



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ - ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ & ΔΙΟΙΚΗΣΗ ΥΠΗΡΕΣΙΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΠΟΥ ΔΙΑΚΙΝΟΥΝΤΑΙ ΚΑΙ ΣΕΡΒΙΡΟΝΤΑΙ
ΣΕ ΧΩΡΟΥΣ ΜΑΖΙΚΗΣ ΕΣΤΙΑΣΗΣ ΤΥΠΟΥ FAST
FOOD

ΣΠΑΓΟΥΛΑΚΗ ΜΑΡΙΑ
ΚΤΗΝΙΑΤΡΟΣ

Επιβλέποντες: Γ. Τσελέντης, ομότιμος
καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Κρήτης.

Α. Ψαρουλάκη, επίκουρη
καθηγήτρια, Τομέας Εργαστηριακής
Ιατρικής, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Κρήτης

Συμβουλευτική
Επιτροπή: Χ. Πανούλης, Κτηνίατρος,
Μικροβιολόγος Τροφίμων, Μονάδα
Μικροβιολογικής Υγιεινής
Τροφίμων Ύδατος και
Περιβάλλοντος, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Κρήτης.

Ηράκλειο, Νοέμβριος 2015

© 2015 ΣΠΑΓΟΥΛΑΚΗ ΜΑΡΙΑ
ALL RIGHTS RESERVED

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον ομότιμο καθηγητή Μικροβιολογίας κ. Τσελέντη Ιωάννη, την κ. Ψαρουλάκη Άννα, επίκουρη καθηγήτρια Μικροβιολογίας/Ζωονόσων του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης, καθώς και τον κ. Πανούλη Χρήστο, κτηνίατρο-μικροβιολόγο τροφίμων στη Μονάδα Μικροβιολογικής Υγιεινής Τροφίμων Ύδατος και Περιβάλλοντος του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης για την πολύτιμη βοήθειά τους στην ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας.

Οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλο το προσωπικό του εργαστηρίου για την υποστήριξη και τη βοήθεια που μου προσέφεραν.

Ευχαριστώ θερμά τον Διευθυντή σπουδών, τους διδάσκοντες και όλους τους συμμετέχοντες στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Δημόσια Υγεία και Διοίκηση Υπηρεσιών Υγείας» του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης για την προσφορά τους καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου στο πρόγραμμα αυτό.

Θερμές ευχαριστίες στην Υπηρεσία, τους συναδέλφους μου καθώς και στην κ. Ρουμελιωτάκη Θ., τον κ. Λιναρδάκη Εμμ. και την πολύ καλή μου φίλη Σμυρνάκη Ελένη για τη βοήθεια που μου προσέφεραν στην ολοκλήρωση της μελέτης αυτής.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου που ανέχτηκε την πολύωρη απουσία μου, μου συμπαραστάθηκε και με βοήθησε όπως και όσο μπορούσε, προκειμένου να καταφέρω να ολοκληρώσω τόσο τη φοίτηση όσο και την ολοκλήρωση των μεταπτυχιακών σπουδών μου και έτσι να πραγματοποιήσω ένα όνειρο που είχα εδώ και χρόνια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	1
ABSTRACT	2
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	3
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	4
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ	5
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
2 ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΕΡΑ ΑΙΤΙΑ ΤΡΟΦΙΜΟΓΕΝΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ	
2.1 Salmonella spp	9
2.2 Listeria spp	11
2.3 Coliforms E.coli	14
2.4 Staphylococcus spp-S.aureus	17
3 ΠΟΙΟΤΗΤΑ-ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ	20
3.1 HACCP: Σύστημα Διαχείρισης Ποιότητας	22
3.2 Ιστορική εξέλιξη και θεσμικό πλαίσιο	23
3.3 Αρχές εφαρμογής του HACCP	26
3.4 Εφαρμογή του συστήματος HACCP στη μαζική εστίαση	28
4 ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	
4.1 Βιολογικοί κίνδυνοι	30
1.4.2 Χημικοί κίνδυνοι	32
1.4.3 Φυσικοί κίνδυνοι	35
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
5 ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ-ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	

5.1 Ερευνητικό ερώτημα-Σκοπός και επί μέρους στόχοι της έρευνας	37
5.2 Μεθοδολογία	38
5.3 Εργαστηριακές μέθοδοι προσδιορισμού	
5.3.1 ISO 6579:2000 Salmonella	39
2.3.2 ISO 11290-1/97 ISO 11290-2/97 Listeria	42
2.3.3 ISO NF 16649- 1 ISO 16649-2 E.Coli, Coliforms	44
2.3.4 ISO 6888-1:1999 Staphylococcus πηκτάση θετικού	47
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	50
7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	70
8. ΣΥΝΟΨΗ	76
9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	78

Περίληψη Μεταπτυχιακής Εργασίας

Τίτλος εργασίας: Μικροβιολογική υγιεινή και ασφάλεια τροφίμων που διακινούνται και σερβίρονται σε χώρους μαζικής εστίασης τύπου fast food

Της: Σπαγουλάκη Μαρίας Κτηνιάτρου

Υπό τη επίβλεψη των: 1. Τσελέντη Γ.

2. Ψαρουλάκη Α.

Ημερομηνία: Νοέμβριος 2015

Οι τροφογενείς λοιμώξεις, προκαλούμενες κυρίως από ιούς και βακτήρια, αποτελούν μείζον ζήτημα για τη δημόσια υγεία και την ασφάλεια των καταναλωτών. Με την ολοένα αυξανόμενη, λόγω του γρήγορου ρυθμού ζωής, κατανάλωση έτοιμου φαγητού γίνεται επιτακτική η ανάγκη προσφοράς όσο το δυνατόν περισσότερο ασφαλών τροφίμων τύπου fast food.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της υγιεινής και ασφάλειας τροφίμων τύπου fast food που παρασκευάζονται και σερβίρονται από τέσσερις διαφορετικές εταιρείες που δραστηριοποιούνται στο χώρο της μαζικής εστίασης και διαθέτουν σύστημα ελέγχου HACCP.

Δείγματα τροφίμων επτά κατηγοριών (κρεατοσκευάσματα, γαλακτοκομικά, λαχανικά, σφολιατοειδή, προϊόντα αυγού, σαλάτες, σάντουιτς-πίτσες) εξετάστηκαν για τον προσδιορισμό των τροφογενών παθογόνων *Salmonella* και *Listeria* και των δεικτών υγιεινής *Staphylococcus (S.aureus)* και *Coliforms (E.coli)*

Από τα δείγματα τροφίμων που εξετάστηκαν, εκτός των ορίων ασφάλειας και των δεικτών υγιεινής βρέθηκαν σε ποσοστό 7,1%. Από τα αποτελέσματα φάνηκε επίσης ότι όσο αυστηρότερη ήταν η τήρηση των κανόνων και η συμμόρφωση με το σύστημα HACCP τόσο μικρότερο ήταν το ποσοστό των τροφίμων που ήταν εκτός των ορίων ασφαλείας και υγιεινής.

Λέξεις κλειδιά: Τρόφιμα, υγιεινή, ασφάλεια, fast food, HACCP, *Salmonella*, *Listeria*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*.

Abstract

Title: Microbiological hygiene and safety of food prepared and served in places of fast food-type

By: Spagoulaki Maria Veterinarian

Supervisors: 1.Tselentis G.

2.Psaroulaki A.

Date: November 2015

The foodborne infections, mainly caused by viruses and bacteria, are a major issue for public health and consumer's safety. With the increasing consumption of ready to eat food, due to the living conditions, it has become an urgent need to supply as much as possible safe food of that type.

The purpose of this study is to investigate the microbiological hygiene and safety of food prepared and served by four different companies operating in the catering and feature control HACCP system.

Samples of food of seven categories (meat products, dairy products, vegetables, pies, egg products, salads, sandwiches, pizzas) were tested to determine the foodborne pathogens Salmonella and Listeria and hygiene indicators Staphylococcus (*S.aureus*) and Coliforms (*E.coli*)

From the food samples tested a rate of 7.1% was found out of limits. The results showed also that the tightening was the observance of the rules and compliance with the HACCP system, the smaller was the proportion of food that was out of safety and hygiene limits.

Key words: Food, hygiene, safety, fast food, HACCP, Salmonella, Listeria Staphylococcus aureus, E.coli

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Συχνότητα εμφάνισης και ποσοστό δείγματος ανά εταιρεία

Πίνακας 2 Συχνότητα εμφάνισης και ποσοστά ενδιάμεσων και τελικών προϊόντων δείγματος

Πίνακας 3: Χαρακτηριστικά του δείγματος με βάση τη σύσταση

Πίνακας 4α: Συχνότητα εμφάνισης παραγόντων μικροβιακής ασφάλειας –υγιεινής επί του συνόλου των δειγμάτων

Πίνακας 4β: Συχνότητα εμφάνισης παραγόντων μικροβιολογικής ασφάλειας (*Salmonella Listeria*)

Πίνακας 5 : Συχνότητα εμφάνισης παραγόντων μικροβιακής υγιεινής επί του συνόλου των δειγμάτων

Πίνακας 6: Αποτελέσματα μικροβιολογικού ελέγχου για παρουσία *Salmonella spp*

Πίνακας 7: Αποτελέσματα μικροβιολογικού ελέγχου για παρουσία *Listeria spp* και *Listeria monocytogenes*

Πίνακας 8: Αποτελέσματα μικροβιολογικού ελέγχου για *Staphylococcus πηκτάση* +

Πίνακας 9 Αποτελέσματα μικροβιολογικού ελέγχου για δείκτες υγιεινής (*Coliforms* και *E.Coli*)

Πίνακας 10: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων μικροβιολογικού ελέγχου ανά μικροβιακό παράγοντα

Πίνακας 11: Ασφάλεια-υγιεινή των τροφίμων ανά εταιρεία που συμμετείχε στο συνολικό δείγμα

Πίνακας 12: Ασφάλεια-υγιεινή των τροφίμων του δείγματος. ανάλογα με τη σύστασή τους

Πίνακας 13: Συχνότητα εμφάνισης ασφαλών τροφίμων (εντός ή εκτός ορίων ασφαλείας και υγιεινής) ανά είδος τροφίμων του δείγματος

Πίνακας 14: Υπολογισμός κινδύνου για την ασφάλεια των τροφίμων ανάλογα με το είδος των τροφίμων του δείγματος.

Πίνακας 15: Το προφίλ των 62 τροφίμων εκτός ορίων ασφαλείας και υγιεινής ανάλογα με τη σύσταση και την κατηγορία τους

Πίνακας 16: Το προφίλ των 62 τροφίμων εκτός ορίων ασφαλείας ανάλογα με τη σύσταση και τους μικροβιακούς παράγοντες

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1 :*Salmonella spp.* στα τρόφιμα, συμπτώματα και προληπτικά μέτρα. (Αρβανιτογιάννης 2001)

Σχήμα 2 :*Listeria spp.* στα τρόφιμα, συμπτώματα και προληπτικά μέτρα. (Αρβανιτογιάννης 2001)

Σχήμα 3: *Coliforms & E.coli* στα τρόφιμα, συμπτώματα και προληπτικά μέτρα. (Αρβανιτογιάννης 2001)

Σχήμα 4: *Staphylococcus aureus* .Εντοπισμός στα τρόφιμα, συμπτώματα και προληπτικά μέτρα (Αρβανιτογιάννης 2001)

Σχήμα 5 : Είδος και ποσοστό κρεατοσκευασμάτων στο δείγμα

Σχήμα 6 :Είδος και ποσοστό γαλακτοκομικών προϊόντων στο δείγμα

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ

Π.Ο.Υ. Παγκόμιος Οργανισμός Υγείας
W.H.O. World Health Organization
C.D.C. Center for Disease Control and Prevention
ΙΝ.ΚΑ Ινστιτούτο Καταναλωτή
EFSA European Food Safety Authority
ETEC Enterotoxigenic Escherichia coli
EPEC Enteropathogenic Escherichia coli
EIEC Enteroinvasive Escherichia coli
EHEC Enterohemorrhagic Escherichia coli
DACC Diffuse-adhering Escherichia coli
ISO International Organization for Standardization
HACCP Hazard Analysis Critical Control Points
FAO Food and Agriculture Organization
Ε.Φ.Ε.Τ Ενιαίος Φορέας Ελέγχου Τροφίμων
NACMCF National Committee on Microbiological Criteria for Foods
ΚΣΕ Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου
CCP Critical Control Points
ICMSF International Commission on Microbiological Specifications for Foods
FDA Food and Drug Administration
FSAI Food Safety Authority of Ireland
FSAUK Food Safety Authority of United Kingdom

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παραγωγή ασφαλών τροφίμων θα πρέπει να είναι προτεραιότητα της βιομηχανίας παραγωγής, παρασκευής, αποθήκευσης και εμπορίας τους. Ο καταναλωτής εκτός από ένα ελκυστικό, όσον αφορά τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά προϊόν, τα οποία θα τον οδηγήσουν στην κατανάλωσή του, επιθυμεί και απαιτεί το τρόφιμο που θα καταναλώσει να έχει ελεγχθεί ως προς την υγιεινή και ασφάλειά του. Δυστυχώς αυτό δεν αποτελεί κανόνα με αποτέλεσμα πολύ συχνά ο καταναλωτής να έρχεται αντιμέτωπος με τις συνέπειες της ανεπάρκειας αυτής, που δεν είναι άλλες από τις τροφοδηλητηριάσεις και άλλες συναφείς καταστάσεις.

Πέρα από τις τακτικές που οφείλει να εφαρμόζει αφ' ενός η βιομηχανία παραγωγής τροφίμων και αφ' ετέρου οι χώροι πώλησής τους (με την εφαρμογή συστημάτων ποιότητας, τη διενέργεια αυτοελέγχων κ.λ.π), το κράτος υποχρεούται στη διενέργεια ελέγχων από τους αρμόδιους φορείς δημόσιας υγείας και την καταγραφή του βαθμού συμμόρφωσης των διαφόρων επιχειρήσεων με τη νομοθεσία.

Τα κρούσματα τροφιμογενών ασθενειών έχουν καταστροφικές υγειονομικές και οικονομικές συνέπειες σε όλες τις χώρες. Ο Π.Ο.Υ ξεκίνησε από το 2006 μια προσπάθεια για την εκτίμηση της παγκόσμιας επιβάρυνσης λόγω τροφιμογενών νοσημάτων ούτως ώστε να καταστεί δυνατή η παροχή στα κράτη δεδομένων και εργαλείων για τη χάραξη πολιτικών και εφαρμογή μέτρων για τον έλεγχο της κατάστασης σε επίπεδο χώρας. Η τελική έκθεση της εκτίμησης της παγκόσμιας επιβάρυνσης θα κυκλοφορήσει εντός του 2015 (WHO, 2015).

Οι τροφιμογενείς ασθένειες καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα νόσων και αποτελούν σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας παγκοσμίως. Από τις διαρροϊκές νόσους μόνο, σημαντικό ποσοστό των οποίων είναι τροφιμογενείς, οδηγούνται στο θάνατο 1,8 εκατομμύρια παιδιά παγκοσμίως κάθε χρόνο. Αν και οι περισσότερες από αυτές σημειώνονται σε φτωχές χώρες, δεν περιορίζονται μόνο σε αυτές, ούτε μόνο στα παιδιά.

Εκτιμάται ότι στις Η.Π.Α όπου η παροχή τροφίμων είναι από τις ασφαλέστερες στον κόσμο τα τροφιμογενή νοσήματα οδηγούν σε 76 εκατομμύρια νοσήσεις, 325.000 νοσηλείες και 5.000 θανάτους κάθε χρόνο. Η εξάλειψη των νόσων αυτών και των θανάτων που προκαλούν, αποτελεί μια πρόκληση για τη Δημόσια Υγεία. Επιπροσθέτως, το CDC εκτιμά ότι τα τροφιμογενή νοσήματα κοστίζουν στη χώρα 6,9 δισεκατομμύρια δολάρια ετησίως (CDC, 2015).

Σε ότι αφορά τους Έλληνες και σύμφωνα με στοιχεία του ΙΝ.ΚΑ κάθε μέρα παθαίνουν δηλητηρίαση περίπου 230 άτομα. Εκτιμάται ότι σε κάθε τροφοδηλητηρίαση που καταγράφεται αντιστοιχούν άλλες 25 -350 οι οποίες είτε δεν αναφέρονται, είτε δεν καταγράφονται. Συνεπώς, το πρόβλημα είναι πολύ μεγαλύτερο και εκτεταμένο απ' ότι αρχικά φαίνεται αν και τόσο η ολοκληρωμένη έκτασή του όσο και το κόστος που προκύπτει από αυτό, προς το παρόν παραμένουν άγνωστα. Τα δεδομένα από τις αναπτυσσόμενες χώρες, όπου οι πληθυσμοί είναι ιδιαίτερα εκτεθειμένοι σε μολυσμένα περιβάλλοντα, σπανίζουν (Stein et al, 2007).

Οι περισσότερες τροφοδηλητηριάσεις παγκοσμίως έχουν ως αιτιολογικούς παράγοντες παθογόνα στελέχη *Salmonella*, *S.aureus*, *C.perfringens*, *Shigella*, *E.coli*, *C.botulinum* και *V.parahaemolyticus*. Υπάρχει όμως και ένας μεγάλος αριθμός που χαρακτηρίζονται αγνώστου αιτιολογίας.

Σύμφωνα με στοιχεία που περιλαμβάνονται στις εκθέσεις της EFSA και του ECDC για τις ζωνόσους και τις τροφιμογενείς επιδημίες, το έτος 2013 αναφέρθηκαν στην ΕΕ συνολικά 5196 τροφιμογενείς επιδημίες, συμπεριλαμβανομένων και των υδατογενών επιδημιών (EFSA & ECDC, 2015). Συνολικά, το 2013 αναφέρθηκαν 43.183 κρούσματα σε ανθρώπους, 5.946 νοσηλείες και 11 θάνατοι. Ο μεγαλύτερος αριθμός των αναφερθέντων εστιών προκλήθηκε από τη σαλμονέλα (22,5% του συνόλου των κρουσμάτων), ακολουθούμενη από ιούς (18,1%), βακτηριακές τοξίνες (16,1%), και το *Campylobacter* (8,0%). Στο 28,9% των κρουσμάτων ο αιτιολογικός παράγοντας παρέμεινε άγνωστος. Τα κρούσματα οφειλόμενα στη *Salmonella*, παρουσιάζουν αισθητά πτωτική τάση κατά την δετία 2008-2013, σε αντίθεση με τον αριθμό των κρουσμάτων που οφείλεται σε βακτηριακές τοξίνες που αυξήθηκε κατά 58,9% (από 525 σε 834 κρούσματα), στην ίδια χρονική περίοδο. Σε σύγκριση με το 2012, τα κρούσματα από το

Campylobacter μειώθηκαν το 2013, ενώ υπήρξε μια αύξηση των κρουσμάτων που προκαλούνται από ιούς. Το 2013, όπως και τα προηγούμενα χρόνια, πηγές μόλυνσης ήταν τρόφιμα όπως τα αυγά και τα προϊόντα τους, τα ψάρια και τα αλιευτικά προϊόντα.

Οι ιοί και τα βακτήρια ευθύνονται για το 98% των τροφιμογενών ασθένειών (ιοί: 80% Βακτήρια: 18%). Μερικοί κοινοί ιοί που μπορούν να προκαλέσουν ασθένειες είναι ο ιός της ηπατίτιδας Α και οι νορο-ιοί (Norovirus). Αυτοί οι ιοί μεταδίδονται μέσω της κοπρανοστοματικής οδού, γεγονός που καθιστά εξαιρετικά σημαντικό για την πρόληψη το ενδεδειγμένο πλύσιμο των χεριών. Οι ιοί μπορούν να μεταφερθούν με οποιαδήποτε τροφή όμως δεν αναπτύσσονται στα τρόφιμα. Μερικά κοινά βακτήρια που μπορούν να προκαλέσουν τροφικές λοιμώξεις περιλαμβάνουν *Salmonella sp*, *E. coli 0157: H7*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria* και πολλά άλλα. Τα βακτήρια μπορούν να αναπτυχθούν σε "δυσνητικά επικίνδυνα" τρόφιμα αν δεν γίνονται σωστοί χειρισμοί σε αυτά. Τα βακτήρια έχουν ταχείς ρυθμούς ανάπτυξης και κάτω από βέλτιστες συνθήκες διαιρούνται κάθε 20 με 30 λεπτά. Αυτό καθιστά τον έλεγχο της θερμοκρασίας και την ασφάλεια των τροφίμων εξαιρετικά σημαντικό.

«Δυσνητικά επικίνδυνα τρόφιμα» ορίζονται ως εξής: Κάθε τρόφιμο ή συστατικό τροφίμου που είναι ικανό να υποστηρίξει την ταχεία και προοδευτική ανάπτυξη των μολυσματικών ή τοξικών μικροοργανισμών (αυτοί που παράγουν τοξίνες). Για να είναι δυσνητικά επικίνδυνο, ένα τρόφιμο πρέπει να είναι:

1. Υγρό

2. Μη-όξινο (pH στο ή πάνω από 4,6)

3. Μια πηγή τροφής για βακτήρια (το καλύτερο, η υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη)

Δυσνητικά επικίνδυνα τρόφιμα μπορεί να είναι: όλα τα κρέατα, γαλακτοκομικά προϊόντα, αυγά, μαγειρεμένα λαχανικά, γάλα σόγιας, ψημένα φασόλια, ζυμαρικά, δημητριακά, μαγειρεμένο ρύζι, λάχανα, σκόρδο, κρεμμύδι κ.λ.π (EFSA & ECDC, 2015).

2. ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΕΡΑ ΑΙΤΙΑ ΤΡΟΦΙΜΟΓΕΝΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ

2.1 *Salmonella*

Είναι μικρόβια Gram (-) αρνητικά, κινούμενα (εκτός από τη *S.gallinarum* και τη *S.pullorum* που είναι ακίνητες) με περίτριχες βλεφαρίδες και ανήκουν στην οικογένεια Enterobacteriaceae. Είναι προαιρετικά αναερόβιες. Καταστρέφονται στη θερμοκρασία των 60° C μετά από 15-20 λεπτά (Hammack T, 1994).

Το γένος *Salmonella* διαιρείται σε δυο είδη που μπορούν να προκαλέσουν ασθένεια στον άνθρωπο: *S.enteritica* και *S.bongori*. Η *S.enteritica* που είναι η πιο σημαντική για τη δημόσια υγεία, αποτελείται από έξι υποείδη:

- *S. enterica* subsp. *enterica* (I)
- *S. enterica* subsp. *salamae* (II)
- *S. enterica* subsp. *arizonae* (IIIa)
- *S. enterica* subsp. *diarizonae* (IIIb)
- *S. enterica* subsp. *houtenae* (IV)
- *S. enterica* subsp. *indica* (VI)

Η *Salmonella* διαιρείται περαιτέρω σε ορότυπους με τα ονόματα των οποίων αναφέρονται συνήθως. Για παράδειγμα, η *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* διαιρείται σε πολλούς ορότυπους συμπεριλαμβανομένων των *S. enteritidis* και *S. typhimurium*. (Hammack T, 1994).

Η Σαλμονέλλα μπορεί να προκαλέσει 2 τύπους ασθένειας:

Τον τυφοειδή πυρετό που προκαλείται από τα είδη *S. typhi* και *S.paratyphi* οι οποίες απαντώνται μόνο στους ανθρώπους. Εκδηλώνεται με υψηλό πυρετό, λήθαργο, συμπτώματα από το γαστρεντερικό με κοιλιακό άλγος και διάρροια που διαρκούν 2 με 4 εβδομάδες. Μπορεί να παρουσιαστούν επιπλοκές όπως σηψαιμία και αρθρίτιδα.

Τροφογενείς λοιμώξεις που οφείλονται σε σαλμονέλλα θεωρούνται οι λοιμώξεις από άλλα είδη σαλμονέλλας πλην των *S.typhi* και *S.paratyphi* (μη τυφοειδής Σαλμονέλλωση) (Hammack T, 1994).

Μη τυφοειδής Σαλμονέλλωση

Προκαλείται από διάφορους ορότυπους και συνήθως αυτοπεριορίζεται αν νοσήσουν άτομα υγιή με ισχυρό ανασοποιητικό. Εκδηλώνεται με διάρροια, έμετο, πυρετό και πονοκέφαλο που διαρκούν 4 ως 7 μέρες με αποτέλεσμα τη διαταραχή των ηλεκτρολυτών και την αφυδάτωση, που μπορεί να οδηγήσει στο θάνατο τους πολύ νέους, τους ηλικιωμένους και τους ανοσοκατεσταλμένους, αν δεν λάβουν κατάλληλη θεραπεία (Hammack T, 1994).

Πηγές μόλυνσης

Οι *Salmonella spp* είναι ευρέως διαδεδομένη στη φύση. Μεταδίδεται από την στοματική οδό και με επαφή με μολυσμένο νερό. (Κάποια πρωτόζωα μπορεί να λειτουργούν ως αποθήκη του μικροοργανισμού).

Αν και η *Salmonella* παραδοσιακά θεωρήθηκε ως συνδεδεμένη με τα ζωικά προϊόντα, και φρέσκα προϊόντα έχουν αποτελέσει πηγή σοβαρών επιδημιών, ιδιαίτερα τον τελευταίο καιρό. Ο οργανισμός επιβιώνει επίσης και στα τρόφιμα χαμηλής υγρασίας, όπως τα μπαχαρικά, τα οποία ευθύνονται για μεγάλες επιδημίες. Μερικά παραδείγματα των τροφίμων που έχουν συνδεθεί με ασθένεια προκαλούμενη από σαλμονέλα περιλαμβάνουν τα κρέατα, τα πουλερικά, τα αυγά, το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα ψάρια, γαρίδες, μπαχαρικά, μαγιά, καρύδα, σάλτσες, σάλτσες για σαλάτες παρασκευασμένες από μη παστεριωμένα αυγά, κέικ, επιδόρπια με γέμιση κρέμας και toppings που περιέχουν ωμό αυγό, αποξηραμένη ζελατίνη, φυστικοβούτυρο, κακάο, φρούτα και λαχανικά (όπως ντομάτες, πιπεριές και πεπόνια) και σοκολάτα. Η επιμόλυνση εμφανίζεται όταν σαλμονέλα μεταδίδεται από μια μολυσμένη πηγή - ένα μολυσμένο τρόφιμο ή ένα μολυσμένο χειριστή τροφίμων ή των ζώων - σε άλλα τρόφιμα ή αντικείμενα στο περιβάλλον. Ένα παράδειγμα για το πώς αυτό μπορεί να συμβεί είναι όταν δυνητικά μολυσμένα ωμά κρέατα, πουλερικά, θαλασσινά, ή τα αυγά δεν διατηρούνται χωριστά κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας ή του μαγειρέματος, ή όταν ένας χειριστής τροφίμων δεν καθαρίζει επαρκώς τα σκεύη, τις επιφάνειες, τον εξοπλισμό και τα χέρια, που έχουν έρθει σε επαφή με αυτά τα προϊόντα. Η διασταυρούμενη επιμόλυνση μπορεί να συμβεί σε οποιοδήποτε σημείο κατά τη διαδικασία επεξεργασίας των τροφίμων. Διασταυρούμενη μόλυνση μπορεί να προκύψει και από το χειρισμό κατοικιδίων ή άγριων ζώων, όπως χελώνες ή βατράχια (ή το νερό τους, την τροφή τους, το έδαφος). Κάποια κατοικίδια όπως χελώνες και άλλα ερπετά μπορεί να είναι φορείς

του μικροβίου και να μολύνουν οτιδήποτε έρθει σε επαφή με αυτά. Για παράδειγμα, ο ιδιοκτήτης ενός τέτοιου κατοικίδιου μπορεί να μολύνει το φαγητό του ή το πρόσωπό του με Σαλμονέλα εφόσον δεν πλύνει τα χέρια του μετά την επαφή τους με αυτό. Το σχήμα 1 παρουσιάζει τα τρόφιμα που βρίσκεται η *Salmonella spp*, τα συμπτώματα και τα προληπτικά μέτρα αποφυγής της μόλυνσης (Αρβανιτογιάννης, 2001).

Salmonella spp	Κρεατικά Πουλερικά Αυγά Ιχθυηρά Καρύδα Γάλα Αλλαντικά Τυρί Παγωτό Κακάο Σοκολάτα	Πυρετός Κοιλιακοί πόνοι Διάρροια Εμετός Πονοκέφαλος Ζαλάδες Ρίγος	Επαρκές μαγείρεμα και ταχεία ψύξη Αποφυγή επαναμόλυνσης Ψύξη ή κατάψυξη των γαλακτοκομικών Διατήρηση συνθηκών υγιεινής και ατομικής υγιεινής του προσωπικού Ρύθμιση του Ph<4 του NaCl>8% και aw<0.93
----------------	--	---	--

Σχήμα 1 :*Salmonella spp*. στα τρόφιμα, συμπτώματα και προληπτικά μέτρα.

2.2 *Listeria spp*

Στο γένος *Listeria* ανήκουν επτά είδη, από τα οποία τα πέντε είναι παθογόνα για τον άνθρωπο και είναι τα εξής:

Listeria monocytogenes

L. seligeri

L. ivanovii

L.innocua

L. welshmeri

L. grayi

L.murrayi

Από αυτά, παθογόνα για τον άνθρωπο είναι η *L. monocytogenes* και η *L.ivanovii*.

Η *Listeria monocytogenes* είναι ένα Gram-θετικό βακτήριο, σε σχήμα ραβδίου, ίσιο ή ελαφρά κεκαμμένο που διατάσσεται κατά ζεύγη σε οξεία γωνία ή μοναχικά. Αερόβιο

και εκλεκτικά αναερόβιο. Ασπορογόνο, χωρίς έλυτρο, περίτριχο. Έχει λίγες βλεφαρίδες με τις οποίες κινείται με τρομώδη κίνηση όταν αναπτύσσεται στους 20-25° C και παραμένει ακίνητο στους 35-37° C. Όταν καλλιεργηθεί σε στερεό θρεπτικό υλικό έχει μορφή περισσότερο κοκκοειδή και μοιάζει με στρεπτόκοκκο, όταν αναπτυχθεί σε ζυμό έχει μορφή βακτηριδίου και μοιάζει με κορνοβακτηρίδιο. Έχει 13 ορότυπους, μεταξύ αυτών, οι ορότυποι 1 / 2a, 1 / 2b και 4β έχουν συσχετιστεί με τη συντριπτική πλειοψηφία των τροφιμογενών μολύνσεων. Είναι ανθεκτική στο αλάτι και όχι μόνο μπορεί να επιβιώσει σε θερμοκρασίες κάτω από 1 ° C, αλλά επίσης να πολλαπλασιαστεί σε αυτές τις συνθήκες, σε αντίθεση με πολλά άλλα παθογόνα. Είναι επίσης αξιοσημείωτη η παραμονή της σε περιβάλλον παρασκευής τροφίμων. Το βακτήριο είναι πανταχού παρόν στο περιβάλλον και μπορεί να βρεθεί σε υγρό περιβάλλον, το έδαφος, και σάπια βλάστηση. Από τα πέντε άλλα είδη στο γένος *Listeria* μόνο *L. ivanovii* θεωρείται παθογόνος, και κυρίως σε μηρυκαστικά, και όχι σε ανθρώπους (Chen Y, 1994).

Παρά το ότι δεν είναι συχνή αιτία τροφιμογενών ασθενειών είναι η κύρια αιτία θανάτου από αυτές. Το CDC εκτιμά ότι στις ΗΠΑ 255 θάνατοι το χρόνο οφείλονται σε λοίμωξη από Λιστέρια. Η μολυσματική δόση είναι απροσδιόριστη και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως το στέλεχος και η ευαισθησία του ξενιστή. Σε περιπτώσεις, για παράδειγμα, που συνδέονται με μόλυνση από μη παστεριωμένο γάλα, είναι πιθανόν λιγότερα από 1000 κύτταρα να προκαλέσουν ασθένεια σε ευπαθή άτομα. Η γαστρεντερίτιδα που προκαλείται από *L.monocytogenes* έχει σχετικά σύντομη περίοδο επώασης, από μερικές ώρες σε 2 ή 3 ημέρες.

Η σοβαρή μορφή της ασθένειας μπορεί να έχει μια πολύ μακρά περίοδο επώασης, που μπορεί να κυμαίνεται από 3 ημέρες έως 3 μήνες. Η μόλυνση από *L.monocytogenes* προκαλεί δύο μορφές νόσου στον άνθρωπο:

- 1) γαστρεντερική νόσο, που γενικά υποχωρεί σε, κατά τα άλλα, υγιείς ανθρώπους.
- 2) την πολύ πιο σοβαρή μορφή της νόσου, που μπορεί να προκαλέσει σηψαιμία και μηνιγγίτιδα. Σε άτομα με ανέπαφο ανοσοποιητικό σύστημα, μπορεί να προκαλέσει οξεία εμπύρετη γαστρεντερίτιδα, τη λιγότερο σοβαρή μορφή της ασθένειας. Σε ευπαθείς πληθυσμούς, ωστόσο, η πιο σοβαρή μορφή της νόσου μπορεί να οδηγήσει σε σήψη και να εξαπλωθεί στο νευρικό σύστημα, προκαλώντας πιθανώς μηνιγγίτιδα (ηλικιωμένοι και ανοσοκατεσταλμένα άτομα). Όσον αφορά την εγκυμοσύνη, το ένα τρίτο των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων μητέρας-εμβρύου οδηγεί σε αποβολή ή θνησιγένεια (Chen Y, 1994).

Οι κατά τα άλλα υγιείς άνθρωποι μπορεί να έχουν ήπια συμπτώματα ή καθόλου συμπτώματα, εάν έχουν μολυνθεί με *L.monocytogenes*, ενώ άλλοι μπορεί να παρουσιάσουν πυρετό, μυϊκούς πόνους, ναυτία και έμετο, και, μερικές φορές, διάρροια. Όταν η πιο σοβαρή μορφή της λοίμωξης αναπτύσσεται και εξαπλώνεται στο νευρικό σύστημα, τα συμπτώματα μπορεί να περιλαμβάνουν πονοκέφαλο, δυσκαμψία του αυχένα, σύγχυση, απώλεια της ισορροπίας, και σπασμούς. Η είσοδος του μικροοργανισμού γίνεται από το στόμα. Πηγή των Λιστεριών είναι το φυσικό περιβάλλον, το έδαφος, τα φυτά, οι σε αποσύνθεση φυτικές ουσίες, τα νερά. Από τις πηγές αυτές μολύνονται τα ζώα. Τα ζώα από τα οποία μολύνεται ο άνθρωπος άμεσα ή έμμεσα είναι τα πρόβατα, οι αγελάδες, οι χοίροι, τα πουλερικά, τα θαλασσινά και τα ψάρια. Ο πιο συχνός τρόπος μόλυνσης του ανθρώπου είναι μέσω της τροφικής αλυσίδας (κατανάλωση γαλακτοκομικών τροφών που προέρχονται από ζώα άρρωστα με μαστίτιδα ή φυτικών τροφών που λιπάνθηκαν με κόπρανα ζώων). Μόλυνση των τροφίμων με Λιστέριες μπορεί να γίνει έμμεσα κατά την επαφή καθαρών τροφίμων με μολυσμένα όπως αυτό συμβαίνει στα οικιακά ψυγεία. Το σχήμα 2 παρουσιάζει τα τρόφιμα που εντοπίζεται η *Listeria spp.*, τα συμπτώματα και τα προληπτικά μέτρα αποφυγής (Αρβανιτογιάννης 2001).

Listeria spp	Κρεατικά Πουλερικά Γάλα Μαλακά τυριά Παγωτό	Πονοκέφαλος Εμετός Διάρροια Κοιλιακοί πόνοι Θάνατος σε άτομα με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα και βρέφη	Θέρμανση των τροφίμων και αποφυγή επαναμόλυνσης. Ψύξη ή κατάψυξη των γαλακτοκομικών Διατήρηση συνθηκών υγιεινής
--------------	---	---	--

Σχήμα 2 :Listeria spp. στα τρόφιμα, συμπτώματα και προληπτικά μέτρα.

2.3 Coliforms-E.coli

Τα εντεροβακτηριοειδή είναι μια οικογένεια Gram (-) αρνητικών βακτηριδίων που είναι αερόβια, ασπορογόνα, κινούμενα με περίτριχες βλεφαρίδες ή ακίνητα. Όλα ζυμώνουν τη γλυκόζη με παραγωγή οξέος, μερικά με παραγωγή αερίου, ανάγουν τα νιτρικά, παράγουν καταλάση, όχι όμως και οξειδάση. Παρά την ονομασία τους δεν είναι όλα

παράσιτα του εντέρου. Υπάρχουν είδη ή στελέχη που ζουν σε άλλες περιοχές του σώματός μας, στα φυτά και στο έδαφος. Πολλά είναι παθογόνα για τον άνθρωπο και όλα σχεδόν ευκαιριακά παθογόνα. Τα κολοβακτηριοειδή από την πλευρά τους συνιστούν μια ευρύτερη ομάδα της οικογένειας των εντεροβακτηριοειδών. Η παρουσία τους στα τρόφιμα υποδηλώνει, ως ένα βαθμό, μόλυνση του τροφίμου άμεσα ή έμμεσα με εντερικό περιεχόμενο. Κατά συνέπεια το τρόφιμο περιέχει πιθανώς και άλλους μικροοργανισμούς εντερικής προελεύσεως (*Salmonella*, *Shigella*, ιούς κ.λ.π). Επομένως τα κολοβακτηριοειδή αποτελούν δείκτη της υγιεινής καταστάσεως ενός τροφίμου (Feng P, 1994).

Στο γένος *ESCHERICHIA* (*ΕΣΕΡΙΧΙΑ*) ανήκουν δυο είδη, η *E.coli* και η *E.adecarboxylata*. Η *E.coli* είναι το τυπικό είδος του γένους αυτού κατά γενική παραδοχή. Αν και είναι απαραίτητο στοιχείο της φυσιολογικής εντερικής χλωρίδας, είναι μικρόβιο παθογόνο που προκαλεί μεγάλη ποικιλία εντερικών και εξωεντερικών λοιμώξεων. Είναι το συχνότερο απομονούμενο μικρόβιο από τις καλλιέργειες κλινικών δειγμάτων (Feng P, 1994).

Οι *E.coli* διαχωρίζονται στις ακόλουθες ομάδες:

1. Εντεροτοξινογόνες ή *ETEC*
2. Εντεροποθογόνες ή *EPEC*
3. Εντεροδιεισδυτικές ή *EIEC*
4. Εντεροαιμορραγικές ή *EHEC*
5. Διάχυτης προσκολλησεως *DAEC*
6. Ουροπαθογόνες

1. Εντεροτοξινογόνες ή *ETEC*

Προκαλεί γαστρεντερίτιδα σε ανθρώπους και είναι πιο γνωστός ως ο αιτιολογικός παράγοντας της διάρροιας των ταξιδιωτών. Είναι επίσης μια σημαντική αιτία της διάρροιας σε βρέφη, στις λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας αποδίδει 380.000 θανάτους (παγκοσμίως) κυρίως μεταξύ των παιδιών, κάθε χρόνο. Η μολυσματική δόση για τους ενήλικες, κυμαίνεται από 10 εκατομμύρια έως 10 δισεκατομμύρια κύτταρα *ETEC*. Για τα παιδιά η δόση μπορεί να είναι μικρότερη. Τα συμπτώματα ξεκινούν συνήθως 26 ώρες μετά από την κατάποση μπορεί όμως να εμφανιστούν και μεταξύ 8 και 44 ωρών.

Η ασθένεια από ETEC είναι συνήθως αυτοπεριοριζόμενη, ήπια και σύντομη. Ωστόσο, ορισμένες σοβαρές μορφές διαρκούν περισσότερο και μοιάζουν με χολέρα. Θεραπεία με αντιβιοτικά συνήθως δεν απαιτείται σε μολύνσεις από ETEC, αλλά φαίνεται να είναι αποτελεσματική στη μείωση της διάρκειας και της σοβαρότητας της ασθένειας. Σε βρέφη, ηλικιωμένους και εξασθενημένους ασθενείς ιδιαίτερα, η θεραπεία με ηλεκτρολύτες μπορεί να είναι απαραίτητη για την καταπολέμηση της αφυδάτωσης. Η λοίμωξη χαρακτηρίζεται από αιφνίδια έναρξη της διάρροιας η οποία είναι υδαρής και χωρίς αίμα ή βλέννα, σπανίως συνοδεύεται από υψηλό πυρετό ή εμετό. Άλλα συμπτώματα περιλαμβάνουν κοιλιακές κράμπες, χαμηλό πυρετό, ναυτία, και δυσφορία. Τα περισσότερα κρούσματα από ETEC συνδέονται με την κατανάλωση μολυσμένης τροφής ή νερού. ETEC βρίσκεται συχνά στα περιττώματα των ασυμπτωματικών φορέων, και οι άνθρωποι φαίνεται να είναι η πλέον πιθανή πηγή του. Παραδείγματα τροφίμων που εμπλέκονται σε μολύνσεις περιλαμβάνουν το τυρί μπρι, γαλοπούλα, μαγιονέζα, καβουρόψιχα, deli τρόφιμα και σαλάτες. Στις περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις, τα τρόφιμα μολύνθηκαν με ETEC μέσω των χειριστών των τροφίμων ή μέσω της χρήσης μολυσμένου νερού κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας. Δεν φαίνεται να μεταδίδεται από άτομο σε άτομο με επαφή, αλλά μερικές νοσοκομειακές λοιμώξεις έχουν συμβεί και είναι πιθανόν να οφείλονται στις ανθυγιεινές συνθήκες (Feng P, 1994).

2. Εντεροποθογόνες ή EPEC

Στη δεκαετία του 1940 και του 1950, EPEC ήταν μια συχνή αιτία της παιδικής διάρροιας στις Ηνωμένες Πολιτείες. Επί του παρόντος, λοιμώξεις EPEC είναι λιγότερο συχνές στις αναπτυσσόμενες χώρες, αλλά εξακολουθούν να είναι μια κοινή αιτία της διάρροιας στις αναπτυσσόμενες χώρες, ιδίως σε παιδιά μικρότερα των 2 ετών. Ποσοστά θνησιμότητας από 25% έως 50% έχουν αναφερθεί στο παρελθόν. Στις ανεπτυγμένες χώρες, η καλύτερη θεραπεία και ιατρικές εγκαταστάσεις έχουν μειώσει σημαντικά τη θνησιμότητα, αλλά εξακολουθούν να υπάρχουν ορισμένοι θάνατοι. Προκαλείται διάρροια που μπορεί να είναι ήπια. Ωστόσο, μερικές φορές η λοίμωξη μπορεί να είναι σοβαρή. Παρατηρούνται έντονη, υδαρής διάρροια, εμετός και χαμηλός πυρετός. Η προσκόλληση στον εντερικό βλεννογόνο προκαλεί σύνδρομο δυσαπορρόφησης. Τα τρόφιμα που εμπλέκονται είναι το ωμό βοδινό και το κοτόπουλο, αλλά οποιαδήποτε τρόφιμα εκτίθενται σε κοπρανώδη μόλυνση είναι ύποπτα. Στα μέσα της δεκαετίας του 1990, ένα ξέσπασμα EPEC στη Μινεσότα εντοπίστηκε σε έναν μπουφέ, αλλά κανένα συγκεκριμένο τρόφιμο δεν

ενοχοποιήθηκε. Το 1995, δύο επιδημίες στη Γαλλία πλήττουν από 59 άτομα και οι εστίες εντοπίστηκαν σε μαγιονέζα, μαρούλι, και τα τουρσιά. Λοιμώξεις με EPEC είναι συχνότερες στα βρέφη, ιδίως αυτά που τρέφονται με μπιμπερό. Επίσης, η χαμηλή ποιότητα του νερού που χρησιμοποιείται για την ενυδάτωση των βρεφικών τροφών στις υποανάπτυκτες χώρες μπορεί να είναι η πηγή EPEC στα βρέφη που ταΐζονται με μπουκάλι (Feng P, 1994).

3. Εντεροδιεισδυτικές ή *EIEC*

Προκαλούν μια αυτοιώμενη υδαρή δυσεντεροειδή διάρροια με βλέννη και σπάνια με αίμα και πυρετό. Όλοι οι πληθυσμοί είναι ευαίσθητοι σε λοιμώξεις από EIEC. Τα συμπτώματα εμφανίζονται συνήθως μέσα σε 12-72 ώρες μετά από την κατάποση των μολυσμένων τροφίμων. Παρουσιάζεται ήπια δυσεντερία, κοιλιακές κράμπες, διάρροια, εμετός, ρίγη και αίσθημα κακουχίας. Συνήθως τα συμπτώματα υποχωρούν σε 5-7 ημέρες. Οι μόνες γνωστές δεξαμενές είναι οι μολυσμένα οι άνθρωποι. Ως εκ τούτου, οποιαδήποτε τρόφιμα μολυσμένα με ανθρώπινα κόπρανα από ένα άρρωστο άτομο, είτε άμεσα είτε μέσω μολυσμένου νερού, μπορεί να είναι μολυσματικά.

Εισαγόμενο τυρί καμαμπέρ είχε εμπλακεί σε μια επιδημία γαστρεντερίτιδας που οφειλόταν σε EIEC το 1971, ένα προϊόν τόφου που είχε μολυνθεί στην Ιαπωνία, το 1988 και το 1994 σε ένα εστιατόριο στο Τέξας EIEC είχε ανιχνευτεί σε μολυσμένα guacamole (Feng P, 1994).

4. Εντεροαιμορραγικές ή *EHEC*

Στην ομάδα αυτή υπάγονται πολλοί ορότυποι, που απομονώθηκαν από διάφορες περιπτώσεις και διάφορες χώρες. Ο επικρατέστερος και ευκολότερα αναγνωρίσιμος ορότυπος είναι ο O157:H7. Τα νοσήματα που προκαλεί είναι η αιμορραγική κολίτιδα και το αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο. Η μολυσματική δόση εκτιμάται να είναι πολύ χαμηλή, από 10 έως 100 κύτταρα, ενώ των άλλων οροτύπων μπορεί να είναι ελαφρά υψηλότερη.

Τα συμπτώματα συνήθως αρχίζουν 3 έως 4 ημέρες μετά την έκθεση, αλλά ο χρόνος μπορεί να κυμαίνεται από 1 έως 9 ημέρες. Η αιμορραγική κολίτιδα χαρακτηρίζεται από σοβαρές κράμπες (κοιλιακό άλγος), ναυτία ή έμετο και διάρροια, που αρχικά είναι υδαρής, αλλά γίνεται έντονα αιματηρή που μοιάζει σαν να πρόκειται για χαμηλή γαστρεντερική αιμορραγία. Διαρκεί 3-4 ημέρες και συνήθως αυτοϊάται (Feng P, 1994).

Το αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο είναι βαριά νόσος που χαρακτηρίζεται από την τριάδα συμπτωμάτων: οξεία νεφρική ανεπάρκεια, θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα ή απλή θρομβοπενία και μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία.

Πηγές μόλυνσης μπορεί να είναι ωμό ή μη επαρκώς μαγειρεμένο βοδινό κρέας και τα προϊόντα του, νωπό γάλα, γιαούρτι, μαγιονέζα, λουκάνικα, τυριά, και μη παστεριωμένοι χυμοί φρούτων. Διάφορες πηγές νερού, συμπεριλαμβανομένου του πόσιμου, καθώς και η επαφή με ζώα σε εκμεταλλεύσεις ή σε ζωολογικούς κήπους έχουν προκαλέσει λοιμώξεις. Η μετάδοση της λοίμωξης από άνθρωπο σε άνθρωπο είναι καλά τεκμηριωμένη. Όλοι οι άνθρωποι πιστεύεται ότι είναι ευαίσθητοι σε αιμορραγική κολίτιδα, αλλά τα μικρά παιδιά και οι ηλικιωμένοι είναι πιο ευαίσθητοι και σε υψηλότερο κίνδυνο για πιο σοβαρές επιπλοκές, καθώς και οι ανοσοκατεσταλμένοι με αδύναμο ανοσοποιητικό. Το σχήμα 3 παρουσιάζει τα τρόφιμα που βρίσκονται τα *Coliforms* & *E.coli*, τα συμπτώματα που προκαλούν και τα προληπτικά μέτρα αποφυγής τους (Αρβανιτογιάννης 2001)

Coliforms & E.Coli	Μαλακά τυριά	Πυρετός	Επαρκές μαγείρεμα και ταχεία ψύξη Αποφυγή επαναμόλυνσης. Ψύξη ή κατάψυξη των γαλακτοκομικών Διατήρηση συνθηκών υγιεινής και ατομικής υγιεινής του προσωπικού Χλωρίωση του νερού και έλεγχος των εντόμων
	Κρεατικά	Κοιλιακοί πόνοι	
	Κρέμες	Διάρροια	
	Πουρές πατάτας	Εμετός	
	Νερό	Πονοκέφαλος	
	Πουλερικά	Ζαλάδες	
	Γάλα	Ρίγος	
	Παγωτό	Αφυδάτωση	

Σχήμα 3 : *Coliforms* & *E.coli* στα τρόφιμα, συμπτώματα και προληπτικά μέτρα. (Αρβανιτογιάννης 2001)

2.2.4 *Staphylococcus-S. aureus* (πηκτάση θετικοί)

Είναι Gram-θετικά, μη κινητά, καταλάση-θετικά, μικρά, σφαιρικά βακτήρια (κόκκοι), τα οποία, με μικροσκοπική εξέταση, εμφανίζονται σε ζεύγη, βραχείες αλυσίδες, ή σε συμπλέγματα που μοιάζουν με σταφύλι. Οι σταφυλόκοκκοι είναι παντού και είναι αδύνατον να εξαλειφθούν από το περιβάλλον. Πολλά από τα 32 είδη και υποείδη του

γένους *Staphylococcus* δυνητικά βρίσκονται στα τρόφιμα λόγω μόλυνσης από τον άνθρωπο, τα ζώα ή το περιβάλλον. Αρκετά είδη, έχουν την ικανότητα να παράγουν θερμικά σταθερές εντεροτοξίνες, που προκαλούν γαστρεντερίτιδα σε ανθρώπους. Οι σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες είναι πρωτεΐνες απλής αλυσίδας με μοριακά βάρη από 26.000 έως 29.000. Είναι ανθεκτικές σε πρωτεολυτικά ένζυμα, όπως η θρυψίνη και η पेψίνη, και έτσι μπορούν να διέρχονται ανέπαφες μέσω της πεπτικής οδού (Hait J, 1994).

Ο *S. aureus* είναι ο αιτιολογικός παράγοντας που κατά κύριο λόγο συνδέεται με την σταφυλοκοκκική τροφική δηλητηρίαση. Μπορεί να προκαλέσει τροφική δηλητηρίαση, σύνδρομο τοξικού σοκ, πνευμονία, μετεγχειρητική λοίμωξη του τραύματος και βακτηριαιμία. Ο *S. aureus* παράγει μια ποικιλία εξωκυτταρικών προϊόντων, πολλά από τα οποία δρουν ως παράγοντες λοιμοτοξικότητας. Είναι ένα από τα πιο ανθεκτικά μη σπορογόνα παθογόνα και μπορεί να επιβιώσει για παρατεταμένες περιόδους σε ξηρή κατάσταση. Θάνατοι από σταφυλοκοκκική τροφική δηλητηρίαση, προκαλούνται σπάνια και έχουν καταγραφεί σε ομάδες υψηλού κινδύνου, όπως βρέφη, ηλικιωμένοι και ανοσοκατεσταλμένα άτομα. Η σταφυλοκοκκική τροφική δηλητηρίαση είναι γενικά μια αυτοπεριοριζόμενη, οξεία έντονη ασθένεια. Η πιο κοινή επιπλοκή είναι η αφυδάτωση που προκαλείται από τη διάρροια και τους εμετούς. Η έναρξη των συμπτωμάτων συνήθως είναι ταχεία (1 έως 7 ώρες) και σε πολλές περιπτώσεις οξεία, ανάλογα με την ατομική ευαισθησία στην τοξίνη, το ποσό της τοξίνης που έχει καταναλωθεί και τη γενική υγεία του ατόμου. Τα συμπτώματα συνήθως περιλαμβάνουν ναυτία, κοιλιακό άλγος, εμετό και διάρροια. Σε πιο σοβαρές περιπτώσεις, αφυδάτωση, πονοκέφαλος, κράμπες μυών, και παροδικές μεταβολές στην αρτηριακή πίεση και τον ρυθμό των παλμών μπορεί να παρουσιαστούν. Η ασθένεια είναι σχετικά ήπια και συνήθως διαρκεί από λίγες μόνο ώρες ως μία ημέρα. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, είναι αρκετά σοβαρή ώστε να απαιτεί νοσηλεία. Ο *S. aureus* είναι η αιτία σποραδικών επεισοδίων τροφικής δηλητηρίασης σε όλο τον κόσμο. Το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (CDC) εκτιμά ότι, στις Ηνωμένες Πολιτείες, σταφυλοκοκκική τροφική δηλητηρίαση προκαλεί περίπου 241.188 ασθένειες, 1.064 νοσηλείες και 6 θανάτους κάθε χρόνο. Η πραγματική επίπτωση είναι άγνωστη για πολλούς λόγους όπως: η μικρή ανταπόκριση σε συνεντεύξεις, η λανθασμένη διάγνωση της νόσου διότι είναι παρόμοια με άλλους τύπους τροφικής δηλητηρίασης, η ανεπαρκής συλλογή δειγμάτων για εργαστηριακές αναλύσεις και το πιο σημαντικό, πολλά από τα θύματα δεν αναζητούν

ιατρική βοήθεια λόγω της μικρής διάρκειας της νόσου. Οι σταφυλόκοκκοι είναι ευρέως κατανομημένοι στο περιβάλλον. Μπορούν να βρίσκονται στον αέρα, τη σκόνη, τα λύματα, το νερό, το γάλα και τα τρόφιμα. Τα τρόφιμα που εμπλέκονται συχνά σε σταφυλοκοκκική τροφική δηλητηρίαση περιλαμβάνουν τα κρέατα και τα προϊόντα τους, πουλερικά και αυγά, σαλάτες με αυγό, τόνο, κοτόπουλο, πατάτες, μακαρόνια, προϊόντα αρτοποιίας, όπως γλυκίσματα και πίτες με κρέμα, εκλέρ σοκολάτας και το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Τρόφιμα που απαιτούν ιδιαίτερη προσοχή κατά την προετοιμασία και παραμένουν σε ελαφρώς υψηλότερη από την ορθή θερμοκρασία ψυγείου για παρατεταμένο χρονικό διάστημα μετά την προετοιμασία τους, συχνά συσχετίζονται με τις σταφυλοκοκκικές τροφικές δηλητηριάσεις. Εκτός και αν εφαρμόζονται διαδικασίες θέρμανσης, οι σταφυλόκοκκοι αναμένεται να υπάρχουν σε οποιαδήποτε τρόφιμα που διακινούνται άμεσα από τον άνθρωπο ή είναι ζωικής προέλευσης. Η θερμική καταστροφή των βιώσιμων κυττάρων δεν καταστρέφει την βιολογική δραστηριότητα των προσχηματισμένων σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών οι οποίες είναι εξαιρετικά σταθερές και μπορεί να παραμείνουν βιολογικά ενεργές. (Αρβανιτογιάννης 2001).

Staphylococcus aureus	Κρεατικά Πουλερικά Αυγά Ιχθυηρά Καρύδα Γάλα Αλλαντικά Τυρί Παγωτό Κακάο Σοκολάτα Μαγιονέζα	Σιελόρροια Εμετός Κοιλιακές κράμπες Διάρροια Ναυτία Υποθερμία Σωματική εξάντληση	Επαρκές μαγείρεμα και αναθέρμανση Ταχεία ψύξη και διατήρηση υπό ψύξη Αποφυγή επαναμόλυνσης Ψύξη ή κατάψυξη των γαλακτοκομικών Διατήρηση συνθηκών υγιεινής και ατομικής υγιεινής του προσωπικού Προσθήκη κατάλληλων βακτηριοστατικών ουσιών
-----------------------	---	--	---

Σχήμα 4: *Staphylococcus aureus* .Εντοπισμός στα τρόφιμα, συμπτώματα και προληπτικά μέτρα (Αρβανιτογιάννης 2001)

3.ΠΟΙΟΤΗΤΑ-ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Σε διεθνές επίπεδο, αναμένεται αύξηση των τροφοδηλητηριάσεων για την επόμενη δεκαετία. Αυτό οφείλεται σε πολλές αιτίες όπως:

- Οι καταναλωτές έχουν αλλάξει και συνεχίζουν να αλλάζουν τις διατροφικές τους συνήθειες. Τρώνε όλο και περισσότερο μακριά από το σπίτι, σε χώρους μαζικής εστίασης έτοιμα γεύματα, χωρίς να ασχολούνται καθόλου με την προετοιμασία τους. Τα τρόφιμα αυτά μπορεί να μην έχουν υποστεί την κατάλληλη θερμική επεξεργασία είτε λόγω ασυνέπειας είτε γιατί πρόκειται για τρόφιμα που καταναλώνονται ωμά (π.χ γάλα, λαχανικά).
- Ο τουρισμός που συνεχώς επεκτείνεται, απαιτεί την εξυπηρέτηση ολοένα και μεγαλύτερου αριθμού ατόμων σε μικρό χρονικό διάστημα χωρίς η βιομηχανία παραγωγής τροφίμων να είναι πάντα έτοιμη να τους εξυπηρετήσει.
- Παράλληλα με τον τουρισμό η μετακίνηση μεταναστών-εργατών χαρακτηρίζεται από μεγάλες διαφορές κοινωνικές, οικονομικές, διατροφικές κ.λ.π. Πολύ συχνά τα άτομα αυτά, που μπορεί να είναι φορείς παθογόνων μικροβίων, εργάζονται σε επιχειρήσεις μαζικής εστίασης.
- Οι βιομηχανίες τροφίμων με τη σειρά τους, προκειμένου να διασφαλίσουν την ύπαρξή τους αφ' ενός και το κέρδος τους αφετέρου, προσφέρουν νέους τύπους τροφίμων, νέες συσκευασίες που όμως χρειάζονται και νέες γνώσεις και τεχνικές προκειμένου να διασφαλίζεται η ασφάλεια και η προστασία του καταναλωτή. Η αύξηση στη μαζική παραγωγή και εμπορία τροφίμων σε διεθνές επίπεδο, θα εκθέσει τους καταναλωτές σε πολύ μεγαλύτερο κίνδυνο. Συχνά προκειμένου να επιτευχθεί μεγαλύτερη παραγωγή σε μικρότερο χρόνο, δεν δίνεται η απαραίτητη σημασία στην ασφάλεια του τροφίμου. Αυτό το πρόβλημα είναι μεγαλύτερο στις αναπτυσσόμενες χώρες.

Το μόνο πράγμα που μπορεί να διασφαλίσει την προστασία των καταναλωτών είναι η εφαρμογή ενός οργανωμένου συστήματος ελέγχου της παραγωγής, δηλαδή ενός συστήματος ποιοτικού ελέγχου και διασφάλισης ποιότητας.

Η ποιότητα είναι ένα μέτρο της εκπλήρωσης μιας απαίτησης ή διαφορετικά ορίζεται ως ένα αντιλαμβανόμενο ή υποκειμενικό μέτρο λόγω του ότι μετράται διαφορετικά από διαφορετικούς ανθρώπους. Έχουν διατυπωθεί διάφοροι ορισμοί για την ποιότητα και έχουν αναλυθεί από πολλούς. Το λεξιλόγιο ISO 8402 (1986) δίνει τον ορισμό: *Ποιότητα είναι το σύνολο των ιδιοτήτων και των χαρακτηριστικών ενός προϊόντος ή μια υπηρεσίας που συμβάλλουν στην ικανότητά του να ικανοποιεί εκφρασμένες ή υπονοούμενες ανάγκες.*

Με βάση τα πρότυπα της σειράς ISO, δίνονται οι παρακάτω ορισμοί:

Ποιότητα: Είναι η καταλληλότητα και η ασφάλεια στη χρήση του παραγόμενου προϊόντος. Το προϊόν που σχεδιάστηκε και κατασκευάστηκε ή η υπηρεσία που δόθηκε ικανοποιεί τις ανάγκες του χρήστη.

Διασφάλιση ποιότητας: Είναι όλες εκείνες οι κατάλληλα σχεδιασμένες και συστηματικές ενέργειες που κρίνονται απαραίτητες για να εξασφαλίσουν απαραίτητη εμπιστοσύνη στο προϊόν που δημιουργήθηκε ή σε μια παρεχόμενη υπηρεσία και να ικανοποιήσουν δεδομένες απαιτήσεις για την ποιότητα. Περιλαμβάνει σχεδίαση και/ή ανασκόπηση των προδιαγραφών, όπως επίσης επαλήθευση και επιθεωρήσεις στην παραγωγή, την εγκατάσταση και τις λειτουργίες ελέγχου.

Ο σκοπός ενός Συστήματος Ποιότητας για κάθε επιχείρηση είναι τετραδιάστατος και περιλαμβάνει τα εξής:

- Διασφάλιση του πελάτη ότι η επιχείρηση είναι ικανή να προσφέρει προϊόντα ή και υπηρεσίες που ικανοποιούν τις απαιτήσεις του
- Δημιουργία διαδικασίας σχεδίασης/ανάπτυξης/παραγωγής που αποτελεσματικά και οικονομικά να παράγει ποιοτικά προϊόντα
- Πρόβλεψη και πρόληψη μελλοντικών αποκλίσεων των χαρακτηριστικών του προϊόντος από τις προδιαγραφές
- Τόνωση της ανταγωνιστικής ικανότητας στο γενικότερο πλαίσιο των κανόνων της αγοράς και της ισχύουσας νομοθεσίας στη χώρα ή στην περιοχή όπου αναπτύσσεται (ένα Σύστημα Ποιότητας μπορεί να είναι εκτεταμένο και ευέλικτο, ώστε να ικανοποιεί διαφορετικούς νόμους).

Τα βασικά τμήματα ενός Συστήματος ποιότητας είναι τα εξής:

- Διαδικασίες, οδηγίες, μέθοδοι
- Έλεγχος προμηθευτών, αποθεμάτων
- Αναθεώρηση, σχεδίαση, εντοπισμός αδυναμιών
- Επιθεωρήσεις, έλεγχοι ποιότητας
- Στόχοι ποιότητας, σύγκριση με άλλα συστήματα
- Βελτίωση ποιότητας
- Εκπαίδευση (συνεχής!) προσωπικού, πιστοποίηση από κατάλληλους οργανισμούς (Τσακνής, 2008).

3.1 HACCP: Σύστημα Διαχείρισης Ποιότητας

Ο όρος HACCP προέρχεται από τα αρχικά των λέξεων «Hazard Analysis Critical Control Points» που στα Ελληνικά αποδίδεται ως «Ανάλυση Κινδύνων στα Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου». Το σύστημα HACCP αποτελεί μια συστηματική προσέγγιση στην αναγνώριση, την εκτίμηση και τον έλεγχο των κινδύνων (μικροβιολογικοί, φυσικοί και χημικοί) που συνδέονται με την αλυσίδα παραγωγής τροφίμων.

Το HACCP αποτελεί το στοιχείο-κλειδί σε ένα ολοκληρωμένο σύστημα διαχείρισης της παραγωγής ή ενός συστήματος ορθής παραγωγικής πρακτικής. Με άλλα λόγια ,το σύστημα HACCP εφαρμόζεται ακολουθώντας τα παρακάτω απλά βήματα:

- Ελέγχοντας την παραγωγή/προϊόν από την αρχή μέχρι το τέλος
- Αναγνωρίζοντας τους πιθανούς κινδύνους
- Εγκαθιστώντας ελέγχους και μέτρα παρακολούθησης
- Διατηρώντας αρχεία και γραπτή τεκμηρίωση όλων των διαδικασιών
- Διασφαλίζοντας ότι το σύστημα λειτουργεί αποδοτικά και αποτελεσματικά (Ropkins & Beck A, 2000).

Τα πλεονεκτήματα από την εφαρμογή ενός συστήματος HACCP είναι:

- 1.Είναι συστηματικό και επιστημονικό
- 2.Η δράση του είναι προληπτική
- 3.Εστιάζει τις τεχνικές δυνατότητες της εταιρίας σε κρίσιμες δραστηριότητες
- 4.Η πρόληψη που παρέχει συμβάλλει στη μείωση των απωλειών
- 5.Παρέχει αδιάψευστα στοιχεία συμμόρφωσης με την ισχύουσα νομοθεσία

6. Συμπληρώνει άλλα συστήματα διαχείρισης ποιότητας
7. Είναι διεθνώς αναγνωρισμένο (FAO/WHO, CODEX)
8. Διασφαλίζεται η οφειλόμενη επιμέλεια (Due diligence support)
9. Ο έλεγχος των κινδύνων είναι αποτελεσματικός
10. Εφαρμόζεται σε όλη την αλυσίδα των τροφίμων
11. Παρέχει αυξημένη και τεκμηριωμένη ασφάλεια προϊόντος
12. Συμβάλλει στην καλύτερη αξιοποίηση των πόρων της επιχείρησης
13. Βελτιώνει την εικόνα της επιχείρησης (Dillon & Griffith, 2001; Τσακλής, 2008).

3.2 Ιστορική εξέλιξη και θεσμικό πλαίσιο

Η τεχνική HACCP αναπτύχθηκε τη δεκαετία του '60 στην Αμερική από την ανάγκη που προέκυψε τα τρόφιμα που χρησιμοποιούσαν οι αστροναύτες στο διάστημα να είναι ασφαλή. Διότι ένας αστροναύτης που θα αρρώσταινε θα αποτελούσε κίνδυνο όχι μόνο για τον εαυτό του, αλλά και για όλη την ομάδα. Δημιουργήθηκε μια ομάδα επιστημόνων που άρχισε να ασχολείται με το πώς θα διασφαλιστεί η ασφάλεια των τροφίμων αυτών.

Το 1959 η Pillsbury με επικεφαλής επιστήμονα τον Dr. Bauman συμμετείχε στο πρόγραμμα. Η παραγωγή τροφίμων που δεν θα καταρρέουν σε συνθήκες μηδενικής βαρύτητας και θα παρέχουν επαρκή διατροφή, ήταν ένα από τα προβλήματα προς λύση. Η ασφάλειά τους ήταν επίσης ένα άλλο πρόβλημα. Ο Dr. Lachance της NASA, επέβαλλε αυστηρές μικροβιολογικές απαιτήσεις, συμπεριλαμβανομένων των ορίων για τα παθογόνα σε όλα τα τρόφιμα που προορίζονταν για διαστημικά ταξίδια (Bauman, 1995). Μαζί με τους υπόλοιπους επιστήμονες σύντομα συνειδητοποίησαν ότι οι παραδοσιακές μέθοδοι έλεγχου της ποιότητας ήταν ανεπαρκείς για να εγγυηθούν την ασφάλεια των τροφίμων. Μάλιστα, προκειμένου να εγγυηθούν ότι τα τρόφιμα ήταν ασφαλή, έπρεπε να ελέγξουν τόσα πολλά που στο τέλος υπήρχαν πολύ λίγα προς χρήση (Sperber & Stier 2009).

Οι σημαντικότεροι σταθμοί στην πορεία του H.A.C.C.P είναι οι παρακάτω :

- ❖ 1959 Συνεργασία NASA και Αμερικανικού στρατού για την παρασκευή ασφαλών τροφίμων για τα πληρώματα των διαστημοπλοίων
- ❖ 1963 Δημιουργία του Codex Alimentarius (διεθνής κώδικας τροφίμων) από FAO (Food and Agriculture Organization=Οργανισμός τροφίμων και γεωργίας του ΟΗΕ) και WHO

- ❖ 1969 Δημιουργία διεθνή κώδικα υγιεινής τροφίμων από την επιτροπή του Codex Alimentarius
- ❖ 1971 Πρώτη παρουσίαση του H.A.C.C.P κατά τη διάρκεια του εθνικού συνεδρίου για την προστασία των τροφίμων (Η.Π.Α)
- ❖ 1978 Αναγνώριση της ανάγκης της εφαρμογής του H.A..C.C.P και εκτός Η.Π.Α (Από τον Παγκόσμιο Οργανισμό υγείας).Ο ΠΟΥ συστήνει την εισαγωγή της μεθοδολογίας H.A.C.C.P (για πρώτη φορά με αυτή την ονομασία) και σε συνεργασία με τη Διεθνή Επιτροπή για τις μικροβιολογικές προδιαγραφές τροφίμων, εκδίδει έκθεση που περιέχει τις αρχές του συστήματος
- ❖ 1989 Έκδοση οδηγού H.A.C.C.P, ο οποίος περιλαμβάνει 7 νέες αρχέςκαι τους κυριότερους ορισμούς
- ❖ 1993 Το H.A.C.C.P γίνεται υποχρεωτικό στην Ε.Ε. με την οδηγία 93/43, εκδίδονται και πληθώρα σχετικών οδηγιών. Παράλληλα ενσωματώνεται στον κώδικα υγιεινής τροφίμων του Codex Alimentarius. Σύμφωνα με την οδηγία 93/43 η εφαρμογή του H.A.C.C.P είναι υποχρεωτική σε κάθε επιχείρηση τροφίμων και ποτών ,είτε εμπορική είτε μεταποιητική και εφαρμόζεται από τις μεγαλύτερες επιχειρήσεις. Η κοινοτική οδηγία 93/43, οριζόντια οδηγία για την υγιεινή όλων των τροφίμων με ισχύ από 14/01/1996, υποχρεώνει δηλαδή όλους τους επαγγελματίες που ασχολούνται με τα τρόφιμα ,να λάβουν μέτρα για την υγιεινή και την ποιότητα των προϊόντων τους.
- ❖ 2002 Το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και το Συμβούλιο καθορίζει τις γενικές αρχές και τις απαιτήσεις για τα τρόφιμα, με την ίδρυση της ευρωπαϊκής αρχής για την ασφάλεια των τροφίμων (EFSA) και τον καθορισμό διαδικασιών σε θέματα τροφασφάλειας (κανονισμός (ΕΚ) 178/2002)
- ❖ 2004 Αντικαθίσταται η οδηγία 93/43 με τον κανονισμό 852/2004 «για την υγιεινή των τροφίμων» (Αρβανιτογιάννης, 2001).

Σύμφωνα με τον παραπάνω κανονισμό της ΕΕ όλες οι επιχειρήσεις τροφίμων θα πρέπει να αναπτύξουν και να εφαρμόσουν τεκμηριωμένα το σύστημα H.A.C.C.P μέχρι το τέλος του 2005. Εξαιρέση για την εφαρμογή του H.A.C.C.P αποτελούν οι επιχειρήσεις:

- Στην πρωτογενή παραγωγή τροφίμων για ιδιωτική χρήση
- Στην οικιακή παρασκευή, χειρισμό και αποθήκευση τροφίμων για ιδιωτική κατανάλωση

- Στην άμεση προμήθεια από τον παραγωγό μικρών ποσοστών πρωτογενών προϊόντων (προϊόντα πρωτογενούς παραγωγής περιλαμβανομένων των προϊόντων εδάφους, της κτηνοτροφίας, της θύρας και της αλιείας) στον τελικό καταναλωτή ή στα τοπικά καταστήματα λιανικής πώλησης που προμηθεύουν άμεσα τον τελικό καταναλωτή. Στα κέντρα συλλογής και βυρσοδεψίας, τα οποία εμπίπτουν στον ορισμό της επιχείρησης τροφίμων. (Αρβανιτογιάννης, 2001).

Παράλληλα ακολούθησαν οι Κανονισμοί 853/2004 «ειδικοί κανόνες υγιεινής για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης» και 854/2004 «Καθορισμός ειδικών διατάξεων για την οργάνωση των επίσημων ελέγχων στα προϊόντα ζωικής προέλευσης που προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο».

Σημαντική εξέλιξη στο νομοθετικό πλαίσιο που διέπει τα τρόφιμα έφερε και ο Κανονισμός 178/2002, μέσω του οποίου επιβάλλεται υποχρεωτικά από τη 01/01/2005 η ανιχνευσιμότητα σε όλα τα στάδια της παραγωγής, της μεταποίησης και της διανομής. Τα προϊόντα πρέπει να φέρουν/συνοδεύονται από την κατάλληλη αναγνώριση/σήμανση ώστε οι επιχειρήσεις (μεταποιητές, έμποροι) να αναγνωρίζουν τους προμηθευτές τροφίμου, ζωοτροφής, ζώου που χρησιμοποιείται στην παραγωγή τροφίμου ή άλλης ουσίας που ενσωματώνεται σε αυτά. Η σχετική απαίτηση είναι καινούρια και πολλές φορές δύσκολη στην εφαρμογή (Τσακνής, 2008).

Στην Ελλάδα η υποχρεωτική εφαρμογή του H.A.C.C.P επιβάλλεται με την 1219/04-10-2000 οπότε και ενεργοποιείται ο Ενιαίος Φορέας Ελέγχου Τροφίμων (Ε.Φ.Ε.Τ) που είναι υπεύθυνος για τον έλεγχο εφαρμογής συστημάτων H.A.C.C.P στις επιχειρήσεις, καθώς επίσης και με την Υπουργική απόφαση 487 Κ.Υ.Α. 487/21-09-2000 με την οποία ενσωματώθηκε στην εθνική μας νομοθεσία η οδηγία 93/43.

Οι επιχειρήσεις είναι υποχρεωμένες με δικιά τους ευθύνη να αναπτύξουν και να εφαρμόσουν ένα σύστημα H.A.C.C.P. Ο Ε.Φ.Ε.Τ με τις συναρμόδιες υπηρεσίες των Νομαρχιακών Αυτοδιοικήσεων ελέγχει και επαληθεύει την ορθή εφαρμογή του συστήματος.

Παράλληλα και σε όλες τις χώρες της ΕΕ ισχύει και ο κανονισμός 852/2004 με την υποχρεωτική εφαρμογή του H.A.C.C.P όλες τις επιχειρήσεις τροφίμων.

3.3 Αρχές του H.A.C.C.P

Για την παραγωγή ασφαλών τροφίμων με μηδενικό επίπεδο παθογόνων μικροοργανισμών και τοξινών θα πρέπει να εγκατασταθούν τρία επίπεδα :

1. Εγκατάσταση κανόνων Ορθής Υγιεινής Πρακτικής για την παρεμπόδιση επιμόλυνσης των τροφίμων από μικροοργανισμούς. Αυτή περιλαμβάνει έλεγχο των συστατικών των τροφίμων, του εξοπλισμού και της εγκατάστασης, του καθαρισμού, της απολύμανσης και του προσωπικού.
2. Παρεμπόδιση ανάπτυξης των μικροοργανισμών και παραγωγής τοξίνης. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί μέσω της ψύξης, της κατάψυξης ή άλλων διαδικασιών, όπως μείωση της ενεργότητας του νερού ή του pH. Αυτές οι διαδικασίες ωστόσο δεν καταστρέφουν τους μικροοργανισμούς.
3. Καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών. Για παράδειγμα, με τη χρήση ενός συνδυασμού θερμοκρασίας-χρόνου ή με τη χρήση κατάλληλων συντηρητικών.

Αυτά τα μέτρα είναι βασικά για την εφαρμογή του H.A.C.C.P και μπορούν να επιτευχθούν με επτά βήματα-επτά αρχές. Οι αρχές αυτές έχουν οριστεί από τις Codex Alimentarius Commission (1993) και National Committee on Microbiological Criteria for Foods (NACMCF,1992). Πρόκειται για μια διεθνώς αναγνωρισμένη διαδικασία. Αντιρρήσεις, ωστόσο, προκύπτουν με την εγκατάσταση και εφαρμογή των επτά αρχών και διάφοροι ερευνητές τις έχουν χωρίσει σε δεκατέσσερα στάδια (Τσακλής, 2008).

Αρχή 1^η: ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΙΝΔΥΝΩΝ

Προσδιορισμός των πιθανών κινδύνων που σχετίζονται με την παραγωγή των τροφίμων σε όλα τα στάδια από την ανάπτυξη και τη συγκομιδή των πρώτων υλών, την παραγωγική διαδικασία, την επεξεργασία και τη διανομή των προϊόντων, μέχρι την τελική προετοιμασία και κατανάλωσή τους. Προετοιμασία ενός λεπτομερούς διαγράμματος ροής, με όλα τα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας, από τις πρώτες ύλες μέχρι το τελικό προϊόν. Αξιολόγηση της πιθανότητας εμφάνισης και σοβαρότητας των κινδύνων, και προσδιορισμός των προληπτικών μέτρων για τον έλεγχο αυτών.

Αρχή 2^η: ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΩΝ ΚΡΙΣΙΜΩΝ ΣΗΜΕΙΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ (ΚΣΕ)

Προσδιορισμός των σημείων/διεργασιών/φάσεων λειτουργίας που μπορούν να ελεγχθούν, για να εξαφανίσουν ένα κίνδυνο ή να ελαχιστοποιήσουν την πιθανότητα εμφάνισής του (Κρίσιμο Σημείο Ελέγχου-CCP). Ο όρος «φάση λειτουργίας» σημαίνει κάθε στάδιο στην παραγωγή και / ή στην επεξεργασία του τροφίμου, συμπεριλαμβανομένων και των πρώτων υλών, της παραλαβής τους και / η της παραγωγής, συγκομιδής, μεταφοράς, σχηματισμού, επεξεργασίας, αποθήκευσης κ.τ.λ.

Αρχή 3^η: ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΡΙΣΙΜΩΝ ΟΡΙΩΝ ΓΙΑ ΤΑ ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ ΠΟΥ ΕΦΑΡΜΟΖΟΝΤΑΙ ΣΕ ΚΑΘΕ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΜΕΝΟ ΚΣΕ

Καθορισμός των κρίσιμων ορίων, τα οποία πρέπει να ικανοποιούνται, ώστε να εξασφαλίζεται ότι κάθε Κρίσιμο Σημείο Ελέγχου (CCP) βρίσκεται υπό έλεγχο. Τα κρίσιμα όρια περιγράφουν τη διαφορά μεταξύ ασφαλούς και μη ασφαλούς προϊόντος στα ΚΣΕ. Αυτά περιλαμβάνουν μια μετρήσιμη παράμετρο. Παράμετροι που μπορούν να αποτελέσουν ένα κρίσιμο όριο είναι η τιμή μιας θερμοκρασίας, ο χρόνος, η υγρασία ή η ενεργότητα ύδατος, η συγκέντρωση άλατος ή η οξύτητα.

Αρχή 4^η: ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΚΣΕ

Εγκατάσταση ενός συστήματος παρακολούθησης των Κρίσιμων Σημείων Ελέγχου (CCP's) και των κρίσιμων ορίων τους. Καθιέρωση των διαδικασιών επεξεργασίας των αποτελεσμάτων της παρακολούθησης, με σκοπό τη ρύθμιση της παραγωγής και την διατήρηση αυτής υπό έλεγχο.

Αρχή 5^η: ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΔΙΟΡΘΩΤΙΚΩΝ ΕΝΕΡΓΕΙΩΝ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΚΣΕ ΟΤΑΝ Η ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΔΙΑΠΙΣΤΩΣΕΙ ΑΠΟΚΛΙΣΗ ΑΠΟ ΤΟ ΚΑΘΟΡΙΣΜΕΝΟ ΚΡΙΣΙΜΟ ΟΡΙΟ

Καθορισμός των διορθωτικών ενεργειών, οι οποίες πρέπει να πραγματοποιούνται, όποτε το σύστημα παρακολούθησης δείχνει ότι ένα συγκεκριμένο CCP βρίσκεται εκτός ελέγχου, δηλαδή ότι εμφανίζεται απόκλιση από ένα καθορισμένο κρίσιμο όριο.

Αρχή 6^η: ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ HACCP

Τα αρχεία πρέπει να φυλάσσονται και να αποδεικνύουν ότι το σύστημα λειτουργεί σωστά. Επίσης, ότι οι απαραίτητες διορθωτικές ενέργειες υλοποιήθηκαν σε κάθε απόκλιση από τα κρίσιμα όρια. Η τεκμηρίωση άλλωστε αποδεικνύει την ασφαλή παραγωγή τροφίμων.

Αρχή 7^η: ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΡΘΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Οι διαδικασίες επαλήθευσης πρέπει να αναπτυχθούν για να διατηρείται το σύστημα HACCP και για να διασφαλίζεται ότι συνεχίζει να δουλεύει σωστά (Τζιά και Τσιαπούρης, 1996; Τσακνής, 2008). Οι αρχές αυτές δίνουν έμφαση στην ανάλυση των κινδύνων και στην αναγνώριση των κρίσιμων σημείων ελέγχου, στην εγκατάσταση διαδικασιών παρακολούθησης και διορθωτικών ενεργειών κάθε ΚΣΕ, καθώς και στην εγκατάσταση διαδικασιών επαλήθευσης και έγγραφης τεκμηρίωσης του συστήματος HACCP. Η εγκατάσταση των παραπάνω αρχών πρέπει να λαμβάνει υπ όψη τις ιδιαιτερότητες κάθε επιχείρησης τόσο από πλευράς εξοπλισμού όσο και παραγωγικής διαδικασίας.

3.4 Εφαρμογή του Συστήματος HACCP στη μαζική εστίαση

Η ανάπτυξη και εφαρμογή ενός συστήματος HACCP σε χώρους κουζίνας εστιατορίων προϋποθέτουν υψηλό βαθμό τήρησης των κανόνων υγιεινής από το προσωπικό, επειδή κατά την επεξεργασία των τροφίμων η ανθρώπινη επαφή είναι συχνή και ο βαθμός επικινδυνότητας της επιμόλυνσης των παραγόμενων εδεσμάτων από το προσωπικό εξαιρετικά μεγάλος. Επομένως ένα σημαντικό τμήμα κατά τα αρχικά στάδια σχεδιασμού του συστήματος είναι η εγκατάσταση προγραμμάτων για την εκπαίδευση του προσωπικού στους κανόνες ορθής υγιεινής πρακτικής. Επιπλέον θα πρέπει να εγκατασταθούν κατάλληλα προγράμματα καθαρισμού και απολυμάνσεων του χώρου επεξεργασίας και σερβιρίσματος των εδεσμάτων.

Πριν ξεκινήσει ο σχεδιασμός ενός συστήματος HACCP σε ένα χώρο κουζίνας εστιατορίου, ξενοδοχείου κ.λ.π., θα πρέπει να ληφθούν υπόψη οι ιδιαιτερότητες που παρουσιάζει ο συγκεκριμένος κλάδος επιχειρήσεων οι οποίες είναι οι εξής:

1. Μεγάλη ποικιλία προϊόντων και συστατικών

2. Διαφορετικά και σύνθετα προσφερόμενα μενού
3. Διαφορετικές μέθοδοι επεξεργασίας, που χρησιμοποιούνται ανάλογα με τη συνταγή του εδέσματος
4. Πολλοί και συχνά εναλλασσόμενοι προμηθευτές και κατ' επέκταση χρησιμοποιούμενες πρώτες ύλες
5. Συχνές τροποποιήσεις στα προσφερόμενα μενού
6. Συχνές εναλλαγές στο προσωπικό, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται νέες ανάγκες για την εκπαίδευσή του.

Στοιχεία από έρευνες για τροφοδηλητηριάσεις από τρόφιμα σε σημεία μαζικής εστίασης στις Η.Π.Α δείχνουν ότι συγκεκριμένες ενέργειες συμβάλλουν σ' αυτές τις επιδημίες. Οι δέκα σημαντικότεροι παράγοντες είναι οι ακόλουθοι:

1. Ψύξη. Παραμονή μαγειρεμένου φαγητού σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Αποθήκευση σε μεγάλους περιέκτες στα ψυγεία
2. Μεσολάβηση 12 ή και παραπάνω ωρών μεταξύ της προετοιμασίας και της κατανάλωσης
3. Χειρισμός των τροφίμων από μολυσμένα άτομα
4. Ανεπαρκής αναθέρμανση
5. Όχι ικανοποιητική διατήρηση θερμοκρασίας
6. Μολυσμένες πρώτες ύλες-συστατικά
7. Τρόφιμα προερχόμενα από μη ασφαλής πηγές
8. Ανεπαρκής καθαρισμός του εξοπλισμού και των συσκευών
9. Διασταυρούμενη μόλυνση από ωμά σε μαγειρεμένα τρόφιμα
10. Ανεπαρκές μαγείρεμα (Bryan, 1990; Health Care Agency, 2015).

Όταν υπάρχουν οι παράγοντες που σχετίζονται με τη μετάδοση, την επιβίωση ή και την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, ο κίνδυνος για τροφιμογενείς λοιμώξεις είναι υψηλός. Ως εκ τούτου πρέπει να δοθεί μεγάλη σημασία στην εξάλειψη των παραγόντων αυτών. Τα μέτρα που πρέπει να λαμβάνονται έχουν να κάνουν με: α) την παρεμπόδιση ή τουλάχιστον τη μείωση της επιμόλυνσης των τροφίμων, β) παρεμπόδιση της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών και γ) την απουσία μικροβιακών ρυπαντών και τοξινών. Αυτά μπορούν να επιτευχθούν μέσω ενός καλά οργανωμένου συστήματος HACCP. (Dundes & Swann, 2008).

4. ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Το σύστημα HACCP ως σύστημα ελέγχου για τα τρόφιμα, άμεσα συνδεδεμένο με την υγιεινή και ασφάλεια αυτών, σχεδιάζεται με σκοπό την εξάλειψη συναφών προβλημάτων, έχοντας επιβεβαιώσει την ύπαρξη σημείων ελέγχου σε κάθε στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας όπου είναι δυνατόν να παρουσιαστούν επικίνδυνες ή κρίσιμες καταστάσεις (αναγνώριση, εκτίμηση και έλεγχος των υγειονομικών κινδύνων). (Αρβανιτογιάννης, 2001).

Για τον επιτυχή σχεδιασμό και την εφαρμογή ενός συστήματος HACCP είναι αναγκαίο να προηγηθεί μια συστηματική ανάλυση της επικινδυνότητας όλων των σταδίων της παραγωγικής διαδικασίας. Η ανάλυση αυτή γίνεται προσδιορίζοντας τη φύση και το μέγεθος του κάθε κινδύνου. Για μια πιο συστηματική προσέγγιση των κινδύνων καθώς και για τον τρόπο αντιμετώπισής τους, οι κίνδυνοι έχουν διαχωριστεί σε τρεις κατηγορίες. Επιγραμματικά, μπορεί να είναι είτε χημικοί (αν ευθύνεται μια χημική ουσία) είτε φυσικοί (ύπαρξη στο τρόφιμο ενός ξένου αντικειμένου) είτε βιολογικοί (σε περίπτωση που ένας ή περισσότεροι παθογόνοι μικροοργανισμοί μπορούν να αναπτυχθούν στο τρόφιμο) (Τσακνής, 2008).

4.1 Βιολογικοί κίνδυνοι

Οι βιολογικοί κίνδυνοι είναι δυνατόν να προκαλέσουν βλάβη στην υγεία των καταναλωτών και ενέχονται στις τροφοδηλητηριάσεις. Χωρίζονται σε δυο κατηγορίες, τους μακροβιολογικούς και τους μικροβιολογικούς κινδύνους.

Οι μακροβιολογικοί (όπως είναι η παρουσία διαφόρων εντόμων, π.χ. μύγες), ενώ είναι ανεπιθύμητοι, σπάνια αποτελούν από μόνοι τους κίνδυνο για την ασφάλεια του προϊόντος. Υπάρχουν ορισμένες εξαιρέσεις σε αυτόν τον κανόνα, που περιλαμβάνουν διάφορα δηλητηριώδη έντομα. Ωστόσο αποτελούν έμμεσο κίνδυνο για τον καταναλωτή, επειδή μεταφέρουν διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς στα τρόφιμα με τα οποία έρχονται σε επαφή.

Οι σοβαρότεροι κίνδυνοι για τα τρόφιμα είναι οι μικροβιολογικοί, οι οποίοι προκαλούνται από βακτήρια, ιούς και παράσιτα ή από διάφορες τοξίνες που προκαλούν

τα βακτήρια και οι μύκητες. Οι τροφοδηλητηριάσεις διακρίνονται σε τροφολοιμώξεις, που προκαλούνται από την κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν μικροοργανισμούς, οι οποίοι προσβάλλουν τα έντερα, και σε τροφοτοξινώσεις που οφείλονται στην κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν τοξικές ουσίες (Mortimore & Wallace, 1994).

Γενική παρατήρηση: Η πιθανότητα να συμβεί τροφοδηλητηρίαση σε ένα άτομο εξαρτάται από τη γενική κατάσταση της υγείας του και το ανοσοποιητικό του σύστημα. Για παράδειγμα τα μικρά παιδιά έχουν πιο πολλές πιθανότητες, συγκριτικά με τους ενήλικες, να ασθενήσουν από τη *Listeria monocytogenes*.

Σύμφωνα με τους Harrigan και Park (1991) υπάρχουν αυξημένες πιθανότητες τροφικής δηλητηρίασης στις παρακάτω περιπτώσεις :

1. Κατανάλωση ατελώς μαγειρεμένου /επεξεργασμένου τροφίμου
2. Μαγείρεμα κατεψυγμένου πουλερικού χωρίς απόψυξη
3. Συντήρηση τροφίμου υψηλού κινδύνου για αρκετό χρόνο εκτός ψυγείου (10-63° C)
4. Βραδεία μείωση της θερμοκρασίας του τροφίμου πριν ψυχθεί
5. Ατελές ξαναζέσταμα μαγειρεμένου τροφίμου (75° C)
6. Άμεση επιμόλυνση επεξεργασμένου τροφίμου από ακατέργαστα τρόφιμα
7. Επιμόλυνση επεξεργασμένου τροφίμου ή έτοιμου φαγητού από ανθρώπους φορείς
8. Επιμόλυνση τροφίμου από ζιζάνια ή παράσιτα τροφίμων
9. Χρησιμοποίηση υπολειμμάτων τροφίμων
10. Προετοιμασία φαγητού πολύ πριν από την κατανάλωση και συντήρησή του σε θερμοκρασία δωματίου

Η ICMSF (1998) έχει δώσει τους παρακάτω ορισμούς για τις διάφορες κατηγορίες κινδύνων:

- 1. Μικροβιολογικός κίνδυνος υψηλής σοβαρότητας και επικινδυνότητας (severe hazard):** είναι ο κίνδυνος που σχετίζεται με την παρουσία παθογόνου μικροοργανισμού ή τοξίνης στο τρόφιμο και είναι δυνατόν να προκαλέσει προβλήματα τροφικής δηλητηρίασης όταν αυτό καταναλωθεί.

2. Μικροβιολογικός κίνδυνος μέτριας σοβαρότητας και επικινδυνότητας (moderate hazard): είναι ο κίνδυνος που προκαλεί παροδικές και χωρίς σοβαρά συμπτώματα ασθένειες σε υγιή άτομα. Οι κίνδυνοι αυτοί διακρίνονται σε δυο κατηγορίες:

2.1. Μικροβιολογικός κίνδυνος μέτριας επικινδυνότητας και σοβαρότητας με πιθανότητα εκτεταμένης εξάπλωσης (extensive spread): Ο κίνδυνος αυτός μπορεί να εξαπλωθεί με αλληλοεπιμόλυνση στους χώρους επεξεργασίας των τροφίμων. Η ασθένεια είναι δυνατόν να προκληθεί από μικρή ποσότητα των μικροοργανισμών αυτών.

2.2. Μικροβιολογικός κίνδυνος μέτριας επικινδυνότητας και σοβαρότητας με περιορισμένη εξάπλωση (limited spread): Τα κρούσματα από τον κίνδυνο αυτό περιορίζονται μόνο στο άτομο που καταναλώνει το μολυσμένο τρόφιμο, ενώ απαιτείται η παρουσία σημαντικού αριθμού μικροοργανισμών στο μολυσμένο τρόφιμο για να προκληθεί ασθένεια.

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί μεταφέρονται στα τρόφιμα από τον αέρα, τη σκόνη, το νερό, τις πρώτες ύλες, τα μηχανήματα που χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία, όταν δεν καθαρίζονται επαρκώς, το προσωπικό της παραγωγής, τον περιβάλλοντα χώρο της βιομηχανίας, τις επιφάνειες εργασίας και την είσοδο εντόμων ή τρωκτικών στους χώρους παραλαβής και επεξεργασίας των τροφίμων.

Βασικός στόχος του συστήματος HACCP είναι η εξάλειψη ή η μείωση των μικροβιολογικών κινδύνων και ανάλογα με τη φύση του τροφίμου εφαρμόζονται διάφορες επεξεργασίες, π.χ. θέρμανση, ψύξη, αφυδάτωση, ακτινοβόληση, ή η χρήση χημικών ενώσεων. Μετά την επεξεργασία των τροφίμων πρέπει να λαμβάνονται μέτρα ώστε να αποφεύγεται η επιμόλυνση του τροφίμου και να εξασφαλίζονται συνθήκες αποθήκευσης που να μην ευνοούν τη μικροβιακή ανάπτυξη και την παραγωγή τοξινών. Μερικά χαρακτηριστικά του τροφίμου, όπως το Ph και η ενεργότητα του νερού (aw), η προσθήκη αλατιού ή άλλων συντηρητικών και η κατάλληλη συσκευασία, μπορούν να αναστείλουν τη μικροβιακή ανάπτυξη (Pierson & Corlett, 1992).

4.2 Χημικοί κίνδυνοι

Οι χημικοί κίνδυνοι χωρίζονται σε δυο κατηγορίες: α) στις φυσικά απαντώμενες χημικές ουσίες και β) στις πρόσθετες χημικές ουσίες. Και για τις δυο κατηγορίες έχουν θεσπιστεί ανώτατα επιτρεπόμενα όρια, η υπέρβαση των οποίων μπορεί να προκαλέσει δηλητηριάσεις. Οι χημικοί κίνδυνοι αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά εάν η βιομηχανία εφαρμόζει το σχέδιο HACCP, το οποίο προβλέπει την καθιέρωση προδιαγραφών και τον έλεγχο των εισαγόμενων πρώτων υλών.

A) Στις φυσικά απαντώμενες χημικές ουσίες περιλαμβάνονται χημικές ουσίες μικροβιακής, φυτικής και ζωικής προέλευσης για τις οποίες έχουν καθοριστεί ανώτατα επιτρεπόμενα όρια από τον FDA. Οι σημαντικότεροι είναι:

Μυκοτοξίνες: είναι δευτερεύοντα προϊόντα μεταβολισμού διαφόρων μυκήτων. Μια μυκοτοξίνη μπορεί να παράγεται από διαφορετικούς μύκητες, οι οποίοι έχουν την δυνατότητα να παράγουν περισσότερες της μιας μυκοτοξίνες. Οι κυριότερες μυκοτοξίνες που αποτελούν κίνδυνο για τα τρόφιμα είναι οι αφλατοξίνες που παράγονται από ορισμένα γένη του *Aspergillus flavus* και του *Aspergillus parasiticus*. Το κυριότερο προληπτικό μέτρο για την παρεμπόδιση της ανάπτυξης των μυκήτων που παράγουν αφλατοξίνες είναι να γίνεται η συντήρηση των σπόρων σε κατάλληλη θερμοκρασία και υγρασία

Τοξίνες μανιταριών: Προέρχονται από δηλητηριασμένα άγρια μανιτάρια και όχι από τα εδώδιμα μανιτάρια που καλλιεργούνται

Τοξινώσεις από θαλασσινά: Διάφορα είδη αλιευμάτων θεωρούνται φυσικώς τοξικά για τον άνθρωπο ή περιέχουν ορισμένες χημικές ενώσεις σε τοξικές συγκεντρώσεις (π.χ. τετραδοτοξίνη, σιγκουατοξίνες δινογκουνελίνη, ισταμίνη και βιογενείς αμίνες, διοξίνες, κ.α.).

B) Στις πρόσθετες χημικές ουσίες περιλαμβάνονται ουσίες που η προσθήκη τους στα τρόφιμα αποσκοπεί στη βελτίωση της παραγωγής, της επεξεργασίας, της συντήρησης ή της εμφάνισής τους. Οι κίνδυνοι εμφανίζονται όταν η προσθήκη αυτών των ουσιών ξεπεράσει τα ανώτατα επιτρεπόμενα όρια. Οι παρακάτω πρόσθετες ουσίες είναι δυνατόν να αποτελέσουν πιθανό κίνδυνο στα τρόφιμα στα οποία χρησιμοποιούνται:

Γεωργικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται σε όλες σχεδόν τις γεωργικές καλλιέργειες, όπως τα οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά εντομοκτόνα, διθειοκαρβαμιδικά για την καταπολέμηση των μυκήτων, τα οργανοχλωριωμένα παρασιτοκτόνα για την παρεμπόδιση της ανάπτυξης διαφόρων χημικών παρασίτων κ.λ.π. Τα φυτοφάρμακα προκαλούν πολλές επιπλοκές στον ανθρώπινο οργανισμό, όπως νεοπλασίες, λευχαιμία, παράλυση του νευρικού συστήματος και πνευμονικό οίδημα που μπορεί να οδηγήσει και στο θάνατο (Belitz et al, 2004).

Αντιβιοτικά. Χρησιμοποιούνται στα ζωικά τρόφιμα για την αντιμετώπιση ασθενειών των ζώων και βρίσκονται στους ιστούς και κυρίως στο γάλα. Η αλόγιστη χρήση τους είναι δυνατόν να βλάψει την υγεία των καταναλωτών, γιατί προκαλούν αλλεργικές αντιδράσεις και αυξάνουν την ανθεκτικότητα των παθογόνων μικροοργανισμών.

Τοξικά στοιχεία και ενώσεις όπως ο υδράργυρος, ο χαλκός, ο μόλυβδος, το κάδμιο, το αρσενικό και ο ψευδάργυρος συχνά ανιχνεύονται στα τρόφιμα, καθώς βρίσκονται στο περιβάλλον, το έδαφος, το νερό και στον εξοπλισμό που χρησιμοποιείται στην επεξεργασία των τροφίμων.

Πρόσθετες ύλες τροφίμων χρησιμοποιούνται ως βελτιωτικά της γεύσης, του χρώματος ή ως συντηρητικά. Παραδείγματα τέτοιων ενώσεων είναι οι χρωστικές Sudan I & IV που ανιχνεύθηκαν σε σκόνη τσίλι τον Οκτώβριο του 2005 και οδήγησαν σε άμεση ανάκληση των ύποπτων τροφίμων από την αγορά.

Αντιοξειδωτικά. Διακρίνονται σε φυσικά και συνθετικά. Για τα φυσικά δεν υπάρχουν ανώτατα όρια σε αντίθεση με ότι συμβαίνει με τα συνθετικά.

Συντηρητικά Ο Κώδικας Τροφίμων και Ποτών προβλέπει ανώτατα όρια για τα πρόσθετα. Τα τελευταία χρόνια διάφορες έρευνες έδειξαν ότι, όταν προστίθενται στα τρόφιμα υψηλές συγκεντρώσεις νιτρικών και νιτρωδών αλάτων, μπορεί να προκληθούν νεοπλασίες, τερατογένεση, αποβολές και πνευματική καθυστέρηση.

Υλικά Συσκευασίας Στα πλαστικά μέσα συσκευασίας προστίθενται διάφορες ύλες για τη βελτίωση των ιδιοτήτων τους, οι οποίες μπορεί να μολύνουν το τρόφιμο.

Το σύστημα HACCP προβλέπει τις παρακάτω διαδικασίες με τις οποίες μπορούν να ελεγχθούν οι χημικοί κίνδυνοι:

- Καθιέρωση προδιαγραφών για τις πρώτες ύλες
- Επιθεώρηση των εγκαταστάσεων του προμηθευτή
- Υποχρέωση του προμηθευτή να προσκομίζει πιστοποιητικό χημικής ανάλυσης για κάθε παραλαβή πρώτης ύλης
- Δειγματοληψία και εργαστηριακή ανάλυση των δειγμάτων από την εταιρεία, εάν έχει τη δυνατότητα, ή ανάλυση από εξωτερικό διαπιστευμένο εργαστήριο
- Ιδιαίτερη προσοχή κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας για την αποφυγή επιμόλυνσης των τροφίμων από διάφορα καθαριστικά και απολυμαντικά που χρησιμοποιούνται κατά τον καθαρισμό των χώρων και των μηχανημάτων. Το πλύσιμο των μηχανημάτων με συστήματα εκτόξευσης νερού υπό πίεση πρέπει να αποφεύγεται γιατί υπάρχει κίνδυνος μεταφοράς μικροοργανισμών σε όλο το χώρο
- Ακριβής ζύγιση ή ογκομέτρηση των πρόσθετων των τροφίμων, ώστε να είναι μέσα στα προβλεπόμενα από τον κώδικα τροφίμων όρια. Επίσης πρέπει να γίνεται διακρίβωση της ακρίβειας των χρησιμοποιούμενων ζυγών από διαπιστευμένα εργαστήρια.
- Τήρηση κανόνων της Ορθής Βιομηχανικής Πρακτικής

4.3 Φυσικοί Κίνδυνοι

Οι φυσικοί κίνδυνοι, όπως οι βιολογικοί και οι χημικοί, μπορούν να εισέλθουν στο τρόφιμο σε κάθε στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας. Υπάρχει μεγάλη ποικιλία φυσικών αντικειμένων, τα οποία είναι δυνατόν να επιμολύνουν το τρόφιμο, σαν ξένα σώματα, και μπορούν ακόμη να περιγραφούν ως μακροβιολογικά, αλλά μόνο μερικά από αυτά συνιστούν πραγματικούς κινδύνους για την ασφάλεια των τροφίμων.

Τα ξένα σώματα συνιστούν κίνδυνο για την ασφάλεια αν ο καταναλωτής πρόκειται να μασήσει το προϊόν. Αυτό είναι ιδιαίτερα επικίνδυνο για τρόφιμα που πρόκειται να καταναλωθούν από παιδιά, όπου ακόμη και μικρά κομματάκια χαρτιού από τη συσκευασία ή το κιβώτιο μπορεί να θέσουν σε κίνδυνο την υγεία τους. Όπως και με τους μακροβιολογικούς κινδύνους, κάθε ξένο υλικό μπορεί να μεταφέρει μικροβιολογικούς

κινδύνους στο προϊόν και αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό αν το υλικό καταφέρει να διεισδύσει μετά το τέλος όλων των σταδίων επεξεργασίας.

Οι σημαντικότεροι φυσικοί κίνδυνοι περιλαμβάνουν διάφορα υλικά, τα οποία δεν πρέπει να βρίσκονται στα τρόφιμα και είναι δυνατόν να προκαλέσουν τραύματα ή ασθένειες στον καταναλωτή. Οι σημαντικότεροι φυσικοί κίνδυνοι προέρχονται από μεταλλικά θραύσματα, άλατα στρουβίτου, γυαλιά, σκλήθρες ξύλου, τμήματα οστράκων, κόκαλα και πλαστικά.

Προληπτικά μέτρα για την ανίχνευση των φυσικών κινδύνων είναι:

- Ανιχνευτές μετάλλων ή ανιχνευτές με χρήση ακτινών X που ανιχνεύουν οποιοδήποτε ξένο σώμα
- Κόκκινα φίλτρα διαφόρων διαμετρημάτων σε κατάλληλα σημεία της παραγωγικής διαδικασίας
- Έλεγχος εντόμων και τρωκτικών
- Κατάλληλα προγράμματα προληπτικής συντήρησης
- Εκπαίδευση προσωπικού για κατάλληλους χειρισμούς κατά τη διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ-ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

5.1 Ερευνητικό ερώτημα - Σκοπός και επί μέρους στόχοι της έρευνας

Ερευνητικό ερώτημα: *Είναι τα τρόφιμα που παρασκευάζονται και σερβίρονται σε επιχειρήσεις μαζικής εστίασης τύπου fast food ασφαλή;*

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνήσει αν τα τρόφιμα που σερβίρονται σε 4 επιλεγμένες εταιρείες τύπου fast food είναι ασφαλή και σε ποιο βαθμό.

Οι επί μέρους στόχοι της έρευνας είναι :

- Ο έλεγχος της αποτελεσματικότητας της ορθής εφαρμογής του Συστήματος Προληπτικής Υγιεινής HACCP .
- Η σύγκριση της αποτελεσματικότητας της εφαρμογής του συστήματος HACCP μεταξύ των 4 αυτών εταιρειών.
- Η εκτίμηση των παραγόντων κινδύνου για τη μικροβιολογική ασφάλεια των τροφίμων που σερβίρονται στις εταιρείες αυτές και του τρόπου με τον οποίο οι συνθήκες παραγωγής και χειρισμού των τροφίμων επηρεάζουν την ασφάλειά τους
- Η πρόταση μέτρων που θα στοχεύουν στη βελτίωση της ποιότητας και της ασφάλειας των παραγόμενων τροφίμων.

5.2 Μεθοδολογία

Η παρούσα μελέτη διεξήχθη στο Ηράκλειο Κρήτης σε δείγματα τροφίμων που ελήφθησαν από το εργαστήριο Μικροβιολογικής Υγιεινής Τροφίμων Ύδατος και Περιβάλλοντος του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης από το οποίο έγιναν τόσο οι δειγματοληψίες όσο και ο μικροβιολογικός έλεγχος των δειγμάτων τη χρονική περίοδο Ιανουαρίου 2010 έως Οκτώβριο 2012.

Υλικό της μελέτης

Χρησιμοποιήθηκαν δείγματα τροφίμων από τέσσερις (4) εταιρείες παραγωγής τροφίμων τύπου fast food, οι οποίες αφορούσαν ποικιλία προϊόντων επεξεργασμένων ή μη: **ενδιάμεσα προϊόντα** όπως λαχανικά (π.χ. μαρούλι, ντομάτα κ.λ.π) τα οποία θα χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή των τελικών προϊόντων και **τελικά προϊόντα** (έτοιμα σάντουιτς, προϊόντα ζύμης με ποικιλία σύστασης π.χ. προϊόντα με βάση το κρέας, γαλακτοκομικά προϊόντα, προϊόντα αβγού κ.λ.π).

Οι δειγματοληψίες διενεργήθηκαν από εξειδικευμένο προσωπικό του εργαστηρίου στα πλαίσια ερευνητικού προγράμματος .

Είναι ευνόητο ότι τηρουμένων των κανόνων ηθικής και δεοντολογίας, διατηρείται η ανωνυμία των εταιρειών που συμμετείχαν με τα δείγματά τους στην παρούσα μελέτη και οι οποίες κωδικοποιήθηκαν με τα αρχικά a, b, c, d.

Τα δείγματα προκειμένου να είναι δυνατή η στατιστική τους επεξεργασία, ομαδοποιήθηκαν ως εξής:

1. Ανάλογα με την υγιεινή και ασφάλεια

A) **εντός ή εκτός** των επιτρεπόμενων από τη νομοθεσία ορίων ή εσωτερικών προδιαγραφών και κατευθυντήριων γραμμών μικροβιολογικής υγιεινής και

B) **ασφαλή ή μη ασφαλή** για κατανάλωση, εφόσον απομονώνονται τροφογενή παθογόνα δηλαδή *Salmonella* και *Listeria monocytogenes*

2. Ανάλογα με την επεξεργασία που έχει υποστεί το κάθε ένα από τα τρόφιμα του συνολικού δείγματος, χωρίστηκαν σε **ενδιάμεσα** και **τελικά** προϊόντα.

3. Ανάλογα με τη **σύσταση** των τροφίμων του δείγματος ομαδοποιήθηκαν σε 7 κατηγορίες που είναι οι εξής : κρεατοσκευάσματα, γαλακτοκομικά, λαχανικά, αυγό (και προϊόντα του), σφολιάτες, σαλάτες, σάντουιτς-πίτσα

Στα κρεατοσκευάσματα περιλαμβάνονται προϊόντα με βάση τον κιμά (π.χ.burgers), αλλαντικά και προϊόντα με βάση το κρέας κοτόπουλου (όλα τελικά προϊόντα)

Στα γαλακτοκομικά: προϊόντα παγωτού, τυριά

Στα λαχανικά: επεξεργασμένα λαχανικά (έπειτα από χημική εξυγίανση)

Οι σφολιάτες του δείγματος ήταν είτε μη θερμικά επεξεργασμένα προϊόντα (ενδιάμεσα) ή κατόπιν θερμικής επεξεργασίας (τελικά προϊόντα -στη φάση της πώλησης).

Μικροβιολογικός έλεγχος

Ο μικροβιολογικός έλεγχος των τροφίμων, περιλάμβανε :

A) την ανίχνευση της παρουσίας των τροφογενών παθογόνων *Salmonella spp* και *Listeria monocytogenes*. Το αποτέλεσμα χαρακτηρίστηκε ως: «θετικό» (σε παρουσία) και «αρνητικό» σε απουσία .Επιπλέον, βιοχημική ταυτοποίηση για τα είδη *Listeria spp* ή *Listeria monocytogenes*, καταμέτρηση των πληθυσμών των κυττάρων της *L.monocytogenes* και ομαδοποίηση σε 2 κατηγορίες : <10 cfu/gr και >10 cfu/gr.

(δείκτες μικροβιολογικής ασφάλειας)

B) την καταμέτρηση βακτηριακών δεικτών υγιεινής: (*Coliforms*, για προϊόντα παγωτού) και *E.Coli*, *Staphylococcus aureus* - *πηκτάση* + - (σε γαλακτοκομικά, κρεατοσκευάσματα, επεξεργασμένα λαχανικά και σφολιάτες) Ο δείκτης υγιεινής *Coliforms* (για προϊόντα παγωτού) και μικροβιολογικής ποιότητας (υπόλοιπα τρόφιμα του δείγματος) περιλάμβανε καταμέτρηση και διαχωρισμό σε 4 κατηγορίες 1-10 cfu/gr, 11-500 cfu/gr, 501-5000 cfu/gr, >5000 cfu/gr και για την *E.coli* 2 κατηγορίες <5 cfu/gr >5 cfu/gr.

Για τους *Staphylococcus πηκτάση* + έγινε καταμέτρηση και διαχωρισμός σε 2 κατηγορίες <50 cfu/gr και >50 cfu/gr.

Ο εργαστηριακός αυτός έλεγχος έγινε σύμφωνα με τα παρακάτω πρότυπα ISO:

- ISO 11290-1/97 ISO 11290-2/97 για καταμέτρηση - απομόνωση πληθυσμών *Listeria spp*.
- ISO 6579 : 2002 για απομόνωση πληθυσμών *Salmonella spp*
- ISO NF 16649-1, ISO NF 16649-2 για καταμέτρηση *E.coli*, total *Coliforms*

- ISO 6888-1 : 1999 για Σταφυλόκοκκους Πηκτάση Θετικούς

5.3 Εργαστηριακές μέθοδοι προσδιορισμού (σύμφωνα με τα πρότυπα ISO)

5.3.1 ISO 6579/2000 Μέθοδος δοκιμής της Salmonella

Σκοπός της μεθόδου είναι η ανίχνευση μικροβίων του γένους Salmonella σε κρέας και προϊόντα κρέατος, σφάγια πουλερικών, αλιεύματα, αυγά και προϊόντα αυγού, γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα, τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση, παρασκευάσματα για βρέφη και ζωοτροφές. Με τη μέθοδο αυτή ανιχνεύεται η παρουσία ή απουσία των μικροβίων του γένους Salmonella σε συγκεκριμένη ποσότητα δείγματος, με βάση το σχηματισμό χαρακτηριστικών αποικιών σε στερεά εκλεκτικά υποστρώματα, καθώς και την αντίδραση σε συγκεκριμένες βιοχημικές και ορολογικές δοκιμές. Η ανίχνευση των βακτηρίων περιλαμβάνει τέσσερα στάδια, τον προεμπλουτισμό, τον εμπλουτισμό, τον ενοφθαλμισμό σε δύο ή τρία εκλεκτικά στερεά υποστρώματα και την ταυτοποίηση του είδους. Η Σαλμονέλα μπορεί να βρίσκεται στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές σε μικρούς αριθμούς και συνήθως μπορεί να συνυπάρχει με μεγαλύτερους αριθμούς άλλων εντεροβακτηριοειδών ή βακτηρίων άλλων οικογενειών. Ο προεμπλουτισμός είναι απαραίτητος για να μπορούν να ανιχνεύονται ακόμα και μικροί αριθμοί κυττάρων Σαλμονέλλας, καθώς και κύτταρα Σαλμονέλλας που έχουν υποστεί βλάβη.

Η διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής:

Προεμπλουτισμός σε μη εκλεκτικά υγρά υποστρώματα:

Τοποθετείται η ποσότητα του δείγματος (25 gr) μέσα σε σακούλα stomacher και προστίθενται 225ml (ή 90ml κατά περίπτωση) από το προεμπλουτιστικό υπόστρωμα Buffer Peptone Water ώστε η αναλογία στο διάλυμα που προκύπτει να είναι 1/10. Γίνεται χρήση της συσκευής ανάμειξης περισταλτικού τύπου Stomacher για 1-2 λεπτά, και το εναιώρημα που προκύπτει τοποθετείται για επώαση σε επωαστικό κλίβανο θερμοκρασίας 37 ± 1 °C, για 16 έως 20 ώρες.

Εκλεκτικός εμπλουτισμός

Ενοφθαλμίζεται ποσότητα 0,1 ml από τον προεμπλουτισμό σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει 10 ml ζωμού RVS (Rappaport-Vassiliadis magnesium chloride /malachite green soya peptone broth) καθώς και 1 ml σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει 10 ml ζωμού MKTTn (Muller-Kauffmann tetrathionate novobiocin broth base). Το πρώτο επωάζεται στους $41,5 \pm 1^\circ \text{C}$ για 24 ± 3 ώρες και το δεύτερο στους $37 \pm 1^\circ \text{C}$ για 24 ± 3 ώρες. Η μέγιστη θερμοκρασία επώασης των $42,5^\circ \text{C}$ δεν πρέπει να ξεπερνάται.

Ενοφθαλμισμός σε στερεά εκλεκτικά θρεπτικά υποστρώματα και ανίχνευση Σαλμονελλών

Από την καλλιέργεια του RVS πραγματοποιείται σπορά μέσω ενοφθαλμισμού στην επιφάνεια ενός πετρί με XLD (xylose lysine deoxycholate agar) και ενός πετρί με BGA (Phenol Red/brilliant green agar), έτσι ώστε να αναπτυχθούν καλά μεμονωμένες αποικίες. Το αυτό γίνεται και από την καλλιέργεια στο ζωμό MKTTn. Τα τρυβλία επωάζονται στους $37 \pm 1^\circ \text{C}$ για 24 ± 3 ώρες. Οι τυπικές αποικίες των Σαλμονελλών στο XLD έχουν μαύρο κέντρο και ελαφρώς διάφανη ζώνη κόκκινου χρώματος, λόγω της αλλαγής του χρώματος του δείκτη. Οι τυπικές αποικίες στο BG είναι διάφανες και κόκκινου χρώματος, λόγω της αλλαγής του χρώματος του δείκτη στο υπόστρωμα.

Ταυτοποίηση- Βιοχημικές δοκιμές

Επιλέγονται αποικίες και ενοφθαλμίζονται στην επιφάνεια τρυβλίων πετρί με Nutrient Agar. Επωάζονται στους $37 \pm 1^\circ \text{C}$ για 18 έως 24 ώρες.

α) Ενοφθαλμισμός σε TSI (Triple sugar/iron agar) και επώαση στους $37 \pm 1^\circ \text{C}$ για 24 ώρες. Οι τυπικές καλλιέργειες Σαλμονέλλας παρουσιάζουν αλκαλική (κόκκινη) κεκλιμένη επιφάνεια με σχηματισμό αερίου και όξινο (κίτρινο) πυθμένα, με (90% των περιπτώσεων) σχηματισμό H_2S (μαύρο χρώμα).

β) Ενοφθαλμισμός σε Urea agar (Christensen) επώαση στους $37 \pm 1^\circ \text{C}$ για 24 ± 3 ώρες και εξέταση κατά διαστήματα. Θετική αντίδραση θεωρείται η δημιουργία ροζ/κόκκινου χρώματος, ενώ το κίτρινο χρώμα υποδηλώνει αρνητική αντίδραση. Η αντίδραση είναι συνήθως ορατή μετά από 2-4 ώρες επώασης.

γ) Δοκιμή αποκαρβοξυλίωσης της Λυσίνης

Ενοφθαλμισμός κάτω από την επιφάνεια του υγρού υποστρώματος και επώαση στους $37 \pm 1^\circ \text{C}$ για 24 ± 3 ώρες. Θετική αντίδραση προκαλεί θολερότητα και δημιουργία μωβ χρώματος.

δ) Αντίδραση β-γαλακτοξιδάσης (ONPG)

Προστίθεται ένας δίσκος ONPG σε παχύ εναιώρημα του στελέχους και επωάζεται στους $37 \pm 1^\circ \text{C}$ για χρόνο που ορίζει ο κατασκευαστής. Θετική αντίδραση προκαλεί τη δημιουργία κίτρινου χρώματος, ενώ σε αρνητική αντίδραση το υγρό παραμένει άχρωμο.

ε) Αντίδραση Voges-Proskauer (VP)

Η ύποπτη αποικία διαλύεται με τη βοήθεια κρίκου σε αποστειρωμένο σωλήνα που περιέχει 3 ml από το αντιδραστήριο VP και επωάζεται στους $37 \pm 1^\circ \text{C}$ για 24 ± 3 ώρες. Μετά το πέρας της επώασης προστίθενται 2 σταγόνες από το διάλυμα κρεατίνης, 3 σταγόνες από το διάλυμα 1-ναφθόλης σε αιθανόλη και τέλος 2 σταγόνες από το διάλυμα καυστικού καλίου. Ο σχηματισμός ροζ έως ανοιχτού κόκκινου χρωματισμού, μέσα σε 15 λεπτά, υποδεικνύει θετική αντίδραση.

στ) Αντίδραση ινδόλης

Ενοφθαλμίζεται με την ύποπτη αποικία σωλήνας που περιέχει 5 ml από το διάλυμα τρυπτόνης/τρυπτοφάνης, επωάζεται στους $37 \pm 1^\circ \text{C}$ για 24 ± 3 ώρες και μετά το πέρας της επώασης προστίθεται 1 ml από το αντιδραστήριο Kovacs. Ο σχηματισμός κόκκινου δακτυλίου δηλώνει θετική αντίδραση.

Ορολογική επιβεβαίωση και ορότυπος

Η παρουσία O-, Vi και H- αντιγόνων των Σαλμονελλών εξετάζεται με την εμφάνιση συγκόλλησης με τη χρήση των αντίστοιχων αντιορών.

5.3.2 ISO 11290-1:1996/Τροπ.1:2004 Μέθοδος δοκιμής της *Listeria*

Σκοπός της μεθόδου είναι η ανίχνευση του μικροβίου της *Listeria monocytogenes* σε τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση (π.χ. αλλαντικά, τυριά, σαλάτες, προϊόντα αλιευμάτων). Με τη μέθοδο αυτή ανιχνεύεται η παρουσία ή απουσία της *Listeria monocytogenes* σε συγκεκριμένη ποσότητα δείγματος, με βάση το σχηματισμό χαρακτηριστικών αποικιών σε στερεά εκλεκτικά υποστρώματα, καθώς και την αντίδραση σε συγκεκριμένες μορφολογικές, φυσιολογικές και βιοχημικές δοκιμές. Η ανίχνευση των βακτηρίων του

γένους *Listeria monocytogenes* περιλαμβάνει τέσσερα διαδοχικά στάδια :τον πρώτο εμπλουτισμό, το δεύτερο εμπλουτισμό, τον ενοφθαλμισμό σε δυο στερεά θρεπτικά υποστρώματα και την επιβεβαίωση του είδους. Η *Listeria monocytogenes* μπορεί να βρίσκεται στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές σε μικρούς αριθμούς και συνήθως μπορεί να συνυπάρχει με μεγαλύτερους αριθμούς άλλων εντεροβακτηριοειδών ή βακτηρίων. Ο προεμπλουτισμός είναι απαραίτητος για να μπορούν να ανιχνεύονται ακόμα και μικροί αριθμοί κυττάρων *Listeria monocytogenes*, καθώς και κύτταρα *Listeria monocytogenes* που έχουν υποστεί βλάβη.

Η διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής:

Πρωτογενής εμπλουτισμός

Τοποθετείται η ποσότητα του δείγματος σε εκλεκτικό υπόστρωμα εμπλουτισμού (μισό ζωμό Fraser) που χρησιμοποιείται επίσης και σαν μέσο αραίωσης για το εξεταζόμενο δείγμα. Ακολουθεί επώαση στους 30° C για 24 ± 3h. Μαύρος χρωματισμός μπορεί να αναπτυχθεί κατά τη διάρκεια της επώασης.

Δευτερογενής εμπλουτισμός

Μετά από επώαση του αρχικού διαλύματος γίνεται μεταφορά 0,1 ml της καλλιέργειας που προέκυψε σε ένα σωλήνα που περιέχει 10 ml δευτερογενούς υποστρώματος εμπλουτισμού (ζωμός fraser πλήρης). Επώαση στους 37° C για 48 ± 3h.

Μεταφορά σε στερεά υποστρώματα

Ενοφθαλμίζεται η επιφάνεια ενός πετρί που περιέχει *Listeria chromagar* (BIORAD) και ενός πετρί που περιέχει Palcam Agar τόσο από την καλλιέργεια μετά τον πρωτογενή όσο και από το δευτερογενή εμπλουτισμό. Μετά από επώαση στους 37° C για 24 ± 3h γίνεται εξέταση των τριβλίων για ύποπτες αποικίες. Τα τριβλία με το Palcam Agar επωάζονται σε μικροαερόβιο περιβάλλον ή σε αερόβιες συνθήκες Αν η ανάπτυξη είναι ελαφριά ή δεν παρατηρήθηκαν αποικίες η επώαση παρατείνεται για άλλες 24 ± 3h. Οι τυπικές αποικίες της *Listeria monocytogenes* στο *Listeria chromagar* είναι μπλέ-μωβ, ενώ στο Palcam Agar είναι ελαιοπράσινες με μια κεντρική ζώνη καθίζησης περιτριγυρισμένη από μαύρη άλω.

Επιβεβαίωση

Για τη επιβεβαίωση λαμβάνονται από κάθε τρυβλίο αποικίες που θεωρούνται ύποπτες. Γίνεται ενοφθαλμισμός τους σε τρυβλία με TSYEA (tryptone soya yeast extract άγαρ) και επώαση στους 37° C για 18 με 24h ή μέχρις ότου η ανάπτυξη αποικιών θεωρηθεί ικανοποιητική. Οι τυπικές αποικίες που σχηματίζονται είναι κυρτές, άχρωμες και αδιαφανείς με πλήρη χείλη. Στη συνέχεια γίνεται η δοκιμή καταλάσης, χρώση Gram, και αν κριθεί απαραίτητο η δοκιμή εκδήλωσης κινητικότητας. Για την επιβεβαίωση προσδιορίζονται ακόμα : η αιμολυτική αντίδραση, η ζύμωση ζακχάρων (ραμνόζη και ξυλόζη) και η δοκιμή CAMP .

5.3.3 ISO NF 16649-1 ISO NF 16649-2 Μέθοδος καταμέτρησης των ολικών κολοβακτηριοειδών και της E – coli (E.Coli, Coliforms)

Σκοπός της μεθόδου είναι η ανίχνευση και καταμέτρηση των Coliforms σε τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση από τον άνθρωπο ή τα ζώα. Είναι σημαντικό τα δείγματα που φτάνουν στο εργαστήριο να είναι αντιπροσωπευτικά και να μην έχουν υποστεί μεταβολές ή αλλοιώσεις από τη στιγμή παραλαβής τους.

Προετοιμασία δείγματος και αραιώσεων:

Γίνεται Ομογενοποίηση του δείγματος, αρχική αραιώση και διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σύμφωνα με τις οδηγίες του ISO 6887-1:1999.

Ενοφθαλμισμός:

Με αποστειρωμένη πιπέττα ενοφθαλμίζουμε 1 ml από το δείγμα, εάν είναι υγρό ή 1 ml από την αρχική αραιώση (10^{-1}), εάν είναι στερεό, σε διπλή σειρά τρυβλίων με θρεπτικό υλικό άγαρ TBX ή Coliform agar ή RAPID E-COLI 2AGAR (στο κέντρο κάθε τρυβλίου). Το ίδιο γίνεται και με την αραιώση 10^{-2} και τις άλλες δεκαδικές αραιώσεις που ενδεχομένως χρειαστούν.

Σημείωση: Με τη διαδικασία αυτή είναι δυνατή η καταμέτρηση ολικών κολοβακτηριοειδών ή *E-coli* μέχρι 1 cfu/ml εφόσον πρόκειται για υγρό τρόφιμο και μέχρι 10 cfu/gr εφόσον πρόκειται για στερεό.

Τα τρυβλία αφήνονται στον πάγκο, κλειστά, περίπου 15 λεπτά, προκειμένου ν' απορροφηθεί το ενοφθάλμισμα από το άγαρ.

Επώαση:

Στη συνέχεια, αναστρέφονται και επωάζονται στους $37^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ για 24 ± 2 ώρες (Coliform agar ή RAPID E-COLI 2AGAR). Τα τρυβλία TBX AGAR επωάζονται στους $37^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ για 4 ώρες και μετά μεταφέρονται για 18-20 ώρες στους 44°C . Μετά μια πρώτη ανάγνωση επωάζονται για ακόμα 24 ± 2 ώρες.

Καταμέτρηση αποικιών:

Μετά την επώαση ελέγχουμε τα τρυβλία για τυπικές και / ή άτυπες αποικίες επιλέγοντας τρυβλία που περιέχουν το πολύ 300 αποικίες με 150 τυπικές και / ή άτυπες αποικίες, σε δύο διαδοχικές αραιώσεις.

Οι τυπικές αποικίες, εμφανίζονται σαν πράσινες ή πράσινες – μπλε στο TBX agar, σκοτεινού μπλε ή βιολετί στο Coliform agar και το RAPID E – coli agar.

Οι άτυπες αποικίες, έχουν το ίδιο μέγεθος με τις τυπικές αποικίες και εμφανίζονται:

- Άχρωμες ή τirkουάζ για τα Gram αρνητικά
- Κόκκινες ή ροζ για τα ολικά κολοβακτηριοειδή

Επιβεβαίωση:

Από κάθε τρυβλίο επιλέγονται για επιβεβαίωση, τουλάχιστον πέντε τυπικές αποικίες, εάν υπάρχουν μόνο τυπικές αποικίες, ή πέντε άτυπες αποικίες εάν υπάρχουν μόνο άτυπες, ή πέντε τυπικές και πέντε άτυπες εάν υπάρχουν και οι δύο τύποι αποικιών. Στην περίπτωση που υπάρχουν λιγότερες από πέντε τότε επιβεβαιώνονται όλες. Οι επιλεγείσες αποικίες επιβεβαιώνονται ως εξής:

Δοκιμή οξειδάσης

Δέκα τουλάχιστον από τις ύποπτες αποικίες μεταφέρονται για επιβεβαίωση στο μη εκλεκτικό υλικό Tryptone Soya Agar (TSA) και γίνεται επώαση στους $36 \pm 2^{\circ} \text{C}$ για 21 ± 3 ώρες. Μετά την επώαση γίνεται δοκιμή οξειδάσης με χρήση του αντιδραστηρίου ή των ειδικών ταινιών στις ύποπτες αποικίες και αν η αντίδραση είναι θετική προκύπτει σκούρο μπλε ή ιώδες χρώμα.

Οι αποικίες που ζυμώνουν τη λακτόζη με παραγωγή οξέος και είναι οξειδάση αρνητικές θεωρούνται σαν επιβεβαιωμένες για ολικά κολοβακτηριοειδή.

Δοκιμή παραγωγής ινδόλης

Οι αποικίες που δίνουν αρνητική την αντίδραση της οξειδάσης μεταφέρονται από το Tryptone Soya Agar (TSA) για επιβεβαίωση σε Tryptophan broth και επωάζονται στους $44 \pm 0,5$ °C για 21 ± 3 ώρες. Η δοκιμή της ινδόλης εφαρμόζεται μετά την επώαση των ενοφθαλμισμένων σωλήνων με ή Tryptophan broth, στους οποίους προστίθενται 1-2 σταγόνες από το αντιδραστήριο Conac's. Η παρουσία κόκκινου κυκλικού δακτυλίου στην επιφάνεια του υλικού δίνει θετική αντίδραση ινδόλης.

Δοκιμή παρουσίας β-γλυκουρονιδάσης

Κάποια στελέχη της *Klebsiella oxytoca* δίνουν θετική τη δοκιμή παραγωγής ινδόλης. Για την αποφυγή ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων, διενεργείται η δοκιμή παρουσίας του ενζύμου β-γλυκουρονιδάσης.

Συγκεκριμένα, σε σωληνάριο που περιέχει 6-10ml από το αντιδραστήριο colilert ενοφθαλμίζεται μία ύποπτη αποικία. Ακολουθεί επώαση στους $44 \pm 0,50$ °C για 21 ± 3 ώρες. Η ύπαρξη της β- γλυκουρονιδάσης προκύπτει αν το καλλιέργημα φθορίζει σε λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας μήκους κύματος $\lambda=360 \pm 20\text{nm}$.

Στο αντιδραστήριο colilert περιέχεται και το υπόστρωμα για τον έλεγχο του ενζύμου β-γαλακτοσιδάσης. Θετική αντίδραση θεωρείται όταν υπάρχει αλλαγή του χρώματος του αντιδραστηρίου από άχρωμο σε κίτρινο.

Οι αποικίες που ζυμώνουν τη λακτόζη με παραγωγή οξέος, είναι οξειδάση αρνητικές, ινδόλη θετικές και έχουν το ένζυμο της β-γλυκουρονιδάσης θεωρούνται ως επιβεβαιωμένες για *Escherichia coli*.

Υπολογισμός του αριθμού (N) των ολικών κολοβακτηριοειδών ή *E.coli* στο υπό εξέταση δείγμα.

Για την περίπτωση που τα τρυβλία δυο διαδοχικών αραιώσεων περιέχουν μέχρι 150 τυπικές και / ή άτυπες αποικίες υπολογίζουμε τον αριθμό των ολικών κολοβακτηριοειδών ή *E. coli* για κάθε τρυβλίο και υπολογίζουμε σαν μέσο όρο των δυο

διαδοχικών αραιώσεων, τον αριθμό (N) των επιβεβαιωμένων ολικών κολοβακτηριοειδών ή *E. coli* που υπάρχουν στο δείγμα, με βάση τον τύπο:

$$N = \frac{\sum_a}{V(n_1 + 0.1n_2)d}$$

όπου:

Σ_a : το σύνολο των ολικών κολοβακτηριοειδών ή *E. coli* σε όλα τα επιλεγμένα τρυβλία

V :Ο όγκος δείγματος που ενοφθαλμίζεται σε κάθε τρυβλίο σε milliliters.

n_1 : ο αριθμός των επιλεγέντων τρυβλίων της πρώτης αραιώσης

n_2 : ο αριθμός των επιλεγέντων τρυβλίων της δεύτερης αραιώσης

d : ο συντελεστής αραιώσης που αντιστοιχεί στην πρώτη επιλεγείσα αραιώση.(Το αρχικό διάλυμα θεωρείται αραιώση).

Το αποτέλεσμα στρογγυλοποιείται και εκφράζεται με δύναμη του 10, ήτοι έναν αριθμό μεταξύ 1,0 και 9,9 πολλαπλασιαζόμενο με 10^x , όπου x η δύναμη του 10 (π.χ. 10^2 , 10^3 , 10^4 κ.λ.π.).

5.3.4 ISO 6888-1:1999 Μέθοδος καταμέτρησης των σταφυλοκόκκων θετικών σε πηκτάση (Χρυσίζοντες σταφυλόκοκκοι και άλλα είδη)

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στο ISO 6888-1:1999/Amd1:2003 και ειδικεύεται στην οριζόντια μέθοδο καταμέτρησης των πηκτάση - θετικών σταφυλόκοκκων σε τρόφιμα που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση ή ζωοτροφές μέσω της μέτρησης των αποικιών που σχηματίζονται σε στερεό θρεπτικό υλικό (Baird Parker medium) έπειτα από αερόβια επώαση στους 37° C.

Προετοιμασία δείγματος και αραιώσεων:

Ομογενοποίηση του δείγματος, αρχική αραιώση και διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σύμφωνα με τις οδηγίες του ISO 6887-1:1999.

Ενοφθαλμισμός:

Με αποστειρωμένη πιπέττα ενοφθαλμίζουμε 0,1 ml από το δείγμα, εάν είναι υγρό ή 0,1 ml από την αρχική αραιώση (10^{-1}), εάν είναι στερεό, σε διπλή σειρά τρυβλίων με θρεπτικό υλικό Baird - Parker agar (στο κέντρο κάθε τρυβλίου). Το ίδιο γίνεται και με την αραιώση 10^{-2} και τις άλλες δεκαδικές αραιώσεις που ενδεχομένως χρειαστούν.

Σημείωση: Με τη διαδικασία αυτή είναι δυνατή η καταμέτρηση Σταφυλόκοκκων μέχρι 10 cfu/ml εφόσον πρόκειται για υγρό τρόφιμο και μέχρι 100 cfu/gr εφόσον πρόκειται για στερεό. Στην περίπτωση, που για ορισμένα προϊόντα χρειάζεται να μετρηθεί χαμηλότερος αριθμός Σταφυλόκοκκων, τότε ενοφθαλμίζουμε 1,0 ml του δείγματος ή της αρχικής αραιώσης μοιράζοντάς το στην επιφάνεια τριών τρυβλίων θρεπτικού υλικού Baird – Parker (π.χ. 0,3 ml, 0,3 ml και 0,4 ml) ή ενός μεγάλου. Τόσο στην αρίθμηση όσο και στην επιβεβαίωση τα τρυβλία αυτά υπολογίζονται ως ένα. Καλό θα είναι και στις δύο περιπτώσεις να ετοιμάσουμε διπλές σειρές. Με τον τρόπο αυτό είναι δυνατή η καταμέτρηση μέχρι 1 cfu/ml στα υγρά τρόφιμα και μέχρι 10 cfu/gr στα στερεά τρόφιμα.

Στη συνέχεια και όσο το δυνατό ταχύτερα, με ένα πλαστικό κεκαμμένο ραβδί (spreader) αποστειρωμένο, το ενοφθάμισμα εξαπλώνεται ομοιόμορφα σε όλη την επιφάνεια του τρυβλίου, προσέχοντας να μην ακουμπήσει στα τοιχώματά του. Τα τρυβλία αφήνονται στον πάγκο, κλειστά, περίπου 15 λεπτά, προκειμένου ν' απορροφηθεί το ενοφθάμισμα από το άγαρ. Στη συνέχεια, αναστρέφονται και επωάζονται.

Επώαση:

Τα τρυβλία τοποθετούνται στον επωαστικό κλίβανο για επώαση στους $37^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ για 24 ± 2 ώρες. Μετά μια πρώτη ανάγνωση επωάζονται για ακόμα 24 ± 2 ώρες. Τόσο κατά την πρώτη ανάγνωση όσο και κατά την δεύτερη καλό είναι να σημειώνεται με μαρκαδόρο η θέση των τυπικών αποικιών στον πάτο του τρυβλίου. Σημειώνονται επίσης οι άτυπες αποικίες.

Καταμέτρηση αποικιών:

Μετά την επώαση ελέγχουμε τα τρυβλία για τυπικές και / ή άτυπες αποικίες επιλέγοντας τρυβλία που περιέχουν το πολύ 300 αποικίες με 150 τυπικές και / ή άτυπες αποικίες, σε δύο διαδοχικές αραιώσεις.

Οι τυπικές αποικίες, εμφανίζονται σαν μαύρες ή γκριζες, γυαλιστερές, κυρτές αποικίες (διαμέτρου 1-1,5 mm μετά επώαση 24 ωρών και 1,5-2,5 mm μετά επώαση 48 ωρών), περιβάλλονται δε από ζώνη διαύγασης η οποία μπορεί να είναι μερικώς αδιαφανής. Μετά από επώαση τουλάχιστον 24 ωρών μπορεί να εμφανιστεί σε άμεση επαφή με την αποικία ένας ιριδίζων δακτύλιος.

Οι άτυπες αποικίες, έχουν το ίδιο μέγεθος με τις τυπικές αποικίες και εμφανίζονται σαν μαύρες γυαλιστερές αποικίες με ή χωρίς στενή λευκή κορυφή, ζώνη διαύγασης δεν υπάρχει ή είναι μόλις διακριτή και ιριδίζων δακτύλιος είναι απών ή μόλις διακριτός, ή σαν γκρι αποικίες δίχως ζώνη διαύγασης.

Οι άτυπες αποικίες σχηματίζονται κυρίως από στελέχη πηκτάση-θετικών σταφυλόκοκκων που μολύνουν γαλακτοκομικά προϊόντα, γαρίδες ή συκωτάκια πουλιών. Λιγότερο συχνά παρατηρούνται και σε άλλα τρόφιμα. Καταμετρούνται και καταγράφονται τόσο οι τυπικές όσο και οι άτυπες αποικίες. Με τον όρο λοιπές αποικίες αναφερόμαστε στις υπόλοιπες αποικίες που πιθανόν να είναι παρούσες στα τρυβλία και δεν παρουσιάζουν την τυπική ή άτυπη εμφάνιση που αναφέρεται παραπάνω και θεωρούνται ως background flora.

Επιβεβαίωση:

Από κάθε τρυβλίο επιλέγονται για επιβεβαίωση, τουλάχιστον πέντε τυπικές αποικίες, εάν υπάρχουν μόνο τυπικές αποικίες, ή πέντε άτυπες αποικίες εάν υπάρχουν μόνο άτυπες, ή πέντε τυπικές και πέντε άτυπες εάν υπάρχουν και οι δύο τύποι αποικιών. Στην περίπτωση που υπάρχουν λιγότερες από πέντε τότε επιβεβαιώνονται όλες.

Οι επιλεχθείσες αποικίες επιβεβαιώνονται με τη δοκιμασία της πηκτάσης:

(κοαγκουλάσης)

Δοκιμασία πηκτάσης (κοαγκουλάσης).

Οι προς επιβεβαίωση αποικίες ανακαλλιεργούνται σε brain heart infusion broth και επωάζονται στους 37° C για 24 ± 2 ώρες. Γίνεται προσθήκη 0,1 ml από κάθε καλλιέργεια σε 0,3 ml του αντιδραστηρίου με το πλάσμα από κουνέλι.

Εξέταση για ύπαρξη πύγματος μετά από 4-6 ώρες επώασης και αν η δοκιμασία είναι αρνητική, πραγματοποιείται επανεξέταση μετά από 24 ώρες επώασης.(ή σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα που προτείνονται από τον κατασκευαστή).

Θετική δοκιμασία θεωρείται όταν ο όγκος του πύγματος που δημιουργείται, καταλαμβάνει περισσότερο από το μισό του όγκου που καταλάμβανε το υγρό πριν την επώαση. Ως αρνητικό μάρτυρα, για κάθε παρτίδα πλάσματος ,προσθέτουμε brain heart infusion broth στη συνιστώμενη ποσότητα του πλάσματος κουνελιού και ακολουθεί επώαση χωρίς να έχει προηγηθεί κανένας ενοφθαλμισμός. Για να είναι η δοκιμασία αξιόπιστη δεν πρέπει να εμφανισθούν ίχνη πύγματος στον αρνητικό μάρτυρα.

Υπολογισμός του αριθμού (N) των πηκτάση θετικών Σταφυλόκοκκων στο υπό εξέταση δείγμα.

Για την περίπτωση που τα τρυβλία δυο διαδοχικών αραιώσεων περιέχουν μέχρι 150 τυπικές και / ή άτυπες αποικίες υπολογίζουμε τον αριθμό των πηκτάση θετικών Σταφυλόκοκκων για κάθε τρυβλίο και υπολογίζουμε σαν μέσο όρο των δυο διαδοχικών αραιώσεων, τον αριθμό (N) των επιβεβαιωμένων πηκτάση θετικών Σταφυλόκοκκων που υπάρχουν στο δείγμα, με βάση τον τύπο:

$$N = \frac{\sum a}{V(n_1 + 0.1n_2)d}$$

όπου:

- Σ_a : το σύνολο των πηκτάση θετικών Σταφυλόκοκκων σε όλα τα επιλεγμένα τρυβλία
- V :Ο όγκος δείγματος που ενοφθαλμίζεται σε κάθε τρυβλίο σε milliliters.
- n_1 : ο αριθμός των επιλεγέντων τρυβλίων της πρώτης αραιώσης
- n_2 : ο αριθμός των επιλεγέντων τρυβλίων της δεύτερης αραιώσης
- d : ο συντελεστής αραιώσης που αντιστοιχεί στην πρώτη επιλεγείσα αραιώση.(Το αρχικό διάλυμα θεωρείται αραιώση).

Το αποτέλεσμα στρογγυλοποιείται και εκφράζεται με δύναμη του 10, ήτοι έναν αριθμό μεταξύ 1,0 και 9,9 πολλαπλασιαζόμενο με 10^x , όπου x η δύναμη του 10 (π.χ. 10^2 , 10^3 , 10^4 κ.λ.π.).

Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία έγινε με το SPSS με χ^2 που χρησιμοποιείται για ποιοτικές μεταβλητές

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Πριν προχωρήσουμε στην ανάλυση των αποτελεσμάτων των ελέγχων, κρίνεται σκόπιμο να γίνει μια αναφορά στον Κανονισμό (ΕΚ) αρθ.2073/2005 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ της 15^{ης} Νοεμβρίου 2005, καθώς και τις ερμηνευτικές κατευθυντήριες γραμμές του, όπως αυτές προσδιορίζονται από την FSAI (food safety authority of Ireland) και την FSAUK (food safety authority of United Kingdom) ο οποίος καθορίζει τα κριτήρια μικροβιολογικής υγιεινής και ασφάλειας για τα τρόφιμα στις φάσεις παραγωγής, διακίνησης και service στα τελικά σημεία πώλησης σύμφωνα με τον οποίο ισχύουν τα εξής:

- Για τη *Salmonella* το κριτήριο ασφάλειας ενός τροφίμου είναι η απουσία της σε 25gr δείγματος τροφίμου (ή σε 10 gr αν πρόκειται για κιμά ή μηχανικώς διαχωρισμένο κρέας)
- Για τη *Listeria monocytogenes* στα τρόφιμα που είναι έτοιμα για κατανάλωση και προορίζονται για βρέφη ή ειδικούς ιατρικούς σκοπούς και είναι ικανά να υποστηρίξουν την ανάπτυξη της, απουσία σε 25gr και σε αυτά που δεν είναι ικανά να υποστηρίξουν την ανάπτυξη της, το ανώτατο όριο προσδιορίζεται στα 100cfu/g (ph<5.3 ή/και aw<0,92)
- Για το *Staphylococcus aureus* όταν πρόκειται για γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα από 10-1000 μικροβιολογικά ανάλογα με την επεξεργασία που έχει υποστεί η πρώτη ύλη. Σε ότι αφορά παρασκευές επεξεργασμένων προϊόντων με βάση το κρέας, φρέσκες και σύνθετες σαλάτες λαχανικών, η κατευθυντήρια γραμμή υγιεινής είναι <200 cfu/gr
- Για την *E.coli* όσον αφορά το κρέας και τα προϊόντα του οι κατευθυντήριες γραμμές ορίζουν πληθυσμούς 50-500 cfu/g για το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα από 1-1000 cfu/g αναλόγως της επεξεργασίας και για τις φρέσκες, σύνθετες σαλ'ατες, σάντουιτς και παρεμφερη προϊόντα από 10-100 cfu/g ανάλογα το είδος

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης συνολικά ελήφθησαν και υποβλήθηκαν σε μικροβιολογικό έλεγχο, σύμφωνα με τα όσα έχουν αναφερθεί παραπάνω, 879 δείγματα τροφίμων προερχόμενα από τέσσερις μεγάλες εταιρείες που δραστηριοποιούνται στο χώρο της μαζικής εστίασης, τύπου fast food.

Στον Πίνακα 1 παρουσιάζεται η συχνότητα εμφάνισης και το ποσοστό συμμετοχής κάθε εταιρείας (a, b, c, d) στο σύνολο του δείγματος τροφίμων που χρησιμοποιήθηκε για τη διεξαγωγή της μελέτης αυτής.

Συγκεκριμένα από την εταιρεία a ελήφθησαν και εξετάστηκαν 37 δείγματα τροφίμων που αντιπροσωπεύουν ένα ποσοστό 4,2% επί του συνόλου του υπό μελέτη δείγματος. Από την εταιρεία b είχαμε 37 δείγματα τροφίμων, επίσης ποσοστό 4,2% επί του συνόλου ενώ το δείγμα της εταιρείας c αποτελούνταν από 322 τρόφιμα, ποσοστό 36,6%. Η πλειονότητα του δείγματος τροφίμων προέρχεται από την εταιρεία d, η οποία συγκέντρωσε 483 τρόφιμα και ποσοστό 54,9% επί του συνολικού δείγματος.

Πίνακας 1: Συχνότητα εμφάνισης και ποσοστό δείγματος ανά εταιρεία

Εταιρεία	Συχνότητα	Ποσοστό (%)
A	37	4,2
B	37	4,2
C	322	36,6
D	483	54,9
Total	879	100,0

Στον πίνακα 2 βλέπουμε ότι από τα 879 τρόφιμα που αποτελούν το δείγμα της παρούσας μελέτης, τα 305 συγκαταλέγονται στην κατηγορία του ενδιάμεσου προϊόντος καλύπτοντας το 34,7% του δείγματος ενώ τα υπόλοιπα 574 ανήκουν στην κατηγορία του τελικού προϊόντος, ποσοστό 65,3%.

Πίνακας 2 Συχνότητα εμφάνισης και ποσοστά ενδιάμεσων και τελικών προϊόντων δείγματος

ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	Συχνότητα	Ποσοστό (%)
ΕΝΔΙΑΜΕΣΟ ΠΡΟΙΟΝ	305	34,7
ΤΕΛΙΚΟ ΠΡΟΙΟΝ	574	65,3
Total	879	100,0

Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά του δείγματος των τροφίμων με βάση τη σύστασή τους. Η πλειονότητα του δείγματος, συγκεκριμένα 309 τρόφιμα, αποτελούνταν από σάντουιτς και πίτσα (35,2%). Τα γαλακτοκομικά προϊόντα ήταν 221 και σε αυτά συγκαταλέγονται τυριά, παγωτά, sundae και milk shakes (25,1%). Στην επόμενη κατηγορία ανήκουν τα κρεατοσκευάσματα που περιλαμβάνουν κιμά και διάφορα burgers, αλλαντικά και προϊόντα κοτόπουλου, τα οποία ήταν 140 και αποτελούσαν το 15,9% του συνολικού δείγματος. Στη συνέχεια, η κατηγορία των λαχανικών αποτελείται από 85 τρόφιμα (9,7%) ενώ η κατηγορία με τις σφολιάτες (κατεψυγμένες ή μη) και τα προϊόντα ζύμης (αραβικές πίτες, τортίγιες, φοκάτσια) συγκέντρωσε 49 τρόφιμα (5,6%). Τέλος, το αυγό (και τα προϊόντα του) αποτελεί μια κατηγορία με 26 δείγματα τροφίμων καλύπτοντας το 3% του συνολικού δείγματος.

Πίνακας 3: Χαρακτηριστικά του δείγματος με βάση τη σύσταση

ΣΥΣΤΑΣΗ		
ΚΡΕΑΤΟΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ	140	15,9
ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ (τυριά ,παγωτά, sundae, milk shakes)	221	25,1
ΛΑΧΑΝΙΚΑ Η ΣΑΛΑΤΕΣ ΛΑΧΑΝΙΚΩΝ	85	9,7
ΑΥΓΟ	26	3,0
ΣΦΟΛΙΑΤΕΣ-ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΖΥΜΗΣ(αραβικές πίτες, τортίγιες, φοκάτσια)	49	5,6
ΣΥΝΘΕΤΕΣ ΣΑΛΑΤΕΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΛΑΧΑΝΙΚΩΝ ντοματο-, κολοκυθο- κεφτέδες	49	5,6
ΣΑΝΤΟΥΙΤΣ, ΠΙΤΣΑ	309	35,2
Total	879	100,0

Στον Πίνακα 4α παρουσιάζεται η συχνότητα εμφάνισης των τροφίμων του δείγματος, σύμφωνα με την μικροβιολογική τους ασφάλεια και υγιεινή (εντός ή εκτός των ορίων μικροβιολογικής ασφαλείας που καθορίζει η νομοθεσία). Συγκεκριμένα, 817 τρόφιμα ήταν «εντός ορίων ασφαλείας» σε ποσοστό 92,9% επί του συνόλου του δείγματος ενώ τα υπόλοιπα 62 (7,1%) κατατάχθηκαν στην κατηγορία «εκτός ορίων ασφαλείας».

Πίνακας 4α: Συχνότητα εμφάνισης παραγόντων μικροβιακής ασφάλειας –υγιεινής επί του συνόλου των δειγμάτων

	Συχνότητα	Ποσοστό (%)
ΑΣΦΑΛΕΙΑ		
ΕΝΤΟΣ	817	92,9
ΕΚΤΟΣ	62	7,1
Total	879	100,0

Στον πίνακα 4β περιγράφεται η ασφάλεια των τροφίμων σε σχέση με τους παθογόνους για τον άνθρωπο μικροβιακούς παράγοντες που αναζητήθηκαν. Το σύνολο του δείγματος (879 τρόφιμα) βρέθηκε αρνητικό στη *Salmonella*. Τα 854 τρόφιμα (97,2%) από το υπό μελέτη δείγμα, βρέθηκαν αρνητικά στη *Listeria* ενώ τα 25 τρόφιμα (2,8%) ήταν θετικά. Για την *L.monocytogenes*, αρνητικά ήταν 862 τρόφιμα (98,1%) ενώ 17 τρόφιμα ήταν θετικά (στην κατηγορία <10cfu/gr) (1,9%).

Πίνακας 4β: Συχνότητα εμφάνισης παραγόντων μικροβιολογικής ασφάλειας (*Salmonella Listeria*)

ΑΣΦΑΛΕΙΑ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ	ΠΟΣΟΣΤΟ (%)
Salmonella		
Αρνητικό	879	100,0
Listeria		
Αρνητικό	854	97,2
Θετικό	25	2,8
Total	879	100,0
LMO		
Αρνητικό	862	98,1
<10 cfu/gr	17	1,9
Total	879	100,0

Στον πίνακα 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τους δείκτες υγιεινής, που είναι οι θετικοί στην πηκτάση Σταφυλόκοκκοι καθώς και τα total *Coliforms* (όπου ισχύει το κριτήριο π.χ παγωτό και σχετικά προϊόντα) και *E.coli*. Για τους Σταφυλόκοκκους θετικούς στην πηκτάση (*St.aureus*.και *St.intermedius* και *St.epidermidis*), στα 826 από τα 873 τρόφιμα δεν καταμετρήθηκαν πληθυσμοί μεγαλύτεροι του ορίου ευαισθησίας (50 cfu/gr) (94%) ενώ στα υπόλοιπα 53 (6%) καταμετρήθηκαν πληθυσμοί >50 cfu/gr. Οι

καταμετρηθέντες πληθυσμοί *total coliforms* ταξινομήθηκαν σε 4 κατηγορίες: Στην κατηγορία «1-10 cfu/gr » ανήκουν τα περισσότερα τρόφιμα του δείγματος, με συχνότητα 467 (53,1%). Τα 237 τρόφιμα (27%) συγκαταλέγονται στην κατηγορία «11-500 cfu/gr » ενώ τα 95 τρόφιμα (10,8%) στην κατηγορία «501-5.000 cfu/gr ». Τέλος, η κατηγορία >5.000 cfu/gr αποτελείται από 80 τρόφιμα (9,1%). Τα 868 από τα τρόφιμα του δείγματος (98,7%) ανήκουν στην κατηγορία <5 cfu/gr για την *E.coli* ενώ τα υπόλοιπα 11 τρόφιμα (1,3%) ανήκουν στην κατηγορία >5 cfu/gr .

Πίνακας 5 : Συχνότητα εμφάνισης παραγόντων μικροβιολογικής υγιεινής και ποιότητας επί του συνόλου των δειγμάτων

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ	ΠΟΣΟΣΤΟ
Σταφυλόκοκκοι πηκτάση θετικοί (cfu/gr)		
<50	826	94,0
>50	53	6,0
Total	879	100,0
Coliforms (cfu/gr)		
1-10	467	53,1
11-500	237	27,0
501-5000	95	10,8
>5000	80	9,1
Total	879	100,0
E.coli (cfu/gr)		
<5	868	98,7
>5	11	1,3
Total	879	100,0

Στον Πίνακα 6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου παρουσίας για τη *Salmonella spp* για 7 κατηγορίες τροφίμων. Σύμφωνα με αυτά, όλες οι κατηγορίες τροφίμων βρέθηκαν αρνητικές. Συγκεκριμένα, στα κρεατοσκευάσματα (n=140), στα γαλακτοκομικά προϊόντα (n=221), στα λαχανικά (n=85), στα προϊόντα αυγού (n=26), στα προϊόντα σφολιάτας (n=49), φρέσκιες και σύνθετες σαλάτες (n=49) και στα έτοιμα σάντουιτς (n=309) δεν ανιχνεύθηκαν μικρόβια του είδους *Salmonella spp*. Σε ότι αφορά τα τρόφιμα τα οποία έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία, όπως τα κρεατοσκευάσματα και οι σφολιάτες, η απουσία της *Salmonella spp* υποδηλώνει ότι η

θερμική επεξεργασία τους ήταν επιτυχής. Σε ότι αφορά τα υπόλοιπα τρόφιμα του δείγματος, δεν υπήρχε επιμόλυνση από το περιβάλλον γεγονός που δείχνει την απουσία του μικροοργανισμού και από τον εξοπλισμό και από το περιβάλλον εργασίας. Τέλος, οι πρώτες ύλες που είχαν χρησιμοποιηθεί, ήταν απαλλαγμένες από *Salmonella*.

Πίνακας 6: Αποτελέσματα μικροβιολογικού ελέγχου για παρουσία *Salmonella spp*

		Salmonella	
		(+)	(-)
Είδος τροφίμου	Σύνολο	n (%)	n (%)
Κρεατοσκευάσματα	140	0 (0,0)	140 (100,0)
Γαλακτοκομικά	221	0 (0,0)	221 (100,0)
Επεξεργασμένα λαχανικά	85	0 (0,0)	85 (100,0)
Αυγό	26	0 (0,0)	26 (100,0)
Σφολιάτες	49	0 (0,0)	49 (100,0)
Σαλάτες	49	0 (0,0)	49 (100,0)
Σάντουιτς	309	0 (0,0)	309 (100,0)

Ο πίνακας 7 παρουσιάζει τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου για τα είδη *Listeria* και ειδικότερα για την *Listeria monocytogenes* (τροφογενές παθογόνο) για τις 7 κατηγορίες τροφίμων που απαρτίζουν το δείγμα της μελέτης. Η παρουσία του μικροοργανισμού αφορά κατεψυγμένα-ωμά (χωρίς θερμική επεξεργασία) σφολιατοειδή, κρεατοσκευάσματα (προϊόντα κοτόπουλου ή αλλαντικά), λαχανικά και μαλακά τυριά.

Αναλυτικότερα, για τα είδη *Listeria*, όσον αφορά στα προϊόντα κρέατος (n=140) θετικά βρέθηκαν τα 7 δείγματα τροφίμων (5%) και αρνητικά τα 133 (95%). Από τα γαλακτοκομικά προϊόντα (n=221), τα 3 ήταν θετικά (1,4%) και τα 218 τρόφιμα ήταν αρνητικά (98,6%). Θετικά επίσης βρέθηκαν 5 δείγματα λαχανικών (5,9%) ενώ αρνητικά ήταν τα υπόλοιπα 80 (94,1%). Από τα 26 συνολικά δείγματα προϊόντων αυγού, θετικό βρέθηκε το 1 (3,8%) ενώ τα υπόλοιπα 25 ήταν αρνητικά (96,2%). Για τις σφολιάτες του δείγματος (n=49), θετικά αποτελέσματα στον μικροβιολογικό έλεγχο εντοπίστηκαν σε 2 δείγματα (4,1%) ενώ αρνητικά ήταν τα υπόλοιπα 47 (95,9%). Τα 302 από το σύνολο των

309 δειγμάτων σάντουιτς (97,9%) ήταν αρνητικά ενώ 7 δείγματα (2,3%) έδωσαν θετικά αποτελέσματα. Τέλος, και τα 49 δείγματα σαλάτας ήταν αρνητικά στον μικροβιολογικό έλεγχο για παρουσία *Listeria spp.*

Τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου για την *Listeria monocytogenes* είναι τα ακόλουθα. Για τα δείγματα προϊόντων κρέατος (n=140), τα 138 δείγματα (98,6%) ήταν αρνητικά και τα 2 δείγματα ήταν θετικά, στην κατηγορία <10 cfu/gr (1,4%). Από τα γαλακτοκομικά προϊόντα (n=221), αρνητικά ήταν τα 218 δείγματα (98,6%) ενώ τα υπόλοιπα 3 δείγματα που είναι θετικά κατατάσσονται επίσης στην κατηγορία <10 cfu/gr (1,4%). Τα δείγματα των λαχανικών (n=85), έδωσαν 83 αρνητικά (97,6%) και 2 δείγματα θετικά κατηγορίας <10 cfu/gr (2,4%). Στα 26 δείγματα αυγού εντοπίστηκαν 25 αρνητικά δείγματα (96,2%) και 1 δείγμα κατηγορίας <10 cfu/gr (3,8%). Από τις 49 σφολιάτες που υπάρχουν στο δείγμα, αρνητικές ήταν οι 47 (95,9%) ενώ στην κατηγορία θετικά <10 cfu/gr εντοπίστηκαν οι υπόλοιπες 2 (4,1%). Στα δείγματα των σάντουιτς (n=309), εντοπίστηκαν 302 αρνητικά (97,7%) και 7 δείγματα θετικά, κατηγορίας <10 cfu/gr (2,3%). Τέλος, οι σαλάτες του δείγματος (n=49) ήταν αρνητικές στην παρουσία *Listeria monocytogenes*. Στην κατηγορία των θετικών >100 cfu/gr, δεν βρέθηκε κανένα δείγμα.

Τα κρεατοσκευάσματα στα οποία εντοπίστηκε *Listeria monocytogenes* ήταν προϊόντα κοτόπουλου μη θερμικώς επεξεργασμένα. Τα αλλαντικά, τα γαλακτοκομικά και τα αυγά είναι πιθανόν να έχουν μολυνθεί σε επίπεδο παραγωγού ή να έχουν επιμολυνθεί στη συνέχεια κατά την επεξεργασία τους από την επιχείρηση. Η παρουσία του μικροοργανισμού στα ενδιάμεσα προϊόντα (όπως είναι τα λαχανικά -μαρούλι, πιπεριά συγκεκριμένα-) δείχνει αποτυχία των διαδικασιών χημικής εξυγίανσής τους στις επιχειρήσεις fast food.

Είναι επίσης πολύ πιθανό τα δείγματα να επιμολύνθηκαν από τα εργαλεία και τον εξοπλισμό κοπής (μαχαίρια, robot coupe, teflon) λόγω κάποιας αστοχίας του προγράμματος εξυγίανσής τους με αποτέλεσμα τη διασταυρούμενη μόλυνση των επεξεργαζόμενων τροφίμων.

Η παρουσία του μικροοργανισμού στις σφολιάτες, μπορεί να αποδοθεί στην επιμόλυνση από το περιβάλλον παραγωγής της βιομηχανίας σφολιατοειδών (εργαλεία) ή/και στην παρουσία της στις εισερχόμενες πρώτες ύλες (τυριά) τα οποία επιμολύνονται κατά την παραγωγή τους στα τυροκομεία.

Τέλος, σε ό,τι αφορά τα σάντουιτς είναι προφανές ότι για την παρασκευή τους έχουν χρησιμοποιηθεί επιμολυσμένα συστατικά (είτε από το περιβάλλον παραγωγής ή από

μολυσμένες πρώτες ύλες, συστατικά των σάντουιτς π.χ. μαλακά τυριά, αλλαντικά, λαχανικά)

Πίνακας 7: Αποτελέσματα μικροβιολογικού ελέγχου για παρουσία *Listeria spp* και *Listeria monocytogenes*

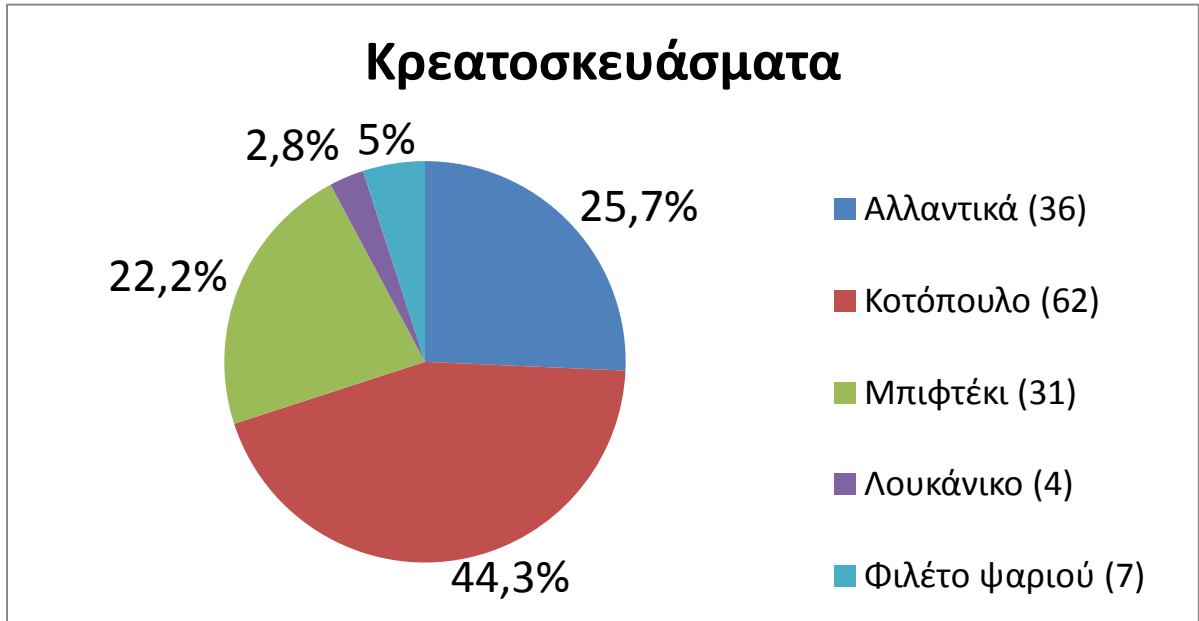
		Listeria		LMO		
		(+)	(-)	(-)	<10	>100
Είδος τροφίμου	Σύνολο	v (%)	v (%)	v (%)	v (%)	v (%)
Κρεατοσκευάσματα*	140	7 (5,0)	133 (95,0)	138 (98,6)	2 (1,4)	0 (0,0)
Γαλακτοκομικά*	221	3 (1,4)	218 (98,6)	218 (98,6)	3 (1,4)	0 (0,0)
Λαχανικά	85	5 (5,9)	80 (94,1)	83 (97,6)	2 (2,4)	0 (0,0)
Αυγό	26	1 (3,8)	25 (96,2)	25 (96,2)	1 (3,8)	0 (0,0)
Σφολιάτες*	49	2 (4,1)	47 (95,9)	47 (95,9)	2 (4,1)	0 (0,0)
Σαλάτες	49	0 (0,0)	49 (100,0)	49 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Σάντουιτς*	309	7 (2,3)	302 (97,7)	302 (97,7)	7 (2,3)	0 (0,0)

*Τα θετικά δείγματα της κατηγορίας «κρεατοσκευάσματα» αφορούν προϊόντα κοτόπουλου όπως στήθος κοτόπουλο, κοτόπουλο προψημένο και μαριναρισμένο κοτόπουλο.

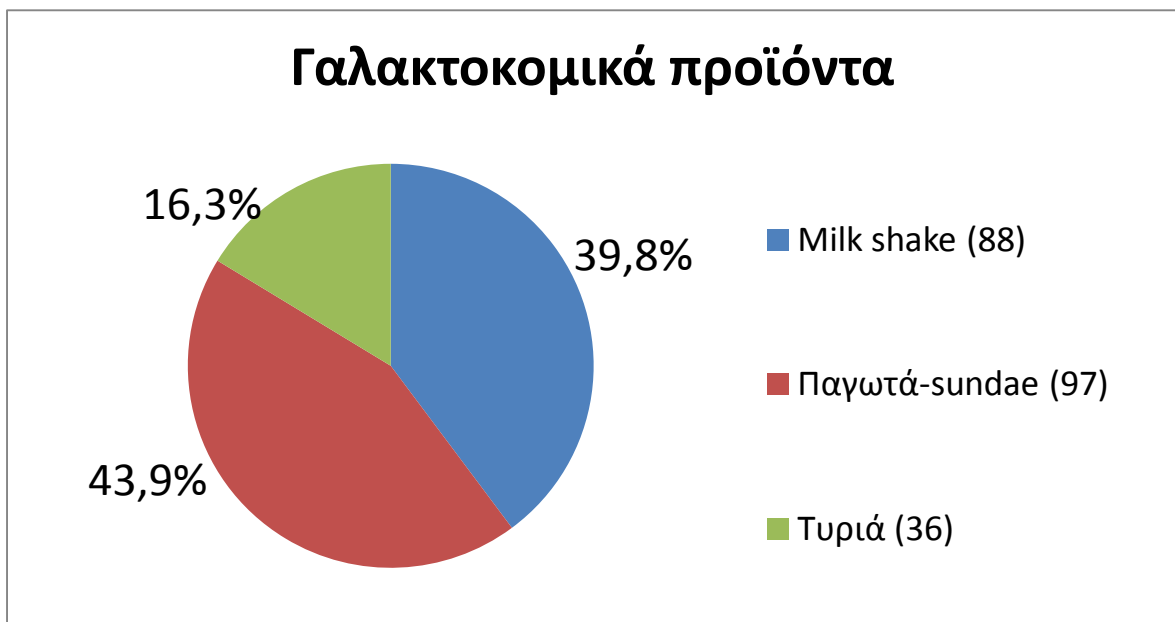
*Τα θετικά δείγματα της κατηγορίας των γαλακτοκομικών προϊόντων αφορούν τυριά (συγκεκριμένα μανούρι)

*Τα θετικά δείγματα από τις σφολιάτες ήταν κατεψυγμένα (χωρίς θερμική επεξεργασία).

*Σε ότι αφορά τα σάντουιτς, περιείχαν μανούρι.



Σχήμα 5 : Είδος και ποσοστό κρεατοσκευασμάτων στο δείγμα



Σχήμα 6 :Είδος και ποσοστό γαλακτοκομικών προϊόντων στο δείγμα

Στον Πίνακα 8 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου για τους *Staphylococcus* πηκτάση θετικούς για τις 7 κατηγορίες τροφίμων του υπό μελέτη δείγματος.

Βρέθηκαν τα εξής :Για τα δείγματα προϊόντων κρέατος (v=140), στα 131 δείγματα (93.6%), οι πληθυσμοί ήταν μικρότεροι του κατώτατου ορίου ανίχνευσης (50 cfu/gr) ενώ στα 9 (6,4%) δείγματα καταμετρήθηκαν πληθυσμοί μεγαλύτεροι του κατώτατου ορίου ανίχνευσης (50 cfu/gr ή ml). Από τα γαλακτοκομικά προϊόντα (v=221), οι πληθυσμοί ήταν μικρότεροι του κατώτατου ορίου ανίχνευσης (50 cfu/gr) στα 215 δείγματα (97,3%) ενώ στα υπόλοιπα 6 δείγματα (2,7%) καταμετρήθηκαν πληθυσμοί μεγαλύτεροι του κατώτατου ορίου ανίχνευσης (50 cfu/gr ή ml). Από τα 85 δείγματα των λαχανικών (v=85), στα 78 (91,8%) τρόφιμα οι πληθυσμοί ήταν μικρότεροι του κατώτατου ορίου ανίχνευσης και στα 7 (8,2%) καταμετρήθηκαν πληθυσμοί μεγαλύτεροι του κατώτατου ορίου ανίχνευσης (50 cfu/gr ή ml). Στα 26 δείγματα προϊόντων αυγού εντοπίστηκαν 23 δείγματα (88,5%) με πληθυσμούς μικρότερους του κατώτατου ορίου ανίχνευσης και 3 δείγματα (11,5%) με πληθυσμούς μεγαλύτερους του κατώτατου ορίου ανίχνευσης (50 cfu/gr ή ml). Από τις 49 σφολιάτες που υπάρχουν στο δείγμα, με πληθυσμούς μικρότερους του ορίου ανίχνευσης βρέθηκαν οι 46 (93,9%) ενώ οι υπόλοιπες 3 (6,1%) είχαν πληθυσμούς >50 cfu/gr ή ml . Από τις σαλάτες του δείγματος (v=49) οι 47 (95,9%) είχαν πληθυσμούς μικρότερους του κατώτατου ορίου ανίχνευσης (50 cfu/gr) και σε 2 δείγματα (4,1%) οι πληθυσμοί ήταν μεγαλύτεροι του κατώτατου ορίου ανίχνευσης (50 cfu/gr ή ml). Τέλος, από τα 309 δείγματα των σάντουιτς , στα 285 (92,6%) καταμετρήθηκαν πληθυσμοί μικρότεροι του κατώτατου ορίου ανίχνευσης 50 cfu/gr ή ml και στα 23 δείγματα (7,4%) καταμετρήθηκαν πληθυσμοί μεγαλύτεροι του κατώτατου ορίου ανίχνευσης 50 cfu/gr ή ml. Η παρουσία *Staphylococcus πηκτάση* + στα κρεατοσκευάσματα, λαχανικά, αυγά, γαλακτοκομικά και σφολιάτες φανερώνει επιμόλυνση κατά την επεξεργασία τους από το προσωπικό της επιχείρησης, λόγω μη συστηματικής εφαρμογής των ορθών πρακτικών παραγωγής (χρήση γαντιών κυρίως). Για τις κατεψυγμένες σφολιάτες, σε όποια δείγματα υπήρχε επιμόλυνση, αυτή οφειλόταν σε μη τήρηση των κανόνων ατομικής υγιεινής εκ μέρους του προσωπικού του εργοστασίου παραγωγής. Το ίδιο ισχύει και για τα σάντουιτς, εκτός και αν έγινε επιμόλυνση των επιμέρους συστατικών κατά την παρασκευή τους. Η παρουσία του *Staphylococcus πηκτάση* + αυξάνει τον κίνδυνο έκθεσης σε ιογενείς τροφολοιμώξεις από ιούς που επιμολύνουν τα χέρια των εργαζομένων (ιοί που επικρατούν στην κοινότητα, οικιακό ή άλλο περιβάλλον).

Πίνακας 8: Αποτελέσματα μικροβιολογικού ελέγχου για *Staphylococcus πηκτάση* +

		Staphylococcus πηκτάση +	
		<50 cfu/gr ή ml	>50 cfu/gr ή ml
Είδος τροφίμου	Σύνολο	v (%)	v (%)
Κρεατοσκευάσματα	140	131 (93,6)	9 (6,4)
Γαλακτοκομικά	221	215 (97,3)	6 (2,7)
Λαχανικά	85	78 (91,8)	7 (8,2)
Αυγό	26	23 (88,5)	3 (11,5)
Σφολιάτες Θ.Ε	49	46 (93,9)	3 (6,1)
Σαλάτες	49	47 (95,9)	2 (4,1)
Σάντουιτς	309	286 (92,6)	23 (7,4)

Στον πίνακα 9 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου για τα *Total coliforms* και για την *Escherichia coli* για τις 7 κατηγορίες τροφίμων του υπό μελέτη δείγματος.

Συγκεκριμένα, για τα *Total coliforms*, όσον αφορά στα προϊόντα κρέατος (v=140) καταμετρήθηκαν πληθυσμοί «1-10cfu/gr ή ml» στα 98 (70%) δείγματα, πληθυσμοί «11-500cfu/gr ή ml» στα 25 (17,9%), πληθυσμοί «501-5000cfu/gr ή ml» στα 10 (7,1%) και τέλος, πληθυσμοί >5.000 cfu/gr ή ml στα 7 δείγματα τροφίμων (5%). Από τα γαλακτοκομικά προϊόντα (v=221), καταμετρήθηκαν πληθυσμοί «1-10cfu/gr ή ml» στα 143 (64,7%), πληθυσμοί «11-500cfu/gr ή ml» στα 62 (28,1%), πληθυσμοί «501-5000cfu/gr ή ml» στα 12 (5,4%) και τέλος, πληθυσμοί >5.000 cfu/gr ή ml στα 4 δείγματα τροφίμων (1,8%). Από τα δείγματα λαχανικών (v=85), καταμετρήθηκαν πληθυσμοί «1-10cfu/gr ή ml» στα 15 (17,6%), «11-500cfu/gr ή ml» στα 26 (30,6%), «501-5000cfu/gr ή ml» στα 21 (24,7%) και τέλος, >5.000 cfu/gr ή ml στα 23 δείγματα τροφίμων (27,1%). Όσον αφορά

στα δείγματα προϊόντων αυγού ($n=26$) καταμετρήθηκαν πληθυσμοί «1-10cfu/gr ή ml» στα 12 (46,2%), «11-500cfu/gr ή ml» στα 6 (23,1%), «501-5000cfu/gr ή ml» στα 2 (7,7%) και τέλος, στην κατηγορία $>5.000\text{cfu/gr ή ml}$ στα 6 δείγματα τροφίμων (23,1%). Από τα 49 συνολικά δείγματα σφολιάτας, καταμετρήθηκαν πληθυσμοί «1-10cfu/gr ή ml» στα 36 (73,5%), «11-500cfu/gr ή ml» στα 7 (14,3%), «501-5000cfu/gr ή ml» στο 1 (2%) και τέλος, $>5.000\text{cfu/gr ή ml}$ στα υπόλοιπα 5 δείγματα τροφίμων (10,2%). Στα δείγματα της σαλάτας ($n=49$) βρέθηκαν τα εξής: καταμετρήθηκαν πληθυσμοί «1-10cfu/gr ή ml» σε 10 (20,4%) δείγματα, «11-500cfu/gr ή ml» σε 14 (28,6%), «501-5000cfu/gr ή ml» σε 10 (20,4%) και τέλος, $>5.000\text{cfu/gr ή ml}$ στα υπόλοιπα 15 δείγματα τροφίμων (30,6%). Τέλος, από τα δείγματα σάντουιτς ($n=309$), καταμετρήθηκαν πληθυσμοί «1-10cfu/gr ή ml» στα 153 (49,5%), «11-500cfu/gr ή ml» στα 97 (31,4%), «501-5000cfu/gr ή ml» στα 39 (12,6%) και τέλος, $>5.000\text{ cfu/gr ή ml}$ στα 20 δείγματα τροφίμων (6,5%).

Ακολουθούν τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου για την *Escherichia coli*. Για τα δείγματα προϊόντων κρέατος ($n=140$), στα 139 δείγματα (99,3%) καταμετρήθηκαν πληθυσμοί $<5\text{ cfu/gr ή ml}$ ενώ στο 1 δείγμα $>5\text{cfu/gr ή ml}$ (0,7%). Στα γαλακτοκομικά προϊόντα ($n=221$), στα δείγματα προϊόντων αυγού ($n=26$) καθώς και στις σαλάτες ($n=49$), καταμετρήθηκαν πληθυσμοί $<5\text{cfu/gr ή ml}$. Στα δείγματα των λαχανικών ($n=85$), καταμετρήθηκαν πληθυσμοί $<5\text{cfu/gr ή ml}$ (97,6%) σε 83 δείγματα και σε 2 τρόφιμα $>5\text{cfu/gr ή ml}$ (2,4%). Από τις 49 σφολιάτες που υπάρχουν στο δείγμα, καταμετρήθηκαν πληθυσμοί $<5\text{ cfu/gr ή ml}$ σε 46 (93,9%) ενώ $>5\text{ cfu/gr ή ml}$ στις υπόλοιπες 3 (6,1%). Τέλος, στα δείγματα των σάντουιτς ($n=309$), στα 304 δείγματα καταμετρήθηκαν πληθυσμοί $<5\text{ cfu/gr ή ml}$ (98,4%) και σε 5 δείγματα $>5\text{ cfu/gr ή ml}$ (1,6%). Σημαντικό εύρημα στον πίνακα αυτό είναι η παρουσία *Coliforms* σε γαλακτοκομικά προϊόντα στην κατηγορία **11-500cfu/gr**. Πρόκειται για προϊόντα παγωτού στα οποία η νομοθεσία είναι αυστηρή και προβλέπει πληθυσμούς $<100\text{ cfu/gr ή ml}$. Οφείλεται δε σε αστοχία του προγράμματος εξυγίανσης των εξοπλισμών παραγωγής τους. Σε ότι αφορά την παρουσία της *E.coli* η εικόνα κρίνεται απολύτως ικανοποιητική, δεδομένου ότι το ανώτατο επιτρεπτό όριο που ορίζει η νομοθεσία για το δείκτη υγιεινής *E.coli* στα τελικά σημεία πώλησης αυτών των επιχειρήσεων, ανέρχεται στα 100 cfu/gr . Σε κανένα από τα δείγματα στα οποία σημειώθηκε υπέρβαση του επιθυμητού ορίου (5 cfu/gr για την *E.coli*) δεν ξεπεράστηκε το ανώτατο επιτρεπτό όριο (100 cfu/gr)

Πίνακας 9 Αποτελέσματα μικροβιολογικού ελέγχου για δείκτες υγιεινής (*Coliforms* και *E.Coli*)

		Coliforms				E.coli	
		1-10cfu/gr	11-500cfu/gr	501-5.000cfu/gr	>5.000cfu/gr	<5cfu/gr	>5cfu/gr
Είδος τροφίμου	Σύνολο	v (%)	v (%)	v (%)	v (%)	v (%)	v (%)
Κρέας	140	98(70,0)	25 (17,9)	10 (7,1)	7 (5,0)	139 (99,3)	1 (0,7)
Γαλακτοκομικά	221	143 (64,7)	62 (28,1)	12 (5,4)	4 (1,8)	221 (100,0)	0 (0,0)
Λαχανικά	85	15 (17,6)	26 (30,6)	21(24,7)	23 (27,1)	83 (97,6)	2 (2,4)
Αυγό	26	12 (46,2)	6 (23,1)	2 (7,7)	6 (23,1)	26 (100,0)	0 (0,0)
Σφολιάτες κατεψυγμένες-βιτρίνα	49	36 (73,5)	7 (14,3)	1 (2,0)	5 (10,2)	46 (93,9)	3 (6,1)
Σαλάτες	49	10 (20,4)	14 (28,6)	10 (20,4)	15 (30,6)	49 (100,0)	0 (0,0)
Σάντουιτς	309	153 (49,5)	97 (31,4)	39 (12,6)	20 (6,5)	304 (98,4)	5 (1,6)

Στον πίνακα 10 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου των δειγμάτων τροφίμων για τους μικροβιακούς παράγοντες που συμπεριλήφθηκαν στις αναλύσεις της μελέτης. Ολόκληρο το δείγμα τροφίμων (v=879), έδωσε αρνητικά αποτελέσματα στον μικροβιολογικό έλεγχο για τη *Salmonella spp.* Για τη *Listeria spp.*, αρνητικά ήταν 854 δείγματα (97,2%) ενώ θετικά ήταν τα 25 δείγματα (2,8%), $p < 0,001$. Όσον αφορά στην *Listeria monocytogenes*, αρνητικά ήταν 862 δείγματα (98,1%) ενώ στην κατηγορία θετικά <10 cfu/gr ανήκαν τα υπόλοιπα 17 δείγματα (1,9%), $p < 0,001$. Τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου για τον *Staphylococcus aureus* έδωσαν 826 δείγματα τροφίμων κατηγορίας εντός επιθυμητού ορίου <50 cfu/gr (94%) και 53 δείγματα τροφίμων εκτός επιθυμητού ορίου >50 cfu/gr (6%), $p < 0,001$. Για τα *Coliforms*, 467 δείγματα τροφίμων (53,1%) καταμετρήθηκαν

πληθυσμοί «1-10 cfu/gr», σε 237 δείγματα τροφίμων (27%) «10-500 cfu/gr» σε 95 δείγματα τροφίμων «500-5.000 cfu/gr» και τέλος, στα υπόλοιπα 80 δείγματα τροφίμων (9,1%) καταμετρήθηκαν πληθυσμοί >5.000, cfu/gr $p < 0,001$. Όσον αφορά στην *Escherichia coli*, τα 868 δείγματα τροφίμων (98,7%) καταμετρήθηκαν πληθυσμοί <5 cfu/gr (εντός επιθυμητού ορίου) ενώ στα υπόλοιπα 11 δείγματα (1,3%) καταμετρήθηκαν πληθυσμοί >5 cfu/gr) (εκτός επιθυμητού ορίου) με $p = 0,005$.

Πίνακας 10: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων μικροβιολογικού ελέγχου ανά μικροβιακό παράγοντα

Μικροβιακός παράγοντας	Αποτέλεσμα μικροβιολογικού ελέγχου	Συχνότητα	Ποσοστό (%)	p-value
Salmonella	αρνητικό	879	100,0	NA
	θετικό	0	0	
Listeria	αρνητικό	854	97,2	<0.001
	θετικό	25	2,8	
LMO	αρνητικό	862	98,1	<0.001
	Θετικο <10 cfu/gr	17	1,9	
	Θετικο >10 cfu/gr	0	0	
St.aureus	<50 cfu/gr (εντός ορίου)	826	94,0	<0.001
	>50(cfu/gr εκτός ορίου)	53	6,0	
Coliforms	1-10	467	53,1	<0.001
	10-500	237	27,0	
	500-5000	95	10,8	
	>5000	80	9,1	
E.coli	<5 (εντός επιθυμητού ορίου)	868	98,7	0,005
	>5 εκτος επιθυμητού ορίου)	11	1,3	

Στον πίνακα 11 εμφανίζεται η συχνότητα των τροφίμων για κάθε μία από τις 4 εταιρείες τροφίμων που εξετάζονται στην παρούσα μελέτη, τα οποία σύμφωνα με τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου βρέθηκαν εντός ή εκτός των ορίων ασφαλείας ως προς τα τροφιμογενή παθογόνα και πληρούσαν ή όχι τις προϋποθέσεις υγιεινής σε ότι αφορά τους δείκτες της (*Staphylococcus, Coliforms*). Συγκεκριμένα, για την εταιρεία α, η οποία συμμετείχε στη μελέτη συνολικά με 37 δείγματα τροφίμων, τα 32 δείγματα (86,5%) ήταν εντός των ορίων μικροβιολογικής ασφαλείας και υγιεινής ενώ τα υπόλοιπα 5 δείγματα (13,5%) ήταν εκτός των ορίων μικροβιολογικής ασφαλείας και υγιεινής, $p < 0,001$. Η εταιρεία β ($n=37$), είχε 36 δείγματα τροφίμων (97,3%) εντός των

ορίων μικροβιολογικής ασφαλείας και υγιεινής και 1 δείγμα (2,7%) εκτός των ορίων μικροβιολογικής ασφαλείας και υγιεινής, $p < 0,001$. Για την εταιρεία c ($v=322$), υπήρχαν 282 δείγματα τροφίμων (87,6%), τα οποία πληρούσαν τους κανόνες ασφαλείας και υγιεινής ενώ 40 δείγματα τροφίμων (12,4%) ήταν εκτός των ορίων μικροβιολογικής ασφαλείας και υγιεινής, $p < 0,001$. Τέλος, για την τέταρτη εταιρεία ($v=483$), υπήρχαν 467 δείγματα (97,6%) εντός των ορίων ασφαλείας και υγιεινής ενώ τα υπόλοιπα 16 δείγματα τροφίμων (3,3%) δεν πληρούσαν τους κανόνες ασφαλείας και υγιεινής $p < 0,001$.

Πίνακας 11: Ασφάλεια-υγιεινή των τροφίμων ανά εταιρεία που συμμετείχε στο συνολικό δείγμα.

ΕΤΑΙΡΕΙΑ		ΑΣΦΑΛΕΙΑ-ΥΓΙΕΙΝΗ	
		ΕΝΤΟΣ ΚΡΙΤΗΡΙΩΝ	ΕΚΤΟΣ ΚΡΙΤΗΡΙΩΝ
a ($v=37$)	n	32	5
	Ποσοστό (%)	86,5	13,5
b ($v=37$)	n	36	1
	Ποσοστό (%)	97,3	2,7
c ($v=322$)	n	282	40
	Ποσοστό (%)	87,6	12,4
d ($v=483$)	n	467	16
	Ποσοστό (%)	97,6	3,3
p-value		$<0,001$	

Στον πίνακα 12 παρουσιάζεται η συχνότητα των τροφίμων του δείγματος, τα οποία πληρούσαν ή όχι τους κανόνες ασφαλείας και υγιεινής, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου, και κατατάχθηκαν εντός ή εκτός αντίστοιχα για τις 7 κατηγορίες τροφίμων που εξετάζονται στην παρούσα μελέτη. Συγκεκριμένα, από τα προϊόντα κρέατος ($v=140$), εντός των ορίων ασφαλείας-υγιεινής βρέθηκαν τα 132 (94,3%) ενώ εκτός των ορίων τα υπόλοιπα 8 δείγματα (5,7%). Για τα γαλακτοκομικά προϊόντα ($v=221$), τα 196 δείγματα (88,7%) ήταν εντός ενώ τα υπόλοιπα 25 (11,3%) ήταν εκτός των ορίων. Από τα λαχανικά του δείγματος ($v=85$), τα 77 (90,6%) πληρούσαν τους κανόνες ασφαλείας-υγιεινής ενώ τα υπόλοιπα 8 (9,4%) βρέθηκαν εκτός των ορίων αυτών. Στα δείγματα αυγού ($v=26$), τα 23 (88,5%) ήταν εντός των ορίων ασφαλείας ενώ 3 δείγματα (11,5%) βρέθηκαν εκτός αυτών των ορίων. Από τις σφολιάτες ($v=49$), οι 45

(91,8%) ήταν εντός ενώ οι υπόλοιπες 4 (8,2%) ήταν εκτός των ορίων ασφαλείας και υγιεινής. Από τις σαλάτες του δείγματος (n=49), οι 48 (98%) πληρούσαν τους κανόνες ασφαλείας-υγιεινής ενώ 1 δείγμα (2%) βρέθηκε εκτός . Τέλος, στα σάντουιτς του δείγματος (n=309), τα 296 (95,8%) ήταν εντός των ορίων ασφαλείας και υγιεινής ενώ 13 δείγματα (4,2%) ήταν εκτός των ορίων αυτών. Όλα τα παραπάνω ευρήματα έχουν στατιστική σημαντικότητα (p=0,032).

Πίνακας 12: Ασφάλεια-υγιεινή των τροφίμων του δείγματος. ανάλογα με τη σύστασή τους

ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	Συχνότητα	ΑΣΦΑΛΕΙΑ-ΥΓΙΕΙΝΗ	
		ΕΝΤΟΣ ΚΡΙΤΗΡΙΩΝ	ΕΚΤΟΣ ΚΡΙΤΗΡΙΩΝ
		Συχνότητα (%)	Συχνότητα (%)
Κρεατοσκευάσματα	140	132 (94,3)	8 (5,7)
Γαλακτοκομικά	221	196 (88,7)	25 (11,3)
Λαχανικά	85	77 (90,6)	8 (9,4)
Αυγό	26	23 (88,5)	3 (11,5)
Σφολιάτες	49	45 (91,8)	4 (8,2)
Σαλάτες	49	48 (98,0)	1 (2,0)
Σάντουιτς	309	296 (95,8)	13 (4,2)
Σύνολο	879	817 (92,9)	62 (7,1)
p-value	0,032		

Στον πίνακα 13 παρουσιάζεται η συχνότητα εμφάνισης των τροφίμων του δείγματος, τα οποία ήταν εντός ή εκτός των ορίων ασφαλείας-υγιεινής, ανάλογα με το είδος των τροφίμων (ενδιάμεσο και τελικό προϊόν). Συγκεκριμένα, τα τρόφιμα του δείγματος της παρούσας μελέτης αποτελούνται από 305 ενδιάμεσα προϊόντα και από 574 τελικά προϊόντα. Από τα 305 δείγματα που ανήκουν στα ενδιάμεσα προϊόντα, τα 275 (90,2%) ήταν εντός των ορίων ασφαλείας και υγιεινής ενώ τα υπόλοιπα 30 (9,8%) τρόφιμα βρέθηκαν εκτός των ορίων αυτών (p=0,015). Από τα 574 τελικά προϊόντα του δείγματος,

τα 542 (94,4%) ήταν ασφαλή ενώ τα υπόλοιπα 32 (5,6%) ήταν εκτός των ορίων ασφαλείας και υγιεινής ($p=0,015$).

Πίνακας 13: Συχνότητα εμφάνισης ασφαλών τροφίμων (εντός ή εκτός ορίων ασφαλείας και υγιεινής) ανά είδος τροφίμων του δείγματος.

ΕΙΔΟΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ (Συχνότητα)	ΑΣΦΑΛΕΙΑ-ΥΓΙΕΙΝΗ	
	ΕΝΤΟΣ	ΕΚΤΟΣ
	Συχνότητα (%)	Συχνότητα (%)
Ενδιάμεσο προϊόν (v=305)	275 (90,2)	30 (9,8)
Τελικό προϊόν (v=574)	542 (94,4)	32 (5,6)
Σύνολο	817 (92,9)	62 (7,1)
p-value	0,015	

Στον πίνακα 14 παρουσιάζεται ο κίνδυνος για μη ασφαλή τρόφιμα ανάλογα με το είδος των τροφίμων του δείγματος (ενδιάμεσο και τελικό προϊόν). Ο λόγος σχετικών πιθανοτήτων βρέθηκε 0,541 υποδηλώνοντας ότι υπάρχει κατά 46% μειωμένος κίνδυνος για τα τελικά προϊόντα του δείγματος να είναι εκτός ορίων ασφαλείας και επομένως μη ασφαλή σε σχέση με τα ενδιάμεσα προϊόντα.

Πίνακας 14: Υπολογισμός κινδύνου για την ασφάλεια των τροφίμων ανάλογα με το είδος των τροφίμων του δείγματος.

	Υπολογισμός κινδύνου		
	Τιμή	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης (ΔΕ)	
		Κάτω όριο	Άνω όριο
Ενδιάμεσο προϊόν	0,696	0,529	0,915
Τελικό προϊόν	1,285	1,005	1,644
Odds Ratio	0,541	0,322	0,909
p-value	<0,05		

Στον πίνακα 15 παρουσιάζεται αναλυτικά το προφίλ των 62 τροφίμων, τα οποία σύμφωνα με τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου, βρέθηκαν εκτός των ορίων ασφαλείας και υγιεινής. Όσον αφορά τη σύστασή τους, τα 8 δείγματα (12,9%) είναι προϊόντα κρέατος, τα 25 (40,32%) είναι γαλακτοκομικά προϊόντα, τα 8 (12,9%) είναι

λαχανικά, τα 3 (4,83%) αφορούν το αυγό και τα προϊόντα του, τα 4 δείγματα (6,45%) περιλαμβάνουν σφολιάτες, 1 δείγμα (1,63%) είναι σαλάτα ενώ τα υπόλοιπα 13 δείγματα (20,97%) ανήκουν στην κατηγορία σάντουιτς – πίτσα. Από αυτά τα 62 δείγματα τροφίμων, τα οποία είναι εκτός των ορίων ασφαλείας και υγιεινής, τα 30 (48,39%) υπάγονται στην κατηγορία του ενδιάμεσου προϊόντος και τα 32 (51,61%) στα τελικά προϊόντα

Πίνακας 15: Το προφίλ των 62 τροφίμων εκτός ορίων μικροβιολογικής ασφαλείας και υγιεινής.

Σύσταση τροφίμων	n (%)	Ενδιάμεσο προϊόν n (%)	Τελικό προϊόν n (%)
Κρεατοσκευάσματα	8 (12,9%)	8 (100%)	-
Γαλακτοκομικά προϊόντα	25 (40,32%)	9 (36%)	16 (64%)
Λαχανικά	8 (12,9%)	8 (100%)	-
Αυγό	3 (4,83%)	3 (100%)	-
Σφολιάτες	4 (6,45%)	2 (50%)	2 (50%)
Σαλάτες	1 (1,63%)	-	1 (100%)
Σάντουιτς-πίτσα	13 (20,97%)	-	13 (100%)
Σύνολο	62	30 (48,39%)	32 (51,61%)

Στον πίνακα 16 απεικονίζονται τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου για τα 62 τρόφιμα που κρίθηκαν ακατάλληλα για κατανάλωση, είτε λόγω ασφάλειας (*Salmonella*, *Listeria*) είτε λόγω υγιεινής (*Staphylococcus*, *E.coli*). Συγκεκριμένα, όσον αφορά στους μικροβιακούς παράγοντες, στα 19 δείγματα (30,64%) βρέθηκαν βακτήρια του γένους *Listeria*, εκ των οποίων τα 2 δείγματα ήταν προϊόντα κρέατος, τα 3 ήταν γαλακτοκομικά προϊόντα, τα 4 δείγματα ήταν λαχανικά, 1 δείγμα ήταν αυγό ενώ 2 δείγματα ήταν σφολιάτες και τέλος, 7 δείγματα ήταν της κατηγορίας σάντουιτς-πίτσα. Στα 2 δείγματα τροφίμων από την κατηγορία με τις σφολιάτες και τα 7 δείγματα της κατηγορίας σάντουιτς-πίτσα, τα βακτήρια ήταν *L.monocytogenes*. Σε 24 δείγματα βρέθηκε *Staphylococcus aureus*. Συγκεκριμένα, για τον *St.aureus* θετικά βρέθηκαν 5 δείγματα κρέατος, 5 γαλακτοκομικά προϊόντα, 7 δείγματα λαχανικών, 2 δείγματα προϊόντων αυγού, 1 δείγμα σφολιάτας, 1 δείγμα σαλάτας και τέλος, 3 δείγματα από την κατηγορία

σάντουιτς-πίτσα. Για τον παράγοντα της *E.coli*, θετικά χαρακτηρίστηκαν 4 δείγματα τροφίμων (6,45%) εκ των οποίων τα 3 ήταν λαχανικά και το 1 ήταν προϊόν κρέατος

Πίνακας 16: Το προφίλ των 62 τροφίμων εκτός ορίων ασφαλείας .

Σύσταση τροφίμων	n	Listeria n (%)	Lmo n (%)	St.aureus n (%)	E.coli n (%)
Κρεατοσκευάσματα	8	2 (25%)	-	5 (62,5%)	1 (12,5%)
Γαλακτοκομικά προϊόντα	25	3 (12%)	-	5 (20%)	-
Λαχανικά	8	4 (50%)	-	7 (100%)	3 (37,5%)
Αυγό	3	1 (33,33%)	-	2 (66,66%)	-
Σφολιάτες	4	2 (50%)	2 (100%)	1 (25%)	-
Σαλάτες	1	-	-	1 (100%)	-
Σάντουιτς-πίτσα	13	7 (54%)	7 (100%)	3 (23%)	-
Σύνολο	62	19 (30,64%)	9	24	4 (6,45%)

Παρουσία της *Listeria spp* σε ένα τρόφιμο, αυξάνει την πιθανότητα παρουσίας σε αυτό και της *L. monocytogenes* έστω και αν αυτή δεν ανιχνεύεται πάντα. Συχνότερα στις περιπτώσεις δειγμάτων που είναι θετικά στη *Listeria*, ανιχνεύεται η *L.innocua*.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Πριν από τη συζήτηση των ευρημάτων της παρούσας μελέτης και τη σύγκρισή τους με αντίστοιχα άλλων ερευνητών, θεωρείται σκόπιμο να αναφερθούν κάποιοι μεθοδολογικοί περιορισμοί που μπορεί να τα επηρεάζουν.

Το μέγεθος και η σύνθεση του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε είναι πιθανό να επηρεάζουν τα αποτελέσματα. Τα 879 δείγματα τροφίμων που χρησιμοποιήθηκαν για το μικροβιολογικό έλεγχο, είναι ένας αρκετά ικανοποιητικός αριθμός.

Το γεγονός ότι στη μελέτη συμμετείχαν μόνο τέσσερις από τις πολυάριθμες εταιρίες που δραστηριοποιούνται στο χώρο της μαζικής εστίασης τύπου fast food στην Κρήτη, καθιστά το δείγμα μη ιδιαίτερος αντιπροσωπευτικό για την ευρύτερη περιφέρεια του νησιού διότι στη μαζική εστίαση εντάσσονται εστιατόρια, ξενοδοχεία, νοσοκομεία κ.λ.π. που δεν έχουν συμπεριληφθεί στην παρούσα μελέτη. Οι τέσσερις εταιρείες που συμμετείχαν στη μελέτη, εφαρμόζουν όλες σύστημα HACCP, εμφανίζουν σε γενικές γραμμές μια καλή μικροβιολογική εικόνα των τροφίμων που παράγουν και σερβίρουν. Πιθανότατα, αν συμμετείχαν περισσότερες εταιρείες με διαφορετικά είδη τροφίμων να είχαμε κάποια διαφοροποίηση στα αποτελέσματά μας. Το γεγονός όμως ότι οι τέσσερις αυτές εταιρείες από τις οποίες προήλθε το δείγμα, είναι από τις μεγαλύτερες που δραστηριοποιούνται στο χώρο των τροφίμων τύπου fast food, μας επιτρέπει να σχηματίσουμε μια εικόνα για την μικροβιολογική ασφάλεια και υγιεινή τέτοιου τύπου τροφίμων.

Δεδομένου ότι και οι τέσσερις εταιρείες εφαρμόζουν σύστημα HACCP, με διαφορετικό επίπεδο αυστηρότητας σε σχέση με το πρότυπο, ένα από τα κυριότερα ευρήματα που προέκυψαν από αυτή τη μελέτη, είναι ότι η εφαρμογή του HACCP συμβάλλει στην παραγωγή ασφαλών τροφίμων για τους καταναλωτές και όσο αυστηρότερη είναι η λειτουργία του συστήματος σε σχέση με τα ισχύοντα πρότυπα, τόσο υψηλότερο είναι το ποσοστό υγιεινής και ασφάλειας (εταιρεία d). Η εφαρμογή του συστήματος έχει σαν αποτέλεσμα τη σαφή βελτίωση της μικροβιολογικής υγιεινής και ασφάλειας των σερβιριζομένων προϊόντων όπως αποδεικνύεται από το μικρό ποσοστό 7,1% (62 από τα 879) τροφίμων που βρέθηκαν εκτός των ορίων ασφαλείας-υγιεινής και έπρεπε από πλευράς εφαρμογής νομοθεσίας να αποσύρονται από την κατανάλωση.

Πολλές μελέτες εξ' άλλου, μνημονεύουν την αναγκαιότητα και τα οφέλη της εφαρμογής ενός συστήματος HACCP και ο WHO φυσικά έχει παίξει σημαντικό ρόλο στην προώθηση της εφαρμογής του (Motarjemi et al, 1996).

Ένα από τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής που είναι αρκετά εντυπωσιακό και ενθαρρυντικό συγχρόνως, είναι η παντελής απουσία *Salmonella* από τα τρόφιμα που εξετάστηκαν. Το σύνολο του δείγματος (879 διαφορετικά τρόφιμα) είναι αρνητικό στον μικροβιακό αυτό παράγοντα. Το γεγονός ότι τα μικρόβια του γένους *Salmonella* είναι παθογόνα για τον άνθρωπο και η νομοθεσία επιβάλλει την πλήρη απουσία τους από τα τρόφιμα, καθιστά το εύρημα αυτό μείζονος σημασίας. Στις Ηνωμένες Πολιτείες η σαλμονέλωση είναι η δεύτερη κύρια αιτία τροφιμογενών λοιμώξεων και η μεγάλη πλειοψηφία αυτών των λοιμώξεων σχετίζεται με την κατανάλωση προϊόντων όπως το κρέας, τα πουλερικά, τα αυγά, το γάλα, και τα θαλασσινά. Αυτό μπορεί να σχετίζεται με το γεγονός ότι η κατά κεφαλήν κατανάλωση κρέατος πουλερικών στις Ηνωμένες Πολιτείες έχει αυξηθεί σημαντικά κατά τον τελευταίο αιώνα. Σε ότι αφορά το κρέας και τα προϊόντα πουλερικών, υπήρξε μια σχεδόν 6-πλάσια αύξηση της κατανάλωσης κοτόπουλου. Επίσης η κατά κεφαλήν κατανάλωση χοιρινού κρέατος έχει αυξηθεί κατά 18,7 – 21,7 kg / έτος (Foley et al, 2008).

Όπως αναφέρει και το ECDC υπάρχει μια πτωτική τάση της σαλμονέλωσης στον Ευρωπαϊκό Οικονομικό Χώρο ΕΕ (ΕΟΧ) κατά την περίοδο των πέντε ετών 2009-2013, παρόλο που δεν είναι στατιστικά σημαντική αν αναλυθεί ανά μήνα. Σε γενικές γραμμές δεν υπάρχει καμία σημαντική αλλαγή όσον αφορά τα τρόφιμα στα οποία ανιχνεύεται *Salmonella* σε σύγκριση με τα προηγούμενα έτη. Συχνότερα εξακολουθεί να ανιχνεύεται στο κρέας των πουλερικών, και λιγότερο συχνά σε χοιρινό ή βόειο κρέας. Υπάρχει όμως μείωση του επιπολασμού της σαλμονέλας σε όλους τους πληθυσμούς των πουλερικών. Η συνεχιζόμενη μείωση του αριθμού των κρουσμάτων σαλμονέλωσης στον άνθρωπο είναι πιθανό να σχετίζεται κυρίως με τα επιτυχή προγράμματα ελέγχου της σαλμονέλας στα πουλερικά (*Gallus gallus*), αν και άλλα μέτρα ελέγχου κατά μήκος της τροφικής αλυσίδας θα μπορούσαν επίσης να έχουν συμβάλει στη μείωση. Η πλειονότητα των κρατών μελών έχει επιτύχει τους στόχους για τη μείωση της σαλμονέλας στα σμήνη αναπαραγωγής, ωοτόκες όρνιθες και στα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής. Ο επιπολασμός σε επίπεδο ΕΕ των οροτύπων στόχος που μειώθηκε περαιτέρω σε όλους τους πληθυσμούς των πουλερικών, δείχνει ότι εξακολουθεί να γίνεται πρόοδος στην καταπολέμηση αυτών των οροτύπων σαλμονέλας. Το 2013, 22 κράτη μέλη ανέφεραν συνολικά 1.168 τροφιμογενείς εστίες σαλμονέλωσης στον άνθρωπο

(συμπεριλαμβανομένης μιας εστίας που η μετάδοση έγινε με το νερό), που αποτελεί το 22,5% του συνολικού αριθμού των καταγεγραμμένων κρουσμάτων τροφιμογενών ασθενειών στην ΕΕ. Αυτό αντιπροσωπεύει μια μείωση της τάξης του 23,8% από το 2012 έως το 2013. Ο ετήσιος συνολικός αριθμός των κρουσμάτων σαλμονέλας εντός της ΕΕ έχει μειωθεί σημαντικά κατά τα τελευταία χρόνια. Από το 2008 έως το 2013, ο συνολικός αριθμός των κρουσμάτων σαλμονέλας μειώθηκε κατά 38,1%, (από 1.888 σε 1.168 κρούσματα). Η μείωση αυτή είναι παράλληλη με την γενική πτώση στις κοινοποιηθείσες περιπτώσεις σαλμονέλωσης που παρατηρούνται σε ανθρώπους στο εσωτερικό της ΕΕ κατά την ίδια περίοδο. Επιπλέον, το ποσοστό των κρατών που ανέφεραν ποσοστό μη συμμόρφωσης με το κριτήριο για τη σαλμονέλα για *S. enteritidis* και *S.typhimurium* μειώθηκε. Αυτό είναι ένα πολύ ενθαρρυντικό στοιχείο, υποδεικνύοντας ότι η συνέχιση των επενδύσεων των κρατών μελών στον έλεγχο της σαλμονέλας αποδίδει αισθητά αποτελέσματα (EFSA & ECDC, 2015).

Πολλές μελέτες έχουν γίνει για την ανίχνευση της *Salmonella* σε διάφορα είδη τροφίμων. Σε μια από αυτές το δείγμα αποτελούνταν από συσκευασμένες σαλάτες έτοιμες προς κατανάλωση. Η πλειοψηφία των δειγμάτων αυτών (3826 από 3852 δείγματα) ήταν μικροβιολογικά αποδεκτά και ασφαλή και μόνο σε δέκα συνολικά δείγματα ανιχνεύθηκε *Salmonella*. Υπεύθυνες για την παρουσία της, μπορεί να είναι τόσο οι εργασίες κατά την καλλιέργεια και τη συγκομιδή όσο και κατά την προετοιμασία και συσκευασία των λαχανικών που είναι συστατικά των σαλατών. Υπογραμμίζεται λοιπόν η σημαντικότητα της εφαρμογής ορθών καλλιεργητικών πρακτικών και συμμόρφωσης με τις πρακτικές υγιεινής «από το αγρόκτημα ως το πιρούνι» ούτως ώστε να αποτρέπεται η μόλυνση και η βακτηριακή ανάπτυξη της *Salmonella* σε τέτοιου είδους προϊόντα (Sagoo et al, 2003).

Ο έλεγχος της μόλυνσης των γεωργικών προϊόντων που είναι έτοιμα για κατανάλωση, κυρίως φρούτα και λαχανικά, παρουσιάζει μια σημαντική πρόκληση για τη βιομηχανία τροφίμων, τις ρυθμιστικές αρχές και τις αρχές δημόσιας υγείας. Σε μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων, κρούσματα σαλμονέλωσης αποδόθηκαν στην κατανάλωση ντομάτας από ένα συσκευαστή ντομάτας στη Νότια Καρολίνα. Η μόλυνση πιθανόν συνέβη στο χώρο συσκευασίας, όπου οι ντομάτες εμβαπτιζόνταν σε ένα κοινό λουτρό νερού (Hedberg et al, 1999).

Σε ότι αφορά τη *Listeria monocytogenes* που μας ενδιαφέρει, καθώς είναι ένα από τα αίτια τροφιμογενών λοιμώξεων στον άνθρωπο, στη μελέτη μας δεν υπήρχαν δείγματα στην κατηγορία $>10\text{cfu/ml}$. Τα θετικά στο μικροοργανισμό τρόφιμα της κατηγορίας $<10\text{cfu/ml}$ αφορούν δυο κρεατοσκευάσματα, τρία γαλακτοκομικά προϊόντα (μαλακό τυρί), δυο λαχανικά, ένα προϊόν αυγού, δυο σφολιατοειδή πριν την τελική θερμική επεξεργασία και επτά είδη σάντουιτς στη φάση της πώλησης. Το αποτέλεσμα αυτό αντιστοιχεί σε ένα ποσοστό 1,9% θετικών σε LMO τροφίμων στο σύνολο του δείγματος, που είναι ένα ικανοποιητικά χαμηλό ποσοστό. Η μόλυνση των έτοιμων προς κατανάλωση προϊόντων με *Listeria monocytogenes* μπορεί να συμβεί σε διάφορα στάδια πριν από την κατανάλωση. Πιθανές πηγές του μικροοργανισμού περιλαμβάνουν το περιβάλλον, τους χειριστές τροφίμων και τις εισερχόμενες πρώτες ύλες, ή μεταποιημένα προϊόντα που έχουν μολυνθεί στις εγκαταστάσεις παραγωγής και χρησιμοποιούνται για την παρασκευή άλλων προϊόντων (Lianou & Sofos, 2007).

Μελέτη που έγινε σε τρόφιμα στις ΗΠΑ συμπεριέλαβε οκτώ κατηγορίες έτοιμων προς κατανάλωση τροφίμων που συλλέχθηκαν σε διάστημα 14-23 μηνών και περιελάμβαναν κονσερβοποιημένα κρέατα, σαλάτες ντελικατέσεν, φρέσκα μαλακά τυριά, σαλάτες, τυρί τύπου ροκφόρ, καπνιστά θαλασσινά και σαλάτες θαλασσινών. Από 31.705 δείγματα που εξετάστηκαν, 577 ήταν θετικά. Ο συνολικός επιπολασμός ήταν 1,82%, με επιπολασμό που κυμαίνεται 0,17 – 4,7% μεταξύ των κατηγοριών. Τα θετικά δείγματα κυμαίνονται από $<0,3$ ΠΑ (πιθανότερο αριθμό) ανά g έως $1,5 \times 10^5$ CFU / g, ενώ μόνο 21 δείγματα είχαν επίπεδα $> 10^2$ CFU / g. Στατιστικά σημαντική μεγαλύτερη συχνότητα θετικών δειγμάτων, βρέθηκε στα δείγματα που συσκευάζονταν στο κατάστημα της πώλησής τους, σε σχέση με αυτά που ήταν συσκευασμένα από τον κατασκευαστή (Gombas et al, 2003).

Από τα θετικά δείγματα γαλακτοκομικών προϊόντων της μελέτης μας, τα τρία (3) που ήταν θετικά στην LMO αφορούν μαλακό τυρί (μανούρι). Η επιμόλυνσή τους μπορεί να αφορά την αρχική γραμμή παραγωγής τους στο τυροκομείο ή τους χειρισμούς κατά το στάδιο της προετοιμασίας (κοπή-μεριδοποίηση) και του σεβιρίσματος. Μια μελέτη που αφορά το Minas Frescal cheese ένα από τα πιο διάσημα λευκά μαλακά τυριά που παράγεται στη Βραζιλία και τρώγεται φρέσκο, προσδιόρισε τα κρίσιμα σημεία ελέγχου της επεξεργασίας του σε δυο διαφορετικά εργοστάσια παραγωγής του. Ένα σύνολο από 218 δείγματα συλλέχθηκαν κατά μήκος της γραμμής παραγωγής και του περιβάλλοντος

παραγωγής. Τα 13 θετικά δείγματα (2 ήταν *L.monocytogenes*) εντοπίστηκαν σε όλα τα σημεία της γραμμής παραγωγής δηλαδή τόσο στην υποδοχή του νωπού γάλακτος όσο και κατά την παστερίωση, την πήξη και την αποθήκευσή του. Στο ένα από τα δύο εργοστάσια εντοπίστηκαν θετικά δείγματα και από το περιβάλλον (δάπεδο του δωματίου ψύξης) (Silva et al, 2003).

Τα αποτελέσματα ενός σημαντικού αριθμού ερευνών για *L. monocytogenes* σε προϊόντα αρτοποιίας, φρούτα, λαχανικά, έτοιμα φαγητά και σαλάτες έχουν αναφερθεί. Το 2013, 14 κράτη μέλη ανακοίνωσαν στοιχεία από τις έρευνες Συνολικά, 5.106 μονάδες ελέγχθηκαν, όπου η πλειοψηφία ήταν μεμονωμένα δείγματα σε επίπεδο λιανικής, και *L. monocytogenes* βρέθηκε στο 1,4% των δειγμάτων που συλλέχθηκαν σε όλα τα στάδια της δειγματοληψίας. Συνολικά, 12 κράτη μέλη ανέφεραν στοιχεία για προϊόντα αρτοποιίας, όπου *L. monocytogenes* βρέθηκε στο 4,5% από τα 3.731 δείγματα που αναλύθηκαν. Σε δύο κράτη μέλη, *L. monocytogenes* βρέθηκε σε σαλάτες σε επίπεδα άνω των 100 CFU / g .Επίσης έχει ανιχνευθεί σε σάντουιτς και σούσι (πάντα σε επίπεδο λιανικής) (EFSA & ECDC, 2015).

Τόσο οι Σταφυλόκοκκοι πηκτάση θετικοί, τα *Coliforms* (για προϊόντα γάλατος-παγωτού) και η *E.col* (κυρίως εντεροπαθογόνα στελέχη), αποτελούν δείκτες μικροβιολογικής υγιεινής και όχι μικροβιολογικής ασφάλειας δεδομένου ότι οι πληθυσμοί τους πρέπει να ανέλθουν σε πολύ υψηλά επίπεδα, μεγαλύτερα $5 \cdot 10^5$ cfu/gr, ώστε να υπάρξουν επιπτώσεις στην υγεία του καταναλωτή. (Σε αντίθεση , τα τροφογενή παθογόνα όπως *Salmonella* και *Listeria monocytogenes*, μικροί πληθυσμοί τους μπορεί να προκαλέσουν επιπτώσεις στον καταναλωτή). Η παρουσία τους, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (ανάλογα και με τις κατευθυντήριες γραμμές που καθορίζονται σε κάθε περίπτωση), υποδηλώνει μη τήρηση των ορθών πρακτικών υγιεινής κατά την παραγωγή (ατομική υγιεινή εργαζομένων-προγράμματα εξυγίανσης χώρων παραγωγής) και σε αρκετές περιπτώσεις θερμοκρασιακή κακοποίηση η οποία επιτρέπει και τον πολλαπλασιασμό τους σε υψηλά και πιθανόν τοξικά επίπεδα. Σε μια μελέτη που έγινε στην Τουρκία, προσδιορίστηκε η συχνότητα εμφάνισης του *S. aureus* σε έτοιμα προς κατανάλωση (RTE) γεύματα από τη στρατιωτική καφετέρια στην Άγκυρα. Δείγματα όπως σαλάτες λαχανικών, ρώσικη σαλάτα και κεφτεδάκια τα οποία απαιτούν περισσότερο χειρισμό από το προσωπικό, είχαν σημαντικά περισσότερες πιθανότητες να περιέχουν *S. aureus* σε υψηλότερα επίπεδα από τρόφιμα που δεν χρειάζονται πολλούς χειρισμούς, όπως χάμπουργκερ, πίτσα. Doner κ.λ.π. Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι

οι χειριστές τροφίμων μπορούν να συμβάλουν στην μόλυνση και ότι υπάρχουν ορισμένες πρακτικές χειρισμού που απαιτούν περισσότερη προσοχή (Aycicek et al, 2005). Σε μια άλλη μελέτη στη Νιγηρία από 880 δείγματα έτοιμων προς κατανάλωση τροφίμων που εξετάστηκαν και περιείχαν κρέας, ψάρι, λαχανικά, τους μικρότερους αριθμούς *S. aureus* περιείχαν τα τρόφιμα που περιλάμβαναν καθόλου ή λίγη μετα-επεξεργασία με το χέρι. Ενώ τα δείγματα νερού από τα κέντρα προετοιμασίας τροφίμων που αναλύθηκαν και είχαν επανειλημμένη επαφή με τα χέρια κατά τη διάρκεια της παρασκευής τροφίμων ήταν θετικά σε *S. aureus* (Sokari, 1991).

Η παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων *E.coli* στα δείγματα της μελέτης μας αφορούσε γαλακτοκομικά προϊόντα, που ήταν προϊόντα παγωτού, κρέας και λαχανικά. Σύμφωνα με την EFSA και το ECDC το 2013 έχουν αναφερθεί συνολικά 62 κρούσματα σε ανθρώπους οφειλόμενα σε *E. Coli* (συμπεριλαμβανομένης της VTEC), εκ των οποίων τα 12 είχαν ισχυρά αποδεικτικά στοιχεία. Το κύριο μέσο μετάδοσης ήταν το βόειο κρέας και τα προϊόντα του, ακολουθούμενο από λαχανικά, χυμούς και το τυρί. Το ποσοστό κοινοποίησης των λοιμώξεων του ανθρώπου από VTEC αυξήθηκε το 2013 σε σύγκριση με το 2012. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε αύξηση της ευαισθητοποίησης των περισσότερων εργαστηρίων για τις δοκιμές σε περισσότερες οροομάδες, καθώς και σε μια μετατόπιση των διαγνωστικών μεθόδων σε πιο ευαίσθητες, όπως η PCR που χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο για την ανίχνευση του VTEC σε δείγματα κοπράνων (EFSA & ECDC, 2015). Καθώς τα περισσότερα κρούσματα τροφιμογενών ασθενειών προκύπτουν από ελαττωματικές πρακτικές χειρισμού των τροφίμων, γενικά πιστεύεται ότι η εκπαίδευση των χειριστών τροφίμων θα μπορούσε να συμβάλει σημαντικά στην πρόληψη και τον έλεγχο τους. Η αποτελεσματικότητα της κατάρτισης για την υγιεινή των χειριστών τροφίμων σε όλα τα επίπεδα της τροφικής αλυσίδας τόσο στις ανεπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες εξετάστηκε σε μια μελέτη των Ehiriri και συνεργατών (1995). Επίσης μια άλλη μελέτη που έγινε στην Τουρκία, έδειξε ότι οι χειριστές στις τουρκικές επιχειρήσεις τροφίμων συχνά έχουν έλλειψη γνώσεων όσον αφορά τη βασική υγιεινή των τροφίμων. Η μελέτη περιελάμβανε συνέντευξη πρόσωπο με πρόσωπο και τη συμπλήρωση ερωτηματολογίου. Από τους 764 χειριστές τροφίμων που ανταποκρίθηκαν, η πλειοψηφία (47,8%) δεν είχαν λάβει βασική εκπαίδευση για την ασφάλεια των τροφίμων. Η ανάγκη για την εκπαίδευση και την ευαισθητοποίηση των χειριστών σχετικά με τις πρακτικές χειρισμού για ασφαλή τρόφιμα, είναι επιτακτική (Bas et al, 2007). Σε ανασκόπηση της επιστημονικής βιβλιογραφίας για την περίοδο 1975-1998, εντοπίστηκαν τα άρθρα που περιγράφουν

κρούσματα τροφιμογενών ασθενειών που πιστεύεται ότι έχουν προκύψει από τη μόλυνση των τροφίμων από τους εργαζόμενους.

Στο 93% των περιπτώσεων, οι εργαζόμενοι, ήταν άρρωστοι είτε πριν είτε κατά τη διάρκεια εμφάνισης των κρουσμάτων. Στις περισσότερες από τις υπόλοιπες εστίες, η πηγή των λοιμώξεων πιστεύεται ότι ήταν ασυμπτωματικοί εργαζόμενοι (Ross & Guzewich, 1999).

5.ΣΥΝΟΨΗ

Είναι γνωστό ότι κατά τις τελευταίες δεκαετίες άλλαξαν πολύ οι διατροφικές συνήθειες και οι απαιτήσεις των καταναλωτών. Παράλληλα αυξήθηκαν τα κρούσματα τροφιμογενών ασθενειών που σχετίζονται με την κατανάλωση έτοιμου φαγητού, συμπεριλαμβανομένων φρούτων και λαχανικών. Σε ότι αφορά τα φρούτα και τα λαχανικά έχουν συμβεί αλλαγές και στην καλλιέργεια, συγκομιδή και διανομή τους.

Το ίδιο ισχύει και για την εκτροφή και διάθεση των ζωικών προϊόντων. Μετά από το στάδιο της πρωτογενούς παραγωγής, επιμόλυνση των προϊόντων μπορεί να παρατηρηθεί κατά τους διάφορους χειρισμούς από τους εργαζόμενους στην αλυσίδα παραγωγής (Beuchat & Ryu, 1997). Η ζήτηση για ασφαλέστερα τρόφιμα αυξάνεται καθώς οι καταναλωτές γίνονται πιο εύποροι, ενημερώνονται συνεχώς, και μπορούν να κατανοήσουν καλύτερα τις σχέσεις μεταξύ της διατροφής και της υγείας. Το ποσοστό των έτοιμων προς κατανάλωση γευμάτων αυξάνεται, ακόμη και σε χώρες μεσαίου εισοδήματος, και αυτό στερεί από τους καταναλωτές τη δυνατότητα ελέγχου του χειρισμού και της προετοιμασίας των τροφίμων. Το διεθνές εμπόριο ειδών διατροφής είναι μια μεγάλη πηγή εισοδήματος για πολλές χώρες, το γεγονός όμως ότι και τα τεχνικά και τα εμπορικά εμπόδια μειώνονται, μπορεί να εισαγάγει νέες πηγές κινδύνων στην παροχή τροφίμων (Unnevehr & Jensen, 1999).

Οι κίνδυνοι αυτοί μπορούν να μειωθούν ακόμα και να εξαλειφθούν με την σωστή εφαρμογή και τήρηση του συστήματος προληπτικής υγιεινής τροφίμων HACCP. Συγκεκριμένα, η σημασία της εφαρμογής HACCP για την παρασκευή τόσο της φέτας όσο και για το μανούρι έχει περιγραφεί αναλυτικά σε μια μελέτη των Mauroopoulos & Arvanitoyannis (1999). Στη μελέτη αυτή αναλύθηκε η σημασία εφαρμογής κρίσιμων σημείων ελέγχου σε όλα τα στάδια της παραγωγής καθώς ο κίνδυνος επιμόλυνσης του προϊόντος είναι μεγάλος. Αποδείχτηκε ότι η εφαρμογή του συστήματος HACCP στην παραγωγή των τυριών αυτών, είναι ένα πολύτιμο εργαλείο για τη βελτίωση της ασφάλειας και της ποιότητας των γαλακτοκομικών αυτών προϊόντων (Mauroopoulos & Arvanitoyannis, 1999).

Το ίδιο ισχύει και για κάθε είδος τροφίμου και τη βιομηχανία τροφίμων γενικότερα. Όπως φάνηκε και από τη δική μας μελέτη στις τέσσερις αυτές εταιρίες που δραστηριοποιούνται στο χώρο της μαζικής εστίασης, η εφαρμογή του HACCP οδήγησε στην ύπαρξη ενός αρκετά χαμηλού ποσοστού μη ικανοποιητικών τροφίμων. Το ποσοστό αυτό έχει δυνατότητα περαιτέρω μείωσης μέσα από την ανάλυση των κινδύνων, την

αναγνώριση των κρίσιμων σημείων ελέγχου και τις προληπτικές και διορθωτικές ενέργειες που το σύστημα επιβάλλει. Με την αναγνώριση και ανάλυση των κινδύνων από τα αρχικό στάδιο της παραγωγής μέχρι τη στιγμή της διάθεσης του τροφίμου στον καταναλωτή, οι βιομηχανίες είναι σε θέση να ελαχιστοποιήσουν την πιθανότητα παρασκευής ενός ακατάλληλου για κατανάλωση προϊόντος. Έτσι, οι βιομηχανίες προστατεύουν τον εαυτό τους (από το ενδεχόμενο παραγωγής επισφαλών τροφίμων) προστατεύοντας συγχρόνως την υγεία του καταναλωτή. Βέβαια για να μπορούμε να έχουμε αυτό το αποτέλεσμα, που είναι πάντα η δημιουργία ασφαλών και ποιοτικών τροφίμων, θα πρέπει να τηρούνται κάποιοι κανόνες σε όλα τα στάδια της παραγωγής, «από το χωράφι - ή το στάβλο- στο πιάτο» ούτως ώστε να εξασφαλίζονται τόσο η παραγωγή όσο και η διακίνηση και επεξεργασία όλων των ειδών τροφίμων και κυρίως των πρώτων υλών. Αυτό ασφαλώς προϋποθέτει τη συνεργασία πολλών φορέων με τους παραγωγούς. Επιβάλλει τη θέσπιση και τήρηση, μέσω ελεγκτικών μηχανισμών, μέτρων από την Πολιτεία που θα διασφαλίζουν την υγεία του καταναλωτή. Η συνεχής ενημέρωση και εκπαίδευση τόσο των ανθρώπων της πρωτογενούς παραγωγής, όσο και των επιχειρηματιών που ασχολούνται με τη βιομηχανία τροφίμων, πρέπει να στοχεύει στην κατανόηση της αναγκαιότητας εφαρμογής των συστημάτων αυτών και στο μακροπρόθεσμο και σταθερό όφελος που η εφαρμογή αυτή προσφέρει. Εκπαίδευση και διαρκής ενημέρωση οφείλει να παρέχεται και στο προσωπικό που συγκροτεί τον ελεγκτικό μηχανισμό (κτηνίατροι, γεωπόννοι τεχνολόγοι τροφίμων κ.λ.π) ούτως ώστε να είναι σε θέση να αναγνωρίζουν τα πιθανά σφάλματα και παράλληλα να παρέχουν συμβουλευτική υποστήριξη. Επιπροσθέτως, προκειμένου να γίνει ευκολότερη και δελεαστικότερη η εφαρμογή ενός συστήματος HACCP από τις επιχειρήσεις, θα μπορούσε να υπάρχει μια χρηματοδότηση από το κράτος. Συνολικά η νομοθεσία μαζί με τον έλεγχο και τη διευκόλυνση των επιχειρήσεων θα μπορούσε να οδηγήσει στην αύξηση του ποσοστού των επιχειρήσεων που εφαρμόζουν συστήματα HACCP. Αυτό θα οδηγούσε στη βελτίωση της ποιότητας των παραγόμενων τροφίμων, σε μείωση των τροφιμογενών λοιμώξεων και στην εξασφάλιση της υγείας των καταναλωτών. Επίσης θα βοηθούσε την προβολή των προϊόντων στις διεθνείς αγορές με αποτέλεσμα την αύξηση των εξαγωγών και την οικονομική ενίσχυση των εταιρειών και ολόκληρης της χώρας.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aycicek H, Cakiroglu S and Stevenson T (2005). Incidence of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat meals from military cafeterias in Ankara, Turkey. *Food Control*, 16(6), 531-534.
- Αρβανιτογιάννης Ι (2001). Ασφάλεια τροφίμων: εφαρμογή της ανάλυσης επικινδυνότητας και κρίσιμων σημείων ελέγχου (HACCP) στις βιομηχανίες τροφίμων και ποτών. Πρώτη Έκδοση. University Studio Press, Θεσσαλονίκη.
- Bauman H.E (1995). The origin and concept of HACCP. In HACCP in Meat, Poultry and Fish Processing (pp. 1-7). Springer US.
- Baş M Yüksel M and Çavuşoğlu T (2007). Difficulties and barriers for the implementing of HACCP and food safety systems in food businesses in Turkey. *Food Control*, 18(2), 124-130.
- Belitz H, Grosch W and Schieberle P (2004) Food Chemistry. Third Edition, Springer.
- Beuchat L and Ryu J (1997). Produce handling and processing practices. *Emerging infectious diseases*, 3(4), 459.
- Bryan F.L (1990). Hazard analysis critical control point (HACCP) systems for retail food and restaurant operations. *Journal of Food Protection*®, 53(11), 978-983.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2015). Food safety. Διαθέσιμο στο: <http://www.cdc.gov/foodsafety/cdc-and-food-safety.html>.
- Chen Y (1994). Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διάγνωση Λοιμώξεων. Τέταρτη Έκδοση. Ιατρικές Εκδόσεις ΖΗΤΑ, Αθήνα.
- Dillon M and Griffith C (2001). How to HACCP: A management guide. MD Associates.
- Dundes L and Swann T (2008). Food safety in fast food restaurants. *Journal of Human Resources in Hospitality & Tourism*, 7(2), 153-161.
- Ehiri J.E Morris G.P and McEwen J (1995). Implementation of HACCP in food businesses: the way ahead. *Food Control*, 6(6), 341-345.
- European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2015). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. *EFSA Journal*, 13(1): 3991.
- Feng P (1994). Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διάγνωση Λοιμώξεων. Τέταρτη Έκδοση. Ιατρικές Εκδόσεις ΖΗΤΑ, Αθήνα.

Foley S, Lynne A and Nayak R (2008). Challenges: Prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. *Journal of animal science*, 86(14_suppl), E149-E162.

Gombas D, Chen Y, Clavero R and Scott V (2003). Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Journal of Food Protection*®, 66(4), 559-569.

Hait J (1994). Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διάγνωση Λοιμώξεων. Τέταρτη Έκδοση. Ιατρικές Εκδόσεις ΖΗΤΑ, Αθήνα.

Hammack T (1994). Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διάγνωση Λοιμώξεων. Τέταρτη Έκδοση. Ιατρικές Εκδόσεις ΖΗΤΑ, Αθήνα.

Harrigan W.F and Park R.W.A (1991). *Making Safe Food: A Management Guide for Microbiological Quality*. Academic Press, London.

Health Care Agency (2015) *Environmental Health – Foodborne illness - Top 5 Foodborne Illness Risk factors*. Διαθέσιμο στο: <http://ocfoodinfo.com/illness/risk>.

Hedberg C, Angulo F, White K, Langkop C, Schell W, Stobierski M, ... and INVESTIGATION TEAM. (1999). Outbreaks of salmonellosis associated with eating uncooked tomatoes: implications for public health. *Epidemiology and Infection*, 122(03), 385-393.

ISO 11290-1:1996 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* -- Part 1: Detection method.

ISO 6887-1:1999 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination -- Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.

ISO 6888-1:1999 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) -- Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium.

ISO 16649-1:2001 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* -- Part 1: Colony-count technique at 44 degrees C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide.

ISO 16649-2:2001 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* -- Part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide.

ISO 6579:2002 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.

[Κανονισμός 852/2004: Κατευθυντήριες Γραμμές για τις αρμόδιες αρχές](#)

[Κανονισμός 852/2004: Κατευθυντήριες Γραμμές για τις επιχειρήσεις τροφίμων](#)

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

[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.

Κανονισμός 2073/2005 περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα.

Lianou A and Sofos J (2007). A review of the incidence and transmission of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products in retail and food service environments. *Journal of Food Protection*®, 70(9), 2172-2198.

Mauropoulos A and Arvanitoyannis I (1999). Implementation of hazard analysis critical control point to Feta and Manouri cheese production lines. *Food Control*, 10(3), 213-219.

Mortimore S and Wallace C (1994). *Haccp: A practical approach*. First Edition. Springer Science & Business Media, London, U.K.

Motarjemi Y, Käferstein F, Moy G, Miyagawa S and Miyagishima K (1996). Importance of HACCP for public health and development the role of the world health organization. *Food control*, 7(2), 77-85.

Pierson M.D and Corlett D (1992). *HACCP: principles and applications*. Chapman & Hall, New York.

Ropkins K and Beck A.J (2000). Evaluation of worldwide approaches to the use of HACCP to control food safety. *Trends in Food Science & Technology*, 11(1), 10-21.

Ross M and Guzewich J (1999). Evaluation of risks related to microbiological contamination of ready-to-eat food by food preparation workers and the effectiveness of interventions to minimize those risks. *FDA White Paper, FDA, CFSAN*.

Sagoo S, Little C, Ward L, Gillespie I and Mitchell R (2003). Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from retail establishments uncovers a national outbreak of salmonellosis. *Journal of Food Protection*®, 66(3), 403-409.

Silva I, Almeida R, Alves M and Almeida P (2003). Occurrence of *Listeria* spp. in critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. *International journal of food microbiology*, 81(3), 241-248.

Sokari T (1991). Distribution of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat foods in eastern Nigeria. *International journal of food microbiology*, 12(2), 275-279.

Sperber W and Stier R (2009). Happy 50th birthday to HACCP: retrospective and prospective. *Food Safety Magazine*, 42, 44-46.

Stein C, Kuchenmüller T, Hendrickx S, Prüss-Üstün A, Wolfson L, Engels D and Schlundt J (2007). The global burden of disease assessments—WHO is responsible?. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 1(3), e161.

Τζιά Κ και Τσιαπούρης Α (1996). *Ανάλυση Επικινδυνότητας στα Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου (HACCP) στη Βιομηχανία Τροφίμων*. Εκδόσεις Παπασωτηρίου, Αθήνα.

Τζιά Κ.Π (2005). *Ανάλυση επικινδυνότητας στα κρίσιμα σημεία ελέγχου (HACCP) σε χώρους μαζικής εστίασης*. Εκδόσεις Παπασωτηρίου, Αθήνα.

Τσακνής Γ (2008). *Διασφάλιση ποιότητας τροφίμων: HACCP, ISO 9000:2000*. Πρώτη Έκδοση. Εκδόσεις Παπασωτηρίου, Αθήνα.

United States Food and Drug Administration / Center for Food Safety & Applied Nutrition (FDA/CFSAN) (1992). *Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook*

Unnevehr L and Jensen H (1999). The economic implications of using HACCP as a food safety regulatory standard. *Food policy*, 24(6), 625-635.

World Health Organization (WHO) (1999). *Strategies for Implementing HACCP in Small and/or Less Developed Businesses*. Report of a WHO Consultation. Food Safety Programme, Hague.

World Health Organization (WHO) and Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2002). *FAO/WHO guidance to governments on the application of HACCP in small and/or less-developed food businesses*.

World Health Organization (WHO) (2015). *Food safety. Data and statistics*. Διαθέσιμο στο: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/food-safety/data-and-statistics>.

