πάνω από το ανώτατο επιτρεπτό όριο, διαπιστώθηκε ότι το καλαμπόκι και η βρώμη που βρισκόταν αποθηκευμένα σε σιλό και κλειστές αποθήκες αντίστοιχα, βρέθηκαν

μουχλιασμένα, παράγοντες που συσχετίζονται με άλλες μελέτες (Kensler et al., 2011; Prandini et al., 2009a)

Συμπερασματικά, είναι ξεκάθαρο στη βιβλιογραφία ότι ο κύριος παράγοντας επικινδυνότητας για την παρουσία AFM1 στο γάλα είναι οι κλιματικές συνθήκες κατά την καλλιέργεια, αλλά και κατά την αποθήκευση των ζωοτροφών και σαν αποτέλεσμα παρατηρείται εποχική διακύμανση στην παρουσία AFM1 στο γάλα (EFSA, 2012; Garcia et al., 2009; Kensler et al., 2011; Moss et al., 2002), παράγοντες που επιβεβαιώθηκαν στην παρούσα μελέτη. Σε κάθε περίπτωση όμως υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για την πρόληψη εμφάνισης AFM1 στο γάλα, όπως αυτοί που διαπιστώθηκαν στην παρούσα μελέτη.

5.8. ΕΚΘΕΣΗ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗ ΣΤΗΝ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗ Μ1-ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

Η παρουσία της AFM1 στο γάλα και τα προϊόντα του είναι ένα ιδιαίτερης σημασίας ζήτημα, λόγω της υψηλής κατανάλωσης που έχουν τα προϊόντα αυτά ιδιαίτερα από άτομα βρεφικής, παιδικής και εφηβικής ηλικίας. Η διατροφική έκθεση στην AFM1 μπορεί να προσδιοριστεί με βάση τα μέσα επίπεδα AFM1 σε γάλα και γαλακτοκομικά σε συνδυασμό με τις διατροφικές συνήθειες ενός πληθυσμού. Στην παρούσα μελέτη, η μέση τιμή παρουσίας AFM1 στο γάλα βρέθηκε να είναι $4,42\text{ng kg}^{-1}$, ποσοστό που είναι χαμηλότερο από τον εκτιμώμενο μέσο όρο επιπέδων AFM1 στην Ευρώπη (23ng kg^{-1}), με τα συμβατικά δείγματα γάλακτος να περιέχουν $2,47\text{ng kg}^{-1}$ και τα βιολογικά $6,37\text{ng kg}^{-1}$ (Creery, 2002; IARC, 2002). Παρόλα αυτά, χωρίς εκτενή διατροφικά δεδομένα για τον πληθυσμό της Θεσσαλίας, δεν μπορεί με ακρίβεια να εκτιμηθεί η ημερήσια πρόσληψη AFM1, η οποία για την Ευρωπαϊκή διαίτα έχει προηγούμενα προσδιοριστεί στα $6,8\text{ng}$ (Creery, 2002; IARC, 2002), ποσοστό ασφαλές καθώς το ανεκτό ημερήσιο όριο πρόσληψης (tolerable daily intake-TDI) για την AFM1 έχει προσδιοριστεί στα $15\text{ng}/\text{άτομο}$ (Prandini et al., 2009a).

Τα ποσοστά της παρούσας μελέτης προέρχονται από γάλα στην εκτροφή και όχι από γάλα ή γαλακτοκομικά προϊόντα εμπορίου. Ως εκ τούτου θα μπορούσε κανείς να ισχυριστεί ότι στο γάλα που προορίζεται για πόσιμη κατανάλωση, το τελικό ποσοστό AFM1, μετά και την ανάμειξη και κατά συνέπεια αραιώση της AFM1 με άλλο γάλα, ενδεχομένως να είναι χαμηλότερο. Για το γάλα, όμως, που προορίζεται για γαλακτοκομικά προϊόντα, στο οποίο υπάρχει η πιθανότητα εμπλουτισμού με AFM1, το τελικό ποσοστό θα μπορούσε να είναι υψηλότερο. Σε κάθε περίπτωση, ο αριθμός και το είδος των δειγμάτων της παρούσας μελέτης δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν μεμονωμένα για τον προσδιορισμό της διατροφικής έκθεσης του πληθυσμού σε AFM1. Για την εξαγωγή ξεκάθαρων συμπερασμάτων απαιτείται προσδιορισμός της AFM1 σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων σε όλη την τροφική αλυσίδα και επιπλέον απαιτούνται εκτενή διατροφικά δεδομένα του πληθυσμού.

Αναφορικά με την έκθεση σε AFM1 από συμβατικό ή βιολογικό γάλα, είναι προφανές, από τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, ότι το βιολογικό γάλα δεν περιέχει λιγότερο AFM1 από το συμβατικό, ενώ είναι πιθανό να εμφανίζει ακόμα και υψηλότερα ποσοστά. Ελλείπει διατροφικών δεδομένων, ωστόσο, για την κατανάλωση βιολογικού γάλακτος στην Ελλάδα δεν μπορούν να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα αναφορικά με την έκθεση των καταναλωτών βιολογικού γάλακτος στην AFM1, ζήτημα που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Η άποψη ότι τα ζώα βιολογικής εκτροφής που διατρέφονται κυρίως σε βοσκοτόπους καθώς και η εναλλαγή καλλιεργειών στις βιολογικές εκτάσεις (Καν. 834/2007) λειτουργούν προστατευτικά στην ανάπτυξη μυκήτων και κατά συνέπεια και την παρουσία μυκοτοξινών στα βιολογικά προϊόντα (Pussemier et al., 2006; Vallone et al., 2006) δεν επιβεβαιώνεται με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Αντίθετα, η άποψη ότι τα ζώα βιολογικής εκτροφής που τρέφονται με βιολογικές ζωοτροφές, οι οποίες παράγονται χωρίς τη χρήση μυκητοκτόνων και έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες ανίχνευσης μυκοτοξινών στο παραγόμενο γάλα (Marx et al., 1995; DEFRA, 2008; Ghidini et al., 2005), φαίνεται να ενισχύεται με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας. Επίσης, αποτελέσματα μελετών που εστίασαν στο αν η εκτροφή είναι εντατικού ή εκτατικού τύπου, καταλήγουν σε παρόμοια αποτελέσματα, με δεδομένο ότι οι εντατικές εκτροφές προσομοιάζουν κατά κάποιο τρόπο με τις συμβατικές σύγχρονες εκτροφές (Virdis et al., 2008). Παρόλα αυτά αξίζει να σημειωθεί ότι στη παρούσα μελέτη υπήρξε ένδειξη από τη σύγκριση των χαρακτηριστικών των εκτροφών, ότι το βιολογικό γάλα έχει ορισμένα πλεονεκτήματα.

Συμπερασματικά, οι καταναλωτές που θεωρούν ότι τα βιολογικά τρόφιμα είναι πιο υγιεινά και πιο ασφαλή (Williams, 2002) θα πρέπει να είναι επιφυλακτικοί, καθώς για να χαρακτηριστεί ένα τρόφιμο ως ασφαλές πρέπει να διερευνώνται πολλές παράμετροι. Απόκλιση έστω και σε μια από τις ελεγχόμενες παραμέτρους, όπως για παράδειγμα με τις ενδείξεις της παρούσας μελέτης για ενδεχόμενη παρουσία AFM1 στο βιολογικό γάλα, καθιστά αυτόματα το τρόφιμο μη ασφαλές. Κατά συνέπεια η έννοια της ασφάλειας τροφίμων είναι πολυπαραγοντική και ως εκ τούτου, η βιολογική ή συμβατική προέλευση του τροφίμου δεν πρέπει να αποτελεί αποκλειστικό

κριτήριο για την ασφάλεια του (Lairon, 2010; Magkos et al., 2003; Justin and Jyoti 2012). Οι καταναλωτές βιολογικών τροφίμων θα πρέπει να γνωρίζουν και να θυμούνται ότι η ανάπτυξη και η στήριξη της βιολογικής γεωργίας και κτηνοτροφίας αποσκοπούσε στη διασφάλιση της ανθρώπινης υγείας, μέσω της προστασίας του περιβάλλοντος και του περιορισμού της επαγγελματικής έκθεσης σε χημικές ουσίες (Trewavas, 2001; FAO, 2001) και όχι απαραίτητα στην παραγωγή πιο ασφαλών προϊόντων από τα συμβατικά.

5.9. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η περιορισμένη γεωγραφική περιοχή μελέτης, με συγκεκριμένα γεωκλιματικά χαρακτηριστικά, μπορεί να λειτούργησε περιοριστικά στην εξαγωγή γενικευμένων συμπερασμάτων για άλλες περιοχές. Παρόλα αυτά, η Θεσσαλία, μια κατ' εξοχήν κτηνοτροφική περιοχή, η οποία φιλοξενεί σημαντικά μεγάλο αριθμό γαλακτοπαραγωγού ζωικού κεφαλαίου, που παράγει σχεδόν το 25% των γαλακτοκομικών προϊόντων της Ελλάδας και που διαθέτει βιολογικές εκτροφές θεωρήθηκε κατάλληλη περιοχή για μελέτη πεδίου, προκειμένου να προσδιοριστεί η παρούσα κατάσταση σε σχέση με την παρουσία της AFM1. Ένας επιπλέον περιοριστικός παράγοντας ενδεχομένως να ήταν ο σχετικά μικρός αριθμός δειγμάτων που συλλέχθηκε. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι αν ο αριθμός ήταν διπλάσιος με τα ίδια αναλυτικά αποτελέσματα η διαφορά στη παρουσία AFM1 στο βιολογικό και συμβατικό γάλα θα ήταν στατιστικά σημαντική. Η δειγματοληψία θα μπορούσε να είχε επεκταθεί ώστε να συμπεριλάβει περισσότερα δείγματα από τις συμμετέχουσες εκτροφές ή ακόμα και να περιλαμβάνει περισσότερες εκτροφές και σε όμορους νομούς, ώστε να μπορούσαν να εξαχθούν ξεκάθαρα συμπεράσματα για τις διαφορές ανάμεσα στα διαφορετικά συστήματα παραγωγής γάλακτος.

Επιπλέον, τα συστηματικά λάθη που μπορεί να υπήρξαν στην παρούσα μελέτη αφορούν τη διάθεση απάντησης στα ερωτηματολόγια, την κατά δήλωση των παραγωγών συμπλήρωση κάποιων ερωτήσεων και την υποκειμενικότητα του εξεταστή στη συμπλήρωση των ερωτηματολογίων. Το πρόβλημα της ανάκλησης πληροφοριών ή του ελέγχου των δηλώσεων των παραγωγών μειώθηκε κατά το δυνατό με τη διάρθρωση του ερωτηματολογίου και τη χρήση κυρίως ερωτήσεων κλειστού τύπου. Η απαντητικότητα των ερωτηματολογίων κρίθηκε ικανοποιητική. Η ένταση του πιθανού λάθους υποκειμενικότητας του εξεταστή κατά τη συμπλήρωση των ερωτηματολογίων περιορίστηκε επίσης με τις κλειστού τύπου ερωτήσεις και τη λεπτομερή κατηγοριοποίηση των πιθανών απαντήσεων.

5.10. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Με βάση και τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, μελλοντικές έρευνες θα μπορούσαν ενδεχομένως να εστιάσουν στην ανάλυση επικινδυνότητας της AFM1 στο γάλα και τα προϊόντα γάλακτος καθώς επίσης και στα μοντέλα πρόβλεψης εμφάνισης AFM1 σε αυτά τα προϊόντα, λαμβάνοντας υπόψη όλους τους σχετικούς παράγοντες κινδύνου. Υπάρχει, σαφώς, ανάγκη για διαρκή επιτήρηση της AFM1 δεδομένου ότι τα επίπεδα της μπορούν ξαφνικά να αυξηθούν εξαιτίας των κλιματικών συνθηκών, της εμφάνισης ανθεκτικών στελεχών μυκήτων, καθώς και ευαίσθητων ποικιλιών κτηνοτροφικών φυτών. Περαιτέρω διερεύνησης χρήζουν επίσης και ορισμένοι παράγοντες που αναγνωρίστηκαν ως καθοριστικοί στην εμφάνιση της AFM1 στο γάλα, όπως οι φυλές των γαλακτοπαραγωγών ζώων καθώς και όλες οι ζωτροφές που χρησιμοποιούνται, συμπεριλαμβανομένου και του κτηνοτροφικού μπιζελιού.

Δεδομένου ότι υπάρχουν αναφορές στη βιβλιογραφία ότι εκτός από την AFM1 εκκρίνεται και η αφλατοξικόλη με το γάλα, θα ήταν χρήσιμο να διερευνηθεί συστηματικά η παρουσία της σε αυτό. Επίσης, συγκεκριμένα για την Ελλάδα, απαραίτητος κρίνεται ο ακριβής προσδιορισμός της έκθεσης σε AFM1 με χρήση βιοδεικτών και διατροφικών δεδομένων.

Αναφορικά με το βιολογικό γάλα, υπάρχει σίγουρα το περιθώριο για περαιτέρω διερεύνηση ώστε να αναγνωριστούν και να τεκμηριωθούν όλοι οι εμπλεκόμενοι παράγοντες με την ασφάλεια και την ποιότητα του συγκεκριμένου προϊόντος.

Προκειμένου να διευκολυνθούν οι έλεγχοι για παρουσία AFM1 στο γάλα σε επίπεδο εκτροφής απαιτείται η ανάπτυξη γρήγορων ποιοτικών τεστ, εύκολων στην εφαρμογή και χαμηλού κόστους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- ***Σύγκριση των χαρακτηριστικών βιολογικών και συμβατικών εκτροφών αιγών και προβάτων στη Θεσσαλία.***

Σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν στα χαρακτηριστικά των συμβατικών και βιολογικών εκτροφών, κάτι που υποδηλώνει ότι η εφαρμογή της νομοθεσίας των βιολογικών (Καν. 834/2007; 889/2008) συμβάλλει στη βελτίωση των κανόνων εκτροφής αλλά και ότι αποδεδειγμένα οι εκτροφείς βιολογικών επιδεικνύουν υψηλότερο ποσοστό αντίληψης των κινδύνων της εκτροφής των ζώων, όπως αναφέρεται και σε άλλες μελέτες (Padel, 2008; Sadati et al., 2010). Οι διαφορές που εντοπίστηκαν σε σχέση με τα χαρακτηριστικά της εκτροφής μπορεί ενδεχομένως να αποτελούν σημαντικό πλεονέκτημα για το βιολογικό γάλα σε σχέση με το συμβατικό. Οι διαφορές που εντοπίστηκαν στη χημική σύσταση μεταξύ βιολογικού και συμβατικού γάλακτος, συσχετίζονται περισσότερο με τη διατροφή και την τοποθεσία της εκτροφής, παρά με τη βιολογικότητα της εκτροφής, όπως αναφέρεται και σε άλλες μελέτες (Toledo et al., 2002).

- ***Εκτίμηση των ποσοστών AFM1 σε αίγαιο και πρόβειο γάλα στην περιοχή της Θεσσαλίας.***

Αφλατοξίνη M1 πάνω από τα επιτρεπτά όρια βρέθηκε σε ποσοστό 1,7% των δειγμάτων αίγειου και πρόβειου γάλακτος που ελέγχθηκαν, ποσοστό που είναι σε συμφωνία με τα ευρωπαϊκά και εθνικά δεδομένα (EFSA, 2010; Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2012b). Στην πλειοψηφία τους τα δείγματα που αναλύθηκαν (81,6%) δεν βρέθηκαν να είναι μολυσμένα με AFM1, κάτι που καταδεικνύει ότι οι συμμετέχουσες εκτροφές εφαρμόζαν ασφαλή συστήματα εκτροφής και χρησιμοποιούσαν ασφαλείς τροφές. Παρόλα αυτά AFM1 βρέθηκε στο 18,4% των δειγμάτων γάλακτος, ποσοστό που θεωρείται κρίσιμο για την ανάλυση επικινδυνότητας της AFM1, καθώς οι τάσεις μόλυνσης ή υπέρβασης του ανώτατου επιτρεπόμενου ορίου μπορούν να αναγνωριστούν έγκαιρα και μπορούν να λειτουργήσουν προειδοποιητικά για τους παραγωγούς αλλά και τις βιομηχανίες που επεξεργάζονται το γάλα.

- ***Εκτίμηση των ποσοστών AFM1 σε βιολογικό και συμβατικό αίγαιο και πρόβειο γάλα στη περιοχή της Θεσσαλίας***

Η παρούσα μελέτη κατέδειξε ότι το βιολογικό γάλα δεν είναι λιγότερο μολυσμένο με AFM1, όπως μερικοί ερευνητές υποστηρίζουν (Vallone et al., 2006). Αντ' αυτού έδειξε ότι είναι πιθανό το βιολογικό γάλα να είναι περισσότερο μολυσμένο με AFM1 σε σύγκριση με το συμβατικό (χωρίς να είναι στατιστικά σημαντικό), όπως υποστηρίζεται και από άλλες μελέτες (Ghidini et al., 2005).

- ***Διερεύνηση των εμπλεκόμενων παραγόντων επικινδυνότητας για την παρουσία AFM1 σε βιολογικό και συμβατικό αίγαιο και πρόβειο γάλα στη περιοχή της Θεσσαλίας***

Οι ανεξάρτητοι παράγοντες επικινδυνότητας για την παρουσία AFM1 που διαπιστώθηκαν ήταν οι αποθηκευτικές πρακτικές, το είδος της διατροφής και η εποχή, όπως και άλλες μελέτες αναφέρουν (Prandini et al., 2009a; Kensler et al., 2011). Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης, συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι οι αποθήκες, ο χειμώνας και η χρήση κτηνοτροφικού μπιζελιού λειτουργούν επιβαρυντικά στην παρουσία AFM1 στο γάλα. Οι παράγοντες αυτοί θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη όταν αξιολογείται η επικινδυνότητα εμφάνισης AFM1 στο γάλα.

- ***Σύγκριση της μεθόδου διαλογής (screening) με τη μέθοδο αναφοράς (HPLC-FLD) για τον προσδιορισμό της AFM1 σε γάλα πρόβειο και αίγαιο***

Η συγκριτική αξιολόγηση της ELISA με την HPLC-FLD για τον προσδιορισμό της AFM1 έδειξε ότι η ELISA παρουσιάζει σημαντική υπερεκτίμηση των επιπέδων AFM1, ενώ διαπιστώθηκε άριστη συμφωνία των αποτελεσμάτων μόνο στο επίπεδο του ανώτατου επιτρεπόμενου ορίου της AFM1 στο γάλα, διαπιστώσεις που είναι σε συμφωνία με άλλες μελέτες (Rosi et al., 2007; Rubio et al., 2009; Kim et al., 2000; Markaki and Melissari; 1997, Rodriguez et al., 2003).

- ***Έμμεση εκτίμηση των επιπτώσεων στη Δημόσια Υγεία με βάση τα διαπιστωμένα επίπεδα παρουσίας AFM1 σε βιολογικό και συμβατικό αίγαιο και πρόβειο γάλα στη περιοχή της Θεσσαλίας***

Τα επίπεδα AFM1 στο γάλα που ελέγχθηκε δεν υπερβαίνουν τα εκτιμώμενα ευρωπαϊκά (Creppy, 2002), με τα επίπεδα στο βιολογικό γάλα να διαφέρουν κατά πολύ από αυτά των συμβατικών. Ελλείπει όμως διατροφικών δεδομένων για την κατανάλωση γάλακτος και συγκεκριμένα βιολογικού γάλακτος, δεν μπορεί με ακρίβεια να προσδιοριστεί η έκθεση και να υπολογιστεί η επίπτωση στην υγεία.

- ***Εκτίμηση των συγκριτικών πλεονεκτημάτων ή μειονεκτημάτων για τον καταναλωτή από την κατανάλωση βιολογικού γάλακτος***

Η γενικευμένη εντύπωση που πολλές φορές καλλιεργείται, ότι τα βιολογικά τρόφιμα έχουν σαφή πλεονεκτήματα και είναι πιο ασφαλή από τα συμβατικά (Williams, 2002), δεν τεκμηριώνεται αναφορικά με την παρουσία της AFM1. Αντίθετα, ενισχύεται η άποψη ότι δεν υπάρχουν διαφορές σε θέματα ασφάλειας μεταξύ βιολογικών και συμβατικών (Yiridoe et al.; 2005; Dangour et al., 2009; Rosen, 2010; Forman and Silverstein, 2012). Παρόλα αυτά στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε πως ορισμένα χαρακτηριστικά στις βιολογικές εκτροφές ήταν σαφώς καλύτερα σε σχέση με τις συμβατικές, γεγονός που ενδεχομένως να δίνει ένα συγκριτικό πλεονέκτημα στο βιολογικό γάλα. Δεδομένου όμως, ότι η έννοια της ασφάλειας τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων και των βιολογικών, είναι πολυπαραγοντική, θα πρέπει αφενός να συνεχιστεί η διερεύνηση ώστε να τεκμηριωθούν όλες οι εμπλεκόμενες με την ασφάλεια και ποιότητά του, παράμετροι, αφετέρου ο καταναλωτής να γνωρίζει για ποιους λόγους καταναλώνει βιολογικά και ποια είναι τα προσδοκώμενα οφέλη. Σε κάθε περίπτωση, εντατικοί επίσημοι έλεγχοι και αυτοέλεγχοι θα πρέπει να πραγματοποιούνται τόσο στην συμβατική όσο και στη βιολογική παραγωγή, καθώς όλη η νομοθεσία τροφίμων αφορά και τα βιολογικά τρόφιμα και δεν θα πρέπει να αγνοείται με αφορμή τους κανονισμούς της βιολογικής παραγωγής. Η παραγωγή και κατανάλωση ασφαλών τροφίμων απαιτεί

διαρκή ευαισθητοποίηση, τόσο των εκτροφέων, όσο και των καταναλωτών, προκειμένου να διασφαλίζεται η Δημόσια Υγεία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Διεθνής Βιβλιογραφία

Abdulrazzaq Y. M., Osman N. and Ibrahim A. (2002) Fetal exposure to aflatoxins in the United Arab Emirates. *Ann Trop Paediatr.* 22(1),3-9

Abdulrazzaq Y., M., Osman N., Yousif Z., M. and Trad O. (2004) Morbidity in neonates of mothers who have ingested aflatoxins. *Ann Trop Paediatr.* 24(2),145-151

Agag, B. I. (2004) Mycotoxins in food and feeds-Aflatoxins. *Ass. Univ. Bull. Environ. Res.* 7(1), 173-206

Al-Wabel, N. A. (2008) Mineral contents of milk of cattle, camels, goats and sheep in the central region of Saudi Arabia. *Asian J Biochem.* 3(6), 373-375

Aman, I. (1992) Reduction of Aflatoxin M1 in Milk Using Hydrogen Peroxide and Hydrogen peroxide Plus Heat Treatment. *J Vet Med B.* 39, 692-694

Applebaum, R. S., Brackett, R. E., Wiseman, D. W. and Marth, E. H. (1982) Responses of dairy cows to dietary Aflatoxin: feed intake and yield, toxin content and quality of milk of cows treated with pure and impure aflatoxin. *J Dairy Sci.* 65(8), 1503-1508

Aycicek, H., Aksoy, A. and Saygi, S. (2005) Determination of aflatoxin levels in some dairy and food products which consumed in Ankara, Turkey *Food Control* 16, 263-266

Aydemir-Atasever, M., Atasever, M. and Ozturan, K. (2011) Aflatoxin M1 levels in retail yoghurt and ayran in Erzurum in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci.* 35(1), 59-62

Ayoub, M. M., Sobeih, A. M. K., and Raslan, A. (2011) Evaluation of aflatoxin M1 in raw, processed milk and some milk products in Cairo with special reference to its recovery. *Researcher* 3(8), 56-61

Azziz-Baumgartner, E., Lindblade, K., Gieseke, K., Rogers, H. S., Kieszak, S., Njapau, H. et al. (2005). Case-control study of an acute aflatoxicosis outbreak, Kenya, 2004. *Envir Health Perspectives* 113(12), 1779-1783

Bailey, G. S., Price, R. L., Park, D. L. and Hendricks, J. D. (1994).Effect of ammoniation of aflatoxinB1-contaminated cottonseed feedstock on the Aflatoxin M1 content of cows' milk and hepatocarcinogenicity in the trout bioassay. *Food Chem Toxicol.* 32(8), 707-715

Bailey, E. A., Iyer, R. S., Stone, M. P., Harris, T. M. and Essigmann, J. M. (1996) Mutational properties of the primary aflatoxin B1-DNA adduct. *Proc Natl Acad Sci.* 93, 1535-1539

Bakirci, I. (2001) A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control* 12, 47-51

Banati, D. (2011) Consumer response to food scandals and scares. *Trends Food Sci Tech.* 22, 56-60

- Barlowska, J., Sz wajkowska, M., Litwinczuk, Z. and Krol, J.** (2011) Nutritional Value and Technological Suitability of Milk from Various Animal Species Used for Dairy Production. *Compr Rev Food Sci F.* 10, 291-302
- Battacone, G., Nudda, A., Cannas, A., Cappio Borlino, A. C., Bomboi, G. and Pulina, G.** (2003) Excretion of aflatoxin M1 in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin B1. *J. Dairy Sci.* 86, 2667-2675
- Bawa, S.** (2003) An update on the beneficial roles of conjugated linoleic acid (CLA) in modulating human health: mechanism of action- a review. *Pol J Food Nutr Sci.* 12/53(3),3-13
- Benbrook, C. M.** (2005) Breaking the mold—impacts of organic and conventional farming systems on mycotoxins in food and livestock feed. An Organic Centre of Science Review. Ημερομηνία ανάκτησης: 29/4/2011 http://www.organic-center.org/science.safety.php?action=view&report_id=2
- Benedsgaard, T. W., Thamsborg, S. M., Vaarst, M. and Enevoldsen, C.** (2003) Eleven years of organic dairy production in Denmark: herd health and production related to time of conversion and compared to conventional production. *Livestock Prod Sci.* 80, 121-131
- Bennet, J. W. and Klich, M.** (2003) Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev.* 16(3), 497–516
- Bergamo, P., Fedele, E., Iannibeli, L. and Marzillo, G.** (2003) Fat-soluble vitamins contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. *Food Chem.* 82, 625-631
- Bertin, G, Jouany, J.P. and Yiannikouris, A.** (2009) Risk assessment of mycotoxins in ruminants and ruminant products. In Nutritional and foraging ecology of sheep and goats CIHEAM / FAO / NAGREF, Zaragoza, *Options Mediterran A* 85, 205-224
- Blount, W.P.** (1961) Turkey “X” disease. *Turkeys Fed.* 9, 55-58
- Bognanno, M., la Fauci, L., Ritieni, A., Tafuri, A., de Lorenzo, A., Micari, P. et al.** (2006) Survey of the occurrence of Aflatoxin M1 in ovine milk by HPLC and its confirmation by MS. *Mol. Nutr. Food Res.* 50, 300-305
- Bravo, C. P., Cordts, A., Schulze, B. and Spiller, A.** (2013) Assessing determinants of organic food consumption using data from the German National Nutrition Survey II. *Food Qual Prefer.* 28, 60-70
- Butler ,G., Stergiadis ,S., Seal ,C., Eyre ,M. and Leifert, C.** (2011) Fat composition of organic and conventional retail milk in northeast England. *J. Dairy Sci.* 94,24–36
- Butler, G., Stergiadis, S., Eyre, M., Leifert, C., Borsari, A., Canever, A. et al** (2009) Effect of production system and geographic location on milk quality parameters. Proceedings of the 3rd international conference on the European Integrated Project Quality Low Input Food, 100-103. Ημερομηνία ανάκτησης: 3/8/2012 <http://orgprints.org/10417/2/leifert-et-al-proceedings-qlif.pdf>
- Caloni, F., Stamatii, A, Frigge, G. and De Angelis, I.** (2006) Aflatoxin M1 absorption and cytotoxicity on human intestinal in vitro model. *Toxicon.* 47, 409–415

- Caloni, F., Cortinovis, C., Pizzo, F. and DeAngelis, I.** (2012) Transport of Aflatoxin M1 in human intestinal Caco-2/TC7 cells. *Frontiers in pharmacology* 3(111), 1-8
- Cano-Sancho, G., Marin, S., Ramos, J. A., Peris-Vicente, J. and Sanchis, V.** (2010) Occurrence of aflatoxin M1 and exposure assessment in Catalonia (Spain). *Rev Iberoam Micol.* 27(3), 130–135
- Carvajal, M., Rojo, F., Mendez, I. and Bolanos, A.** (2003) Aflatoxin B1 and its interconverting metabolite aflatoxicol in milk: the situation in Mexico. *Food Addit Contam.* 20(11), 1077-1086
- CAST** (2003) Mycotoxins; Risks in plant, animal, and human systems. Task force report 139, Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa, USA, 13-157. Ημερομηνία ανάκτησης: 27/9/11 http://www.cast-science.org/publications/?mycotoxins_risks_in_plant_animal_and_human_system_s&show=product&productID=2905
- CDC** (2004) Outbreak of Aflatoxin Poisoning-Eastern and Central Provinces of Kenya. Centre of Disease Control. Ημερομηνία ανάκτησης: 03/7/2010 <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5334a4.htm>
- Celik, T. H., Sarimehmetoglu, B. and Kuplulu, O.** (2005) Aflatoxin M1 contamination in pasteurised milk. *Veterinarski arhiv.* 75(1), 57-65
- Charatsari, C. and Tzimitra-Kalogianni, I.** (2007) Insight into Consumers' Willingness to expend extra Time and Money to purchase Organic Vegetables. *New Medit N.* 1, 22-27
- Chin, S. F., Liu, W., Storkson, J. M, Ha, Y. L and Pariza, M. W.** (1992) Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *Food Compos Anal.* 5, 185–197
- Chinnici, G., D' Amico, M., Pecorino, B.** (2002) A Multivariate Statistical Analysis on the Consumers of Organic Products. *Brit Food J.* 104(3/4/5), 187-199
- Cigic, I. K. and Prosen, H.** (2009) An Overview of conventional and emerging analytical methods for the determination of mycotoxins. *Int J Mol Sci.* 10, 62-115
- Coffey, R., Cummins, E. and Ward, S** (2009) Exposure assessment of mycotoxins in dairy milk. *Food Control* 20, 239–249
- Collomb, M, Bisig, W, Butikofer, U, Sieber, R., Bregy, M and Etter, L.** (2008) Fatty acid composition of mountain milk from Switzerland: Comparison of organic and integrated farming systems. *Int Dairy J* 18, 976–982
- Coonan, C., Freestone-Smith, C., Allen, J. and Wilde, D.** (2002) Determination of the major mineral and trace element balance of dairy cows in organic production systems. Proceeding of Organic Meat and Milk from Ruminants, Athens, October 4–6, 2002, EAAP Publication, vol. 106, 181–183. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/6/2011 <http://www.eaap.org/docs/Publications/eaap106%20-%207249456W.pdf>
- Coorevits, A., De Jonghec, V. Vandroemmed, J., Reekmansa, R., Heyrmana, J., Messensc, W. et al.** (2008) Comparative analysis of the diversity of aerobic spore-forming bacteria in raw milk from organic and conventional dairy farms. *Syst Appl Microbiol.* 31, 126-140

- Corpet, D. E.** (2000) Model Systems of Human Intestinal Flora, to Set Acceptable Daily Intakes of Antimicrobial Residues. *Microb Ecol Health D.* 12(S1), 37-41
- Cotty, P. J. and Cardwell, K. F.** (1999) Divergence of West African and North American communities of *Aspergillus* section *flavi*. *Appl Environ Microb.* 65(5), 2264-2266
- Creppy, E. E.** (2002) Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Lett.* 127, 19-28
- Crowther, J. R.** (2009) The ELISA guidebook: 2nd Edition, *Houmana press, Springer*, N.Y., USA, 1-574
- Cullen, J. M., Reubner, B. H., Hsieh, L. S., Hyde, D. M. and Hsieh, D. S. P.** (1987) Carcinogenicity of dietary aflatoxin M1 in male Fisher rats compare to aflatoxin B1. *Cancer Res.* 47, 1913-1917
- Culleton, N. and Fox, R.** (2002) Preliminary Report on Organic Dairy Farming. *Organic Dairy Farming* 18-29. Ημερομηνία ανάκτησης: 24/10/2010 http://www.fertilizer-assoc.ie/publications/3._Organic_Dairy_Farming_N_Culleton.pdf
- D'Mello, J. P. F. and McDonald, A. M. C.** (1997) Mycotoxins. *Anim Feed Sci Tech.* 69, 155-166
- Dangour, A. D., Dodhia, S.K., Hayter, A., Allen, E., Lock, K. and Uauy, R.** (2009) Nutritional quality of organic foods: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 90, 680-685
- DEFRA** (2008) The Contribution That Organic Farming Makes in Supplying Public Goods. Department for Environment, Food and Rural Affairs. Ημερομηνία ανάκτησης: 28/4/11 <http://www.sustainweb.org/pdf2/org-245.pdf>
- Deveci, O. and Sezgin, E.** (2005) Aflatoxin M1 Levels of Skim Milk Powders Produced in Turkey. *J Food Drug Anal.* 13(2), 139-142
- Dewhurst, R. J., Fisher, W. J., Tweed, J. K. S. and Wilkins, R. J.** (2003) Comparison of grass and legume silages for milk production. 1 Production responses with different levels of concentrate. *J of Dairy Sci.* 86, 2598-2611
- Diaz, G. J. and Espitia, E.** (2006) Occurrence of aflatoxin M1 in retail milk samples from Bogota, Colombia. *Food Addit Contam.* 23(8), 811-815
- Dragacci, S., Gleizes, E., Fremi, J. M. and Candlish, A. A.** (1995) Use of immunoaffinity chromatography as a purification step for the determination of aflatoxin M1 in cheeses. *Food Addit Contam.* 12(1), 59-65
- Eaton, D. L. and Gallagher, E. P.** (1994). Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 34, 135-172
- EC** (2010) An analysis of the EU organic sector European Commission, Agriculture and Rural Development, Belgium. Ημερομηνία ανάκτησης: 4/4/2011 http://ec.europa.eu/agriculture/analysis/markets/organic_2010_en.pdf
- EC** (2012) Commission staff working document on the implementation of national residue monitoring plans in the member states in 2010 European Commission, Belgium. Ημερομηνία ανάκτησης: 24/3/2012 http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/docs/workdoc_2010_en.pdf

EC (2013) Organic. European Commission. Ημερομηνία ανάκτησης: 13/1/2013
http://ec.europa.eu/agriculture/organic/eu-policy/logo_el

EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed The European Food Safety Authority Journal 39,1-27

EFSA (2009) Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety. European Food Safety Authority, Italy. Ημερομηνία ανάκτησης: 4/10/2010
<http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/22e.htm>

EFSA (2010) Report for 2010 on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animal products. European Food Safety Authority, Italy. Ημερομηνία ανάκτησης 23/11/2012 <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/212e.htm>

EFSA (2012) Modelling, predicting and mapping the emergence of aflatoxins in cereals in the EU due to climate change. Scientific Report submitted to the European Food Safety Authority, 1-172. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/11/2012
<http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/223e.htm>

El-Kady, I. A., El-Maraghy, M. S. S. and Zohri, A. A. (1996) Aflatoxin formation and varietal difference of cow pea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) and garden pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Mycopathologia* 133(3), 185-188

Ellis, K. A., Innocent, G., Grove-White, D., Cripps, P., McLean, W. G., Howard, C.V. and Mihm, M. (2006) Comparing the Fatty Acid Composition of Organic and Conventional Milk. *J. Dairy Sci.* 89, 1938-1950

Ellis, K. A., Innocent, G. T., Mihm, M., Cripps, P. McLean G., Howard, C. V. and Grove-White, D. (2007) Dairy cow cleanliness and milk quality on organic and conventional farms in the UK. *J Dairy Res.* 74, 302-310

Eltun, R. (1996) The Apelsvoll cropping system experiment. III. Yield and grain quality of cereals. *J Agr Sci.* 10(1), 7-22

Eurostat (2011) Food from farm to fork statistics. European Commission, Belgium. Ημερομηνία ανάκτησης 24/6/2011
http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY_OFFPUB/KS-32-11-743/EN/KS-32-11-743-EN.PDF

Eurostat (2012) Certified organic livestock. European Commission, Belgium. Ημερομηνία ανάκτησης: 10/9/2012
<http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/submitViewTableAction.do>

Ewaidah, E. H. (1989) Aflatoxin M in Milk: A review. *J. King Saud Univ.* 1, 37-55

Falguera, V., Aliguer, N. and Falguera, M. (2012) An integrated approach to current trends in food consumption: Moving toward functional and organic products? *Food Control* 26, 274-281

FAO (1999) Risk analysis of mycotoxins. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Switzerland. Ημερομηνία ανάκτησης 30/8/2009
<http://www.fao.org/docrep/X2100T/X2100T04.HTM>

FAO (2000) Food safety and quality as affected by organic farming. Twenty second FAO Regional conference for Europe, Porto, Portugal, 24-28 Agenda Item

10.1. Ημερομηνία ανάκτησης: 13/3/2011
<http://www.fao.org/docrep/meeting/X4983e.htm>

FAO (2001) Organically produced foods. Codex Alimentarius Commission. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/9/2012

<http://www.fao.org/docrep/005/Y2772E/Y2772E00.HTM>

FAO (2002) Evaluation of certain mycotoxins in food. Technical Report Series 906, Food Agriculture Organization, WHO, Geneva. Ημερομηνία ανάκτησης 28/9/2009
http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_906.pdf

FAO (2013) Mycotoxins. Food Agriculture Organization, WHO, Geneva. Ημερομηνία ανάκτησης: 2/2/2013 <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/a-z-index/mycotoxins/en/>

Fink-Gremmels, J. (2008) Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: A review. *Food Addit Contam A*. 25(2), 172-180

Forman, J and Silverstein, J. (2012) Organic Foods: Health and Environmental Advantages and Disadvantages. *Pediatrics* 130, 1406-1416

FSA (2009) Comparison of composition (nutrients and other substances) of organically and conventionally produced foodstuffs: a systematic review of the available literature. Report for the Food Standards Agency, Nutrition and Public Health Intervention Research Unit, London School of Hygiene & Tropical Medicine. Ημερομηνία ανάκτησης 23/4/2011
<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/organicreviewappendices.pdf>

FSA (2001) Survey of milk for mycotoxins. 17/01. Food Standards Agency, UK. Ημερομηνία ανάκτησης 29/9/2009

http://www.food.gov.uk/science/research/surveillance/fsis2001/milk-mycos#.UTO25aKe_QA

Gabryszuk, M, Sloniewski, K and Sakowski, T. (2008) Macro-and microelements in milk and hair of cows from conventional vs. organic farms. *Anim Sci Pap Rep*. 26(3), 199-209

Galtier, P., Meissonnier, G., Laffitte, J., Oswald, I. P. and Loiseau, N. (2008) Molecular interactions between mycotoxins and liver enzymes involved in drug metabolism in rodents and farm animals. *Krmiva* 50(4), 205-213

Galvano, F., Galofaro, V. and Galvano, G. (1996) Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products: a worldwide review. *J Food Prot*. 59, 1079-1090

Galvano, F., Ritieni, A., De Lorenzo, A., Piva, G. and Pietri, A. (2006) Mycotoxins in the human food chain: what risks for the consumer. International Business Community Related to Animal Production. Ημερομηνία ανάκτησης: 29/10/2011 <http://en.engormix.com/MA-mycotoxins/articles/mycotoxins-human-food-chain-t291/253-p0.htm>

Galvano, F., Pietri, A., Bertuzzi, T., Gagliardi L., Ciotti, S., Luisi S. et al. (2008) Maternal dietary habits and mycotoxin occurrence in human mature milk. *Mol Nutr Food Res*. 52(4), 496-501

Garcia, D, Ramos, A. J., Sanchis, V., Marin, S. (2009) Predicting mycotoxins in foods: A review. *Food Microbiol*. 26, 757-769

- Gavino, V. C. , Gavino, G., Leblanc, M-J. and Tuchweber, B.** (2000) An isomeric mixture of conjugated linoleic acids but not pure cis-9,trans-11-octadecadienoic acid affects body weight gain and plasma lipids in hamsters. *J Nutr.* 130, 27–29
- Ghazani, M. H.** (2009) Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Tabriz (northwest of Iran). *Food Chem Toxicol.* 47, 1624-1625
- Ghidini, S., Zanardi, E., Battaglia, A., Varisco, G., Ferretti, E., Campanini, G. and Chizzolini, R.** (2005) Comparison of contaminant and residue levels in organic and conventional milk and meat products from Northern Italy. *Food Addit Contam.* 22:1, 9-14
- Gilbert, J. and Anklam, E.** (2002) Validation of analytical methods for determining mycotoxins in foodstuffs. *Trend Anal Chem.* 21(6+7), 468-486
- Gorelick, J. N.** (1990) Risk Assessment for Aflatoxin: I. Metabolism of Aflatoxin B₁, by Different Species. *Risk Anal.* 10(4), 539-559
- Goryacheva, I., Rusanova, T., Burmistrova, N. A. and De Saeger, S.** (2009) Immunochemical Methods for the Determination of Mycotoxins. *J Anal Chem.* 64(8), 768-785
- Govaris, A., Roussi, V., Koidis, P. A. and Botsoglou, N. A.** (2002) Distribution and stability of aflatoxin M1 during production and storage of yoghurt. *Food Addit Contam A* 19(11), 1043-1050
- Gratz, S., Wu, Q. K., El-Nezami, H., Juvonen, R. O., Mykkanen, H. and Turner, P. C.** (2007) *Lactobacillus rhamnosus* Strain GG Reduces Aflatoxin B₁ Transport, Metabolism, and Toxicity in Caco-2 Cells. *Appl Environ Microbiol.* 73(12), 3958–3964
- Groopman, J. D., Donahue, P. R., Zhu, J., Chen, J. and Wogan, G. N.** (1985) Aflatoxin metabolism in human: Detection of metabolites and nucleic acid adduct in urine by affinity chromatography. *Proc Natl Acad Sci.* 82, 6492-6496
- Groopman, J. D., Kensler, T. W. and Wild, C. P.** (2009) Protective interventions to prevent aflatoxin-induced carcinogenesis developing countries. *Annu Rev Public Health.* 29, 187-203
- Hajslova, J., Zachariasova, M. and Cajka, T.** (2011) Analysis of multiple mycotoxins in food. Mass Spectrometry in Food Safety: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, *Springer Science +Business Media* 747(10), 233-258
- Hardeng, F. and Edge, V. L.** (2001) Mastitis, ketosis and milk fever in 31 organic and 93 conventional Norwegian dairy herds. *J Dairy Sci.* 84, 2673-2679
- Haskell, M. J., Langford, F. M, Jack, M. C., Sherwood, L., Lawrence, A. B., and Rutherford, K. M. D.** (2009) The effect of organic status and management practices on somatic cell counts on UK dairy farms. *J Dairy Sci.* 92, 3775–3780
- Heinonen, J. T., Fisher, R., Brendel, K. and Eaton, D. L.** (1996) Determination of aflatoxin B₁ biotransformation and binding to hepatic macromolecules in human precision liver slices. *Toxicol Appl Pharmacol.* 136, 1–7
- Hellastat** (2009) Ανάλυση αγοράς-βιολογικά προϊόντα. Ημερομηνία ανάκτησης 13/5/2012 www.hellastat.eu

Henry, S.H., Whitaker, T., Rabbani, I., Bowers, J., Park, D., Price, W. et al. (2001) Aflatoxin M1. Ημερομηνία ανάκτησης 24/6/2009
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je02.htm>

Hussain, I., Anwar, J., Munawar, M. A. and Asi, M. R. (2008) Variation of levels of aflatoxin M1 in raw milk from different localities in the central areas of Punjab, Pakistan. *Food Control* 19, 1126-1129

Hussain, I., Anwar, J., Asi, M. R., Munawar, M. A. and Kashif, M. (2010) Aflatoxin M1 contamination in milk from five dairy species in Pakistan. *Food Control* 21, 122-124

Hussein, H. S. and Brasel, J. M. (2001) Toxicity, Metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology* 167, 101-134

IARC (1993) Toxins derived from *Fusarium moniliforme*: fumosins B1 and B2 and fusarin C. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogen Risks to Humans. International Agency for Research on Cancer, IARC/WHO, Lyon, 56,

IARC (2002) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. International Agency for Research on Cancer, IARC/WHO, Lyon, 82, 171-275

Ibeh I. N., Uraih N. and Ogonar J. I. (1994). Dietary exposure to aflatoxin in human male infertility in Benin City, Nigeria. *Int J Fertil Menopausal Stud.* 39(4),208-214

ISO (2003) ISO 14675:2003 (IDF 186: 2003) Milk and milk products-Guidelines for a standardized description of competitive enzyme immunoassays Determination of aflatoxin M1 content. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2007) ISO 14501:2007Milk and milk powder-Determination of aflatoxin M1 content-Clean-up by immunoaffinity chromatography and determination by high-performance liquid chromatography. International Organization for Standardization, Geneva

Jahreis, G., Fritsche, J. and Steinhart, H. (1997) Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depending on production system. *Nutr Research* 17(9), 1479-1484

Jay, J.M. (2000) Modern Food Microbiology, 6th Edition, Aspen Publishers, Maryland, USA. 595-606

JEFCA (2001) Joint FAO/WHO Expert Committee On Food Additives, Fifty-sixth meeting, Geneva, 6-15 February 2001, Summary and Conclusions. Ημερομηνία ανάκτησης: 27/6/2009
http://www.who.int/foodsafety/chem/jecfa/summaries/en/summary_56.pdf

Justin, P. and Jyoti, R. (2012) Consumer behavior and purchase intention for organic food. *J Consum Mark.* 29(6), 412-422

Jouany, J. P. (2007) Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Anim Feed Sci Tech.* 137, 342-362

Kabak, B. and Var, I. (2008) Factors affecting the removal of aflatoxin M1 from food model by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *J Environ Sci Health B* 43(7), 617-624

- Kamkar, A.** (2005) A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food Control* 16, 593–599
- Kamkar, A.** (2006) A study on the occurrence of aflatoxin M1 in Iranian Feta cheese. *Food Control* 17, 768-775
- Kaniou-Grigoriadou, I., Eleftheriadou, A., Mouratidou, T. and Katikou, P.** (2005) Determination of aflatoxin M1 in ewe's milk samples and the produced curd and Feta cheese. *Food Control* 16, 257-261
- Karimi, G., Hassanzadeh, M., Teimuri, M. Nazari and F. Nili, A.** (2007) Aflatoxin M1 Contamination in Pasteurized Milk in Mashhad, Iran. *Iranian J Pharm Sci.* 3(3), 153-156
- Kav, K., Col, R., Tekinsen, K. K.** (2011) Detection of aflatoxin M1 levels by ELISA in white-brined Urfa cheese consumed in Turkey *Food Control* 22(12), 1883-1886
- Kensler, T. W., Roebuck, B. D., Wogan, G. N. and Groopman, J. D.** (2011) Aflatoxin: A 50-year Odyssey of mechanistic and translational toxicology *Toxicol Sci.* 120(S1), 28-48
- Khaniki, J. G. H. R.** (2007) Chemical Contaminants in milk and public health concerns: A review. *Int J Dairy Sci* 2(2), 104-115
- Khoshpey, B., Farhud, D.D. and Zaini, F.** (2011) Aflatoxins in Iran: Nature, Hazards and Carcinogenicity. *Iranian J Publ Health* 40(4),1-30
- Kim, E. K., Shon, D. H., Ryu, D., Park, J. W., Hwang, H. J. and Kim, Y. B.** (2000) Occurrence of aflatoxin M1 in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. *Food Addit Contam.* 17(1), 59-64
- Kouba, M.**(2003) Quality of organic animal products. *Livest Prod Sci.* 80,33–40
- Kourousekos, G. D., Theodosiadou, E., Belibasaki, S, Deligiannis, K., Koukoulas, T., Zoulfos, K. and Lymberopoulos, A. G** (2012) Effects of aflatoxin B1 administration on Greek indigenous goats' milk. *Inter Dairy J.* 24, 123-129
- Krystallis, A., Fotopoulos, C. and Zotos, Y.** (2006) Organic consumers' profile and their willingness to pay (WTP) for selected organic food products in Greece. *J Int Consum Mark.* 19(1), 81-106
- Kuiper-Goodman, T.** (1991) Risk assessment to humans of mycotoxins in animal-derived food products. *Vet Hum Toxicol.* 33(4), 325-333
- Kumagai, S.** (1989) Intestinal absorption and excretion of aflatoxin in rats. *Toxicol Appl Pharm.* 97, 88-97
- Lairon, D.** (2010) Nutritional quality and safety of organic food. A review. *Agron Sustain Dev* 30(1), 33-41
- Lancaster, M. C., Jenkins, F. P. and Philip, J. M.** (1961) Toxicity associated with certain samples of groundnuts. *Nature* 192, 1095-1096
- Lara-Villoslada, F., Olivares, M. and Xaus, J.** (2005).The Balance Between Caseins and Whey Proteins in Cow's Milk Determines its Allergenicity. *J Dairy Sci.* 88, 1654–1660

- Leblanc, J. C., Tard, A., Volatier, J. L. and Verger, P.** (2005) Estimated dietary exposure to principal food mycotoxins from the first French Total Diet Study. *Food Addit Contam.* 22(7),652-672
- Leifert, C, Rembialkowska, E., Nielson, J. H., Cooper, J. M., Butler, G., Lueck, L.** (2007) Effects of organic and 'low input' production methods on food quality and safety. 3rd QLIF Congress, Hohenheim, Germany. Ημερομηνία ανάκτησης: 22/11/2010 http://orgprints.org/view/projects/int_conf_qlif2007.html
- Li, P., Zhang, Q. and Zhang, W.** (2009) Immunoassays for Aflatoxins. *Trend Anal Chem.* 28(9), 1115-1126
- Liu, Z., Kanter, C. A., Messer, K. D. and Kaiser, H. M.** (2013) Identifying significant characteristics of organic milk consumers: a CART analysis of an artefactual field experiment. *Appl Econ* 45(21), 3110-3121
- Logrieco, A., Bottalico, A., Mule, G., Moretti, A. and Perrone, G.** (2003) Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *Eur J Plant Pathol.* 109, 645-667
- Lund P.** (1991) Characterization of alternatively produced milk. *Milchwissenschaft* 46(3), 166-169
- Luukkonen, J, Kemppinen, A, Karki, M, Laitinen, H, Maki, M, Sivela, S. et al.** (2005) The effect of a protective culture and exclusion of nitrate on the survival of enterohemorrhagic E. coli and Listeria in Edam cheese made from Finnish organic milk. *Int Dairy J.* 15(5), 449-457
- Mader, P., Hahn, D., Dubois, D, Gunst, L., Alfoldi, T, Bergmann, H. et al.** (2007) Wheat quality in organic and conventional farming: results of a 21 year field experiment. *J SciFood Agri.* 87,1826-1835
- Magan, N. and Aldred, D.** (2007) Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. *Inte J Food Microbiol.* 119, 131-139
- Magan, N., Medina, A. and Aldred, D.** (2011) Possible climate-change effects on mycotoxin contamination of food crops pre-and postharvest. *Plant Pathol.* 60, 150-163
- Magkos, F., Arvaniti, F. and Zampelas, A.** (2003) Organic food: nutritious food or food for thought? A review of the evidence. *Int J Food Sci Nutr.* 54 (5), 357-371
- Magnusson, M. K., Avrola, A., Hursti Koivisto, U. K., Aberg, L. and Sjoden, P.-O.** (2003) Choice of organic foods is related to perceived consequences for human health and to environmentally friendly behaviour. *Appetite* 40, 109-117
- Maragos, C. M. and Busman, M.** (2010) Rapid and advanced tools for mycotoxin analysis: a review. *Food Addit Contam A* 27(5), 688-700
- Maresca, M. and Fantini, J.** (2010) Some food-associated mycotoxins as a potential risk factors in human predisposed to chronic intestinal inflammatory diseases. *Toxicon.* 56, 282-294
- Markaki, P. and Melissari, E.** (1997) Occurrence of aflatoxin M1 in commercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC. *Food Addit Contam.* 14(5), 451-456

- Martins, H. M., Mendes Guerra, M. M. and d' Almeida Bernardo, F.M.** (2007) Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow's feed over 10 years in Portugal (1995-2004). *Rev Iberoam Micol.* 24, 69-71
- Martins, M. L. and Martins, H. M.** (2000) Aflatoxin M1 in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized in Portugal. *Food Addit Contam.* 17(10), 871-874
- Marx, H, Gedek, B and Kollarczik, B.** (1995) Comparative investigations of mycotoxological status of alternatively and conventionally grown crops. *Lebensm Unters Forsch.* 201(1), 83-86
- Masoero, F., Gallo, A., Moschini, M., Piva, G and Diaz, D.** (2007) Carryover of Aflatoxin from feed to milk in dairy cows with low or high somatic cell counts. *Animal* 1(9), 1344-1350
- Matt, D., Rembialkowska, E., Luik, A., Peetsmann, E. and Pehme, S** (2011) Quality of Organic vs. Conventional Food and Effects on Health. Estonian University of Life Sciences. Ημερομηνία ανάκτησης: 4/9/2012 <http://orgprints.org/19504/>
- Menkir, A., Brown, R. L., Bandyopadhyay, R., Chen, Z. and Cleveland, T. E** (2006) A USA-Africa collaborative strategy for identifying, characterizing, and developing maize germplasm with resistance to aflatoxin contamination. *Mycopathologia* 162, 225-232
- Miraglia, M., De Santis, B., Minardi, V. , Debegnach, F. and Brera, C.**(2005) The role of sampling in mycotoxin contamination: A holistic view. *Food Addit Contam A* 22(1), 31-36
- Miraglia, M., Marvin, H. J. P., Kleter, G. A., Battilani, P., Brera, C., Coni, E. et al.** (2009) Climate change and food safety: An emerging issue with special focus on Europe. *Food Chem Toxicol.* 47, 1009-1021
- Mohammadian, B., Khezri, M., Ghasemipour, N., Mafakheri, N., Poorghafour, S. H. and Langroudi, P.** (2010) Aflatoxin M₁ contamination of raw and pasteurized milk produced in Sanandaj, Iran. *Archives of Razi Instit.* 65(2) 99-104
- Montagna, M. T., Napoli, C., De Giglio, O., Iatta, R. and Barbuti, G.** (2008) Occurrence of aflatoxin M₁ in dairy products in Southern Italy. *Int. J Mol Sci.* 9, 2614-2621
- Moss, M. O.** (2002) Risk Assessment for aflatoxins in foodstuffs. *Int Biodete Biodegr.* 50, 137-142
- Muscarella, M., Margo, S. L., Palermo, C. and Centonze, D.** (2007) Validation according to European Commission Decision 2002/657/EC of a confirmatory method for Aflatoxin M1 in milk based on immunoaffinity columns and high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal Chim Acta.* 594, 257-264
- Nauta, W. J., Baars, T. and Bovenhuis, H.** (2006) Converting to organic dairy farming: Consequences for production, somatic cell scores and calving interval of first parity Holstein cows. *Livest Sci.* 99, 185-195

- Navas S. A., Sabino M., Rodriguez-Amaya D. B.** (2005). Aflatoxin M(1) and ochratoxin A in a human milk bank in the city of São Paulo, Brazil. *Food Addit Contam.* 22(5), 457-462
- Neagu, D., Perrino, S., Micheli, L., Palleschi, G. and Moscone, D.** (2009) Aflatoxin M1 determination and stability study in milk samples using a screen-printed 96-well electrochemical microplate. *Int Dairy J.* 19, 753-758
- Neal, G. E., Eaton, D. L., Judah, D. J. and Verma, A.** (1998) Metabolism and Toxicity of Aflatoxins M1 and B1 in Human-Derived in Vitro Systems. *Toxicol Appl Pharm.* 151, 152-158
- Nielsen, J. H., Lund-Nielsen, T. and Skibsted, L.** (2004) Higher antioxidant content in organic milk than in conventional milk due to feeding strategy. Newsletter from Danish Research Centre for Organic Farming, 3. Ημερομηνία ανάκτησης: 19/9/2011 <http://www.darcof.dk/enews/sep04/milk.html>
- Niranjan, B. G., Schaefer, H., Ritter, C. and Avadhani, N. G.** (1986) Protection of Mitochondrial Genetic System against Aflatoxin B1 Binding in Animals resistant to aflatoxicosis. *Cancer Res.* 46,3637-3641
- Nocentini, M., Focardi, C, Ninci, S. and Biancalani, G.** (2009) Comparison between two different approaches in uncertainty estimation for the chromatographic analysis of Aflatoxin M1: From single laboratory validation data and from proficiency test results. *World Mycotoxin Journal* 2(4), 381-390
- Nudda, A., Mereu, A., Fancellu, S. and Cappio-Borlino, A.** (2007) Meta-analysis of nutritional effects on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. *Ital J Anim Sci.* 6(1), 330-332
- Nuryono, N., Agus, A., Wedhastri, S., Maryudani, Y. B., Setyabudi, S. F. M. C., Bohm, J. et al.** (2009) A limited survey of aflatoxin M1 in milk from Indonesia by ELISA. *Food Control* 20. 721-724
- O Brian, G. R., Georgianna, D. R., Wilkinson, J. R., Yu, J., Abbas, H. K., Bhatnagar, D. et al.** (2007) The effect of elevated temperature on gene transcription and aflatoxin biosynthesis. *Mycologia* 99(2), 232-239
- O'Brien, E. and Dietrich, D. R.** (2004) Mycotoxins affecting the Kidney. *Toxicology of Kidney.* CRC Pr., Boca Raton 895-936
- O' Shea, M., Bassaganya-Riera, J., Mohede, I. C. M.** (2004) Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am J Clin Nutr* 79(S),1199-1206
- Oliveira, C. A. and Germano, P. M.** (1996) Evaluation of Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in milk powder contaminated with known concentrations of Aflatoxin M1. *Rev Saude Publ.* 30(6), 542-548
- Oliveira, C. A. F. and Ferraz, J. C. O.** (2007) Occurrence of aflatoxin M1 in pasteurized, UHT milk and milk powder from goat origin. *Food Control* 18, 375-378
- Olivo, C. J., Beck, L. I., Mossate Gabbi, A., Santini Charao, P., Sobczak, M. F., Gomes Uberty, L. F. et al.** (2005) Composition and somatic cell count of milk in conventional and agro-ecological farms: a comparative study in Depressao Central, Rio Grande do Sul state, Brazil. *Livestock Research for Rural Development* 17(6)

- Omaye, S. T.** (2004) Food and Nutritional Toxicology. CRC Press, Washington
- Oruc, H. H., Cibik, R., Yilmaz, E. and Kalkanli, O.** (2006) Distribution and stability of Aflatoxin M1 during processing and ripening of traditional white pickled cheese. *Food Addit Contam.* 23(2), 190-195
- Osweller, G.** (2005) Aflatoxins and animal health. Iowa State University. Ημερομηνία ανάκτησης: 30/9/2011
<http://www.extension.iastate.edu/NR/rdonlyres/2B879E0A-5617-44AA-A3C3-3CDD092EBF73/82661/Aflatoxins20and20animal20health.pdf>
- Ozdemir, M.** (2007) Determination of aflatoxin M1 levels in goat milk consumed in Kilis province. Ankara Univ. *Vet Fak Derg.* 54, 99-103
- Padel, S.** (2008) Values of organic producers converting at different times: Results of a focus group study in five European countries. *International Journal of Agricultural Resources, Governance and Ecology* 7(1-2), 63-77
- Palmquist, D. L., Stelwagen, K. and Robinson, P. H.** (2006) Modifying milk composition to increase use of dairy products in healthy diets. *Animal Feed Sci Tech.* 131(3-4), 149-153
- Papadaki-Klavdianou, A., Menkisoglou-Spiroudi, O., Tsakiridou, E.** (2003) Quality of Agricultural Products and Protection of the Environment: Training, Knowledge, Dissemination and Certification-Synthesis Report of a Study in Five European Countries. Cedefop Reference Series 38, Office for Official Publications of European Communities, Luxemburg. Ημερομηνία ανάκτησης: 14/6/2011
http://www.cedefop.europa.eu/EN/Files/3027_en.pdf
- Park, Y. W., Juarez, M., Ramos, M. and Haenlein, G. F. W.** (2007) Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rumin Res.* 68, 88-113
- Parodi, P. W.** (1999) Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J Dairy Sci.* 82(6), 1339-1349
- Paterson, M R. R. and Lima, N.** (2010) How will climate change affect mycotoxins in food? *Food Res Int.* 43, 1902-1914
- Pena-Valdivia, C. B. and Torres, V. E.** (1995) The effect of aflatoxins on the electron transport chain of chloroplasts from *Zea mays* L. and *Pisum sativum* L. *Food Addit Contam.* 12(3), 451-460
- Pennington, J. A.** (2009) Aflatoxin M1 in Milk. University of Arkansas/Division of Agriculture. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/8/2009
http://www.uaex.edu/Other_Areas/publications/PDF/FSA-4018.pdf
- Peraica, M., Radic, B., Lucic, A. and Pavlovic, M.** (1999) Toxic effects of mycotoxins in humans. Bulletin of the World Health Organization, 77(9), 754-766
- Pettersson, H.** (2004) Controlling mycotoxins in animal feed. Mycotoxins in food: Detection and control, Woodhead Ltd, Cambridge, England, 262-305
- Pietri, A., Bertuzzi, T., Pallaroni, L., and Piva, G.** (2004) Occurrence of mycotoxins and ergosterol in maize harvested over 5 years in Northern Italy. *Food Addit Contam.* 21(5), 479-487
- Pinton, P., Nougayrede, J. P., DelRio, J. C., Moreno, C., Marin, D. E., Ferrier, L. et al.** (2009) The food contaminant deoxynivalenol, decreases intestinal

barrier permeability and reduces claudin expression. *Toxicol Appl Pharmacol.* 237, 41–48

Pirisi, A., Piredda, G., Sitzia, M., Fois, N. (2002) Organic and conventional systems: composition and cheese making aptitude of Sarda ewes' milk. Proceeding of Organic Meat and Milk from Ruminants, Athens October 4–6, 2002, EAAP Publication 106, 143-146. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/6/2011 <http://www.eaap.org/docs/Publications/eaap106%20-%207249456W.pdf>

Pittet, A., (2005) Modern methods and trends in mycotoxin analysis. *Hitt Lebensm Hyg.* 96, 424-444

Polan, C. E., Hayes, J. R. and Campbell, T. C. (1974) Consumption and fate of aflatoxin B1 by lactating cows. *J Agri Food Chem.* 22(4), 635-638

Polonelli, L., Giovati, L., Magliani, W., Conti, S., Sforza, S., Calabretta, A. et al. (2011) Vaccination of Lactating Dairy Cows for the Prevention of Aflatoxin B1 Carry Over in Milk. *PlosOne* 610, 1-9

Polychronaki N. C, Turner P., Mykkanen H., Gong Y., Amra H., Abdel-Wahhab M., et al. (2006). Determinants of aflatoxin M1 in breast milk in a selected group of Egyptian mothers. *Food Addit Contam.* 23(7), 700–708

Pong, R. S., and Wogan, G. N. (1971) Toxicity and biochemical and fine structural effects of synthetic Aflatoxin M1 and B1 in rat liver. *J Nat Cancer Inst* 47, 585-592

Popovic-Vranjes, A., Savic, M., Pejanovic, R., Jovanovic, S and Krajinovic, G. (2011) The effect of organic milk production on certain milk quality parameters. *Acta Vet Beograd* 61(4), 415-421

Prandini, A., Tansini, G., Sigolo, S., Filippi, L., Laporta, M. and Piva, G. (2009a) On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food Chem Toxicol.* 47(5), 984-991

Prandini, A., Sigolo, S., Cerioli, C., Piva, G. (2009b) Survey on the level of conjugated linoleic acid in dairy products. *It J Food Sci.* 13, 243-253

Pussemier, L., Larondelle, Y., Van Peteghem, C. and Huyghebaert, A. (2006) Chemical safety of conventionally and organically produced foodstuffs: a tentative comparison under Belgian conditions. *Food Control* 17, 14-21

Rahmann, G. (2008) Βιολογική Κτηνοτροφία. Μετάφραση: Αικ. Σαράτση, Εκδόσεις Ψύχαλλου, Αθήνα

Rao, S. B. N. and Chopra, R. C. (2001) Influence of sodium bentonite and activated charcoal on aflatoxin M1 excretion in milk of goats. *Small Ruminant Res.* 41(3), 203-213

RASFF (2013) Rapid Alert System for Food and Feed. European Commission. Ημερομηνία ανάκτησης: 03/2/2013 <https://webgate.ec.europa.eu/rasffwindow/portal/index.cfm?event=searchResultList>

Rastogi, S., Dwivedi, P.D., Khanna, S. K. and Das, M. (2004) Detection of Aflatoxin M1 contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. *Food Control* 15, 287-290

- Reddy, S. V. and Waliyar, F.** (2011) Properties of aflatoxin and it producing fungi. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. Ημερομηνία ανάκτησης: 13/6/2011 <http://www.icrisat.org/aflatoxin/aflatoxin.asp>
- Reiter, E., Zentek, J. and Razzazi, E.** (2009) Review on sample preparation strategies and methods used for the analysis of aflatoxins in food and feed. *Mol Nutr Food Res.* 53, 508-524
- Rodriguez Velasco V. L., Calonge Delso M. M., Ordonez Escudero D.**(2003) ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M1 in raw cow's milk. *Food Addit Contam.* 20(3), 276-280
- Roesch, M., Doherr, M. G. and Blum, J. W.** (2005) Performance of dairy cows on swiss farms with organic and integrated production. *J Dairy Sci.* 88, 2462-2475
- Romero, A. C., Ferreira, T. R. B., Dias, C. T. S., Calori-Domingues, M. A. and, da Gloria, E. M.** (2010) Occurrence of AFM₁ in urine samples of a Brazilian population and association with food consumption. *Food Control* 21, 554-558
- Rosen, J. D.** (2010) A review of the nutritional claims made by proponents of organic foods. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 9, 270-277
- Rosi, P., Borsari, A., Lasi, G., Lodi, S., Galanti, A., Fava, A. et al.** (2007) Aflatoxin M1 in milk: Reliability of the immunoenzymatic assay. *Int Dairy J.* 17, 429-435
- Roussi, V., Govaris, A., Varagouli, A., Botsoglou, N. A.** (2002) Occurrence of aflatoxin M₁ in raw and market milk commercialized in Greece. *Food Addit Contam.* 19(9), 863-868
- Rubio, R., Berruga, M. I., Roman, M. and Molina, A.** (2009) Evaluation of immunoenzymatic methods for the detection of aflatoxin M1 in ewe's milk. *Food Control* 20, 1049-1052
- Ruiquian, L., Qian, Y., Thanaboripat, D. and Thansukon, P.** (2005) Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. *Sci Tech J.* 4(1), 1-9
- Rundgren, G.** (2000) Entering World Organic Trade, GroLink. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/3/2012 <http://www.grolink.se/Resources/studies/markets.pdf>
- Sadati, S. A., Fami, H. S., Kalantari, K., Mohamadi, Y. and Asakere, A.** (2010) Investigating Effective Factors on Attitude of Paddy Growers Towards Organic Farming: A Case Study in Babol County in Iran. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology* 3(4), 362-367
- Sahota, A.** (2009) The global market for organic food and drink. The world of organic agriculture: Statistics and emerging trends FiBL-IFOAM report: IFOAM, Bonn, FiBL, Frick,ITC, Geneva, 59-64
- Sargeant, K., Sheridan,A., O'Kelly, J. and Carnagham, R. B. A.** (1961) Toxicity associated with certain samples of groundnuts. *Nature* 192, 1096-1097
- Sarimehmetoglu, B, Kuplulu, O. and Celik, T. H.** (2004) Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA *Food Control* 15, 45-49
- Sato, K., Bartlett, P. C., Erskine, R. J. and Kaneene, J.B.**(2005) A comparison of production and management between Wisconsin organic and conventional dairy herds. *Livest Prod Sci.* 93, 105-115

- Schmidt-Heydt, M., Magan, N. and Geisen, R.** (2008) Stress induction of mycotoxin biosynthesis genes by abiotic factors. *FEMS Microbiol Lett.* 284, 142–149
- Sedeghi N., Mohammad R. O., Behrooz J., Mannan H., Hengameh B., Forouzandeh J.** (2009) Incidence of aflatoxin M1 in human breast milk in Tehran, Iran. *Food Control* 20(1),75–78
- Semple, R.L., Frio, A.S., Hicks, P.A., Lozare and J.V.** (1989) Mycotoxin prevention and control in foodgrains. WHO/FAO. Ημερομηνία ανάκτησης: 25/9/2011 <http://www.fao.org/docrep/x5036e/x5036E00.htm>
- Severin, S. and Wenshui, X.** (2005) Milk biologically active components as nutraceuticals: Review. *Cr Rev Food Sci Nutr.* 45(7-8), 645–656
- Sforza, S., Dall’Asta, C., and Marchelli, R.** (2006) Recent advances in mycotoxin determination in food and feed by hyphenated chromatographic techniques/mass spectrometry. *Mass Spectrom. Rew.* 25, 54-76
- Shank., R.C., Bourgeois, C.H., Keshamras., N. and Chandavimol., P.** (1971) Aflatoxins in Autopsy Specimens from Thai Children with an Acute Disease of Unknown Aetiology. *Fd Cosmet. Toxicol.* 9, 501-507
- Shephard, G. S.** (2009) Aflatoxin analysis at the beginning of the twenty-first century. *Anal Bioanal Chem.* 395, 1215–1224
- Shephard, G. S., Berthiller, F., Burdaspal, P .A., Crews, C., Jonker, M. A., Krska, R. et al.** (2012) Developments in mycotoxin analysis: an update for 2010-2011. *World Mycotoxin Journal* 5(1), 3-30
- Shephard G. S., Berthiller F., Dorner J., Krska R., Lombaert G. A., Malone B. et al.** (2010) Developments in mycotoxin analysis: an update for 2008-2009. *World Mycotoxin Journal* 3 (1), 3-23
- Sherif, S. O., Salama, E. E. and Abdel-Wahhab, M. A.** (2009) Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment. *Int J Hyg Environ Health.* 212; 347-368
- Shibahara, T., Ogawa, H. I., Ryo, H. and Fujikawa, K.** (1995) DNA-damaging potency and genotoxicity of aflatoxin M1 in somatic cells in vivo of *Drosophila melanogaster*. *Mutagenesis* 10(3), 161-164
- Shuaib, F. M. B., Ehiri, J., Abdullahi, A., Williams, J. H. and Jolly, P. E.** (2010) Reproductive health effects of aflatoxins: A review of the literature. *Reprod Toxicol.* 29, 262-270
- Signorini, M. L., Gaggiotti, M., Molineri ,A., Chiericatti, C. A., Zapata de Basílicoc, M. L. et al.** (2012) Exposure assessment of mycotoxins in cow’s milk in Argentina. *Food Chem Toxicol.* 50(2), 250-257
- SPSS Statistics Base 20,** IBM corp., USA, 2011
- Stergiadis, S. Leifert, C., Seal, C.J., Eyre, M. D., Nielsen, J. H., Larsen, M. K. et al.** (2012) Effect of Feeding Intensity and Milking System on Nutritionally Relevant Milk Components in Dairy Farming Systems in the North East of England. *J Agri Food Chem.* 60, 7270-7281
- Streit, E., Schatzmayr, G., Tassis, P., Tzika, E., Marin, D., Taranu, I. et al.** (2012) Current Situation of Mycotoxin Contamination and Co-occurrence in Animal Feed-Focus on Europe. *Toxins* 4, 788-809

- Tajkarimi, M., Aliabadi-Sh, F., Nejad Salah, A, Poursoltani, H., Motallebi, A. A., Mahdavi, H.** (2008) Aflatoxin M1 contamination in winter and summer milk in 14 states in Iran. *Food Control* 19, 1033–1036
- Tasiopoulou, S, Chiodini, A. M., Vellere, F. and Visentin, S** (2007) Results of the monitoring program of pesticide residues in organic food of plant origin in Lombardy (Italy). *J Environ Sci Health B* 42(7), 835-841
- Tassou, C. C., Natskoulis, P. I., Panagou, E. Z., Spiropoulos, A. E., Magan, N.** (2007) Impact of water activity and temperature on growth and ochratoxin A production of two *Aspergillus carbonarius* isolates from wine grapes in Greece. *J Food Protect* 70(12), 2884-2888
- Tavakoli, H. R., Riazipour, M., Kamkar, A., Shaldehi, H. R. and Mozaffari Nejad, A. S.** (2012) Occurrence of aflatoxin M1 in white cheese samples from Tehran, Iran. *Food Control* 23(1), 293-295
- Tivari, R. N. and Sinha, M.** (2010) *Veterinary Toxicology*. Oxford Book Company, Jaipur
- Toledo, P., Andrien, A. and Bjorck, L.** (2002) Composition of raw milk from sustainable production systems. *Int Dairy J.* 12, 75-80
- Torjusen, H., Brantsaeter, A. L., Haugen, M., Lieblein, G., Stigum, H., Roos, G. et al.** (2010) Characteristics associated with organic food consumption during pregnancy; data from a large cohort of pregnant women in Norway. *BMC Public Health* 10(775), 1-11
- Trewavas, A.** (2001). Urban myths of organic farming. *Nature* 410, 409-410
- Tricon, S., Burdge, G. C., Kew, S., Banerjee, T., Russell, J. J., Jones E.L. et al.** (2004) Opposing effects of cis-9,trans-11 and trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Am J Clin Nutr.* 80, 614-620
- Tsakiridou, E., Boutsouki, C., Zotos, Y. and Mattas, K.** (2008) Attitudes and behaviour towards organic products: An exploratory study. *International Journal of Retail and Distribution Management* 36(2), 158-175
- Tsiplakou, E., Kotrotsios, V., Hadjigeorgiou, I. and Zervas, G.** (2010) Differences in sheep and goats milk fatty acid profile between conventional and organic farming systems *J Dairy Res.* 1-7
- Tudisco, R., Calabro, S., Cutrignelli, M. I., Moniello, G., Grossi, M., Gonzalez, O.J. et al.** (2012) Influence of organic systems on Stearoyl-CoA desaturase gene expression in goat milk. *Small Ruminant Res.* 106(S), 37-42
- Turconi, G., Guarcello, M., Livieri, C., Comizzoli, S., Maccarini, L., Castellazzi, A.M., et al.** (2004) Evaluation of xenobiotics in human milk and ingestion by the newborn-an epidemiological survey in Lombardy (Northern Italy). *Eur J Nutr.* 43(4),191-197
- Turner, N. W., Subrahmanyam S. and Piletsky, S. A.** (2009) Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Anal Chim Acta* 632, 168–180
- Turner P., C., Collinson A., C., Cheung Y., B., Gong Y., Hall A., J., Prentice A., M., Wild C., P.** (2007). Aflatoxin exposure in utero causes growth faltering in Gambian infants. *Int J Epidemiol.* 36(5), 1119-1125

- Unusan, N.** (2006) Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. *Food Chem Toxicol.* 44,1897–1900
- Upadhaya, S. D., Park, M. A. and Ha, J. K.** (2010) Mycotoxins and their biotransformation in the rumen: A review. *Asian-Austr. J Anim Sci.* 23(9), 1250-1260
- Vallone, L., Boscariol, D. and Dragoni, I.** (2006) Aflatoxins in Organic Milk and Dairy Products. *Vet Res Commun.* 30(S 1), 369–370
- Veldman, A., Meijs, J. A. C., Borggreve, G. J. and Heers-van der Tol, J. J.** (1992) Carry over of aflatoxin from cows' food to milk. *Anim Prod.* 55, 163-168
- Viridis, S., Corgiolu, G., Scarano, C., Pilo, A.L. and De Santis, E.P.L.** (2008) Occurrence of Aflatoxin M1 in tank bulk goat milk and ripened goat cheese. *Food Control* 19,44–49
- Viridis, S., Scarano, C., Corgiolu, G., Cossu, F., Spanu, V. and De Santis E.** (2009) Aflatoxin M1 in bulk-tank raw milk produced in a low risk area. *The Internet Journal of Toxicology* 6(1)
- Vismara, C., Di Muzio, A., Tarca, S., Lucchino, M., Foti, I., and Caloni, F.** (2006). Aflatoxin M1 effects on *Xenopus laevis* development. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 77(3), 234–237
- Wang, J. S., Shen, X., He, X., Zhu, Y.R., Zhang, B. C., Wang, J. B., et al.** (1999) Protective Alterations in Phase 1 and 2 Metabolism of Aflatoxin B1 by Oltipraz in Residents of Qidong, People's Republic of China. *J Natl Cancer I.* 91(4), 347-354
- Wang, Y. and Jones, P. J. H.** (2004) Dietary conjugated linoleic acid and body composition. *Am J Clin Nutr.* 79(S), 1153-1158
- Wang, H., Zhou, X. J., Liu, Y. Q., Yang, H. M. and Guo, Q. L.** (2010) Determination of aflatoxin M1 in milk by triple quadrupole liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Addit Contam A* 27(9), 1261-1265
- Watkins, B. A. and Seifert, M. F.** (2000) Conjugated linoleic acid and bone biology. *J Am Coll Nutr.* 19(4), 478-86
- Wei, Y. and Liu, D.** (2012) Review of melamine scandal: still a long way ahead. *Toxicol Indust Health* 28(7), 579-582
- Whitaker, T. B.** (2003) Standardisation of mycotoxin sampling procedures: an urgent necessity. *Food Control* 14, 233-237
- WHO** (2005) Public Health Strategies for Preventing Aflatoxin Exposure. World Health Organization. Geneva. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/10/2009 http://www.who.int/ipcs/events/2005/workshop_report.pdf
- Woese, K., Lange, D., Boess, C. and Bogl, K. W.** (1997) A Comparison of Organically and Conventionally Grown Foods. Results of a Review of the Relevant Literature. *J Sci Food Agric.* 74, 281-293
- Wood, J. M.** (2007) Understanding and Computing Cohen's Kappa: A Tutorial. *WebPsychEmpiricist.* Ημερομηνία ανάκτησης 28/10/2011 http://works.bepress.com/james_wood/22/
- Williams, C. M.** (2002) Nutritional quality of organic food: shades of grey or shades of green? *Proceedings of the Nutrition Society* 61, 19-24

- Williams, J. H., Phillips, T. D., Jolly, P. E., Stiles, J. K., Jolly, C. M. and Aggarwal, D.** (2004) Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *Am J Clin Nutr.* 80, 1106-1022
- Wu, F., Narrod, C., Tiongco, M. and Liu, Y.** (2011) The health economics of aflatoxin: global burden of disease. International Food Policy Research Institute, Working Paper 4, 1-17. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/4/2011 http://www.ifpri.org/sites/default/files/publications/aflacontrol_wp04.pdf
- Yaroglu, T., Oruc, H. H. and Tayar, M.** (2005) Aflatoxin M1 levels in cheese samples from some provinces of Turkey. *Food Control* 16, 883-885
- Yiridoe, E. K., Bonti-Ankomah, S. and Martin, R. C.** (2005) Comparison of consumer perceptions and preference toward organic versus conventionally produced foods: A review and update of the literature. *Renew Agr Food Syst.* 20(4), 193-205
- Youssef, M. S, El-Mahmoudy, E. M. and Abubakr, M.** (2008) Mesophilic fungi and mycotoxins contamination of Libyan cultivated four fabaceae seeds. *Res J Micr.* 3(7), 520-534
- Yu, J., Cleveland, T. E., Nierman, W. C. and Bennett, J. W.** (2005) *Aspergillus flavus* genomics: Gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases. *Revista Iberoamericana de Micología* 22(4), 194-202
- Zanoli, R. and Naspetti, S.** (2002) Consumer Motivations in the Purchase of Organic Food. A means-end and approach. *Brit Food J.* 104 (8), 643-653
- Zervas, G., Koutsotolis, K., Theodoropoulos, G. and Zabeli, G.** (2000) Comparison of Organic with Conventional Feeding Systems of Lactating Dairy Ewes in Greece. EAAP Publication 97,107-111
- Zheng, M. Z., Richard, J. L. and Binder, J.** (2006) A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia* 161, 261-273

Ελληνική Βιβλιογραφία

Αρβανιτογιάννης, Ι., Σάνδρου, Δ. και Κούρτης, Λ. (2001) Ασφάλεια τροφίμων-Εφαρμογή της ανάλυσης επικινδυνότητας και κρίσιμων σημείων ελέγχου (HACCP) στις βιομηχανίες τροφίμων και ποτών. University Studio Press, Θεσσαλονίκη

Διεύθυνση Αγροτικής Ανάπτυξης και Κτηνιατρικής (2010) προσωπική επικοινωνία με Διευθυνση Περιφέρειας Θεσσαλίας

Ελληνική Στατιστική Υπηρεσία (2012) Στατιστική Επετηρίδα της Ελλάδας 2009 και 2010. Ελληνική Στατιστική Αρχή. Ημερομηνία ανάκτησης: 14/7/2012
http://dlib.statistics.gr/Book/GRESYE_01_0002_00061.pdf

ΕΣΥΔ (2012) Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/9/2012
www.esyd.gr

ΕΦΕΤ (2011) Δελτίο τύπου ανάκλησης γιαουρτιού Ενιαίος Φορέας Ελέγχου Τροφίμων. Ημερομηνία ανάκτησης: 20/10/2011
http://www.efet.gr/portal/page/portal/efetnew/news/view_new?par_newID=482

ΕΦΕΤ (2011b) Προγράμματα Επίσημων Ελέγχων. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/11/2011
http://www.efet.gr/portal/page/portal/efetnew/authorities_control/programs

Ζαρμπούτης, Γ. (1994) Γαλακτοκομία. Εκδόσεις ΙΩΝ, Αθήνα

Ζυγογιάννης, Δ. και Κατσαούνης, Ν. (1994) Γιδοτροφία. Τεύχος Β'. Συγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη

Ζυγογιάννης, Δ. (1999) Εκτροφή Μηρυκαστικών-Προβατοτροφία. Τεύχος Α'. Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη

ΚΕΠΚΑ (2011) Διατροφικές Συνήθειες 2011. Κέντρο Προστασίας Καταναλωτή. Ημερομηνία ανάκτησης: 24/9/2012
http://kepka.org/index.php?option=com_content&task=view&id=1721&Itemid=28

Λουκέρη, Α. (2000) Διατροφή προβατικών και αιγών γαλακτοπαραγωγής. Υπουργείο Γεωργίας, Αθήνα.

Μάντης, Α. (2000) Υγιεινή και Τεχνολογία Γάλακτος και Προϊόντων του. Αφοι Κυριακίδη, 3η έκδοση, Θεσσαλονίκη

Μαρκάκη Π., Βαλαβανίδης, Α. και Ευσταθίου, Κ. (2007). Η χημική ένωση του μήνα: AFs. Τμήμα Χημείας, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Ημερομηνία ανάκτησης: 27/9/2010
http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_aflatoxins.htm

Περιφέρεια Θεσσαλίας (2011) Η θέση της περιφέρειας Θεσσαλίας στο εθνικό, ευρωπαϊκό και διεθνές περιβάλλον. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/9/2009
<http://www.thessaly.gov.gr/index.aspx>

Σπαής, Α.Β. (1997) Ζωοτροφές και Σιτηρέσια. Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (2007) ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΜΕΑ ΑΙΓΟΠΡΟΒΑΤΟΤΡΟΦΙΑΣ (Με βάση προτάσεις και συμπεράσματα των περιφερειακών μελετών της νέας ΚΑΠ), Αθήνα. Ημερομηνία ανάκτησης: 27/12/2012

http://www.minagric.gr/images/stories/docs/ypourgeio/dimosieyseis-Arthra/meleti_gia_Nea_KAP/filadia_zoikis/aigoproboatotrofias.pdf

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (2011) Οργανόγραμμα. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/11/2011 <http://www.minagric.gr/greek/2.3.html>

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (2012a) Διεύθυνση Βιολογικών. Ημερομηνία ανάκτησης: 23/9/2012 <http://www.minagric.gr/index.php/el/for-farmer/biologikgeorgiaktinotrofia/145-egkrimenoiforeiselegchoupistop.html>

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (2012b) προσωπική επικοινωνία με Διεύθυνση Κτηνιατρικής

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (2012c) προσωπική επικοινωνία με Διεύθυνση Βιολογικών.

Υπουργείο Ανάπτυξης (2007) ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΤΑΣΕΙΣ, ΑΝΤΙΛΗΨΕΙΣ & ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ ΤΩΝ ΕΛΛΗΝΩΝ ΠΟΛΙΤΩΝ, Γενική Γραμματεία Καταναλωτή, Αθήνα. Ημερομηνία ανάκτησης: 3/3/2012 http://www.publicissue.gr/wp-content/uploads/2008/06/survey_diatrofh_0744.pdf

Φωτόπουλος, Χ., Κρυστάλλης Α., (2002) Ο Έλληνας καταναλωτής βιολογικών προϊόντων. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα

Χριστοφορίδου, Σ., Μαλισσιόβα, Ε., Γκορτζή, Ο., Τσακάλωφ, Α. και Χατζηχριστοδούλου,Χ. (2011) Συγκριτική αξιολόγηση της αξιοπιστίας εμπορικών συσκευασιών ELISA για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της Αφλατοξίνης M1 σε αίγιο γάλα. Προφορική ανακοίνωση στο 2^ο Πανελλήνιο Συνέδριο του Φόρουμ Δημόσιας Υγείας και Κοινωνικής Ιατρικής, 25-27/11/2011, Λάρισα

Νομοθεσία

Κανονισμός 2377/1990 θέσπιση κοινοτικής διαδικασίας για τον καθορισμό ανώτατων ορίων καταλοίπων κτηνιατρικών φαρμάκων στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης (ΕΕ L 224)

Οδηγία 2002/32/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου σχετικά με τις ανεπιθύμητες ουσίες στις ζωοτροφές (ΕΕ L 140)

Οδηγία 2002/657/ΕΚ του Συμβουλίου σχετικά με την επίδοση των αναλυτικών μεθόδων και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων (ΕΕ L 221)

Κανονισμός 852/2004 για την υγιεινή των τροφίμων (ΕΕ L 139)

Κανονισμός 882/2004 για τη διενέργεια επισήμων ελέγχων της συμμόρφωσης προς τη νομοθεσία περί ζωοτροφών και τροφίμων και προς τους κανόνες για την υγεία και την καλή διαβίωση των ζώων (ΕΕ L 165)

Κανονισμός 854/2004 για τον καθορισμό ειδικών διατάξεων για την οργάνωση των επίσημων ελέγχων στα προϊόντα ζωικής προέλευσης που προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο (ΕΕ L 226)

Κανονισμός Ε.Κ. 1881/2006 για καθορισμό μέγιστων επιτρεπτών επιπέδων για ορισμένες ουσίες οι οποίες επιμολύνουν τα τρόφιμα (ΕΕ L 364)

Κανονισμός 401/2006 για τον καθορισμό μεθόδων δειγματοληψίας και ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων μυκοτοξινών στα τρόφιμα (ΕΕ L70)

Κανονισμός 834/2007 για τη βιολογική παραγωγή και την επισήμανση των βιολογικών προϊόντων και την κατάργηση του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2092/91 (ΕΕ L189)

Κανονισμός 889/2008 σχετικά με τη θέσπιση λεπτομερών κανόνων εφαρμογής του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 834/2007 του Συμβουλίου για τη βιολογική παραγωγή και την επισήμανση των βιολογικών προϊόντων όσον αφορά τον βιολογικό τρόπο παραγωγής, την επισήμανση και τον έλεγχο των προϊόντων(ΕΕ L250)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1: ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΕΚΤΡΟΦΗΣ

ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΕΚΤΡΟΦΗΣ

Α/Α:.....

Ημερομηνία:.....

A. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΚΤΡΟΦΗΣ

1. Ονοματεπώνυμο:
2. Νομός:.....Πόλη:.....Χωριό:.....Θέση:.....
3. Τηλέφωνο:
4. Άδεια λειτουργίας: ΝΑΙ Αν ναι, τότε: ΟΧΙ
5. Αριθμός έγκρισης εκτροφής:

B. ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ

1. ΑΓΡΟΤΙΚΟ ΚΤΗΝΙΑΤΡΕΙΟ:
2. ΑΓΡΟΤΙΚΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΟΣ:
3. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ:
4. ΙΔΙΩΤΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΟΣ:
5. ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ:
6. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ:

Γ. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΖΩΙΚΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

1. **ΕΙΔΟΣ ΖΩΩΝ:** ΑΙΓΕΣ ΠΡΟΒΑΤΑ

2. **ΦΥΛΕΣ:**

ΑΙΓΕΣ

- Ντόπια (Carpa prisca)
- Zaanen
- Alpine
- Μιγάς
- Άλλο, προσδιόρισε.....

ΠΡΟΒΑΤΑ

- Καραγκούνικα
- Βλάχικο
- Χιώτικο
- Φριζάρτα
- Μιγάς
- Άλλο, προσδιόρισε.....

3. ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ:

3α. ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ: ΑΙΓΕΣ..... ΠΡΟΒΑΤΑ.....,

3β. ΑΝΑΛΥΤΙΚΟΙ ΑΡΙΘΜΟΙ ΖΩΩΝ:

ΑΙΓΕΣ : ΘΗΛΥΚΑ..... ΑΡΣΕΝΙΚΑ

ΝΕΑΡΑ <έτους

ΠΡΟΒΑΤΑ: ΘΗΛΥΚΑ ΑΡΣΕΝΙΚΑ

ΝΕΑΡΑ <έτους

4. ΑΠΩΛΕΙΣ ΤΟ ΤΕΛΕΥΤΑΙΟ ΕΤΟΣ:.....

5. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΑΠΩΛΕΙΩΝ:

ΑΓΝΩΣΤΗΣ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΝΟΣΗΜΑ, προσδιόρισε.....

6. ΝΕΟ - ΕΙΣΑΓΟΜΕΝΟΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ:.....

7. ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΤΕΛΕΥΤΑΙΑΣ ΑΠΟΓΡΑΦΗΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ:.....

Δ. ΣΤΑΒΛΙΚΕΣ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

1. ΔΙΑΜΟΝΗ ΖΩΩΝ: Κλειστές εγκαταστάσεις: ΝΑΙ ΟΧΙ

Ημιυπαίθριες * : ΝΑΙ ΟΧΙ

Άλλο, προσδιόρισε:.....

2. ΕΜΒΑΔΟΝ ΧΩΡΩΝ:

1,5 τ.μ. / ενήλικο ζώο στις κλειστές εγκαταστάσεις ΝΑΙ ΟΧΙ

2,5 τ.μ. / ενήλικο στους χώρους άσκησης ΝΑΙ ΟΧΙ

0,35 τ.μ. / νεαρό ζώο στις κλειστές εγκαταστάσεις ΝΑΙ ΟΧΙ

0,5 τ.μ. / νεαρό ζώο στους χώρους άσκησης ΝΑΙ ΟΧΙ

3. ΧΩΡΙΣΜΑΤΑ: Γαλουχούμενα: ΝΑΙ ΟΧΙ

Ενήλικο: ΝΑΙ ΟΧΙ

Γεννήσεις: ΝΑΙ ΟΧΙ

Απομόνωση ασθενών: ΝΑΙ ΟΧΙ

Άλλα, προσδιορίσει:.....

4. ΠΡΟΣΒΑΣΗ ΣΕ ΒΟΣΚΟΤΟΠΟ: ΝΑΙ ΟΧΙ

5. ΠΟΤΙΣΤΡΕΣ: ΝΑΙ ΟΧΙ Πόσες.....

6. ΤΑΪΣΤΡΕΣ: ΝΑΙ ΟΧΙ Πόσες.....

7. ΣΙΛΟ: ΝΑΙ ΟΧΙ Πόσες.....

8. ΑΠΟΘΗΚΕΣ: ΝΑΙ ΟΧΙ

Πόσες.....Χρήση:.....

E. ΔΙΑΤΡΟΦΗ - ΝΕΡΟ

1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΖΩΟΤΡΟΦΗΣ: ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ

2. ΣΥΣΤΗΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ (μήνες: από-έως)

ΒΟΣΚΗΣΗ + ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΕΣ + ΧΟΝΔΡΟΕΙΔΗΣ :

ΑΠΟ:.....ΕΩΣ:.....

ΒΟΣΚΗΣΗ + ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΕΣ: ΑΠΟ:.....ΕΩΣ:.....

ΒΟΣΚΗΣΗ + ΧΟΝΔΡΟΕΙΔΕΙΣ: ΑΠΟ:.....ΕΩΣ:.....

ΜΟΝΟ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΕΣ: ΑΠΟ:.....ΕΩΣ:.....

ΜΟΝΟ ΧΟΝΔΡΟΕΙΔΕΙΣ: ΑΠΟ:.....ΕΩΣ:.....

3. ΕΙΔΟΣ ΖΩΤΡΟΦΗΣ (ΧΟΝΔΡΟΕΙΔΕΙΣ + ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΩΝ)

ΕΙΔΟΣ

ΠΟΣΟΤΗΤΑ/ΕΤΟΣ

ΒΡΩΜΗ	
ΚΡΙΘΑΡΙ	
ΚΑΛΑΜΠΟΚΙ	
ΣΤΑΡΙ	
ΜΗΔΙΚΗ	
ΤΡΙΦΥΛΛΙ	
ΜΠΙΖΕΛΙ	
ΒΙΚΟΣ	
ΤΕΥΤΛΟ	

Άλλο, προσδιόρισε:.....

4. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΒΟΣΚΟΤΟΠΟΥ

ΘΕΣΗ:

ΕΚΤΑΣΗ:

4α. ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΒΟΣΚΗΣΗΣ: ΑΠΟ:.....ΕΩΣ:.....

4β. ΕΙΔΟΣ ΛΕΙΜΩΝΑ:

- ΦΥΣΙΚΟΣ ΛΕΙΜΩΝΑΣ ΜΕ ΠΟΩΔΗ ΒΛΑΣΤΗΣΗ
- ΦΥΣΙΚΟΣ ΛΕΙΜΩΝΑΣ ΜΕ ΘΑΜΝΩΔΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗ
- ΦΥΣΙΚΟΣ ΛΕΙΜΩΝΑΣ ΣΕ ΔΑΣΟΣΚΕΠΗ ΛΙΒΑΔΙΑ
- ΤΕΧΝΗΤΟΣ ΛΕΙΜΩΝΑΣ

4γ. ΧΛΩΡΙΔΑ ΛΕΙΜΩΝΑ:

ΦΥΣΙΚΟΣ ΛΕΙΜΩΝΑΣ ΜΕ ΠΟΩΔΗ ΒΛΑΣΤΗΣΗ

- ΑΓΡΟΣΤΩΔΗ (στάρι, δακτυλίδα, φεστούκα) ΨΥΧΑΝΘΗ
- ΒΟΥΡΛΙΔΩΝ ΚΥΠΕΙΡΩΔΩΝ
- Άλλο προσδιόρισε:.....

ΦΥΣΙΚΟΣ ΛΕΙΜΩΝΑΣ ΜΕ ΘΑΜΝΩΔΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗ

- ΦΡΥΓΑΝΩΔΗ ΝΟΜΕΥΤΙΚΑ ΠΟΩΔΗ ΝΟΜΕΥΤΙΚΑ
- ΔΕΝΔΡΑ Άλλο προσδιόρισε.....

ΦΥΣΙΚΟΣ ΛΕΙΜΩΝΑΣ ΣΕ ΔΑΣΟΣΚΕΠΗ ΛΙΒΑΔΙΑ

ΠΟΩΔΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΘΑΜΝΩΔΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗ

Άλλα προσδιόρισε:

ΤΕΧΝΗΤΟΣ ΛΕΙΜΩΝΑΣ ΜΕ:

ΑΓΡΟΣΤΩΔΗ (βρώμη, κριθάρι, καλαμπάκι) ΨΥΧΑΝΘΗ (μηδική, τριφύλλι, μπιζέλι, βίκος) Άλλο προσδιόρισε.....

5. ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΤΗΤΕΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ:

ΚΥΟΦΟΡΟΥΝΤΑ

ΓΑΛΟΥΧΙΑ

ΝΕΑΡΑ

ΕΝΗΛΙΚΑ ΑΡΣΕΝΙΚΑ

ΕΝΗΛΙΚΑ ΘΗΛΥΚΑ

6. ΣΙΤΗΡΕΣΙΟ

ΕΜΠΕΙΡΙΚΟ Προσδιόρισε.....

ΖΩΤΕΧΝΙΚΟ

7. ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΖΩΟΤΡΟΦΩΝ: ΝΑΙ ΟΧΙ

7α. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΧΩΡΟΥ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ

7β. Προμήθεια Ζωτροφής:

Β.ΝΕΡΟ

Βα. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ : ΥΔΡΕΥΣΗΣ ΓΕΩΤΡΗΣΗΣ ΠΗΓΗ

ΒΥΤΙΑ/ΔΕΞΑΜΕΝΕΣ Άλλο, προσδιορίστε

Ββ. ΠΟΙΟΤΗΤΑ: ΠΟΣΙΜΟ ΑΓΝΩΣΤΟ

ΣΤ. ΤΥΠΟΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ

1.ΜΕΤΑΚΙΝΟΥΜΕΝΗ: ΝΑΙ ΟΧΙ

2.ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ: ΝΑΙ ΟΧΙ

Εάν ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ:

2α. ΦΟΡΕΑΣ ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ:

2β. ΚΥΚΛΟΣ ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ:

1^η ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ

ΕΠΙΤΗΡΗΣΕΙΣ

ΛΗΞΗ

2γ. ΜΗ ΣΥΜΜΟΡΦΩΣΕΙΣ:

2δ.ΕΠΙΔΟΤΟΥΜΕΝΗ: ΝΑΙ ΟΧΙ

Ζ. ΠΡΟΦΙΛ ΥΓΕΙΑΣ (τελευταίο έτος)

1. ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΙ

ΒΡΟΥΚΕΛΛΑ

ΑΓΑΛΑΞΙΑ

ΒΩΛΟΙ: ΝΑΙ ΟΧΙ

ΑΛΛΟ, προσδιόρισε

Θ. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ:

ΦΥΣΙΚΗ ΟΧΕΙΑ

Τ/Σ

ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟΣ ΟΙΣΤΡΟΥ

ΑΛΛΟ, προσδιόρισε

Ι. ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. ΓΑΛΑΚΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΑΠΟ: ΕΩΣ:

2. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΜΕΛΕΣ

ΜΕ ΤΟ ΧΕΡΙ ΑΛΜΕΚΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΗ ΑΥΤΟΜΑΤΟΠΟΙΗΜΕΝΟ
ΑΡΜΕΚΤΗΡΙΟ ΑΛΛΟ, προσδιόρισε

3. ΥΓΙΕΙΝΗ

	ΧΩΡΟΣ ΑΜΕΛΕΣ	ΓΑΛΑΚΤΟΔΟΧΕΙΑ	ΠΑΓΟΛΕΚΑΝΗ	ΜΑΣΤΩΝ
ΠΟΛΥ ΚΑΛΗ				
ΚΑΛΗ				

ΜΕΤΡΙΑ				
ΚΑΚΗ				
ΠΟΛΥ ΚΑΚΗ				

3α. Απορρυπαντικά – Απολυμαντικά που χρησιμοποιούνται:

.....

ΕΓΚΕΚΡΙΜΕΝΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ: ΝΑΙ ΟΧΙ

4. ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΜΑΣΤΩΝ ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΑΜΕΛΗ: ΝΑΙ ΟΧΙ

5. ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ/ΖΩΟ/ΑΜΕΛΗ

<0.5 0.5-1lt >1lt

6. ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΡΜΕΓΟΜΕΝΩΝ ΖΩΩΝ:.....

7. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΜΕΤΑ ΤΗ ΣΥΛΛΟΓΗ

ΠΑΓΟΛΕΚΑΝΗ ΓΑΛΑΚΤΟΔΟΧΕΙΑ

ΑΛΛΟ, προσδιόρισε.....

8. ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΠΑΡΑΜΟΝΗΣ ΜΕΤΑ ΤΗ ΣΥΛΛΟΓΗ ΣΕ

ΩΡΕΣ:.....

9. ΕΛΕΓΧΟΙ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗΝ ΕΚΤΡΟΦΗ

ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ ΣΩΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟ ΦΟΡΤΙΟ

ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΑΝΕΝΑΣ

ΑΛΛΟ, προσδιόρισε.....

Κ. ΕΥΖΩΙΑ ΤΩΝ ΖΩΩΝ

1. ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΟΤΙ ΤΑ ΖΩΑ ΕΙΝΑΙ ΤΑΙΣΜΕΝΑ & ΠΟΤΙΣΜΕΝΑ:

ΝΑΙ ΟΧΙ

2. ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΖΩΩΝ ΑΠΟ ΠΟΝΟ, ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟ Ή ΝΟΣΗΜΑΤΑ:

ΝΑΙ ΟΧΙ

3. ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΖΩΩΝ ΑΠΟ ΦΟΒΟ: ΝΑΙ ΟΧΙ

4. ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΚΑΛΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΕΚΤΡΟΦΗΣ: ΝΑΙ ΟΧΙ

Λ. ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

1. ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΣΤΑΒΛΟΥ:

	ΣΤΑΒΛΟΣ	ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ
ΠΟΛΥ ΚΑΛΗ		
ΚΑΛΗ		
ΜΕΤΡΙΑ		
ΚΑΚΗ		
ΠΟΛΥ ΚΑΚΗ		

2. ΣΥΣΤΗΜΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ:

ΚΟΠΡΟΣΩΡΟΣ

ΚΑΝΕΝΑ

ΑΛΛΟ, προσδιόρισε

**3. ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΓΙΑ ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ ΠΟΥ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΔΥΣΜΕΝΕΙΣ
ΓΙΑ ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ: ΝΑΙ ΟΧΙ**

M. ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

1. ΚΡΕΑΣ

1α. ΔΙΑΘΕΣΗ

ΣΦΑΓΕΙΟ: ΝΑΙ ΟΧΙ

ΑΛΛΟ, προσδιόρισε.....

Ως Βιολογικά: ΝΑΙ ΟΧΙ

1β. ΠΟΣΟΤΗΤΑ

ΑΡΙΘΜΟΣ ΣΦΑΓΙΩΝ/ ΕΤΟΣ

ΚΙΛΑ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΟΥ ΚΡΕΑΤΟΣ / ΕΤΟΣ

2. ΓΑΛΛΑ

2α. ΔΙΑΘΕΣΗ

ΓΑΛΑΚΤΟΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ: ΝΑΙ ΟΧΙ

ΤΟΠΙΚΟΙ ΤΥΡΟΚΟΜΟΙ: ΝΑΙ ΟΧΙ

ΆΛΛΟ, προσδιόρισε

Ως Βιολογικό: ΝΑΙ ΟΧΙ

2β. ΠΟΣΟΤΗΤΑ

ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ/ΕΤΟΣ

ΜΕΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΑΛΑΚΤΟΣ /ΖΩΟ.....

3.ΙΔΙΟΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ

ΚΡΕΑΣ: ΝΑΙ ΟΧΙ ΠΟΣΟΤΗΤΑ.....

ΓΑΛΑ: ΝΑΙ ΟΧΙ ΠΟΣΟΤΗΤΑ

ΧΡΗΣΗ.....

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2: ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ

A/A Ημερομηνία:.....

Ενεργούσα την δειγματοληψία

Στοιχεία δείγματος:

Όνοματεπώνυμο Παραγωγού

Κωδικός Εκτροφής

Από παγολεκάνη: ΝΑΙ ΟΧΙ

Θερμοκρασία γάλακτος: <6°C >6°C

Άμελη: πρωινή απογευματινή άγνωστη

Αριθμός αρμεγόμενων:.....

Νοσήματα:.....

Διατροφή: βόσκηση συμπυκνωμένες χονδροειδείς

Φαρμακευτική αγωγή:

Σκεύασμα

Δοσολογία

Ημερομηνία Χορήγησης

Χρόνος Αναμονής

Παρατηρήσεις:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Τρόπος δειγματοληψίας:

- 500ml γάλα από την παγολεκάνη σε αποστειρωμένη φιάλη
- Σήμανση με A/A πρωτοκόλλου
- Μεταφορά σε ισοθερμικό δοχείο
- Άμεσος χειρισμός στο εργαστήριο για κατανομή (10 φιαλίδια αποστειρωμένα x 50ml)
- Αποθήκευση: 4 φιαλίδια σε ψύξη, υπόλοιπα σε κατάψυξη (-25°C)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3: ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

1η Δειγματοληψία		2η Δειγματοληψία		3η Δειγματοληψία	
	A/A		A/A		A/A
02/12/2010	1	07/05/2011	165	02/07/2011	257
05/12/2010	2	06/04/2011	88	02/06/2011	185
05/12/2010	3	06/04/2011	89	26/06/2011	240
09/12/2010	4	06/04/2011	91	04/06/2011	191
09/12/2010	5	06/04/2011	90	04/06/2011	189
08/12/2010	6	06/04/2011	93	02/06/2011	186
11/12/2010	7	10/04/2011	106	04/06/2011	192
11/12/2010	8	06/04/2011	92	04/06/2011	190
12/12/2010	9	09/04/2011	109	02/06/2011	181
12/12/2010	10	09/04/2011	110	02/06/2011	177
12/12/2010	N/A	09/04/2011	111	02/06/2011	176
03/01/2011	12	07/04/2011	97	02/06/2011	175
03/01/2011	13	07/04/2011	96	02/06/2011	173
03/01/2011	14	07/04/2011	95	02/06/2011	174
03/01/2011	15	07/04/2011	103	02/06/2011	187
04/01/2011	16	08/04/2011	104	03/06/2011	188
04/01/2011	17	N/A	N/A	N/A	N/A
04/01/2011	18	N/A	N/A	N/A	N/A
04/01/2011	19	07/04/2011	101	04/06/2011	199
04/01/2011	20	07/04/2011	99	02/06/2011	178
04/01/2011	21	07/04/2011	100	02/06/2011	179
13/01/2011	23	07/04/2011	98	02/06/2011	180
09/02/2011	24	09/04/2011	107	02/06/2011	182
09/02/2011	25	09/04/2011	108		
10/02/2011	26	09/04/2011	112	02/06/2011	183
09/02/2011	27	09/04/2011	105	04/06/2011	193
10/02/2011	28	07/04/2011	102	02/06/2011	184
10/02/2011	29	17/04/2011	127	28/06/2011	253
13/02/2011	30	N/A	170	N/A	258
13/02/2011	31	N/A	171	N/A	259
13/02/2011	32	N/A	172	N/A	260
17/02/2011	33	14/04/2011	130	25/06/2011	227
17/02/2011	34	14/04/2011	113	25/06/2011	230
17/02/2011	35	N/A	N/A	N/A	N/A
17/02/2011	36	14/04/2011	114	25/06/2011	231
17/02/2011	37	17/04/2011	115	25/06/2011	223
17/02/2011	38	14/04/2011	116	25/06/2011	226
17/02/2011	39	14/04/2011	117		
17/02/2011	40	14/04/2011	118	25/06/2011	221
17/02/2011	41	N/A	N/A	N/A	N/A
17/02/2011	42	14/04/2011	119	25/06/2011	224
17/02/2011	43	14/04/2011	120	25/06/2011	222
17/02/2011	44	14/04/2011	121	25/06/2011	232
18/02/2011	45	14/04/2011	122	25/06/2011	229
18/02/2011	46	17/04/2011	123	25/06/2011	228
18/02/2011	47	17/04/2011	124	25/06/2011	219
18/02/2011	48	17/04/2011	125	25/06/2011	225
18/02/2011	49	14/04/2011	126	25/06/2011	220
19/02/2011	50	17/04/2011	131	22/06/2011	200
19/02/2011	51	17/04/2011	132	22/06/2011	201
19/02/2011	52	17/04/2011	133	22/06/2011	202
19/02/2011	53	17/04/2011	134	22/06/2011	203
N/A	N/A	14/04/2011	128	25/06/2011	233
N/A	N/A	14/04/2011	129	25/06/2011	218
19/02/2011	54	17/04/2011	135	22/06/2011	204
19/02/2011	55	17/04/2011	136	22/06/2011	205
19/02/2011	56	17/04/2011	137	22/06/2011	206
19/02/2011	57	17/04/2011	138	22/06/2011	207
19/02/2011	58	17/04/2011	139	22/06/2011	208
20/02/2011	59	17/04/2011	140	22/06/2011	209
20/02/2011	60	17/04/2011	141	22/06/2011	210
20/02/2011	61	17/04/2011	142	22/06/2011	211
20/02/2011	62	17/04/2011	143	22/06/2011	212
20/02/2011	63	17/04/2011	144	22/06/2011	213
20/02/2011	64	17/04/2011	145	22/06/2011	214
20/02/2011	65	17/04/2011	146	22/06/2011	215
20/02/2011	66	17/04/2011	147	22/06/2011	216
20/02/2011	67	17/04/2011	148	22/06/2011	217
20/02/2011	68	21/04/2011	149	25/06/2011	235
20/02/2011	69	21/04/2011	150	25/06/2011	236
10/03/2011	70	07/05/2011	169	28/06/2011	255
10/03/2011	71	07/05/2011	168	28/06/2011	254
12/03/2011	72	29/04/2011	152	26/06/2011	237
12/03/2011	73	29/04/2011	153	26/06/2011	238
12/03/2011	74	29/04/2011	151	26/06/2011	239
12/03/2011	75	29/04/2011	158	26/06/2011	250
12/03/2011	76	30/04/2011	163	26/06/2011	245
12/03/2011	77	30/04/2011	164	26/06/2011	246
12/03/2011	78	29/42011	159	26/06/2011	247
12/03/2011	79	29/04/2011	160	26/06/2011	248
12/03/2011	80	29/04/2011	161	26/06/2011	249
12/03/2011	81	29/04/2011	162	26/06/2011	252
16/03/2011	82	07/05/2011	166	27/06/2011	256
16/03/2011	83	07/05/2011	167	26/06/2011	251
20/03/2011	84	29/04/2011	155	26/06/2011	243
20/03/2011	85	29/04/2011	154	26/06/2011	241
20/03/2011	86	29/04/2011	157	26/06/2011	242
20/03/2011	87	29/04/2011	156	26/06/2011	244
N/A	N/A	N/A	N/A	25/06/2011	234

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 4: ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ELISA (TECNA L'SCREEN AFLA M₁ IN MILK)



Enzyme immunoassay for the detection of Aflatoxin M₁ in milk (code MA440/MA441)

I'screen AFLA M₁ milk is a kit prepared for an immunoenzymatic assay for the quantitative analysis of aflatoxin M₁.

The kit contains the procedure and the materials sufficient for 96 determinations (code MA440) or 48 determinations (code MA441) including standards.

A microtiter plate photometer or a strip photometer is required.

Analysable samples

Raw milk, milk powder

Sample preparation

- Raw milk: refrigeration at +2/+8°C, centrifugation
- Milk powder: dilution

Assay time: 75 minutes (sample preparation not included).

Detection limit

- Raw milk, milk powder: 0.005 ppb

Specificity

Compound	Cross-reactivity (%)
Aflatoxin M ₁	100
Aflatoxin M ₂	16

1 TEST PRINCIPLE

The assay is performed in plastic microwells which have been coated with anti-Aflatoxin M₁ antibodies. Aflatoxin M₁ standard solutions and samples are added to the microwells. During the first incubation, free Aflatoxin M₁ molecules are bound to the anti-Aflatoxin M₁ antibodies.

Any unbound substance is then removed in a washing step. A second incubation is performed with an

aflatoxin-HRP conjugate, which covers all the remaining free binding sites of the antibody. The bound enzyme activity is determined by adding a fixed amount of a chromogenic substrate. The enzyme converts the colourless chromogen into a blue product during the third incubation. The addition of the stop reagent leads to a color change from blue to yellow. The absorbance is measured by a microplate reader at 450 nm. The colour development is inversely proportional to the Aflatoxin M₁ concentration in the sample.

2 PROVIDED REAGENTS

Microtiter plate: coated with anti-Aflatoxin M₁ antibodies.

Cod.MA440: 96 wells (12 strips x 8 wells)

Cod.MA441: 48 wells (6 strips x 8 wells)

As the strips are breakable, the wells can be used individually. For this purpose, it is sufficient to get out the wells from the sheath and to break the joint.

1 Cover for covering the microtiter plate or strips during incubation.

Aflatoxin M₁ standard: 7 amber glass vials containing 1.5 ml of: 0 ng/l; 5 ng/l; 10 ng/l; 25 ng/l; 50 ng/l; 100 ng/l; 250 ng/l. White cap.

Enzyme conjugate: 1 plastic vial containing 250 µl of enzyme conjugate concentrate.

Enzyme conjugate diluent: 1 glass vial Red cap.

cod.MA440: containing 20 ml,

cod.MA441: containing 10 ml.

Washing-buffer 20X: 1 plastic bottle containing 50 ml.

Developing solution: 1 plastic bottle containing 15 ml.

Stop solution: 1 glass vial containing 9 ml. White cap.

3 MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Distilled water

Equipment

- Centrifuge, preferably a refrigerated centrifuge, in particular if the centrifuge is a low speed;
- Plastic tubes.
- Microplate reader, filter 450nm;
- Micropipette 50-200 µl. tips;



Tecna S.r.l. - Area Science Park - Padriciano 99, Trieste, Italy
tel: +39 040 8325179, +39 040 3755341; fax +39 040 8326201, +39 040 3755343
e-mail: export@tecnafab.com web: <http://www.tecnafab.com>

L.010.04100

Rev.13 del 21-10-10

- Multichannel micropipette 50-250 ul *

* If using a limited number of wells (approximately not more than three strips), the multichannel micropipette is not necessary.

4 WARNING AND PRECAUTIONS FOR THE USERS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Some reagents contain preservative. The stop solution contains sulphuric acid and is corrosive. The enzyme conjugate is harmful.
- Handle the reagents with extreme caution, avoiding contact with skin, eyes and mucous membranes.
- Safety data sheet available on Tecna's web site.

5 HANDLING AND STORAGE INSTRUCTIONS

- Store the kit at +2/+8 °C and never freeze.
- **Bring all reagents to room temperature before use (2 hours). ATTENTION: do not unseal the microplate until it reaches the room temperature.**
- Reseal the unused strips of the microtiter plate in the bag together with the desiccant bag provided
- Return all reagents to +2/+8 °C immediately after use.
- Do not use components after the expiration date.
- Do not intermix components between different kit lots.
- Do not use photocopies of the instruction booklet. Keep always to the instruction booklet which is included inside the kit
- Do not change the assay procedure, in particular:
 - do not prolong the incubation times;
 - do not incubate the plate at temperatures higher than 25°C;
 - do not shake the plate during the incubations;
- use accurate and precise micropipettes with suitable tips for dispensing.
- Once started, complete all the steps without interruption.
- The reproducibility of ELISA results depends largely upon the efficiency and uniformity of microwells washing; always keep to the described procedure.
- Use a single disposable tip for each standard solution and sample to avoid cross-contamination.
- Do not allow tips to contact the liquid already in the microwells or the internal microwells surface.
- Avoid exposure to direct light during all incubations. It is recommended to cover the microtiter plate without using plate sealers.

6 SAMPLES PREPARATION

6.1 Raw milk

After milking, the milk has to be tested within 24 hours. Otherwise milk has to be stabilised (with azidol or similar substances)

- Refrigerate the sample and centrifuge it at +2/+8°C for 10 minutes at 3000xg.
- Separate the fat from the skimmed milk.
- Use the skimmed milk directly in the assay.
- In the application of the 25 –1250 ppt measuring range, dilute the samples with the sample diluent 5x (code MA444; 100µl of the sample + 400µl of samle diluent); to obtain the effective aflatoxin M1 concentration in samples, the concentration read from the calibration curve must be multiplied by 5.
- In the application of the 50 –2500 ppt measuring range, dilute the samples with the sample diluent 10x (code MA444; 50µl of the sample + 450µl of samle diluent); to obtain the effective aflatoxin M1 concentration in samples, the concentration read from the calibration curve must be multiplied by 10.

6.2 Powdered milk

- Weight out 10 g of the powder and get to a volume of 100 ml with distilled water.
- Shake until the powder is completely dissolved. Proceed as above.

7 WORKING SOLUTIONS PREPARATION

Aflatoxin M₁ standard solutions: ready to use (shake gently prior to).

Enzyme conjugate: (do not vortex) ATTENTION: in order to recover the total amount of the conjugate, before use, centrifuge the vial for some seconds at low speed (spin-down).

Calculate and prepare the quantity necessary for the experiment. Dilute the conjugate Aflatoxin-peroxidase 1/100 with the enzyme diluent.

Washing buffer: dilute the concentrate 1:20 (1+19) with distilled water. ATTENTION: in presence of crystals, bring the solution at room temperature and stir in order to solve them completely.

Developing solution: ready to use.

Stop solution: ready to use.

Enzyme conjugate diluent: ready to use.

8 ASSAY PROCEDURE

Wait until all kit components reach room temperature before use (2 hours).

1. Predispose an assay layout, recording Maximum Binding (Bo or standard 0), standard solutions and samples positions, taking into account that all have to be run in duplicate.

Remove the strips not to be used from the frame and replace them in the pouch with the desiccant. Reseal the pouch tightly.

First incubation

2. Add 100 ul of each standard/ sample into the standard wells.

Shake the plate gently with rotatory motion for few

seconds and cover it with the cover.

3. Incubate 45 minutes at room temperature;
Do not prolong the first incubation time and do not use automatic shakers.

4. Washing

- Pour the liquid out from the wells.
- Fill completely all the wells with working wash solution using a squeeze bottle. Pour the liquid out from the wells.
- Remove the remaining droplets by tapping the microplate upside down vigorously against absorbent paper;
- Repeat the washing sequence four (4) times.

Do not allow the wells to dry out

Second incubation

5. Using a multichannel pipet, add to the wells 100 ul of the enzyme conjugate solution.

Shake the plate gently with rotatory motion for few seconds and cover it with the cover.

6. Incubate for 15 minutes.

7. Repeat step 4.

Developing

8. Using the multichannel micropipette, add 100 µl of developing solution to each well.

Mix thoroughly with rotatory motion for few seconds and cover it with the cover.

9. Incubate for 15 minutes at room temperature.

10. Using a multichannel pipet, add 50 ul of stop solution to each well and mix thoroughly with rotatory motion for few seconds.

11. Measure the absorbance at 450 nm.

Read within 60 minutes.

In case an strip reader is used, it is necessary to take out the strip from the frame and to remove the case round the wells.

9 CALCULATION OF RESULTS

- Calculate the mean absorbance of each controls, standards and samples.
- Divide the mean absorbance value of each standard and sample by the mean absorbance of the standard 0 and multiply by 100; the standard 0 is thus made equal to 100% and all the other absorbance values are expressed as percentages:

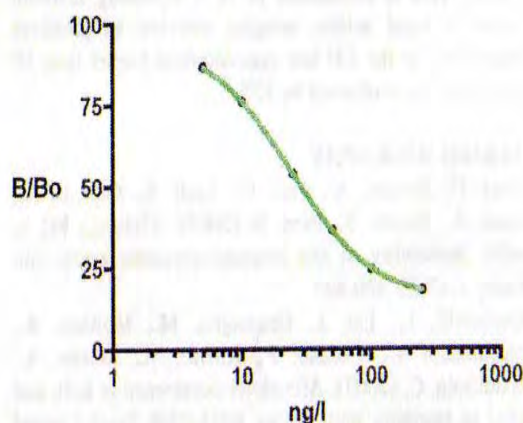
$$\frac{\text{absorbance of standard (or sample)}}{\text{absorbance of standard 0 (B}_0\text{)}} \times 100 = \frac{B}{B_0} (\%)$$

- Enter the B/B₀ values calculated for each standard in a semi-logarithmic system of coordinates and draw the standard curve.

- Interpolate the B/B₀ value of each sample to the corresponding concentration from the calibration curve. For dilution applications multiply this concentration for the dilution factor.

For calculation of the ELISA results, Excel spreadsheets can be downloaded from the section "download" in Tecna's web site, www.tecnalab.com.

10 EXAMPLE OF CALIBRATION CURVE



11 RESULTS EVALUATION

After results elaboration, it is necessary to verify the assay performance. The verification is performed by comparison of obtained data with those given in kit specifications. If the values are out from the specifications given, it is advised to control the expiry date of the kit, the wavelength of absorbance recording, as well as the procedure employed. If operation errors do not emerge, contact our technical assistance.

WARNING: substitution will be possible just in case of rendered kit. The kit must be conserved in its integral version and at the temperature indicated in this booklet.

12 KIT SPECIFICATIONS

12.1 Assay specification

Description	Specifications
Mean B ₀ absorbance	≥ 0,7 OD _{450nm}
B/B ₀ 50 %	20 - 50 ng/l (ppt)
Std duplicates mean C.V.	≤ 6 %

AFLATOXIN M₁ ELISA KIT

Aflatoxin M₁ is a toxic metabolite of aflatoxin B₁, it is normally excreted in the urine and also the milk of dairy cattle and other lactating mammals.

Due to the high toxicity of aflatoxin M₁, the European Community established the maximum level of 0.05 µg/kg for aflatoxin M₁ in liquid milk. In case of infant and follow-on milk the limit is 0.025 µg/kg.

By the other side, the Codex Alimentarius, Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) has established an acceptable level of risk at 0.5 µg/kg for aflatoxin M₁ in fluid milk.

In the U.S.A. the FDA established an action level of 0.5 µg/kg.

Assay principle
Competitive enzyme immunoassay.

Applications
Raw milk, milk powder.

Standard curve range
5-250 ng/l (Aflatoxin M₁ standards).

Detection limits
0.005 ppb (µg/kg).

Measuring range
Depending on the analysis:
 • 0.005 - 0.250 ppb (µg/kg).
 • 0.025 - 1.250 ppb (µg/kg)*.
 • 0.050 - 2.500 ppb (µg/kg)*.
 * See "Material not provided" section.

Specificity (% of cross-reactivity)

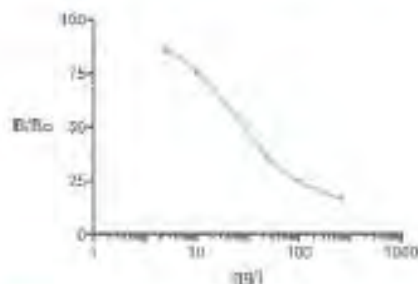
Aflatoxina M ₁	100
Aflatoxina M ₂	16

Sample preparation

- Raw milk: refrigeration at +2/+8 °C, centrifugation.
Measuring range 0.005-0.250 ppb: undiluted samples.
Measuring range 0.025-1.250 ppb: sample dilution 1:5.
- Milk powder: dilution, centrifugation.

Assay time
1 h and 15 min. (sample preparation not included).

Example of the calibration curve



Advantages

- Choice of measuring range.
- High accuracy.
- High reproducibility.
- Most of the reagent ready to use.
- Performance data sheet available.
- Free spreadsheet downloadable at www.tecnalab.com to calculate sample concentration.
- Kit compliant with requirements of ISO 14675:2003.

Storage conditions
+2/+8 °C.

Shelf-life
10 months from date of manufacturing.

rev. 01/04/05

I'screen

AFLA M₁ MILK Cat. N. MA440/MA441

Kit contents

- Microtiter 96/48 (MA440/MA441) well plate, 12/6 strips with 8 breakable wells.
- Microplate cover.
- 7 aflatoxin M₁ standards, ready to use.
- Enzyme conjugate, concentrated.
- Enzyme conjugate diluent, ready to use.
- Washing buffer, concentrated.
- Developing solution, ready to use.
- Stop solution, ready to use.
- Instructions.

Material not provided

- Distilled water.
- Sample diluent (Tecna code: MA444), only in case of measuring range 0.025 - 1.250 ppb or 0.050 - 2.500 ppb.

Additional equipment

- Balance (powder milk).
- Centrifuge, possibly refrigerated (Relative Centrifugal Force required: 3000 xg for raw and powder milk).
- Plastic tubes, 1.5/2 ml (raw and powder milk).
- Absorbent paper.
- Micropipette 20-200 µl and 200-1000 µl with suitable tips.
- Multichannel micropipette 50-300 µl with suitable tips (optional).
- ELISA plate or strip reader equipped with a 450 nm filter.

Other products

- MA418/MA419:
I'screen AFLA M₁, quantitative, ELISA, 96/48 det. (milk and cheese).
- MA430/MA431:
AFLA M₁ 20-50, semiquantitative, ELISA, 96/48 det.
- MA432:
Aflastop M₁, qualitative, ELISA, 25 det.

Bibliography

- Anzilite, S., et al. Gestione dell'emergenza aflatoxine nelle regioni Lazio: Metodi di analisi impiegati per latte e alimenti zootecnici. Sezione poster. Convegno Agrofood Bioanalysis I. 2004, 24-26 giugno 2004, Alghero, Italia.
- Rosi, P., et al. Determinazione del contenuto di aflatoxina M₁ nel latte: correlazione fra metodo immunoenzimatico (ELISA) e cromatografico (HPLC-FED). Atti del I Convegno nazionale micotossine nella filiera agro-alimentare, 2004, 29-30 novembre 2004, Roma, Italia.
- Focardi, C., et al. Aflatoxina M₁ nel latte: confronto fra metodo di screening ELISA e metodo di conferma in HPLC. Sezione poster. Convegno Agrofood Bioanalysis I. 2004, 24-26 giugno 2004, Alghero, Italia.

Manufacturer

Tecna Srl, ISO9001/UNI EN ISO 9001 - Ed. 2000 certified (SGS, N° 1101/0291).

(rev. 01/2010)

Tecna S.r.l. c/o Area Science Park • Loc. Padriciano, 99 • 34012 Trieste/Italy
Tel. +39 040 3755341 +39 040 8992258 • Fax +39 040 8992247
techservice@tecnalab.com • www.tecnalab.com

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 5: ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΕ ΓΑΛΑ ΜΕ HPLC-FLD ΚΑΤΑ ISO 14501:2007

Προετοιμασία δείγματος:

Θερμαίνουμε το γάλα σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 35°C-37°C. Φυγοκεντρούμε το γάλα σε 2000g για 15 λεπτά. Συλλέγουμε τουλάχιστον 50ml αποβουτυρωμένου δείγματος. Τοποθετούμε τα 50ml στην ειδική σύριγγα και τα αφήνουμε να διατρέξουν την στήλη ανοσοσυγγένειας με ρυθμό από 2ml/min έως 3ml/min, με τη βοήθεια αντλίας κενού. Αντικαθιστούμε την ειδική σύριγγα των 50ml με καθαρή ειδική σύριγγα των 10ml. Ξεπλένουμε τη στήλη με 10ml νερό με σταθερό ρυθμό. Στεγνώνουμε τη στήλη μετά το ξέπλυμα. Ακολουθεί έκλουση της AFM1 από τη στήλη με χρήση 4ml καθαρού ακετονιτριλίου σε 60s και τη βοήθεια σύριγγας των 10ml. Συλλέγουμε το έκλουσμα σε φιάλη. Μειώνουμε τον όγκο του εκλούσματος μεταξύ 20ml και 500ml (V_e), τοποθετώντας τη φιάλη σε υδατόλουτρο στους 30°C και με διοχέτευση ήπιου ρεύματος αζώτου. Με προσθήκη νερού δημιουργούμε έναν τελικό όγκο V_f εκλούσματος $V_e \times 10$

Ρύθμιση αντλίας: Διοχετεύουμε τη κινητή φάση (ακετονιτρίλιο) με σταθερή ροή στην στήλη της HPLC. Η ροή είναι ανάλογη του τύπου της στήλης που θα χρησιμοποιηθεί

Απόδοση χρωματογράφου: Ελέγχουμε την σταθερότητα του χρωματογραφικού μας συστήματος με το να εγχύουμε επαναλαμβανόμενα μια σταθερή ποσότητα διαλύματος εργασίας AM1 έως να επιτευχθεί μια σταθερή κορυφή.

Καμπύλη αναφοράς AFM1: Εγχύουμε με σειρά κατάλληλους όγκους διαλυμάτων εργασίας που περιέχουν 0,05ng, 0,10ng, 0,20ng και 0,40ng AM1. Προετοιμάζουμε την καμπύλη αναφοράς, σχεδιάζοντας τη κορυφή κάθε διαλύματος εργασίας έναντι της συγκέντρωσης AFM1 που εγχύθηκε.

Ανάλυση καθαροποιημένου εκχυλίσματος και σύστημα έγχυσης: Εγχύουμε παρόμοιο όγκο εκλούσματος με αυτό των διαλυμάτων εργασίας στη συσκευή της HPLC. Διαχωρίζουμε την AFM1 που υπάρχει, χρησιμοποιώντας τις ίδιες συνθήκες με αυτές των διαλυμάτων εργασίας.

Μετά από έγχυση μιας πέντε εκλουσμάτων, προτείνεται να εγχύεται ένα διάλυμα εργασίας. Καθορίζουμε το ύψος ή την περιοχή των κορυφών του εκλούσματος. Υπολογίζουμε από την καμπύλη αναφοράς, την μάζα σε ng σε κάθε έκλουσμα.

Υπολογισμοί αποτελεσμάτων: υπολογίζουμε την συγκέντρωση της AFM1 σε $\mu\text{g l}^{-1}$, με τη χρήση του ακόλουθου τύπου:

$$c = m_a \times (V_f/V_i) \times (1/V_t)$$

όπου m_a : η μάζα σε ng που αντιστοιχεί στην περιοχή της κορυφής του εκλούσματος, V_i : ο όγκος σε ml του εκλούσματος που εγχύθηκε, V_f : ο τελικός όγκος σε ml του εκλούσματος, V_t : ο όγκος του δείγματος σε ml, που προετοιμάστηκε για να περάσει από τη στήλη. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε 3 δεκαδικά ψηφία.

**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 6: ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΑΥΤΟΜΑΤΟΥ
ΑΝΑΛΥΤΗ ΧΗΜΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΜΕ
MILKOSCAN FT1-FOSS**

Specifications	
	
Feature	Specification
Calibration range	Up to 50% Fat Up to 7% Protein Up to 7% Lactose Up to 55% Total Solids
Included calibrations	
<ul style="list-style-type: none"> • Milk • Cream • Whey • Yoghurt 	Fat, Protein, Lactose, Total Solids, SnF, FPD, Total Acidity, Density, FFA, Citric Acids, Urea, Casein Fat, Protein, Lactose, Total Solids, SnF Fat, Protein, Lactose, Total Solids Fat, Protein, Total Solids
Optional calibrations	
Fortified Milk & Whey <ul style="list-style-type: none"> • Concentrated Milk • Infant Formula Calibration • UF Whey Calibration • Evaporated Whey Calibration 	Fat, Total Solids, SnF Fat, Total Solids, SnF Protein, Total Solids Fat, Total Solids, Total Acidity, Lactose
Yoghurt & Fermented <ul style="list-style-type: none"> • Yoghurt/Fermented Products • Quark Calibration 	Fat, Protein, Lactose, Glucose, Sucrose, Total Sugars, Total Solids, SnF, Fructose Fat, Protein, Total Solids
Dessert & Ice Cream <ul style="list-style-type: none"> • Dessert & Ice Cream • Desserts & Flavoured Milks with Vegetable fat 	Fat, Protein, Lactose, Glucose, Sucrose, Fructose, Total Sugars, Total Solids Fat, Protein, Total Solids
ASM module	Screening for abnormal Milk
Accuracy	≤1% CV *on major raw cow Milk components (Fat, Protein , Lactose, Total Solids)
Repeatability	≤0.25% CV* on major raw Milk components (Fat, Protein , Lactose, Total Solids)
Analysis time	30 seconds for milk
Sample volume	8 ml.
Sample temperature	5 - 55°C (the sample must be homogeneous)
Cleaning	Automatic and programmable
Purging Efficiency	≥ 99%
Calibration Routine	Slope / Intercept adjustment
Network connections	LIMS, Mosaic
Optical System	Hermetically sealed, humidity control

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 7: ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΣΤΟ ΕΡΠ INFO v.3.4.3 ΓΙΑ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΩΝ

Εισ... Αρχείο Επεξεργασία Επιλογές Βοήθεια

1 Page
2 Page
3 Page
4 Page
5 Page
6 Page
7 Page

Επίδειξη
Αποθήκευση δεδομένων
Ποιασε εγγραφή ως διαγραφή
Εύρεση

Νέο

ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΕΚΤΡΟΦΗΣ

ΑΑ Ημερομηνία:

Α. ΣΤΟΧΕΙΑ ΕΚΤΡΟΦΗΣ

1. Ονοματεπώνυμο:

2. Νομός: Πόλη: Χωριό: Βέση:

3. Τηλέφωνο

Τύπος Αν ναι, πότε:

5. Αριθμός έγκρισης

Β. ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ στοιχεία

Γ. ΣΤΟΧΕΙΑ ΖΩΙΚΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

1. ΕΙΔΟΣ ΖΩΩΝ:

2. ΦΥΛΕΣ:

ΑΙΓΕΣ προσδιόρισε

ΠΡΟΒΑΤΑ προσδιόρισε

3. ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ:

3α. ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ:

3β. ΑΝΑΛΥΤΙΚΟΙ ΑΡΙΘΜΟΙ ΖΩΩΝ: ΘΗΛΥΚΑ ΑΡΣΕΝΙΚΑ ΝΕΑΡΑ <έτους>

4. ΑΠΩΛΕΙΣ ΤΟ ΤΕΛΕΥΤΑΙΟ ΕΤΟΣ:

5. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΑΠΩΛΕΩΝ: προσδιόρισε

6. ΝΕΟ - ΕΙΣΑΓΟΜΕΝΟΣ ΠΑΝΘΥΣΜΟΣ

7. ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΤΕΛΕΥΤΙΑΣ ΑΠΟΓΡΑΦΗΣ ΠΑΝΘΥΣΜΟΥ:

Εγγραφή 79 Νέα εγγραφή

<< < > >>

Πρέπει να εισαχθεί

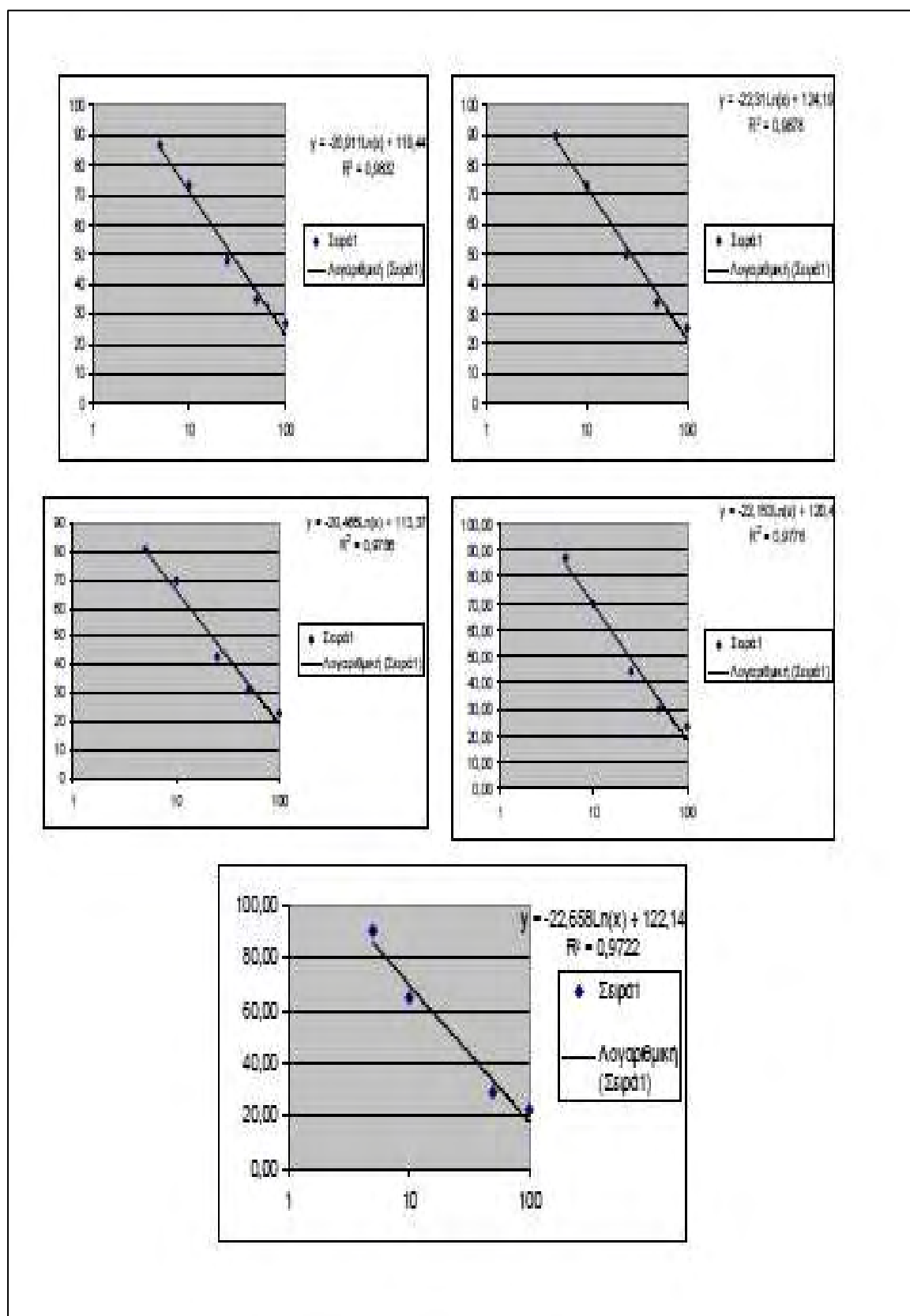
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 8: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

a/a	pH	Fat	Protein	Lactose	TS	SNF	a/a	pH	Fat	Protein	Lactose	TS	SNF
1	6.9	5.96	5.02	4.44	16.31	10.33	136	6.3	5.19	3.84	4.38	14.19	9.06
2	6.7	4.49	4.89	5.01	15.22	10.64	137	6.7	5.23	3.92	4.51	14.42	9.25
3	6.5	1.87	5.02	5.01	12.97	10.77	138	6.5	3.64	3.64	4.40	12.55	8.87
4	6.8	6.09	5.07	4.96	16.84	10.80	139	6.3	4.93	3.92	4.56	14.19	9.29
5	6.7	5.16	4.97	4.86	15.79	10.60	140	6.4	4.17	3.57	4.34	12.91	8.76
6	6.8	5.73	4.52	4.75	15.77	10.06	141	6.4	4.44	3.66	4.50	13.39	8.98
7	6.7	6.46	4.02	4.85	15.93	9.64	143	6.5	5.48	3.71	4.38	14.32	8.94
8	6.7	9.34	4.98	5.09	19.88	10.81	144	6.5	4.41	3.61	4.57	13.36	8.98
9	6.7	7.74	5.20	4.43	18.10	10.51	145	6.8	4.57	3.16	4.54	12.98	8.50
10	6.6	7.26	4.58	4.78	17.27	10.16	146	6.6	4.07	3.33	4.57	12.73	8.70
12	6.5	5.50	3.54	4.92	14.56	9.20	147	6.5	6.55	5.43	4.88	17.65	11.11
13	6.8	4.46	5.18	5.06	15.56	10.98	148	6.5	5.03	4.26	4.73	14.79	9.78
15	6.8	5.42	3.56	4.92	14.51	9.22	149	6.5	6.21	4.63	4.48	16.10	9.96
16	6.9	3.47	5.81	4.76	15.13	11.38	150	6.3	5.71	4.25	4.27	15.07	9.41
17	6.7	5.78	3.72	4.75	14.89	9.24	151	6.5	3.61	3.46	4.48	12.39	8.76
18	6.7	6.08	4.50	4.39	15.81	9.76	152	6.5	4.20	3.56	4.55	13.10	8.92
19	6.4	5.34	3.93	4.53	14.56	9.28	153	5.9	4.65	3.34	4.56	13.26	8.70
20	6.8	8.19	3.27	4.85	16.68	8.88	154	6.4	3.12	3.68	4.69	12.35	9.15
21	6.5	6.18	4.56	5.22	16.56	10.48	155	6.5	4.89	3.41	4.50	13.52	8.72
22	6.3	8.38	5.47	4.81	19.32	11.09	156	6.4	4.56	3.33	4.57	13.18	8.70
23	6.7	5.32	3.72	4.67	14.40	9.18	157	6.6	3.96	3.29	4.46	12.50	8.57
24	6.7	4.29	3.61	4.49	13.19	8.92	158	6.5	4.56	3.63	4.49	13.45	8.93
27	6.7	4.80	3.89	4.64	14.11	9.33	159	6.4	5.26	3.95	4.66	14.60	9.41
28	6.7	5.44	3.26	4.87	14.15	8.88	160	6.8	4.35	3.65	4.43	13.24	8.91
29	6.8	6.04	4.05	4.66	15.43	9.52	161	6.4	4.52	3.67	4.44	13.44	8.95
30	6.4	3.54	3.29	4.20	11.91	8.36	162	6.5	5.20	3.82	4.46	14.25	9.12
33	6.4	5.49	4.06	4.39	14.75	9.31	163	6.5	4.81	3.60	4.60	13.75	9.00
34	6.8	7.20	6.05	4.57	18.69	11.48	164	6.5	4.82	3.59	4.58	13.73	8.98
36	6.4	7.82	6.87	4.34	20.00	12.13	165	6.7	8.04	5.59	4.81	19.17	11.21
37	6.4	6.25	4.13	4.78	15.82	9.70	166	6.6	2.74	3.26	4.69	11.53	8.73
38	6.8	5.43	3.52	4.58	14.23	8.91	167	6.6	4.33	3.68	4.47	13.29	8.98
40	6.9	5.04	3.88	4.72	14.38	9.39	168	6.4	3.51	3.34	4.41	12.12	8.58
42	6.4	6.51	5.73	4.61	17.74	11.19	169	6.4	5.95	5.12	4.77	16.65	10.70
43	6.4	5.93	5.65	4.82	17.25	11.27	173	6.5	4.69	3.39	4.58	13.38	8.78
44	6.3	4.74	3.62	4.64	13.73	9.06	175	6.6	6.57	3.67	4.54	15.40	9.03
45	6.4	4.89	3.56	4.67	13.83	9.02	176	6.4	4.32	3.49	4.50	13.10	8.80
46	6.3	5.83	4.00	4.59	15.13	9.41	177	6.5	7.45	5.65	4.65	18.57	11.14
47	6.9	6.01	4.21	4.51	15.47	9.55	178	6.4	2.73	3.73	4.62	11.99	9.14
48	6.6	5.36	3.75	4.69	14.49	9.23	179	6.4	5.68	5.40	4.69	16.66	10.91
50	6.4	5.33	3.82	4.55	14.44	9.18	180	6.4	4.37	3.63	4.45	13.26	8.91
51	6.4	5.63	3.94	4.66	14.93	9.40	181	6.6	5.68	4.76	4.54	15.82	10.14
52	6.4	5.52	3.78	4.57	14.58	9.16	182	6.4	4.01	3.96	4.48	13.32	9.27
54	6.3	5.27	3.85	4.57	14.43	9.23	184	6.4	5.00	3.58	4.44	13.79	8.86
55	6.4	4.00	3.65	4.73	13.16	9.15	185	6.6	6.66	5.42	4.76	17.67	11.00
56	6.3	5.68	4.03	4.66	15.09	9.49	186	6.8	4.70	3.57	4.29	13.37	8.72

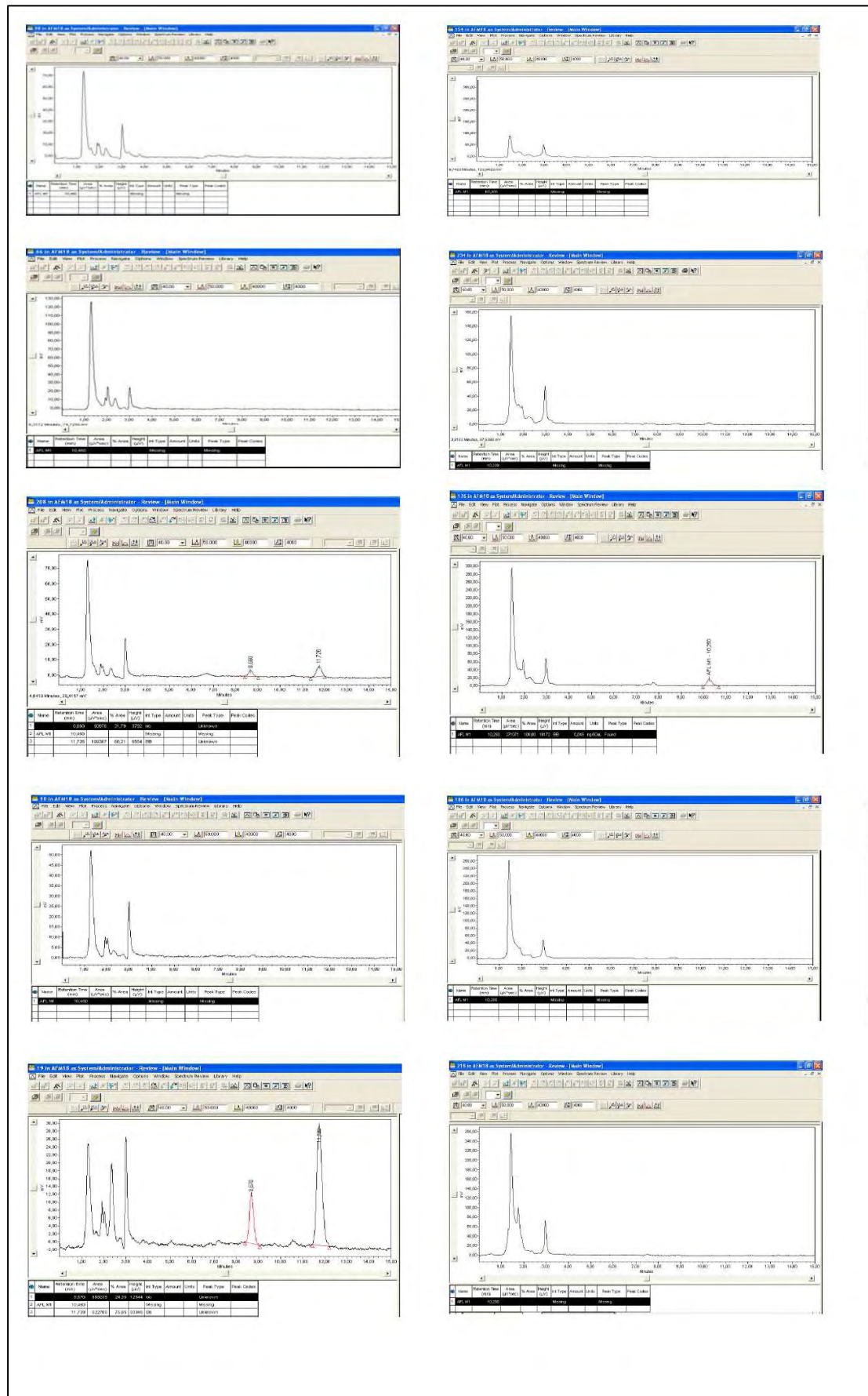
57	6.4	4.57	3.71	4.49	13.56	9.02	187	6.3	4.93	3.53	4.36	13.59	8.73
58	6.4	5.10	4.14	4.66	14.67	9.60	188	6.9	6.80	5.34	4.44	17.44	10.65
60	6.5	5.07	3.50	4.50	13.79	8.82	189	6	6.40	5.53	4.35	17.22	10.77
63	5.8	5.25	3.78	4.45	14.25	9.07	190	6.4	8.26	6.18	4.38	19.72	11.47
64	5.7	5.24	3.36	4.57	13.86	8.73	191	6.4	7.31	6.71	4.39	19.44	12.01
65	6.3	4.83	3.79	4.68	14.04	9.26	192	6.5	4.88	3.93	4.16	13.84	8.98
66	6.3	4.38	3.58	4.57	13.31	8.95	193	6.6	5.72	3.82	4.43	14.71	9.10
67	6.6	4.71	4.05	4.84	14.36	9.66	197	6.3	8.58	6.94	4.30	20.81	12.18
68	6.4	6.94	4.42	4.18	16.31	9.51	199	6.4	4.55	3.57	4.43	13.33	8.83
69	6.3	7.19	4.44	4.60	16.92	9.87	200	6.5	5.23	3.63	4.30	13.95	8.80
70	6.5	5.01	3.09	4.47	13.26	8.38	201	6.4	5.83	3.70	4.31	14.60	8.87
71	6.5	5.85	5.30	4.80	16.79	10.90	202	6.7	5.13	3.61	4.23	13.78	8.71
72	6.4	4.74	3.86	4.59	13.97	9.26	203	6.7	4.90	3.47	4.26	13.43	8.59
73	6.4	4.59	3.49	4.68	13.48	8.95	204	5.8	4.64	3.49	4.14	13.11	8.52
74	6.4	4.40	3.50	4.53	13.20	8.84	206	6.6	5.13	3.66	4.26	13.85	8.78
75	6.4	4.48	3.79	4.62	13.68	9.22	207	6.3	3.91	3.21	4.13	12.12	8.23
76	6.5	5.65	3.67	4.61	14.61	9.09	208	6.8	5.54	3.85	4.43	14.58	9.12
78	6.4	6.21	3.98	4.63	15.50	9.42	209	6.3	3.20	3.04	4.10	11.25	8.02
79	6.5	4.96	3.69	4.58	13.98	9.08	210	6.8	5.46	3.39	4.30	13.88	8.55
80	6.5	5.14	3.80	4.65	14.32	9.25	211	6.3	4.77	5.13	4.83	15.61	10.74
81	6.5	4.81	3.91	4.68	14.16	9.38	212	5.7	4.91	3.06	4.15	12.88	8.09
82	6.5	4.74	4.02	4.75	14.28	9.55	213	6.5	3.81	3.11	4.21	11.97	8.18
83	6.3	3.91	3.57	4.68	12.94	9.03	214	6.4	3.72	3.11	4.38	12.01	8.32
84	6.4	5.51	3.67	4.55	14.44	9.03	215	6.4	3.49	3.16	4.25	11.77	8.27
85	6.4	5.17	3.85	4.73	14.47	9.37	216	6.3	6.17	5.09	4.26	16.47	10.25
86	6.4	3.76	3.55	4.52	12.66	8.88	217	6.4	5.12	3.80	4.09	13.89	8.80
87	6.4	3.76	3.58	4.71	12.84	9.06	218	6.4	4.60	3.58	4.23	13.24	8.68
88	6.5	5.23	5.63	4.96	16.70	11.36	219	6.4	5.09	3.75	4.17	13.85	8.80
89	6.4	6.28	5.25	4.53	16.90	10.63	221	6.6	4.83	3.75	4.47	13.84	9.05
90	6.5	5.67	5.11	4.61	16.26	10.55	222	6.5	6.49	5.58	4.48	17.48	10.94
91	6.5	6.84	5.90	4.52	18.18	11.29	223	6.7	4.86	3.39	4.37	13.38	8.60
92	6.5	6.60	6.15	4.65	18.32	11.65	224	6.5	6.62	5.45	4.41	17.41	10.74
93	6.4	5.11	3.58	4.37	13.82	8.80	225	6.4	5.06	3.84	4.46	14.15	9.14
94	7.1	4.55	5.13	4.96	15.50	10.86	226	6.3	5.57	3.75	4.31	14.41	8.92
95	6.6	5.66	3.54	4.54	14.40	8.89	227	6.4	4.23	3.53	4.25	12.86	8.64
96	6.5	7.44	5.23	4.73	18.16	10.78	228	6.3	4.66	3.59	4.39	13.44	8.82
97	6.4	3.06	3.72	4.64	12.31	9.15	229	6.7	5.27	3.68	4.35	14.07	8.87
98	6.5	4.52	3.91	4.56	13.79	9.28	230	6.4	7.37	5.97	4.06	18.40	10.98
99	6.4	3.44	3.73	4.81	12.77	9.29	231	6.5	5.33	3.59	4.38	14.05	8.81
100	6.6	4.01	5.27	5.18	15.36	11.17	232	6.5	4.80	3.57	4.21	13.41	8.66
101	6.6	3.11	3.82	4.79	12.59	9.38	233	6.4	4.83	3.45	4.25	13.34	8.57
102	6.5	4.50	3.78	4.59	13.66	9.18	234	6.5	3.96	3.40	4.17	12.40	8.45
103	6.5	4.19	3.57	4.45	13.02	8.84	235	6.5	5.65	3.54	3.93	13.93	8.41
104	6.6	5.93	5.80	4.85	17.43	11.45	237	6.3	4.23	3.44	4.11	12.65	8.44
105	6.5	4.81	3.92	4.37	13.94	9.15	238	6.5	4.08	3.49	4.32	12.73	8.66
106	6.5	5.31	3.72	4.45	14.22	9.00	239	6.4	4.23	3.51	4.20	12.82	8.59

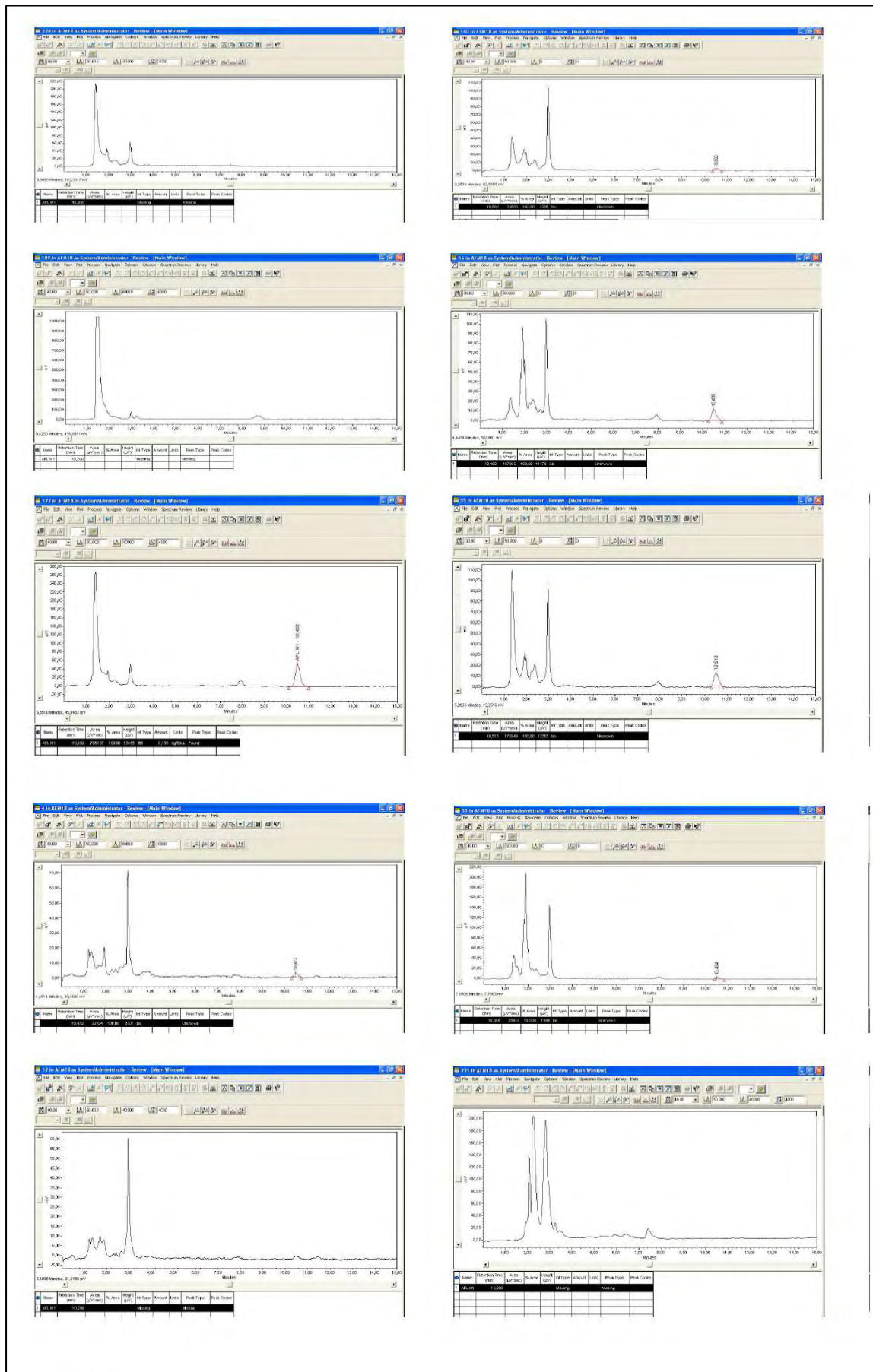
107	6.5	4.24	3.74	4.36	13.20	8.95	240	6.6	6.19	5.45	4.53	17.07	10.83
109	6.5	4.49	5.40	5.08	15.85	11.22	241	6.5	4.16	3.86	4.34	13.25	9.05
110	6.9	3.99	3.64	4.63	13.05	9.06	242	6.5	3.71	3.21	4.32	12.09	8.38
111	6.6	6.24	5.38	4.90	17.29	11.05	243	6.7	4.17	3.33	4.28	12.62	8.47
113	6.5	6.63	6.16	4.45	18.19	11.50	244	6.6	4.44	3.18	4.30	12.70	8.33
114	6.6	6.90	3.41	4.72	15.55	8.91	245	6.8	4.99	3.52	4.20	13.51	8.59
115	6.2	5.00	3.62	4.57	13.94	9.00	246	6.4	4.25	3.39	4.19	12.67	8.45
116	6.5	5.51	3.64	4.76	14.56	9.17	247	6.5	5.88	3.74	4.35	14.71	8.95
118	6.4	4.55	3.71	4.95	13.90	9.39	248	6.5	4.44	3.39	4.12	12.80	8.40
119	6.9	5.77	5.38	4.69	16.72	10.89	249	6.6	4.86	3.49	4.28	13.42	8.63
120	6.4	7.27	6.12	4.94	19.11	11.85	250	6.8	4.23	3.45	4.10	12.66	8.44
121	6.5	5.59	3.54	4.60	14.39	8.94	251	6.6	4.22	3.44	4.11	12.65	8.44
122	6.5	5.91	3.61	4.59	14.76	9.01	252	6.5	4.76	3.70	4.15	13.46	8.74
123	6.4	4.81	3.73	4.57	13.88	9.11	253	6.4	5.76	4.35	5.44	16.13	10.44
124	6.4	5.23	3.89	4.51	14.40	9.23	254	6.7	3.11	3.13	4.33	11.45	8.30
125	6.5	6.28	3.95	4.56	15.47	9.33	255	6.5	6.45	5.37	4.81	17.45	10.99
127	6.5	5.36	3.76	4.56	14.40	9.13	256	6.6	2.36	2.86	4.35	10.46	8.04
128	6.5	3.53	3.75	4.64	12.77	9.18	257	6.5	8.17	6.47	4.67	20.19	11.99
129	6.5	5.56	3.78	4.72	14.74	9.29							
130	6.5	4.07	3.99	4.71	13.60	9.48							
131	6.4	4.55	3.73	4.59	13.63	9.12							
132	6.3	5.33	3.69	4.52	14.27	9.04							
133	6.4	5.65	3.89	4.50	14.76	9.21							
134	6.4	4.58	3.61	4.53	13.48	8.95							
135	6.4	6.11	3.43	4.11	14.37	8.44							

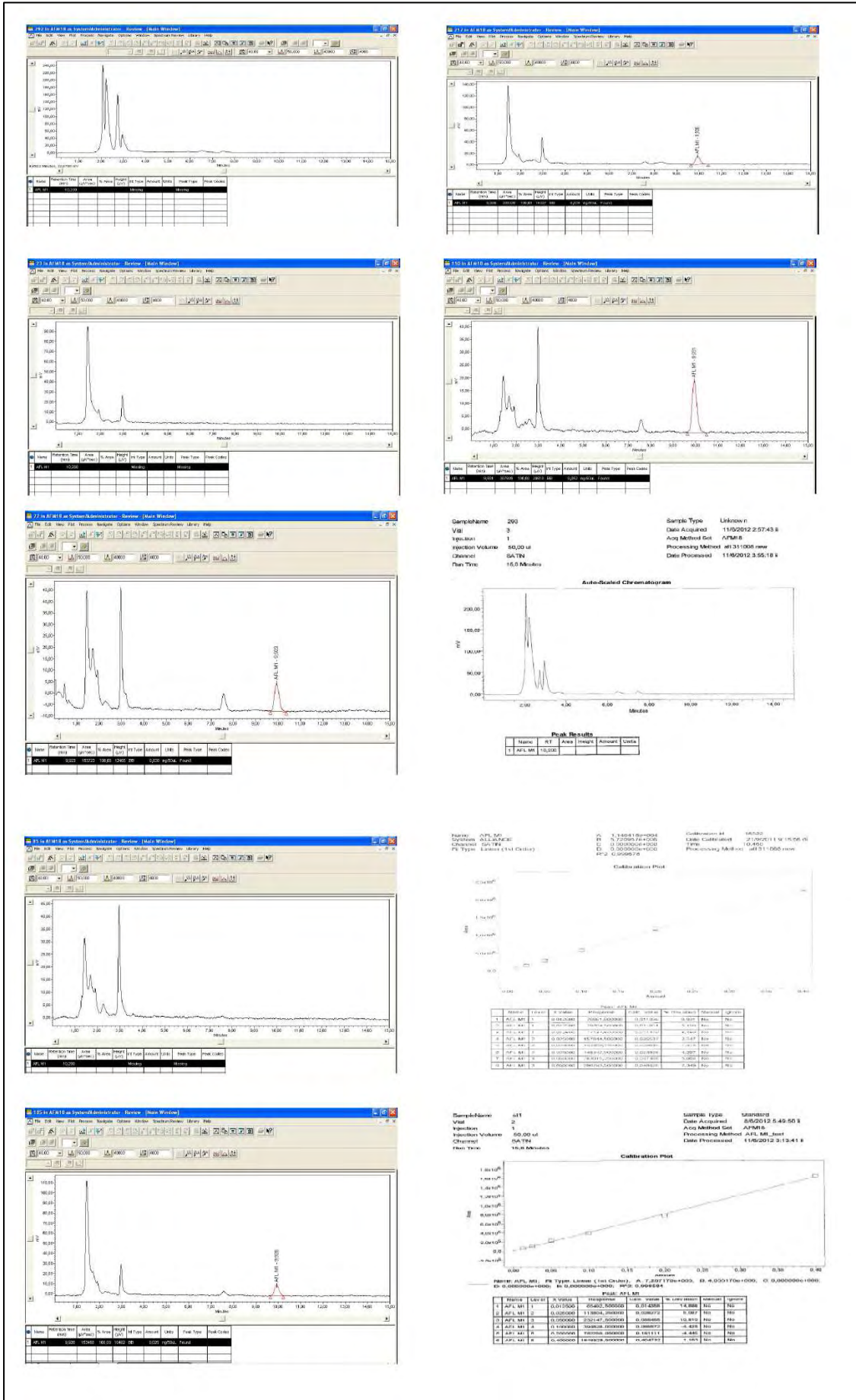
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 9: ΠΡΟΤΥΠΕΣ ΚΑΜΠΥΛΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ELISA



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 11: ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ HPLC-FLD







ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 12: ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ELISA ΚΑΙ HPLC-FLD

A/A	1η ELISA	2η ELISA	ΜΟ ELISA	1η HPLC	2η HPLC	ΜΟ HPLC
1	9,072	8,137	8,60	0	0	0,00
2	7,952	7,451	7,70	0	0	0,00
3	<5	<5	<5	0	0	0
4	89,50	88,07	88,79	89,00	90,00	89,50
5	<5	<5	<5	0	0	0,00
6	9,033	8,253	8,64	0	0	0,00
7	33,956	41,338	37,65	36	36	36,00
8	35,871	32,743	34,31	32	31	31,50
9	5,00	6,18	5,59	0	0	0,00
10	29,203	39,316	34,26	30	33	31,50
11	<5	<5	<5	0	0	0,00
12	<5	<5	<5	0	0	0,00
13	47,252	50,151	48,70	52	52	52,00
14	<5	<5	<5	0	0	0,00
15	<5	<5	<5	0	0	0,00
16	93,066	88,029	90,55	91	93	92,00
17	150,093	147,767	148,93	137	138	137,50
18	27,608	26,885	27,25	25	28	26,50
19	<5	<5	<5	0	0	0,00
20	<5	<5	<5	0	0	0,00
21	28,57	40,31	34,44	20	19	19,50
22	34,838	48,119	41,48	34	33	33,50
23	<5	<5	<5	0	0	0,00
24	<5	<5	<5	0	0	0,00
25	10,064	10,564	10,31	0	0	0,00

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 13: ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗΣ

E. Malissiova, A. Tsakalof, I. Arvanitogiannis, A. Katsafliaka, M. Koureas, P. Tserkezou, A. Govaris and C. Hadjichristodoulou (2013) **Monitoring Aflatoxin M1 levels in ewe's and goat's milk in Thessaly, Greece: potential risk factors under organic and conventional production schemes.** *Food Control* (10.1016/j.foodcont.2013.04.035)

Consumers prefer organic food as they consider it healthier and safer. Since Aflatoxin M1 (AFM1) in milk and dairy is considered as hazard to human health this study aimed to assess the level of AFM1 contamination in ewes and goats raw milk in Greece, identify possible risk factors and compare organic and conventional milk.

Thirty-nine organic and 39 conventional farms participated in this study and 243 samples were collected, during a lactation period (December–July). A standardized questionnaire and a sampling protocol were completed for all farms and samples, including information for the farming system. Samples were screened for AFM1 with ELISA and confirmed with HPLC. Analytical results were statistically analysed as to explore any associations with the questionnaire data for possible risk factors.

Out of 234 samples analysed, in 191 (81.6%) samples AFM1 was not detected, while 4 (1.7%) were found above the EU maximum tolerable limit of 50ngkg⁻¹. There was no conventional samples found over the maximum limit for AFM1 (0/117), while 4/117 (3.4%) organic samples exceeded 50ngkg⁻¹ [no statistically significant difference (p-value=0.122)]. It was found more possible for organic farms to present AFM1 contamination in comparison to conventional [no statistically significant difference (RR 1.2, 95%CI 0.71-2.02, p-value=0.492)]. Among several potential risk factors investigated for AFM1 milk contamination, the use of warehouse for feed storage (OR 2.69, 95%CI 1.25-5.79), winter season (OR 2.58, 95%CI 1.07-6.24) and feeding field pea (OR 4.17, 95%CI 1.41-12.32) were identified as statistically significant.

Organic milk samples were not found less contaminated with AFM1, but even higher contamination is possible, in comparison to conventional milk. The complex of the associated risk factors in AFM1 contamination found (winter season, feed storage practises and feeding pea), indicates that these should be associated when assessing AFM1 contamination risk in milk and that constant monitoring and increased farmer's awareness is needed.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Προσωπικά Στοιχεία

Όνοματεπώνυμο Ελένη Ν. Μαλισσιόβα

Τηλέφωνο 6945944992

E-mail malissiovalena@yahoo.com

Ακαδημαϊκές Σπουδές

Μάρτιος 2002 ΠΤΥΧΙΟ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΑΠΘ, Κατ/υση Υγιεινής & Τεχνολογίας Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης

Δεκέμβριος 2004 MSc Food Safety, Hygiene and Management, Παν/μιο Birmingham, UK

Δεκέμβριος 2005 MSc European Food Regulatory Affairs, Πανεπιστήμιο Ulster, UK

Δεκέμβριος 2009-2013 Υποψήφια Διδάκτορας Ιατρικής Θεσσαλίας, Εργαστήριο Υγιεινής & Επιδημιολογίας με ερευνητικό ενδιαφέρον στους ισχυρισμούς υγείας & διατροφής του βιολογικού γάλακτος

Επαγγελματική Εμπειρία

2002-2005 Επίσημος Κτηνίατρος απασχολούμενη σε Εταιρείες Ελέγχου της Βιομηχανίας Τροφίμων , Ηνωμένο Βασίλειο

2005-2006 Αγροτικός Κτηνίατρος στη Ν.Α. Λάρισας, Δ/υση Κτηνιατρικής

2006-2010 Εργαστηριακή Κτηνίατρος στο Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων (Ινστιτούτο Υγιεινής Τροφίμων Αθηνών και Κτηνιατρικό Εργαστήριο Λάρισας).

2008-σήμερα Αξιολογήτρια/Εμπειρογνώμονας αγροδιατροφικού τομέα, στο Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης (ΕΣΥΔ)

2010-σήμερα Καθηγήτρια Εφαρμογών-ΤΕΙ Λάρισας, Παράρτημα Καρδίτσας, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων με εξειδίκευση «Τεχνολογία και ποιοτικός έλεγχος γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων», Υπεύθυνη Διασφάλισης Ποιότητας Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων

Διδακτική Εμπειρία

- 2004-2005** **Επιστημονικός συνεργάτης** στο τμήμα **Environmental Health and Risk Management του Πανεπιστημίου του Birmingham, UK.**
- 2005-2006** **Εργαστηριακός Συνεργάτης** στο **ΤΕΙ Λάρισας**, στο Τμήμα Ζωικής Παραγωγής στο μάθημα **Τεχνολογία Γάλακτος**
- 2005-2006** **Εργαστηριακός Συνεργάτης** στο **ΤΕΙ Θεσ/κης**, Τμήμα Μεταποίησης & Διακίνησης Προϊόντων στο μάθημα **Διοίκηση Ποιότητας ΙΙ**
- 2006- σήμερα** **ΤΑΙΕΧ Expert Food Safety-Food Law.** Συμμετοχή ως εκπαιδευτής ενηλίκων σε σεμινάρια που διοργανώνονται από την Επιτροπή της Ευρωπαϊκής Ένωσης για την Διεύρυνση, σε πρόσφατα ενταγμένα Κράτη-Μέλη ή σε προς ένταξη χώρες .
- 2008-2010** **Εκπαιδύτρια Υγιεινής & Ασφάλειας Τροφίμων** εργαζομένων σε χώρους παραγωγής τροφίμων
- 2009-2010** **Επιστημονικός Συνεργάτης** στο **ΤΕΙ Λάρισας**, Παράρτημα Καρδίτσας, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, στα μαθήματα **Ασφάλεια Τροφίμων, Διασφάλιση Ποιότητας και Νομοθεσία Τροφίμων** και **Δεοντολογία Επαγγέλματος**
- 2009 έως σήμερα** **Εισηγήτρια** στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών **Δημόσια Υγεία και Περιβαλλοντική Υγιεινή του Τμήματος Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας:** Συγγραφή Επιστημονικής Μελέτης, Δειγματοληψία Τροφίμων, Έλεγχοι Τροφίμων, Βασικές Αρχές Διατροφής, Ποιότητα και Ασφάλεια Τροφίμων, Τροφιμογενείς Λοιμώξεις
- 2009 έως σήμερα** **Εισηγήτρια** στις διαλέξεις του μαθήματος **Δημόσια Υγεία & Επιδημιολογία του Τμήματος Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας:** Ζωοανθρωπονόσοι, Τροφιμογενή Νοσήματα, Βασικές Αρχές Διατροφής, Ποιότητα και Ασφάλεια Τροφίμων
- 2010 - σήμερα** **Καθηγήτρια Εφαρμογών στο Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων του ΤΕΙ Λάρισας:**
- Οργάνωση και διδασκαλία των ακόλουθων μαθημάτων: Τεχνολογία και Ποιοτικός Έλεγχος Γάλακτος και Γαλακτοκομικών Προϊόντων (Θεωρία και Εργαστήριο), Ασφάλεια Τροφίμων, Διασφάλιση Ποιότητας & Νομοθεσία Τροφίμων, Δεοντολογία Επαγγέλματος, Τεχνολογία και Ποιοτικός Έλεγχος Κρέατος και Προϊόντων Κρέατος (Θεωρία και Εργαστήριο), Τεχνολογία και Ποιοτικός Έλεγχος

Αλιευμάτων(Θεωρία και Εργαστήριο). Κατά το ΑΕ 2011-2012 οργάνωσα και δίδαξα επιπλέον το μάθημα Τοξικολογία Τροφίμων. Επίβλεψη έως σήμερα 10 πειραματικών και 4 βιβλιογραφικών πτυχιακών εργασιών.

Διαρκής Επαγγελματική Κατάρτιση

Συμμετοχή σε πάνω από **30 εκπαιδευτικά σεμινάρια, συνέδρια, ταχύρυθμα τμήματα** από το 2002 έως σήμερα.

Επιστημονικό Έργο

ΜΟΝΟΓΡΑΦΙΕΣ

1. **E. Malissiova** (2004) **“Campylobacteriosis and poultry abattoir workers”** MSc Food Safety, Hygiene & Management, University of Birmingham
2. **E. Malissiova** (2005) **“Development of the new EU Food Hygiene Regulations, Implementation in the UK and Implications for the Food Industry”** MSc European Food Regulatory Affairs, Ulster University

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΜΕ ΚΡΙΤΕΣ ΚΑΙ ΠΡΑΚΤΙΚΑ

1. Georgaki A., **Malissiova E.**, Schizonikas X. (2002) **“Meat Inspection and the Role of the Official Veterinary Surgeon in the UK”** 9th Panhellenic Veterinary Congress, Thessaloniki 2002
2. **E. Malissiova** and Smith. M. (2005) **“Campylobacteriosis and poultry abattoir workers”** 4th International Food Technology Congress, Athens 2005
3. A.McKevitt, **E. Malissiova**, M. Smith (2007) **“ Development of the new EU Food Hygiene Regulations, Implementation in the UK and Implications for the Food Industry”** 5th International Food Technology Congress, Thessaloniki 2007
4. G. Methenitou and **E. Malissiova** (2007) **“Regulatory framework on the production and trading of organic products and a comparison to the regulations for conventional farming and the new food hygiene package”** 5th International Food Technology Congress, Thessaloniki 2007
5. G. Methenitou, **E. Malissiova**, M.Pantelia (2008) **“Research on the current laboratory practices for the determination of antimicrobial residues in food of animal origin, on the basis of self control in the Food Industry and Official Control from the member states in the European Union”**, 1st National

- Veterinary Congress on Farm Animals, Food Safety and Hygiene and Consumers Protection, Athens 2008
6. G. Methenitou, **E. Malissiova**, M.Pantelia (2008) **“Traceability in the food businesses in relation to the legal requirements”**, 2nd DEDYT National Congress, Thessaloniki
 7. G. Methenitou, D. Skafidas, **E. Malissiova**, M.Pantelia (2008) **“Research on the incidence of antimicrobial agents in food of animal origin from tests performed in the National Reference Laboratory for Antimicrobial Agents during the period 2006-2008”**, 1st National Meat and Meat Products Congress, Athens 2008
 8. **E. Μαλισσιόβα**, Π. Τσερκέζου, Μ. Κουρέας, Χ. Χατζηχριστοδούλου (2010) **“Ασφαλή και ποιοτικά βιολογικά τρόφιμα-η άποψη του καταναλωτή”** 3^ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΔΕΔΥΤ , Θεσ/κη
 9. **E. Μαλισσιόβα** (2010) **“Δειγματοληψία Τροφίμων”** 1η Ημερίδα Δημόσιας Υγείας και Περιβαλλοντικής Υγιεινής, ΕΔΥΠΥ, Λάρισα
 10. Π. Ζήσης, Ε. Παπαρίζου, **E. Μαλισσιόβα**, Β. Μουχτούρη, Χ. Χατζηχριστοδούλου (2010) **“Αποτύπωση παραμέτρων υγιεινής σε επιβατηγά πλοία στην Ελλάδα”** 1η Ημερίδα Δημόσιας Υγείας και Περιβαλλοντικής Υγιεινής, ΕΔΥΠΥ, Λάρισα (**3^ο βραβείο** καλύτερης αναρτημένης εργασίας)
 11. **E. Μαλισσιόβα**, Ι. Αρβανιτογιάννης, Α. Τσακάλωφ, Φ. Παππάς, Π. Μιχαλοπούλου, Β. Μπούτσικα, Ε. Βρυώνης, Χ. Χατζηχριστοδούλου (2011) **«Παρουσία AFM1σε αίγαιο και πρόβειο γάλα, βιολογικής και συμβατικής προέλευσης, στην περιοχή της Θεσσαλίας»**, 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο του Φόρουμ Δημόσιας Υγείας και Κοινωνικής Ιατρικής
 12. Σ. Χριστοφορίδου, **E. Μαλισσιόβα**, Ο. Γκορτζή, Α. Τσακάλωφ, Χ. Χατζηχριστοδούλου (2011) **«Συγκριτική αξιολόγηση της αξιοπιστίας εμπορικών συσκευασιών ELISA για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση AFM1σε αίγαιο γάλα»**, 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο του Φόρουμ Δημόσιας Υγείας και Κοινωνικής Ιατρικής
 13. **E. Malissiova** (2011) **“Emerging food technologies and Risk Analysis”** 4th National Food Congress, Thessaloniki, Greece
 14. **E. Malissiova**, Α. Nikolopoulou, Α. Giannopoulou, D. Varelis (2012) **“Donkey’s milk chemical and microbiological assessment in the region of Thessaly, Greece”**. The European Federation of Food Science & Technology (EFFoST) International Conference: A Lunch Box for Tomorrow: An interactive combination of integrated analysis and specialized knowledge of food, Montpellier

ΠΡΟΣΚΕΚΛΗΜΕΝΗ ΟΜΙΛΗΤΡΙΑ

1. **E. Malissiova** (2006): **"Traceability system in red meat, white meat and milk processing plants"** Technical Assistance and Information Exchange Instrument, DG Enlargement, Sofia 2006
2. **E. Malissiova** (2006): **"New Hygiene Package in the animal origin food sector"** Technical Assistance and Information Exchange Instrument, DG Enlargement Varna, 2006
3. **E. Malissiova** (2007): **"Implementation of Quality Management Systems"**, Technical Assistance and Information Exchange Instrument, DG Enlargement Kiev, 2007
4. **E. Malissiova** (2007): **"Auditing HACCP systems and official control of GMO"** Technical Assistance and Information Exchange Instrument, DG Enlargement, Pestiany, 2007
5. **E. Malissiova** (2007): **"Auditing HACCP systems and official control of GMO"** Technical Assistance and Information Exchange Instrument, DG Enlargement, Poprad, 2007
6. **E. Malissiova** (2010) **"Food Handlers Hygiene"** SHIPSANTrainet, Seafarers Course, Barcelona
7. **E. Μαλισσιόβα** (2010) **"Έλεγχος περιβάλλοντος σε χώρους παροχής υγείας- Έλεγχος τροφίμων"** 3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελέγχου Λοιμώξεων, Αθήνα
8. **E. Μαλισσιόβα** (2010) **"Νέες Τεχνολογίες και Ασφάλεια Τροφίμων"** Ημερίδα Ινστιτούτου Τεχνολογίας & Διαχείρισης Αγροοικοσυστημάτων, Καρδίτσα
9. **E. Malissiova** (2011) **"Food Hygiene"** SHIPSANTrainet , Inspectors Course, Athens
10. **E. Μαλισσιόβα** (2011) **"Τροφογενείς Παρασιτώσεις - Το παράδειγμα της Τριχίνωσης"** Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Παθολογικής Κλινικής Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, Λάρισα
11. **E. Μαλισσιόβα** (2011) **"Νέες Τεχνολογίες και Ασφάλεια Τροφίμων"** Ημερίδα Επιμελητηρίου Χημικών Μηχανικών Δυτικής & Κεντρικής Ελλάδας
12. **E. Malissiova** (2012) **"Organic Food and Food Safety"**. Oikosfaira conference - Cultivate future...organic, Karditsa, Greece
13. **E. Malissiova** (2012) **"Hygiene and technology of home made food of animal origin"** KPE, Trikala, Greece
14. **E. Malissiova** (2012) **"Food safety and nutrition in school meal services"**, KPE, Karditsa

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. G. Methenitou and **E. Malissiova** (2008) **“Regulatory framework on the production and trading of organic products and a comparison to the regulations for conventional farming and the new food hygiene package”** Περιοδικό Πανελληνίας Ένωσης Τεχνολόγων Τροφίμων.
2. Fotiou V, **Malissiova E**, Minas A, Petinaki E, Hadjichristodoulou C (2012) **Seroprevalence of IgG Antibodies against Echinococcus granulosus in the population of the Region of Thessaly, Central Greece.** PLoS ONE 7(5): e37112. doi:10.1371/journal.pone.0037112
3. Varavara Mouchtouri, **Eleni Malissiova**, Panagiotis Zisis, Evina Paparizou & Christos Hadjichristodoulou (2012): **Assessment of hygiene standards and Hazard Analysis Critical Control Points implementation on passenger ships**, International Journal of Environmental Health Research, DOI:10.1080/09603123.2012.708920
4. **E.Malissiova** (2012) **Organic food and consumer attitude** KEELPNO Newsletter -11/2012
5. **E. Malissiova**, A. Tsakalof, I. Arvanitogiannis, A. Katsafliaka, M. Koureas, P. Tserkezu, A. Govaris and C. Hadjichristodoulou (2013) **Monitoring Aflatoxin M1 levels in ewe’s and goat’s milk in Thessaly, Greece: potential risk factors under organic and conventional production schemes.** (in press)
6. S. Christoforidou, **E. Malissiova**, O. Gortzi and C. Hadjichristodoulou **Comparative evaluation of ELISA kits reliability for the Aflatoxin M1 determination in goat’s milk.** (under review)

Ερευνητική Δραστηριότητα

2004-σήμερα: Συμμετοχή σε **8 ερευνητικά προγράμματα** ως μέλος ερευνητικής ομάδας .

Μέλος Οργανισμών και Επιμελητηρίων

Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία (2002)

Γεωτεχνικό Επιμελητήριο Ελλάδας (2002)

Πανελλήνιος Κτηνιατρικός Σύλλογος (2002)

Royal College of Veterinary Surgeons (2002-2005)

British Veterinary Association (2003-2004)

Society for General Microbiology (2004-2005)

Εμπειρογνώμονας ΤΑΙΕΧ (2006)

Εκπαιδευτής ΕΦΕΤ (2007)

Εκπαιδευτής ΕΚΕΠΙΣ (2008)

Αξιολογητής και Εμπειρογνώμονας ΕΣΥΔ (2008)

Εκπαιδευτής Εθνικού Κέντρου Διαρκούς Επιμόρφωσης (2009)

Εμπειρογνώμονας Ευρωπαϊκής Αρχής για τα Τρόφιμα (EFSA)
(2012)