



**ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ  
ΙΔΡΥΜΑ  
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ



## ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Αντιμικροβιακή δράση υγρών μαντηλιών με διάλυμα σαπουνιού και αιθέρια έλαια ρίγανης ενάντια παθογόνων βακτηρίων που σχετίζονται με τα τρόφιμα και μελέτη της απολυμαντικής τους δράσης σε ανοξείδωτες επιφάνειες.

Μαυρίδου Όλγα  
Μπλατσιώτης Νικόλαος

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2013

Αντιμικροβιακή δράση υγρών μαντηλιών με διάλυμα σαπουνιού και αιθέρια έλαια  
ρίγανης ενάντια παθογόνων βακτηρίων που σχετίζονται με τα τρόφιμα και μελέτη της  
απολυμαντικής τους δράσης σε ανοξείδωτες επιφάνειες.

Μαυρίδου Όλγα

Μπλατσιώτης Νικόλαος

Υποβολή Πτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για την  
απονομή του Πτυχίου του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΑΤΕΙ  
Θεσσαλονίκης.

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Τμήμα  
Τεχνολογίας Τροφίμων,  
57400 Θεσσαλονίκη ΤΘ 141

Εισηγητής: Λυκοτραφίτη Ελένη

Εξεταστική επιτροπή: Παπαντωνίου Δημήτριος

Rhoades Jonathan

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας Τροφίμων του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Θεσσαλονίκης.

Θα θέλαμε να εκφράσουμε τις θερμές μας ευχαριστίες προς την Καθηγήτρια Λυκοτραφίτη Ελένη του εργαστηρίου Μικροβιολογίας Τροφίμων, επιβλέποντα αυτής της μελέτης, για τη σημαντική συμβολή της ιδιαίτερα στη συγγραφή και εκτέλεση της εργασίας.

Τέλος θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε όλο το προσωπικό και φοιτητές του εργαστηρίου που εργάστηκαν και βοήθησαν στη σωστή εκτέλεση και διεξαγωγή των πειραματικών διεργασιών με ασφάλεια.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η αντιμικροβιακή δράση υγρών μαντηλιών με διάλυμα σαπουνιού και αιθέρια έλαια ρίγανης ενάντια παθογόνων βακτηρίων που σχετίζονται με τα τρόφιμα και μελέτη της απολυμαντικής τους δράσης σε ανοξειδωτες επιφάνειες. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν μαντηλάκια με νερό, με διάλυμα σαπουνιού και με διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο και μελετήθηκε η απολυμαντική τους ικανότητα. Για την μελέτη της απολύμανσης της ανοξειδωτης επιφάνειας, ενοφθαλμίστηκαν τέσσερα βακτήρια, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* και *Staphylococcus aureus* και στη συνέχεια καθαρίστηκε η επιφάνεια με μαντήλια καθαρισμού και βαμβάκοφορείς με τρεις μεθόδους: με νερό, με διάλυμα σαπουνιού και με διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, παρατηρήθηκε τόσο στην απολυμαντική δράση μαντηλιών όσο και στην απολύμανση επιφανειών ότι η προσθήκη του αιθέριου ελαίου ρίγανης στο βασικό διάλυμα σαπουνιού ενίσχυσε σημαντικά τις αντιμικροβιακές ιδιότητές του. Η απολύμανση με τη χρήση μαντηλιών με διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά ( $p < 0.05$ ) τους αρχικούς πληθυσμούς και των τεσσάρων παθογόνων και δυνητικά παθογόνων βακτηρίων από τα πρώτα δευτερόλεπτα επαφής σε σχέση με τα μαντήλια με νερό και διαλύματος σαπουνιού. Το διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά ( $p < 0.05$ ) τον πληθυσμό της *E. coli* στην ανοξειδωτη επιφάνεια τόσο στα μαντηλάκια όσο και στους βαμβάκοφορείς σε σχέση με το διάλυμα σαπουνιού και το νερό. Το διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά ( $p < 0.05$ ) τον πληθυσμό της *L. monocytogenes* στην ανοξειδωτη επιφάνεια τόσο στα μαντηλάκια όσο και στους βαμβάκοφορείς σε σχέση με τα μαντήλια με νερό. Το διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά ( $p < 0.05$ ) τον πληθυσμό της *Salmonella typhimurium* στην ανοξειδωτη επιφάνεια στα μαντηλάκια σε σχέση με τα μαντήλια με το διάλυμα σαπουνιού και με το νερό. Τέλος το διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά ( $p < 0.05$ ) τον πληθυσμό του *S. aureus* στην ανοξειδωτη επιφάνεια τόσο στα μαντηλάκια όσο και στους βαμβάκοφορείς σε σχέση με το διάλυμα σαπουνιού και το νερό.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	4
1.1	Γενικά.....	4
1.1.1	Αντιμικροβιακά συστήματα φυτικής προέλευσης.....	5
1.1.2	Αντιμικροβιακή δράση των αιθερίων ελαίων.....	6
1.1.3	Ριγανέλαιο.....	7
2	Παθογόνα βακτήρια.....	10
2.1	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	10
2.1.1	Οργανισμός.....	10
2.1.2	Πηγές.....	11
2.1.3	Τροφογενή κρούσματα με <i>L. monocytogenes</i> .....	12
2.1.4	Ασθένειες και συμπτώματα.....	13
2.2	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
2.2.1	Οργανισμός.....	14
2.2.2	Πηγές.....	15
2.2.3	Τροφογενή κρούσματα με <i>S. aureus</i> .....	16
2.2.4	Ασθένεια και συμπτώματα.....	16
2.3	<i>Salmonella</i> .....	17
2.3.1	Οργανισμός.....	17
2.3.2	Πηγές.....	18
2.3.3	Τροφογενή κρούσματα με <i>Salmonella</i> .....	18
2.3.4	Ασθένεια και συμπτώματα.....	19
2.4	<i>Escherichia coli</i> .....	20

2.4.1	Οργανισμός.....	20
2.4.2	Πηγές.....	21
2.4.3	Τροφογενή κρούσματα με <i>E. coli</i> O157:H7 .....	21
2.4.4	Ασθένεια και συμπτώματα.....	22
2.5	Απολυμαντικά.....	23
2.5.1	Ορισμοί και κατηγορίες .....	23
2.6	Επιφάνειες.....	25
2.6.1	Ανοξειδωτες επιφάνειες.....	25
2.7	Επαναεπιμόλυνση τροφίμων.....	26
3	Υλικά και μέθοδοι.....	31
3.1	Σκοπός της εργασίας.....	31
3.2	Μέθοδος απολύμανσης επιφανειών .....	31
3.2.1	Προετοιμασία επιφανειών.....	31
3.2.2	Προετοιμασία ενοφθαλμίσματος .....	31
3.2.3	Πειραματική διαδικασία απολύμανσης επιφανειών .....	32
3.3	Μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης υγρών μαντηλιών.....	33
3.3.1	Πειραματική διαδικασία μελέτης της αντιμικροβιακής δράσης υγρών μαντηλιών .....	33
3.4	Καταμέτρηση αποικιών .....	34
3.5	Στατιστική ανάλυση.....	34
4	Αποτελέσματα.....	35
4.1	Αντιμικροβιακή δράση υγρών μαντηλιών .....	35
4.2	Απολύμανση ανοξειδωτης επιφάνειας.....	39

5	Συζήτηση.....	43
5.1	Υγρά μαντηλάκια.....	43
5.2	Απολύμανση ανοξείδωτης επιφάνειας με υγρά μαντηλάκια .....	43
6	Προτάσεις για μελλοντική έρευνα.....	48
7	Βιβλιογραφία .....	49

## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Περιεκτικότητα δραστικών ουσιών διαφόρων αιθέριων ελαίων .....	9
Πίνακας 2. Τροφογενή κρούσματα <i>L.monocytogenes</i> .....	12
Πίνακας 3. Τροφογενή κρούσματα με <i>S. aureus</i> .....	16
Πίνακας 4. Τροφογενή κρούσματα με <i>Salmonella</i> . .....	19
Πίνακας 5. Τροφογενή κρούσματα με την <i>E. coli</i> O157:H7. ....	21
Πίνακας 6. Χημικές ονομασίες βιοκτόνων, αντισηπτικών, απολυμαντικών	24
Πίνακας 7 Περιεκτικότητα δραστικών ουσιών διαφόρων αιθέριων ελαίων. ....	46



## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1. Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης σε υγρά μαντηλάκια στον πληθυσμό <i>E. coli</i> NCTC 12900. ....	35
Σχήμα 2. Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης σε υγρά μαντηλάκια στον πληθυσμό <i>S. aureus</i> ATCC 6538. ....	36
Σχήμα 3. Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης σε υγρά μαντηλάκια στον πληθυσμό της <i>Salmonella typhimurium</i> DT 193. ....	37
Σχήμα 4. Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης σε υγρά μαντηλάκια στον πληθυσμό της <i>L. monocytogenes</i> NCTC 10527. ....	38
Σχήμα 5. Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης στον πληθυσμό της <i>E. coli</i> NCTC 12900 σε ανοξείδωτη επιφάνεια. ....	39
Σχήμα 6. Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης στον πληθυσμό της <i>L. monocytogenes</i> NCTC 10527 σε ανοξείδωτη επιφάνεια. ....	40
Σχήμα 7. Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης στον πληθυσμό της <i>Salmonella typhimurium</i> DT 193 σε ανοξείδωτη επιφάνεια. ....	41
Σχήμα 8. Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης στον πληθυσμό του <i>S. aureus</i> ATCC 6538 σε ανοξείδωτη επιφάνεια. ....	42

## **ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ**

*E. coli*: *Escherichia coli*

**EPEC**: Εντεροπαθογόνα στελέχη *Escherichia coli*

**EHEC**: Εντεροαιμορραγικά στελέχη *Escherichia coli*

**ETEC**: Εντεροτοξινογόνα στελέχη *Escherichia coli*

**EIEC**: Εντεροδιεισδυτικά στελέχη *Escherichia coli*

**HUS**: Αιμολυτικό-Ουρεμικό Σύνδρομο

*L. monocytogenes*: *Listeria monocytogenes*

*S. typhimurium*: *Salmonella typhimurium*

*S. enteritidis*: *Salmonella enteritidis*

*S. aureus*: *Staphylococcus aureus*

*S. saprophyticus*: *Staphylococcus saprophyticus*

*S. epidermidis*: *Staphylococcus epidermidis*

**FDA**: Food and Drug Administration

*B. cereus*: *Bacillus cereus*

*Ps. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*

*Ps. fluorescens*: *Pseudomonas fluorescens*

*P. acnes*: *Propionibacterium acnes*

*S. dysenteriae*: *Shigella dysenteriae*

*S. flexneri*: *Shigella flexneri*

*S. sonnei*: *Shigella sonnei*

*S. boudii*: *Shigella boudi*

***C. jejuni***: *Campylobacter jejuni*

***C. coli***: *Campylobacter coli*

***C. fetus***: *Campylobacter fetus*

***C. lari***: *Campylobacter lari*

***C. hyointestinalis***: *Campylobacter hyointestinalis*

***C. upsaliensis***: *Campylobacter upsaliensis*

***S. marcescens***: *Serratia marcescens*

**APIC**: Association for Professionals in Infection Control

**OMX**: Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα

# 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Γενικά

Η αναζήτηση για νέους τρόπους συντήρησης των τροφίμων οι οποίοι χρησιμοποιούν φυσικά συστατικά, έχοντας σκοπό την αύξηση της διατηρησιμότητας και βελτίωση της ποιότητας στα προϊόντα, έδωσε μια νέα τροπή στον τομέα της έρευνας για τα αντιμικροβιακά συστατικά. Συγκεκριμένα τα πρόσθετα τροφίμων απασχολούν τις βιομηχανίες μιας και πολλά από αυτά έχουν υψηλό κόστος και αμφίβολες για την υγεία του καταναλωτή συνέπειες. Η ανάγκη της εκμετάλλευσης των φυσικών αρωμάτων όπως τα διάφορα μπαχαρικά ώστε να προσδώσουν γεύση και άρωμα για ένα προϊόν καλύτερο και αρεστό στον καταναλωτή οδήγησε τους επιστήμονες στην καλύτερη μελέτη αυτών. Το ενδιαφέρον για τα αιθέρια έλαια και την εφαρμογή τους στην συντήρηση των τροφίμων έχει ενισχυθεί τα τελευταία χρόνια καθώς ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας συνιστά την μείωση του αλατιού ως βασικό μέσο συντήρησης στα τρόφιμα, για έλεγχο των καρδιαγγειακών παθήσεων που σχετίζονται με την υψηλή αρτηριακή πίεση από την υπερβολική κατανάλωση αλατιού. Επίσης η αρνητική αντίληψη των καταναλωτών για τα συνθετικά συντηρητικά και οι άγνωστες για την υγεία τους συνέπειες από πολλές ουσίες οι οποίες με το πέρασμα των χρόνων χαρακτηρίζονται ως επικίνδυνες για τη δημόσια υγεία συνέβαλλαν προς αυτή την κατεύθυνση.

Πολλά από τα αρώματα έχουν αντιμικροβιακές και αντιβακτηριδιακές ιδιότητες οι οποίες τα καθιστούν ένα πρώτης τάξεως φυσικό συντηρητικό βοηθώντας στη διατήρηση του τροφίμου απομακρύνοντας τον κίνδυνο αλλοίωσης ενώ παράλληλα αναπτύσσουν και αναδεικνύουν ουσίες γεύσης και αρώματος. Συγκεκριμένα η ρίγανη (*oreganum vulgare*) έχει πολύ καλή αντιμικροβιακή δράση έναντι σημαντικών παθογόνων μικροοργανισμών στη βιομηχανία τροφίμων. Η αντιμικροβιακή δράση οφείλεται στον συνδυασμό δύο ουσιών την θυμόλη και την καρβακρόλη (Lambert, *et al.*, 2001) και στηρίζεται στην αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης που έχει ως αποτέλεσμα την καταστροφή του κυττάρου.

### 1.1.1 Αντιμικροβιακά συστήματα φυτικής προέλευσης

Τα αιθέρια έλαια είναι υγρά μίγματα πτητικών συστατικών με ευχάριστη οσμή, που ανήκουν κατά κύριο λόγο στην ομάδα των τερπενίων (κυρίως μονοτερπένια και σεσκιτερπένια) αλλά και των εστέρων, αλδεϋδών και κετονών (φαινυλοπροπανοειδή, θειούχες ή αζωτούχες ενώσεις, αλεικυκυκλικούς υδρογονάνθρακες κλπ). Αυτά παράγονται στους ειδικούς αδένες των αρωματικών φυτών και είναι διαλυτά στην αλκοόλη και λιγότερο διαλυτά στο νερό (Hargreaves *et al.*, 1975).

Τα τερπένια είναι οργανικά μόρια με τεράστια ποικιλομορφία στη δομή τους αφού σήμερα είναι γνωστή η δομή χιλιάδων τερπενίων τα οποία είναι είτε υδρογονάνθρακες ή περιέχουν και άτομα οξυγόνου σε μόρια ανοιχτής αλυσίδας ή δακτυλίων. Η παραγωγή των αιθερίων ελαίων στα φυτά γίνεται από ειδικευμένους εκκριτικούς σχηματισμούς, όπως είναι τα ελαιοφόρα δοχεία, τα αδενώδη τοιχώματα, οι ελαιοφόροι πόροι και τα ιδιόβλαστα ελαιοκύτταρα. Ο πραγματικός ρόλος των αιθερίων ελαίων στα φυτά δεν είναι ακόμη γνωστός, αλλά υπάρχουν μόνο υποθέσεις για τη σημασία και το ρόλο τους. Θα πρέπει να τονιστεί ότι τα αιθέρια έλαια είναι πρόδρομες ουσίες δραστικών μεταβολιτών που μειώνουν την απώλεια του νερού με τη διαπνοή. Τα αιθέρια έλαια προσελκύουν τα έντομα, που μαζεύουν τη γύρη βοηθώντας έτσι στην αναπαραγωγή και επικονίαση. Η σύσταση των αιθερίων ελαίων ποικίλλει ανάλογα με το είδος, τη γεωγραφική τοποθεσία και τη χρονική περίοδο της συλλογής των φυτικών ιστών. Για παράδειγμα, τα αιθέρια έλαια του *Origanum vulgare subsp. hirtum* όταν συλλέχθηκαν στα τέλη φθινοπώρου από έξι διαφορετικά τμήματα των τριών μεγάλων γεωγραφικών περιοχών της Ελλάδας, εμφάνισαν σημαντικές διαφορές στα τέσσερα κυρίαρχα συστατικά τους: το  $\alpha$ -τερπινένιο, που κυμαινόταν από 0.6 έως 3.6% του συνολικού αιθερίου ελαίου, το  $\pi$ -κυμένιο με διακύμανση από 17.3 έως 51.3%, τη θυμόλη από 0.2 έως 42.8% και την καρβακρόλη από 1.7% έως 69.6% (Kokkini *et al.*, 1997). Σημαντικές διακυμάνσεις παρατηρήθηκαν και όταν τα φυτά συλλέχθηκαν στα μέσα του καλοκαιριού. Ωστόσο ο σημαντικότερος περιβαλλοντικός παράγοντας που επηρεάζει τη σύσταση των αιθερίων ελαίων είναι το υψόμετρο. Ύψηλότερες συγκεντρώσεις των παραπάνω συστατικών βρέθηκαν σε χαμηλότερα υψόμετρα και σε θερμότερες περιοχές, δηλαδή

σε συνθήκες που προσομοιάζουν τα Μεσογειακά οικοσυστήματα (Vokou *et al.*, 1993).

### **1.1.2 Αντιμικροβιακή δράση των αιθερίων ελαίων**

Τα αιθέρια έλαια διαθέτουν ένα μεγάλο αριθμό πλεονεκτημάτων όσον αφορά τη χρήση τους από τη βιομηχανία τροφίμων. Δεν χρωματίζουν το προϊόν στο οποίο προστίθενται, προσδίδουν άρωμα στα τρόφιμα, είναι απαλλαγμένα από ένζυμα και τανίνες, αλλά ακόμη σημαντικότερη είναι η αντιμικροβιακή δράση τους, μέσω της οποίας συμβάλλουν στη συντήρηση των τροφίμων. Από τα πανάρχαια χρόνια, τα καρυκεύματα και τα βότανα χρησιμοποιούνταν χάρη στις αρωματικές, φαρμακευτικές, συντηρητικές και αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες, με σκοπό την αύξηση της σταθερότητας και της ασφάλειας των τροφίμων. Δομικά οι δραστικές ουσίες των αιθερίων ελαίων εμφανίζουν ομοιότητες με τα φαινολικά συστατικά, αλλά ανήκουν στην τάξη των πτητικών τερπενοειδών. Ενδεικτικά αναφέρονται τα μόρια θυμόλη, καρβακρόλη, π-κυμένιο, σιναμική αλδεΰδη, λιμονένιο, ευγενόλη, βορνεόλη, σινεόλη, πευκίνη, καμφίνη, καμφορά θουγιόνη, κλπ (Sofos *et al.*, 1998).

Μέχρι σήμερα δεν έχει διευκρινιστεί ο τρόπος δράσης των αιθερίων ελαίων έναντι των μικροοργανισμών, έχουν όμως προταθεί αρκετές θεωρίες οι οποίες άλλοτε τεκμηριώνονται πειραματικά και άλλοτε όχι. Σχετικές μελέτες υποστηρίζουν ότι η παρεμποδιστική δράση των αιθερίων ελαίων οφείλεται στις επιπλοκές που προκαλούν σε ένα εύρος ενζυμικών συστημάτων, τα οποία εμπλέκονται στον ενεργειακό μεταβολισμό και στα μονοπάτια βιοσύνθεσης των δομικών υλικών της κυτταρικής μεμβράνης (Conner and Beuchat, 1984).

Τα αιθέρια ελαία και τα συστατικά τους είναι υδρόφοβα. Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό που τα επιτρέπει να αναμιχθούν στα λιπίδια της μεμβράνης του βακτηριακού κυττάρου και να διαταράξουν τις δομές καθιστώντας την μεμβράνη περισσότερο διαπερατή. Η διαρροή των ιόντων και άλλων περιεχομένων του κυττάρου μπορεί τότε να συμβεί. Παρότι ένα ορισμένο ποσό της διαρροής από τα βακτηριακά κύτταρα μπορεί να είναι ανεκτό χωρίς απώλεια της βιωσιμότητας,

εκτεταμένη απώλεια των περιεχομένων των κυττάρων ή έξοδο κρίσιμων μορίων και ιόντων, θα οδηγήσει σε θάνατο. Η χημική δομή των μεμονωμένων συστατικών ΕΟ επηρεάζει τον ακριβή τρόπο δράσης τους και την αντιβακτηριακή τους ιδιότητα. Η σημασία της παρουσίας της ομάδας υδροξυλίου σε φαινολικές ενώσεις, όπως η καρβακρόλη και η θυμόλη έχει επιβεβαιώσει το γεγονός αυτό. Η σχετική θέση της ομάδας υδροξυλίου επί του φαινολικού δακτυλίου δεν φαίνεται να επηρεάζει έντονα το βαθμό αντιβακτηριακής δράσης (Burt 2004).

Γενικά η δράση των αντιμικροβιακών συστημάτων κινείται στους παραπάνω τρεις άξονες: (α) επίδραση στην κυτταρική μεμβράνη με επακόλουθη αύξηση της διαπερατότητάς της και διαρροή πολύτιμου υλικού ή ολική λύση του κυττάρου. (β) αδρανοποίηση ενζύμων με επίπτωση στην ομαλή λειτουργία του κυττάρου. (γ) καταστροφή ή λειτουργική αδρανοποίηση του γενετικού υλικού (Davidson and Branen, 1981; Denyer and Hugo, 1991; Sikkema *et al.*, 1995).

Τα αιθέρια έλαια έχουν καλύτερα αποτελέσματα στα gram-θετικά βακτήρια σε σχέση με τα gram-αρνητικά βακτήρια γεγονός που οφείλεται στον προστατευτικό ρόλο που έχει η εξωτερική κυτταρική μεμβράνη και η οποία απαντάται μόνο στα gram-αρνητικά βακτήρια (Govaris *et al.*, 2011).

### 1.1.3 Ριγανέλαιο

Το γένος *Origanum* (οικογένεια *Lamiaceae*) περιλαμβάνει περίπου 38 είδη, τα περισσότερα από τα οποία είναι ενδημικά στη Μεσόγειο, το 75% από αυτά περιορίζονται στην ανατολική Μεσόγειο. Λόγω της μεταβλητότητας σε χημική και σύνθεση αρώματος, τα φυτά *Origanum* χρησιμοποιούνται ευρέως ως βότανα, στη μαγειρική, ή απλά ενισχύοντας τη γεύση διαφόρων προϊόντων διατροφής. Επίσης έχουν ιδιότητες αντιβακτηριακές, αντιοξειδωτικές, αντιθρομβωτικές και αντιπεργλυκαιμικές (Madani Sari *et al.*, 2006).

Τα είδη *Origanum* αποτελούν αντικείμενο μελέτης για τη βασική σύνθεση του ελαίου τους ως πιθανή πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών παραγόντων. Όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα το ριγανέλαιο έναντι διαφόρων άλλων

αιθέριων ελαίων υπερτερεί σε συγκέντρωση καρβακρόλης και θυμόλης δυο συστατικών υπεύθυνα για την αντιβακτηριακή του δράση. Το γ-τερπινένιο και π-κυμένιο είναι πρόδρομες ενώσεις των θυμόλη και καρβακρόλη. Οι δυο αυτές ενώσεις δρούν σε συνέργεια παρουσιάζοντας έτσι μεγαλύτερο φάσμα δράσης και αποτελεσματικότητα έναντι των gram αρνητικών και gram θετικών βακτηρίων (Burt 2004).



**Πίνακας 1.** Περιεκτικότητα δραστικών ουσιών διαφόρων αιθέριων ελαίων

Κοινή Ονομασία	Λατινική Ονομασία φυτού	Κύρια Συστατικά	Συγκέντρωση
Κόλιανδρο (φύλλα)	Coriandrum sativum (immature leaves)	Linalool E-2-decanal	26% 20%
Κόλιανδρο Σπόροι	Coriandrum sativum (seeds)	Linalool E-2-decanal	70% -
Κανέλλα	Cinnamomum zeylandicum	Trans-cinnamaldehyde	65%
Ρίγανη	Origanum vulgare	Carvacrol Thymol γ-Terpinene p-Cymene	Trace - 80% Trace - 64% 2 - 52% Trace - 52%
Δενδρολίβανο	Rosmarinus officinalis	α-pinene Bornyl acetate Camphor 1,8-cineole	2-25 % 0-17% 2-14% 3-89%
Φασκόμηλο	Salvia officinalis L.	Camphor α-Pinene β-pinene 1,8-cineole α-tujone	6-15% 4-5% 2-10% 6-14% 20-42%
Γαρίφαλο	Syzygium aromaticum	Eugenol Eugenyl acetate	75 - 85 % 8 - 15 %
Θυμάρι	Thymus vulgaris	Thymol Carvacrol γ-Terpinene p-Cymene	10 - 64 % 2 - 11 % 2 - 31 % 10 - 56 %

Πηγή (Burt, 2004)

## 2 Παθογόνα βακτήρια

### 2.1 *Listeria monocytogenes*

#### 2.1.1 Οργανισμός

Το γένος *Listeria* ανήκει στον υποκλάδο *Clostridium* μαζί με τα *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* και *Brochothrix*. Υπάρχουν έξι είδη *Listeria* τα οποία κατηγοριοποιούνται ως εξής: *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* και *L. grayi*. Μέσα στο γένος *Listeria* μόνο η *L. monocytogenes* και η *L. ivanovii* είναι παθογόνα από τα οποία το πρώτο είναι παθογόνο του ανθρώπου και το δεύτερο είναι κυρίως παθογόνο των ζώων. Τα είδη της *Listeria* ταυτοποιούνται με διάφορα βιοχημικά χαρακτηριστικά. Τα βιοχημικά τεστ που χρησιμοποιούνται για τον χαρακτηρισμό των ειδών είναι η παραγωγή οξέων από D-ξυλόζη, L-ραμνόζη, α-μεθυλ-D-μαννόζη και D-μαννιτόλη. Η ικανότητα της *L. monocytogenes* να λύει τα ερυθροκύτταρα του αίματος τη διαφοροποιεί από τα μη παθογόνα είδη *Listeria* (Monteville & Matthews, 2005).

Η *L. monocytogenes* είναι βακτήριο Gram θετικό με μορφολογία ραβδίων και δε σχηματίζει σπόρια (Κοτζεκίδου, 2000). Οι διαστάσεις του είναι 0,4-0,5 μm (διάμετρος) X 0,5-2,0 μm (μήκος) και φέρει μια βλεφαρίδα στον ένα πόλο (όταν αναπτύσσεται σε θερμοκρασία 37°C) με τη βοήθεια της οποίας κινείται (Μπαλατσούρας, 2006). Αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες από 0 έως 45°C αλλά αναπτύσσεται πιο αργά και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Δεν αντέχει σε θερμοκρασίες υψηλότερες των 50°C (Monteville & Matthews, 2005). Είναι αερόβιο ή προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο και αναπτύσσεται καλύτερα υπό συγκέντρωση 5-10% CO<sub>2</sub>. Αναπτύσσεται σε εργαστηριακά θρεπτικά υποστρώματα σε χαμηλές τιμές pH μέχρι και 4,4. Σε τιμές pH κάτω από 4,3 τα κύτταρα μπορεί να επιβιώσουν αλλά δεν αναπτύσσονται (Μπαλατσούρας, 2006). Όσον αφορά την ενεργότητα νερού (aw) αναπτύσσεται καλύτερα σε τιμές  $\geq 0,97$ , μπορεί όμως να επιβιώσει για μεγάλα χρονικά διαστήματα σε χαμηλές τιμές aw μέχρι και 0,83 (Monteville & Matthews, 2005). Η *L. monocytogenes* έχει ορισμένες ιδιαιτερότητες σε σύγκριση με άλλα παθογόνα όπως το γεγονός ότι αντέχει στο αλάτι και αναπτύσσεται όταν η συγκέντρωση στο τρόφιμο φτάνει μέχρι και το 10%. Επίσης μπορεί να επιβιώσει κατά τη κατάψυξη και ξήρανση των τροφίμων (Μπαλατσούρας, 2000).

### 2.1.2 Πηγές

Η *L. monocytogenes* είναι διαδεδομένη στη φύση και απαντάται στα φυτά, στο έδαφος, στα κόπρανα των ζώων, στο νερό και στις αποχετεύσεις (Κοτζεκίδου, 2000). Υπάρχει επίσης στο φρέσκο γρασίδι των βοσκοτόπων και σε ζωοτροφές. Το έδαφος παρέχει ένα δροσερό, υγρό περιβάλλον και το αποσυντιθέμενο υλικό παρέχει τα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξή του. Γενικά βρίσκεται παντού στο περιβάλλον και μολύνει τους ανθρώπους με πολλούς τρόπους (Monteville & Matthews, 2005). Τα εργοστάσια επεξεργασίας τροφίμων μπορούν να μολυνθούν από *L. monocytogenes* μέσω του εδάφους που προσκολλάται στα παπούτσια και τα ρούχα των εργαζομένων ή σε οχήματα. Επίσης η μόλυνση μπορεί να προκληθεί από ανθρώπους φορείς και από φυτικούς και ζωϊκούς ιστούς. Τα υψηλά επίπεδα υγρασίας και θρεπτικών ουσιών στα εργοστάσια τροφίμων προωθούν την ανάπτυξη της. Η *L. monocytogenes* εντοπίζεται συχνά σε υγρές περιοχές όπως σε στάσιμο νερό, σε δάπεδα, σε απόβλητα, και στον εξοπλισμό επεξεργασίας. Προσκολλάται σε επιφάνειες όπως το ανοξείδωτο ατσάλι, το γυαλί και το λάστιχο.

Η *L. monocytogenes* δεν επιβιώνει τη θερμική επεξεργασία που χρησιμοποιείται συνήθως για να καταστήσει τα τρόφιμα ασφαλή. Εισέρχεται στα επεξεργασμένα τρόφιμα κυρίως μέσω μόλυνσης μετά τη θερμική επεξεργασία. Είναι ιδιαίτερα δύσκολο να εξαφανιστεί από τα εργοστάσια επεξεργασίας τροφίμων καθώς προσκολλάται στις επιφάνειες με τις οποίες έρχονται σε επαφή τα τρόφιμα και δημιουργεί βιοφίλμ σε δύσκολα προσβάσιμες περιοχές όπως είναι οι αποχετεύσεις. Αυτό καθιστά δύσκολη την εφαρμογή αποτελεσματικών μέτρων υγιεινής. Υπάρχει συχνά σε πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται στα εργοστάσια, έτσι είναι πιθανόν να επαναμολυνθούν με *Listeria* οι εγκαταστάσεις επεξεργασίας (Monteville & Matthews, 2005).

Μια σημαντική πηγή μόλυνσης με *L. monocytogenes* αποτελεί το ακατέργαστο γάλα καθώς επίσης και τα γαλακτοκομικά προϊόντα όπως το τυρί. Η *L. monocytogenes* μπορεί να επιβιώσει κατά τη παραγωγή και ωρίμανση τυριών εξαιτίας της ικανότητάς της να αναπτύσσεται σε χαμηλές θερμοκρασίες και της ανθεκτικότητάς της στο αλάτι (Monteville & Matthews, 2005). Έχει βρεθεί σε νωπές ντομάτες και λαχανικά κυρίως στο μαρούλι, κομμένα και συσκευασμένα υπό κενό ή

υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα, έτοιμα να σερβιριστούν υπό μορφή σαλάτας (Μπαλατσούρας, 2006).

Τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση (λουκάνικα φρανκφούρτης, αλλαντικά delicatessen και προϊόντα πουλερικών) φέρουν υψηλό κίνδυνο λιστερίωσης για τους ευπαθείς πληθυσμούς. Η *L. monocytogenes* έχει απομονωθεί και από φρέσκα, κατεψυγμένα και επεξεργασμένα θαλασσινά όπως οστρακοειδή, μαλακόστρακα και ψάρια. Η παρουσία της στις γαρίδες, τα καπνιστά μύδια και σε απομίμηση κρέατος καβουριού έχει προκαλέσει ασθένεια (Monteville & Matthews, 2005).

### 2.1.3 Τροφογενή κρούσματα με *L. monocytogenes*

**Πίνακας 2.** Τροφογενή κρούσματα *L. monocytogenes*

Έτος	Περιοχή	Φορέας	Αριθμός Περιστατικών – (Θάνατοι)
1933-1996	Β. Αμερική	Μαρούλι	731
1981	Καναδάς, Η.Π.Α	Λαχανοσαλάτα <sup>β</sup>	34 σε εγκύους 7 σε μη εγκύους ενήλικες
1983	Η.Π.Α	Παστεριωμένο Γάλα	(14)
1985	Καλιφόρνια	Μεξικάνικο τυρί <sup>γ</sup>	142 από τα οποία 93 αφορούσαν εγκύους
1998-1999	17 Πολιτείες Η.Π.Α	Χοτ-Ντογκ	79 (12)
2000	10 Πολιτείες Η.Π.Α	Αλλαντικά με κρέας γαλοπούλας	8 περιγεννητικά <sup>ε</sup> 21 μη περιγεννητικά
-	Ηνωμένο Βασίλειο	Πατέ <sup>δ</sup>	300
-	Αυστραλία	Επεξεργασμένα υπό κενό συσκευασμένα προϊόντα κρέατος	ΜΠ <sup>α</sup>

Πηγή (Monteville & Matthews, 2005)

α μη προβλέψιμο

β Το επιδημικό στέλεχος απομονώθηκε από μία κλειστή συσκευασία λαχανοσαλάτας. Η πιθανότερη πηγή ήταν λάχανα που είχαν έρθει σε επαφή με κοπριά προβάτου για το οποίο υπήρχε υποψία ότι είχε μηνιγγίτιδα η οποία προήλθε από *Listeria*. Τα λάχανα συλλέχθηκαν και αποθηκεύτηκαν όλο το χειμώνα και την άνοιξη σε μια αποθήκη χωρίς θέρμανση. Το κρύο παρείχε ένα πλεονέκτημα για την ανάπτυξη της ψυχρότροφης *L. monocytogenes*

γ Σχεδόν το 1/3 των ατόμων που μολύνθηκαν πέθαναν. Ωστόσο περίπου 10.000 άνθρωποι κατανάλωσαν το τυρί άρα το συνολικό ποσοστό προσβολής ήταν χαμηλό. Το κρούσμα προκλήθηκε εξαιτίας ανεπαρκούς παστερίωσης του γάλακτος και ανάμειξης ακατέργαστου γάλακτος μαζί με παστεριωμένο.

δ Τα μεγάλα αυτά κρούσματα ελέγχθηκαν με την απόσυρση των τροφίμων, τη παροχή συστάσεων στους καταναλωτές και την ανάληψη δράσης ώστε να προληφθεί η μόλυνση των εγκαταστάσεων επεξεργασίας από τη *L. monocytogenes*

ε Η περιγεννητική περίοδος περιλαμβάνει το χρόνο λίγο πριν την γέννηση μέχρι την ηλικία περίπου 1 μήνα. Μεταξύ των 21 μη περιγεννητικών ασθενών ο μέσος όρος ηλικίας ήταν τα 65 χρόνια. Το 62% αυτών ήταν γυναίκες.

#### **2.1.4 Ασθένειες και συμπτώματα**

Η *L. monocytogenes* έχει συγκεντρώσει το ενδιαφέρον των μικροβιολόγων, ιατρών αλλά και του καταναλωτικού κοινού λόγω της αυξημένης παθογένειάς της. Αναπτύσσεται στο έντερο και τα κύτταρα διατρύπουν τη βλεννογόνο και μέσω της κυκλοφορίας του αίματος φθάνουν στα διάφορα όργανα και στους ιστούς (Μπαλατσούρας, 2006).

Προκαλεί ασθένεια σε ομάδες υψηλού κινδύνου όπως έγκυες, νεογνά και σε ανοσοκατεσταλμένους ενήλικες. Στις έγκυες γυναίκες, συγκεκριμένα στο τρίτο μήνα της κύησης μπορεί απλά να παρουσιαστούν ελαφριά συμπτώματα γρίπης, παρόλα αυτά η μόλυνση έχει καταστροφικές συνέπειες για το έμβρυο που οδηγούν σε αποβολή ή γέννηση νεκρού εμβρύου (Monteville & Matthews, 2005). Επίσης άτομα

που πάσχουν από τον ιό του AIDS, διαβητικοί, καρδιοπαθείς, αλκοολικοί καθώς και άτομα που έχουν υποβληθεί σε μεταμοσχεύσεις μπορεί να προσβληθούν από το βακτήριο (Κοτζεκίδου, 2000).

Τα συμπτώματα της λιστερίωσης είναι παρόμοια με αυτά της μηνιγγίτιδας και σε ορισμένες περιπτώσεις συνοδεύονται από εμετό, κοιλιακούς πόνους και διάρροια (Κοτζεκίδου, 2000). Η περίοδος επώασης είναι συνήθως 14 ημέρες, μπορεί όμως να διαρκέσει από 4 έως 21 ημέρες. Το ποσοστό θνησιμότητας μπορεί να φτάσει και το 50% για τα νεογνά και τουλάχιστον 25% για τις υπόλοιπες ομάδες (Forsythe & Hayes, 1998).

## 2.2 Staphylococcus aureus

### 2.2.1 Οργανισμός

Ο *S. aureus* ανήκει στην οικογένεια Micrococcaceae. Η οικογένεια αυτή περιλαμβάνει τα γένη *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Stomatococcus* και *Planococcus*. Το γένος *Staphylococcus* περιλαμβάνει περισσότερα από 23 είδη.

Ο όρος «σταφυλόκοκκος» περιγράφει μια ομάδα μικρών, Gram θετικών βακτηρίων (Monteville & Matthews, 2005). Τα κύτταρα είναι σφαιρικά και έχουν διάμετρο 0,5-1,5μm. Απαντούν μεμονομένα, ανα δύο ή τέσσερα ή υπό μορφή ορμανθών λόγω κυτταρικής διαιρέσεως (Μπαλατσούρας, 2006). Είναι προαιρετικά αναερόβια και αναπτύσσονται σε εύρος θερμοκρασιών 6,5-46°C και σε εύρος pH 4,3-9,3 με άριστο pH ανάπτυξης το 6-7 (Κοτζεκίδου, 2000).

Πολλά είδη του *Staphylococcus* όπως ο *S. aureus* παράγουν εντεροτοξίνες οι οποίες είναι ουσίες πρωτεϊνικής φύσεως, αντέχουν στο βρασμό για 20-60 min και δε καταστρέφονται από τα πεπτικά υγρά (Δεληγκάρης, 2005). Η άριστη θερμοκρασία για την παραγωγή εντεροτοξίνης κυμαίνεται μεταξύ 40-45°C (Κοτζεκίδου, 2000). Έχουν ταυτοποιηθεί επτά εντεροτοξίνες A,B,C1,C2,C3,D και E από τις οποίες στους τύπους A και D οφείλονται οι περισσότερες τροφικές δηλητηριάσεις (Forsythe και Hayes, 1998). Ιδιαίτερη σημασία για τη μικροβιολογία τροφίμων έχει η ικανότητα

των σταφυλόκοκκων να αναπτύσσονται σε υποστρώματα με 7,5-15% χλωριούχο νάτριο. Τέτοια υποστρώματα είναι εκλεκτικά για τους σταφυλόκοκκους γιατί παρεμποδίζουν την ανάπτυξη άλλων μικροβίων και καθιστούν εύκολη την απομόνωσή τους από τρόφιμα ύποπτα για τροφικές δηλητηριάσεις (Μπαλατσούρας, 2006).

### 2.2.2 Πηγές

Ο *S. aureus* απομονώθηκε για πρώτη φορά από τραύματα. Βρίσκεται στον αέρα, στο νερό και στα απόβλητα. Φυσικός του βιότοπος είναι η ρινική κοιλότητα και το δέρμα του ανθρώπου και των ζώων. Από τις πηγές αυτές μεταφέρεται στα τρόφιμα κυρίως με τα χέρια εκείνων που μετέχουν στην επεξεργασία και στη διακίνηση των τροφίμων όπως κρεάτων, κρεατοσκευασμάτων σαλαμιών, λουκάνικων. Στα τρόφιμα αυτά αναπτύσσονται και εκκρίνουν την ανθεκτική στη θέρμανση εντεροτοξίνη και προξενούν τροφική δηλητηρίαση (Μπαλατσούρας, 2006). Επίσης μπορεί να βρεθεί και σε άλλα τρόφιμα όπως πουλερικά ψάρια, γάλα, γαλακτοκομικά, προϊόντα με μαγιονέζα και προϊόντα ζαχαροπλαστικής. Το 75 % των τροφολοιμώξεων από σταφυλόκοκκο οφείλεται σε ανεπαρκή ψύξη των τροφίμων (Κοτζεκίδου 2000).

Εξαπλώνεται με απευθείας επαφή μέσω τμημάτων του δέρματος ή μέσω των σταγονιδίων που παράγονται όταν οι άνθρωποι βήχουν ή φτερνίζονται. Πέρα όμως από τη μόλυνση μέσω των εργαζομένων που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα ο *S. aureus* μπορεί να εισχωρήσει στα τρόφιμα μέσω μηχανών άλεσης, μαχαιριών, αποθηκευτικών δοχείων και κυρίως από επιφάνειες προετοιμασίας τροφίμων. Τα ζώα επίσης αποτελούν σημαντική πηγή μόλυνσης, για παράδειγμα η μαστίτιδα των βοοειδών η οποία αποτελεί ανησυχία για τη δημόσια υγεία, επειδή το βακτήριο μπορεί να μολύνει το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα (Monteville & Matthews, 2005).

### 2.2.3 Τροφογενή κρούσματα με *S. aureus*

Πίνακας 3. Τροφογενή κρούσματα με *S. aureus*

Έτος	Περιοχή	Φορέας	Αριθμός Περιστατικών
1969-1990	Μεγάλη Βρετανία	Προϊόντα κρέατος ή πουλερικών	359 (75% από <i>S. aureus</i> )
1989	N.Υόρκη Μισσισίπι Πενσυλβάνια	Μανιτάρια	100
-	Τέξας	Κοτοσαλάτα	1364
-	Αλάσκα	Ομελέτα με ζαμπόν και τυρί	250

Πηγή (Monteville & Matthews, 2005)

### 2.2.4 Ασθένεια και συμπτώματα

Η τροφική δηλητηρίαση από σταφυλόκοκκο αποτελεί μια συνήθη αιτία γαστρεντερίτιδας. Η απαιτούμενη μολυσματική δόση σύμφωνα με τη Διεύθυνση τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ είναι  $>10^5$  κύτταρα / gr τροφίμου, τότε υπάρχει αρκετή εντεροτοξίνη ώστε να προκαλέσει ασθένεια. Όσον αφορά την απαιτούμενη δόση της τοξίνης ακόμα και 1ng ( $10^{-9}$ )/g τροφίμου μπορεί να προκαλέσει ασθένεια. Ωστόσο πολλά κρούσματα προκαλούνται από 1 έως 5μg καταναλισκόμενης τοξίνης / άτομο. Πολλοί είναι οι παράγοντες που αυξάνουν τις πιθανότητες να πάθει κάποιος τροφική δηλητηρίαση από σταφυλόκοκκο καθώς και τη σοβαρότητα αυτής της δηλητηρίασης. Σε αυτούς τους παράγοντες ανήκουν η ευπάθεια του κάθε ατόμου στη τοξίνη, η ποσότητα φαγητού που καταναλώθηκε και η γενικότερη υγεία του ατόμου. Ο τύπος της τοξίνης μπορεί επίσης να είναι σημαντικός. Αν και η εντεροτοξίνη A προκαλεί περισσότερα κρούσματα η εντεροτοξίνη B προκαλεί πιο σοβαρά συμπτώματα (Monteville & Matthews, 2005).



Η ασθένεια εμφανίζεται κυρίως υπό τη μορφή ομαδικών κρουσμάτων σε σχολεία, νοσοκομεία κ.τ.λ. (Μπαλατσούρας, 2006). Τα συμπτώματα ωστόσο διαφέρουν από άτομο σε άτομο, άλλα άτομα θα εμφανίσουν βαριά μορφή, άλλα ήπια και ορισμένα κανένα σύμπτωμα. Τα πιο κοινά συμπτώματα είναι η έκκριση σιέλου, ναυτία, εμετός κράμπες και διάρροια. Μπορεί επίσης να παρατηρηθεί πονοκέφαλος, ρίγος, εξάντληση και χαμηλοί σφυγμοί (Κοτζεκίδου, 2000). Στις βαριές μορφές εμφανίζονται βλέννα και αίμα στα κόπρανα (Μπαλατσούρας, 2006). Ο χρόνος επώασης είναι συνήθως 2-4 ώρες και η ασθένεια διαρκεί 1-2 ημέρες (Κοτζεκίδου, 2000). Το ποσοστό θνησιμότητας κυμαίνεται από 0,03% για το ευρύ κοινό έως 4,4% για τους περισσότερο ευπαθείς πληθυσμούς όπως τα παιδιά και οι ηλικιωμένοι. Η θεραπευτική αγωγή είναι συνήθως ελάχιστη αν και χορηγούνται υγρά όταν η διάρροια και ο εμετός είναι σοβαρά (Μπαλατσούρας, 2006).

## **2.3 Salmonella**

### **2.3.1 Οργανισμός**

Η *Salmonella* ανήκει στην οικογένεια Enterobacteriaceae και είναι μια ομοιογενής ομάδα βακτηρίων της οποίας τα μέλη διαφοροποιούνται μόνο με ορολογικές μεθόδους (Κοτζεκίδου, 2000). Κατά τη διάρκεια του πρώτου τέταρτου του 20ου αιώνα έγιναν μεγάλες πρόοδοι στην ορολογική ανίχνευση των σωματικών (O) και μαστιγιακών (H) αντιγόνων μέσα στην ομάδα του γένους *Salmonella*. Αργότερα αναπτύχθηκε ένα αντιγονικό σχήμα για τη ταξινόμηση της *Salmonella* και τώρα περιλαμβάνει περισσότερα από 2400 ορότυπους (Monteville & Matthews, 2005).

Τα βακτήρια του γένους *Salmonella* είναι προαιρετικά αναερόβια, Gram αρνητικά, έχουν σχήμα ραβδίου και δε σχηματίζουν σπόρια (Κοτζεκίδου, 2000). Κινούνται με τη βοήθεια περίτριχων μαστιγίων, ωστόσο υπάρχουν παραλλαγές χωρίς μαστίγια καθώς και μη κινητά στελέχη τα οποία προκύπτουν λόγω δυσλειτουργικών μαστιγίων (Monteville & Matthews, 2005). Αναπτύσσεται σε τρόφιμα ελαφρώς όξινα με pH 5,5-5,7 και μέχρι τιμής 4,0 κάτω της οποίας η ανάπτυξη αναστέλλεται, τα κύτταρα όμως

παραμένουν ζωντανά. Σε ότι αφορά τη θερμοκρασία, αναπτύσσονται σε όλο το εύρος της κλίμακας από 10-50°C (Μπαλατσούρας, 2006).

### **2.3.2 Πηγές**

Το γένος *Salmonella* είναι διαδεδομένο στη φύση. Τα διάφορα είδη απαντούν στον αέρα, στο έδαφος, στο νερό, στα απόβλητα καθώς επίσης και στο μηχανολογικό εξοπλισμό των βιομηχανιών τροφίμων (Μπαλατσούρας, 2006). Κύρια πηγή της *Salmonella* είναι το πεπτικό σύστημα των θερμόαιμων και των ψυχρόαιμων ζώων. Με τα κόπρανα και με επαφή (από άτομα ή ζώα που πάσχουν από σαλμονέλλωση ή είναι φορείς) μεταδίδονται στα τρόφιμα. Ιδιαίτερη σημασία για τη μετάδοσή τους στα τρόφιμα έχουν τα τρωκτικά και οι μύγες (Κοτζεκίδου, 2000).

Η κύρια πηγή της *Salmonella* είναι τα πουλερικά, από τα οποία μπορεί να μεταδοθεί και να μολύνει τα αυγά και κατόπιν τα προϊόντα ζαχαροπλαστικής ή τρόφιμα που δεν υφίστανται επαρκή θέρμανση ή παστερίωση. Προϊόντα όπως το κακάο, η σοκολάτα και η αφυδατωμένη ινδική καρύδα μπορεί να μεταδώσουν σαλμονέλες στον άνθρωπο (Κοτζεκίδου, 2000). Τα τελευταία χρόνια τα φρούτα και τα λαχανικά αποτελούν επίσης εστίες σαλμονέλλωσης του ανθρώπου. Η κατάσταση αυτή έχει προκύψει από την εξαγωγή φρέσκων και αφυδατωμένων φρούτων και λαχανικών από χώρες στις οποίες επικρατούν τροπικά και υποτροπικά κλίματα. Οι συνθήκες κατά τη διάρκεια της παραγωγής, συλλογής και διανομής των προϊόντων σε αυτές τις χώρες δεν πληρούν τους όρους υγιεινής και διευκολύνουν τη μόλυνσή τους (Monteville & Matthews, 2005).

### **2.3.3 Τροφογενή κρούσματα με *Salmonella***

Στον πίνακα 4 που ακολουθεί αναφέρονται ορισμένα τροφογενή κρούσματα με *Salmonella*.

**Πίνακας 4.** Τροφογενή κρούσματα με *Salmonella*.

Έτος	Περιοχή	Φορέας	Ορότυπος	Αριθμός Περιστατικών	Αριθμός θανάτων
1985	ΗΠΑ	Παστεριωμένο γάλα	<i>Salmonella Typhimurium</i>	16.284	7
1988	Ιαπωνία	Μαγειρεμένα Αυγά	<i>Salmonella</i> spp.	10.476	ΜΠ <sup>α</sup>
1999	Ιαπωνία	Ξηραμένο Καλαμάρι	<i>Salmonella</i> spp.	>453	0
2000	ΗΠΑ	Χυμός Πορτοκάλι	<i>Salmonella Enteritidis</i>	>74	0

Πηγή (Monteville & Matthews, 2005)

α. μη προβλέψιμο

### 2.3.4 Ασθένεια και συμπτώματα

Μολύνσεις του ανθρώπου από *Salmonella* μπορούν να οδηγήσουν σε διάφορες κλινικές καταστάσεις, όπως ο τυφοειδής πυρετός, η απλή εντεροκολίτιδα και σε μολύνσεις από μη τυφοειδείς μικροοργανισμούς. Τα νεογέννητα, τα παιδιά, οι ηλικιωμένοι και τα ανοσοκατεσταλμένα άτομα είναι περισσότερο ευπαθή σε μολύνσεις από *Salmonella* σε σχέση με τους υγιείς ενήλικες (Monteville & Matthews, 2005). Η απαιτούμενη μολυσματική δόση είναι  $10^7 - 10^9$  κύτταρα/g τροφίμου. Έχουν αναφερθεί όμως και τροφικές δηλητηριάσεις οι οποίες προκλήθηκαν από λιγότερα κύτταρα 1 κύτταρο/1 g τροφίμου. (Μπαλατσούρας, 2006).

Τα κύρια συμπτώματα της σαλμονέλλωσης είναι η ναυτία, ο εμετός, η διάρροια, ο πυρετός, πονοκέφαλος, ρίγη και πόνοι στα άκρα. Άλλα συμπτώματα μπορεί να είναι η εξάντληση, η κατάπτωση και η υπνηλία. Ο χρόνος επώασης για την εκδήλωση της ασθένειας κυμαίνεται από 6 έως 48 ώρες ανάλογα με τη σοβαρότητα της λοίμωξης

(Μπαλατσούρας, 2006). Το ποσοστό θνησιμότητας είναι 4,1% στους ηλικιωμένους ανθρώπους και μπορεί να φτάσει και το 21% ενώ στα νεογνά είναι 5,8% (Κοτζεκίδου, 2000).

## 2.4 Escherichia coli

### 2.4.1 Οργανισμός

Η *E. coli* ανήκει στην οικογένεια Enterobacteriaceae. Είναι βακτήριο Gram αρνητικό, κυλινδρικό με διαστάσεις 1,1-1,5 X 2-6 μm, μόνα ή σε ζεύγη και μπορεί να είναι κινητά με βλεφαρίδες ή ακίνητα (Δεληγκάρης, 2005). Τα στελέχη της *E. coli* κατατάσσονται σε έξι ομάδες:

- Εντεροπαθογόνος (EPEC)
- Εντεροτοξική (ETEC)
- Εντεροδιεισδυτική (EIEC)
- Εντεροδιαχεόμενη (DAEC)
- Εντεροσυσσωρευόμενη (EAEC)
- Εντεροαιμορραγική (EHEC)

Από τις οποίες η τελευταία προκαλεί τις πιο σοβαρές ασθένειες. Η *E. coli* O157:H7 είναι ο πιο συνήθης ορότυπος της EHEC και αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά ως τροφογενές παθογόνο το 1982. Όλα τα στελέχη EHEC παράγουν Shiga-τοξίνες (Stxs), οι οποίες ονομάζονται έτσι λόγω της ομοιότητάς τους με τη Stx που παράγεται από τη *Shigella dysenteriae*. Τα περισσότερα στελέχη της *E. coli* O157:H7 εκτός από τη παραγωγή των Stx έχουν διάφορα χαρακτηριστικά που δεν είναι συνηθισμένα στα περισσότερα από τα υπόλοιπα στελέχη της *E. coli*, όπως για παράδειγμα το γεγονός ότι δεν αναπτύσσονται καλά ή και καθόλου σε θερμοκρασίες  $\geq 44,5^{\circ}\text{C}$  σε υγρό θρεπτικό υπόστρωμα για *E. coli*, καθώς και η ανικανότητά τους να ζυμώσουν τη σορβιτόλη μέσα σε 24h και η ανικανότητά τους να παράγουν β-γλυκουρονιδάση. Πολλά στελέχη της *E. coli* O157:H7 είναι ανθεκτικά σε όξινο περιβάλλον. Το ελάχιστο pH για την ανάπτυξη της είναι μεταξύ 4,0-4,5 (Monteville & Matthews, 2005).

## 2.4.2 Πηγές

Η *E. coli* είναι ένα συνηθισμένο κομμάτι του φυσιολογικού μικροβιακού πληθυσμού μέσα στο εντερικό σύστημα του ανθρώπου και των θερμόαιμων ζώων. Έχει την ικανότητα παραγωγής της τοξίνης Stx, πρόσδεσης και προσβολής του επιθήλιου του εντέρου, διευκολύνοντας την επιβίωσή της μέσα σε έναν ξενιστή. Στη τροφική αλυσίδα τα βοοειδή θεωρούνται ότι είναι η κύρια πηγή της EHEC, Έχουν επίσης απομονωθεί στελέχη της EHEC και από άλλα κατοικίδια και άγρια ζώα όπως το πρόβατο, η κατσίκα, το ελάφι, τους σκύλους, τα άλογα, τον χοίρο και τις γάτες (Monteville & Matthews, 2005). Άλλες σημαντικές πηγές των στελεχών της *E. coli* είναι τα τρόφιμα όπως τα μαλακά τυριά, τα γαλακτοκομικά προϊόντα, οι λαχανοσαλάτες, τα κρέατα, τα κοτόπουλα, τα ψάρια και τα είδη ζαχαροπλαστικής καθώς επίσης και το πόσιμο νερό και το νερό των πισινών (Μπαλατσούρας, 2006).

## 2.4.3 Τροφογενή κρούσματα με *E. coli* O157:H7

Στον πίνακα 5 που ακολουθεί αναφέρονται ορισμένα τροφογενή κρούσματα με την *E. coli* O157:H7

**Πίνακας 5.** Τροφογενή κρούσματα με την *E. coli* O157:H7.

Έτος	Περιοχή	Φορέας	Αριθμός Περιστατικών
1971	ΗΠΑ	Τυρί	387
1982	Όρεγκον	Χάμπουργκερ <sup>α</sup>	26 (19 εισαγωγές σε νοσοκομείο)
1991	Μασαχουσέτη	Μηλίτης	23
1996	Ιλλινόι Κονέκτικατ	Μαρούλι <sup>β</sup>	47
1999	Νέα Υόρκη	Ροφήματα <sup>γ</sup>	<900 (65 εισαγωγές σε νοσοκομείο)

Πηγή (Monteville & Matthews, 2005)

α Όλοι οι ασθενείς είχαν αιματώδη διάρροια και δυνατούς πόνους στη κοιλιά. Η επιδημία συνδέθηκε με την κατανάλωση ανεπαρκώς ψημένων χάμπουργκερ από Fast food συγκεκριμένης αλυσίδας. Η *E. coli* O157:H7 απομονώθηκε από τα κόπρανα των ασθενών.

β Μελέτες που έγιναν για τον εντοπισμό της αιτίας του κρούσματος ενοχοποίησαν έναν καλλιεργητή με πιθανή πηγή μολυσμένα μαρούλια και αποκάλυψαν ότι υπήρχαν βοοειδή στα σημεία καλλιέργειας και επεξεργασίας του μαρουλιού.

γ Ως φορέας ταυτοποιήθηκε μη χλωριωμένο νερό από πηγάδι που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή ροφημάτων. Από δείγματα αυτού του νερού απομονώθηκε η *E. coli*.

#### **2.4.4 Ασθένεια και συμπτώματα**

Οι κυριότερες ασθένειες που προκαλούνται από την *E. coli* O157:H7 είναι η αιματώδης διάρροια και το αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο (HUS) το οποίο αν δεν θεραπευθεί μπορεί να οδηγήσει σε νεφροπάθεια ή και θάνατο. Η σοβαρότητα των ασθενειών αυτών σε συνδυασμό με τη χαμηλή μολυσματική της δόση (<100 κύτταρα) χαρακτηρίζει το βακτήριο ως ένα από τα πιο επικίνδυνα τροφογενή παθογόνα. Όλες οι ηλικιακές ομάδες μπορούν να μολυνθούν, αλλά οι πολύ νέοι και οι ηλικιωμένοι νοσούν βαριά με επιπλοκές (Monteville & Matthews, 2005).

Η περίοδος επώασης είναι 6-36 μέχρι και 72 ώρες, η δε διάρκεια της νόσου κυμαίνεται μεταξύ 3-4 ημερών, έως και 14 ημέρες. Τα συμπτώματα μπορεί να είναι πυρετός, ναυτία, διάρροια με αίμα, βλέννα στα κόπρανα, πονοκέφαλος και γενικοί πόνοι (Μπαλατσούρας, 2006). Πολύ σημαντικό επίσης είναι όταν ένας άνθρωπος είναι φορέας της *E. coli*, λόγω της πιθανότητας να μεταδοθεί το βακτήριο από άνθρωπο σε άνθρωπο. Ένας παράγοντας που συνεισφέρει στη μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο είναι η εξαιρετικά χαμηλή μολυσματική δόση του βακτηρίου. Η απροσεξία στην προσωπική υγιεινή, ιδιαίτερα μετά τη χρήση της τουαλέτας μπορεί να μεταφέρει το παθογόνο βακτήριο μέσω μολυσμένων χεριών καταλήγοντας έτσι σε δευτερογενή μετάδοση (Monteville & Matthews, 2005). Αιτία ασθενειών μπορούν να

αποτελέσουν και οι χώροι επεξεργασίας, συσκευασίας και διακίνησης των τροφίμων (Μπαλατσούρας, 2006).

Για την πρόληψη των τροφικών δηλητηριάσεων προτείνεται επαρκής θερμική επεξεργασία των τροφίμων, ψύξη των τροφίμων μετά τη θερμική επεξεργασία, επεξεργασία των τροφίμων υπό υγιεινές συνθήκες και χλωρίωση του νερού (Κοτζεκίδου, 2000).

## **2.5 Απολυμαντικά**

### **2.5.1 Ορισμοί και κατηγορίες**

Τα βιοκτόνα είναι ένας γενικός όρος που περιγράφει ένα χημικό παράγοντα, συνήθως ευρέως φάσματος, που αδρανοποιεί τους μικροοργανισμούς. Όταν μιλούμε για αντιμικροβιακή δράση το φάσμα των βιοκτόνων διαφέρει και διαχωρίζεται ανάλογα. Έτσι αναφέρεται ως βακτηριοστατικό, μυκητοστατικό και σποριοστατικό. Όταν η δράση αυτού του παράγοντα είναι φονική δηλαδή αναφέρεται σε παράγοντες που σκοτώνουν τον εκάστοτε οργανισμό-στόχο αναφέρεται ως σποριοκτόνο, ιοκτόνο και βακτηριοκτόνο. Τα αντισηπτικά είναι βιοκτόνα ή προϊόντα που καταστρέφουν ή αναστέλλουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών σε αντικείμενα ή σε ζωντανούς ιστούς (π.χ. προσωπικό υγειονομικής περίθαλψης, στη διαδικασία πλύσης χεριών πριν το χειρουργείο). Τα απολυμαντικά είναι παρόμοια, αλλά γενικά είναι τα προϊόντα ή τα βιοκτόνα που χρησιμοποιούνται σε άψυχα αντικείμενα ή επιφάνειες. Τα απολυμαντικά μπορεί να είναι σποριοστατικά αλλά δεν είναι κατ'ανάγκη σποροκτόνα (Block, 1991).

Στον πίνακα 6 που ακολουθεί θα περιγραφούν οι ονομασίες και οι χρήσεις γνωστών απολυμαντικών, βιοκτόνων και αντισηπτικών

**Πίνακας 6.** Χημικές ονομασίες και χρήσεις βιοκτόνων, αντισηπτικών, απολυμαντικών

Ομάδες	Δραστική Ουσία	Χρήση
Αλκοόλες	Αιθανόλη Ισοπροπανόλη	Αντισηπτικό Απολυμαντικό Συντηρητικό
Αλδεΐδες	Γλουτοραλδεΐδη Φορμαλδεΐδη	Απολυμαντικό Συντηρητικό
Ανιλίδια	Τρικλοκαρβάνη	Αντισηπτικό
Διγουανίδια	Χλωρεξιδίνη Αλεξιδίνη, πολυμερή Διγουανίδια	Αντισηπτικό/Κατά σχηματισμού πλάκας Συντηρητικό Απολυμαντικό
Δισφαινόλες	Triclosan Εξαχλωροφαίνιο	Αντισηπτικό/Κατά σχηματισμού πλάκας Αποσμητικά, Συντηρητικό
Διαμιδίνες	Προπομιδίνη Διβρομοπροπιμιδίνη	Αντισηπτικό Συντηρητικό
Παράγοντες Απελευθέρωσης Αλογόνου	Ενώσεις Χλωρίου Ενώσεις Ιωδίου	Απολυμαντικό, Αντισηπτικό Καθαρισμός
Αλοφαινόλες	Choroxylenol(PCMΧ)	Αντισηπτικά, Συντηρητικά
Παράγωγα Βαρέων Μετάλλων	Ενώσεις Αργύρου Ενώσεις Υδραργύρου	Συντηρητικό, Αντισηψία Απολυμαντικό
Υπεροξειδία	Υπεροξειδίο Υδρογόνου Όζον Υπεροξικό Οξύ	Απολύμανση Αποστείρωση
Φαινόλες και Κρεσόλες	Φαινόλη Κρεσόλη	Απολυμαντικό Συντηρητικό
Τεταρτογενείς ενώσεις Αμμωνίου	Κετρίμιδη Χλωριούχο Βενζαλκάνιο	Απολυμαντικό/Αντισηπτικό, Συντηρητικό/Καθαριστικό
Αέρια Φάση	Αιθυλενοξειδίο Φορμαλδεΐδη Υπεροξειδίο Υδρογόνου	Αποστείρωση Απολύμανση

Πηγή (Mc Donnell and Russell 1999)



## 2.6 Επιφάνειες

### 2.6.1 Ανοξειδωτες επιφάνειες

Το κυρίαρχο υλικό από το οποίο είναι φτιαγμένες οι επιφάνειες επεξεργασίας των προϊόντων, οι χώροι εργασίας και τα μηχανήματα τα οποία εμπλέκονται σε μονάδες υγειονομικού ενδιαφέροντος είναι κατασκευασμένα από ανοξειδωτο χάλυβα.

Ο ανοξειδωτος χάλυβας είναι αποδεκτός σαν ένα ανώτερο υλικό για τον εξοπλισμό επεξεργασίας τροφίμων σε όλο τον κόσμο. Σε ανεπτυγμένες χώρες, όπως οι Ηνωμένες Πολιτείες και οι εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης, οι νόμοι της κυβέρνησης απαιτούν ότι ο εξοπλισμός επεξεργασίας τροφίμων πρέπει να καθαρίζεται εύκολα, να είναι ανθεκτικός στη διάβρωση, και να έχει ομαλά συνδεδεμένες ραφές. Το ανοξειδωτο ατσάλι προσφέρει το υψηλότερο επίπεδο συμμόρφωσης προς τις εν λόγω απαιτήσεις. Σύμφωνα με US CFR 21, Part 110, subpart C, Sec. 110.40 Equipment and Utensils:

α) Όλος ο εξοπλισμός και τα εργαλεία των μονάδων παραγωγής πρέπει να είναι έτσι σχεδιασμένα και κατασκευασμένα ώστε να καθαρίζονται, και να συντηρούνται κατάλληλα. Ο σχεδιασμός, η κατασκευή και η χρήση του εξοπλισμού και των σκευών αποκλείει τη νόθευση των τροφίμων με λιπαντικά, καύσιμα, μεταλλικά θραύσματα, μολυσμένο νερό, ή οποιοσδήποτε άλλες ρυπαντικές ουσίες. Όλος ο εξοπλισμός θα πρέπει να τοποθετείται και να διατηρείται ώστε να διευκολυνθεί ο καθαρισμός του και όλων των γειτονικών χώρων. Τρόφιμα που έρχονται σε επαφή με επιφάνειες πρέπει να είναι ανθεκτικές στη διάβρωση όταν έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα. Πρέπει να είναι κατασκευασμένα από μη τοξικά υλικά και να έχουν σχεδιαστεί για να αντέχουν τόσο το περιβάλλον της εκάστοτε χρήσης τους όσο και τη δράση των τροφίμων και εφόσον συντρέχει περίπτωση, τον καθαρισμό ενώσεων και παραγόντων απολύμανσης.

β) Οι ραφές στις επιφάνειες που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα πρέπει να συνδέονται ομαλά ή να συντηρούνται έτσι ώστε να ελαχιστοποιείται η συσσώρευση των σωματιδίων των τροφίμων, η βρομιά, η οργανική ύλη και η ανάπτυξη μικροοργανισμών.

Το Εθνικό Ίδρυμα Υγιεινής (NSF αναπτύσσει πρότυπα για εξοπλισμό επεξεργασίας τροφίμων) ορίζει ότι τα υλικά και τα φινιρίσματα καθώς και ο εξοπλισμός που χρησιμοποιείται στη ζώνη των τροφίμων θα πρέπει να είναι λείος, ανθεκτικός στη διάβρωση, μη-τοξικός, σταθερός και μη-απορροφητικός υπό τις συνθήκες χρήσης. Δεν θα προσδίδει οσμή, χρώμα ή γεύση και δεν θα συμβάλλει στη νοθεία του τροφίμου. Οι εκτεθειμένες επιφάνειες πρέπει να καθαρίζονται εύκολα. Λεία ορίζεται ως η επιφάνεια απαλλαγμένη από κοιλώματα και εγκλείσματα, που έχει δυνατότητα καθαρισμού ίση προς Νο3 (100 grit) φινίρισμα από ανοξείδωτο χάλυβα.

## **2.7 Επαναεπιμόλυνση τροφίμων**

Σύμφωνα με τους Pérez-Rodríguez *et al.*, (2008), οι οποίοι και αξιολόγησαν το μοντέλο μεταφοράς βακτηρίων σε τρόφιμα, επαναεπιμόλυνση ορίζεται η διασταυρούμενη μόλυνση ως γενικός όρος και αναφέρεται στη μεταφορά, άμεση ή έμμεση, των βακτηρίων ή ιού από ένα μολυσμένο προϊόν σε ένα μη μολυσμένο προϊόν. Ομοίως, άλλοι όροι έχουν χρησιμοποιηθεί για να περιγράψουν βακτηριακή μεταφορά, αλλά όχι με μια γενική έννοια, άλλα πιο συγκεκριμένα όπως η επαναεπιμόλυνση, η οποία ορίζεται ως μόλυνση των τροφίμων αφού πρώτα έχουν υποβληθεί σε μία διαδικασία αδρανοποίησης.

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ 1992), το 25% των τροφογενών μολύνσεων συνδέονται στενά με τη διασταυρούμενη μόλυνση, που αφορά ανεπαρκείς πρακτικές υγιεινής από τους χειριστές τροφίμων, μολυσμένο εξοπλισμό, ακάθαρτες και επαναεπιμολυσμένες επιφάνειες, μόλυνση μέσω χειριστών τροφίμων, ανεπαρκή επεξεργασία και μη σωστή αποθήκευση. Ο εντοπισμός των πηγών μόλυνσης συχνά αποδεικνύεται περίπλοκη υπόθεση, διότι είναι δύσκολη η μετάδοση σωστών δεδομένων και πληροφοριών. Επίσης είναι συχνά δύσκολο να συγκεντρωθούν όλα τα στοιχεία από τις βιομηχανίες αλλά και οι ελλειπείς έρευνες από τους κρατικούς μηχανισμούς δυσχεραίνουν την έκβαση συμπεράσματος. Περιστατικά με σαλμονέλωση συνδέονται με τη διασταυρούμενη μόλυνση των διαδικασιών επεξεργασίας των τροφίμων. Η σημασία αυτών των τροφογενών λοιμώξεων κρίθηκε απαραίτητη για τον εντοπισμό τροφίμων υψηλού κινδύνου και θέσπιση σωστών πρακτικών υγιεινής.

Ο πιθανός κίνδυνος της *Salmonella* spp. να μολύνει επιφάνειες και χώρους έχει μελετηθεί από τους (Gorman *et al.*, 2002). Οι συγγραφείς τονίζουν πως η προετοιμασία των πρώτων υλών για τροφές, όπως φρέσκο κοτόπουλο μπορεί να επισπεύσει τη διάδοση της σαλμονέλας στα χέρια και τις επιφάνειες σε επαφή με τρόφιμα. Ένα σημαντικό ποσοστό της επιμόλυνσης συμβαίνει στο εσωτερικό της κουζίνας. Στην πραγματικότητα, στην Ολλανδία, τη Γερμανία και την Ισπανία, περισσότερο από το 50% των αναφερόμενων τροφογενών λοιμώξεων παρατηρήθηκαν στο σπίτι (Beumer *et al.*, 1998; Scott, 1996). Αρκετοί συγγραφείς έχουν δείξει ότι κύτταρα *Salmonella* spp. από κατεψυγμένα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής ήταν σε θέση να μολύνουν χώρους παρασκευής τροφίμων (De Wit *et al.*, 1979; Roberts 1972; Van Schothorst *et al.*, 1978). Ομοίως, ο De Boer και Hahne (1990) έδειξαν την ευκολία με την οποία κύτταρα *Salmonella* spp. μπορούν να μεταφερθούν από το κοτόπουλο σε σκεύη, επιφάνειες, τα χέρια και άλλες τροφές. Κύτταρα *Salmonella* spp. ανακτήθηκαν από τις επιφάνειες μέχρι και 6 ώρες μετά τη μόλυνση. Η ευαισθητοποίηση των καταναλωτών και των χειριστών τροφίμων σχετικά με την ανάγκη για την εφαρμογή καλής υγιεινής πρακτικής είναι υψίστης σημασίας για την πρόληψη της εξάπλωσης των κυττάρων της σαλμονέλας σε χώρους παρασκευής τροφίμων.

Οι ερευνητές μελετούν όλο και περισσότερο την ικανότητα της σαλμονέλας να δημιουργεί αποικίες σε διάφορες αδρανείς επιφάνειες οι οποίες έρχονται σε επαφή με τρόφιμα για το σχηματισμό βιοφίλμ (Bonafonte *et al.*, 2000; Hood & Zottola, 1997; Joseph, *et al.*, 2001) και τη δυνατότητά της να ενεργεί ως μία συνεχή πηγή βακτηριακής μόλυνσης, που μπορεί να προκαλέσει επιμόλυνση. Αυτές οι έρευνες δίνουν την εικόνα, για τους μηχανισμούς που διέπουν το σχηματισμό βιοφίλμ, γεγονός που υποδηλώνει διαφορετικές στρατηγικές για την πρόληψη και αντιμετώπιση.

Ο αριθμός των καταγεγραμμένων κρουσμάτων τροφικής δηλητηρίασης (εκτός από σαλμονέλα), στην Ιρλανδία έχει αυξηθεί από 43 σε 1554 μεταξύ του 1988 και του 2000, και κορυφώθηκε σε 1673 περιπτώσεις που αναφέρθηκαν το 1999 (FSAI, 2001). Σε πολλές χώρες, ο *S. aureus* είναι το δεύτερο ή το τρίτο βακτήριο που αποτελεί κοινή αιτία τροφογενών επιδημιών εκτός από σαλμονέλα και σε ανταγωνισμό με το *Clostridium perfringens* (Rosec *et al.*, 1997; Atanassova *et al.*, 2001). Τα χέρια των χειριστών τροφίμων έχουν αναφερθεί ως ο κύριος παράγοντας μόλυνσης με *S. aureus*

σε ποσοστό μέχρι 39% σε κρούσματα τροφικής δηλητηρίασης (Ryan *et al.*, 1996). Οι Scott και Bloomfield (1990) διαπίστωσαν την ικανότητα του *S. aureus* να προκαλεί διασταυρούμενη επιμόλυνση μέχρι και 24 ώρες μεταφερόμενος μέσω των χεριών.

Σε μελέτη οι Gorman *et al.*, (2002) διαπίστωσαν ότι το 80% των ωμών κοτόπουλων που επεξεργάστηκαν στο σπίτι, περιείχαν έναν ή περισσότερους εντερικούς μικροοργανισμούς (*Campylobacter*, *Salmonella*, *E. coli*, *S. aureus*). Αυτοί οι μικροοργανισμοί βρέθηκαν να προκαλούν διασταυρούμενη επιμόλυνση στο 12% των νεφών καθαρισμού κουζίνας, στο 24% των χεριών των χειριστών, στο 4% της λαβής της πόρτας του ψυγείου, στο 20% της λαβής της πόρτας του φούρνου, στο 24% των πάγκων της κουζίνας και στο 32% του νεροχύτη. Η συνολική συχνότητα εμφάνισης της διασταυρούμενης επιμόλυνσης για *Campylobacter* ήταν 18%, για *Salmonella* 16,6%, για *E. coli* 9,5% και για *S. aureus* 19,7%. Η συνολική συχνότητα εμφάνισης της διασταυρούμενης επιμόλυνσης για όλα τα παραπάνω βακτήρια ήταν 16,6%.

Η *E. coli* O157: H7 είναι παθογόνο βακτήριο υπεύθυνο για πολλές μεγάλες επιδημίες τα τελευταία χρόνια. Είναι σε θέση να επιβιώσει σε μια σειρά από διαφορετικούς περιβαντολογικούς παράγοντες και κάτω από διάφορες συνθήκες. Ο κίνδυνος επαναεπιμόλυνσης από μολυσμένες επιφάνειες είναι σημαντικός ιδιαίτερα λόγω της χαμηλής μολυσματικής δόσης που απαιτείται. Ο ανοξειδωτός χάλυβας είναι το πλέον κατάλληλο υλικό επιφάνειας επειδή παρέχει φτωχά χαρακτηριστικά προσκόλλησης (Merritt *et al.*, 2000; Cookson *et al.*, 2002) και μπορεί να καθαριστεί εύκολα. Ωστόσο, η *E. coli* O157 μπορεί να επιβιώσει για μεγάλες χρονικές περιόδους. Συγκεκριμένα βρέθηκε *E. coli* O157 να επιβιώνει για περισσότερο από 28 ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου και ψύξης σε επιφάνεια ανοξειδωτού χάλυβα όταν ξηραίνεται πάνω σε αυτήν και υποδεικνύει ότι είναι ένας δυνητικός κίνδυνος μόλυνσης που θα μπορούσε να συμβεί εάν μία επιφάνεια δεν καθαρίζεται καταλλήλως (Wilks *et al.*, 2005).

Η *E. coli* O157: H7 έχει βρεθεί να δημιουργεί βιοφίλμ σε επιφάνειες και σε εξοπλισμό που έρχεται σε επαφή με τρόφιμα που σχετίζονται με την επεξεργασία βόειου κρέατος (Aslam *et al.*, 2004, Barkocy-Gallagher *et al.*, 2001, Gun *et al.*, 2003).

Τα ευρήματα μελέτης των Dourou *et al.*, (2011) αποδεικνύουν την ικανότητα της *E. coli* O157: H7 να δημιουργεί βιοφίλμ σε επιφάνειες που έρχονται σε επαφή με

βόειο κρέας και δείχνουν ότι η μελέτη σύνδεσης / προσκόλλησης και σχηματισμού βιοφίλμ σε εργαστηριακό επίπεδο μπορεί να παρουσιάζει μεροληπτικά αποτελέσματα, καθώς τα στερεά υπολείμματα και η φυσική μικροχλωρίδα που συσσωρεύονται σε τέτοιες επιφάνειες μπορεί να επηρεάσουν την ανταπόκριση του παθογόνου με διαφορετικό τρόπο. Παρατηρήθηκε ότι σε θερμοκρασία 4 ° C (θερμοκρασία αποθήκευσης), η *E. coli* O157: H7 δεν ήταν μόνο σε θέση να συνδέεται / προσκολλάται και να επιβιώνει σε τρόφιμα που έρχεται σε επαφή σε μολυσμένες επιφάνειες, αλλά και να αυξάνει τον πληθυσμό της (περισσότερο εξαιτίας προσκόλλησης των κυττάρων), κατά τη διάρκεια αποθήκευσης. Αυτό είναι ιδιαίτερα ανησυχητικό σε χώρους εντός εγκαταστάσεων όπου μολυσμένο κρέας και υπολείμματα μπορούν να παραμείνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα στις επιφάνειες.

Η κύρια πηγή της μόλυνσης των τροφίμων από την *L. monocytogenes* πριν φτάσουν στους καταναλωτές φαίνεται να είναι το περιβάλλον επεξεργασίας (Kathariou, 2002). Το παθογόνο βακτήριο *L. monocytogenes* μπορεί να εγκατασταθεί στο περιβάλλον επεξεργασίας και να επιβιώσει για μεγάλο χρονικό διάστημα. Οι Giovannacci *et al.*, (1999) και Lundén *et al.*, (2002) διαπίστωσαν την ανθεκτικότητα των στελεχών *L. monocytogenes* σε επιφάνειες για πάνω από ένα χρόνο σε δύο μονάδες επεξεργασίας χοιρινού κρέατος και για 3 χρόνια σε μηχανή αλέσεως αντίστοιχα.

Σύμφωνα με Jones *et al.*, (1997), η επικινδυνότητα του βακτηρίου *L. monocytogenes* οφείλεται σε κάποιο βαθμό στην ικανότητά του να αναπτύσσεται σε μία ευρεία περιοχή θερμοκρασιών. Αυτό είναι δυνατό με την ικανότητα του βακτηρίου να τροποποιεί τη σύνθεση της μεμβράνης του, προκειμένου να διατηρηθεί η ρευστότητά της.

Σε μελέτη των Salvat *et al.*, (1994) μετά από ξέσπασμα τροφικής λιστερίωσης που συνέβη στη Γαλλία το 1992, διεξήχθησαν έρευνες προκειμένου να εντοπιστούν οι μονάδες που σχετίζονταν με την παραγωγή των μολυσμένων προϊόντων. Η επιδημία εντοπίστηκε σε μια ενιαία μονάδα παρασκευής χοιρινής γλώσσας σε πηκτή. Οι έρευνες έγιναν σε έξι ύποπτες μονάδες delicatessen. Οι πρώτες επισκέψεις έγιναν κατά τη διάρκεια εργασίας και έδειξαν ότι το 68% των επιχρισμάτων ήταν θετικό για *L. monocytogenes* σε όλη τη γραμμή παραγωγής του ωμού προϊόντος, και το 33% ήταν θετικό στο τελικό προϊόν. Οι κύριες αιτίες της μόλυνσης που εντοπίστηκαν ήταν

η επαφή μαγειρεμένων προϊόντων σε λερωμένες επιφάνειες, διασταυρούμενη επιμόλυνση μεταξύ γραμμών παραγωγής ωμών και τελικών προϊόντων και η ανεπάρκεια των διαδικασιών καθαρισμού και απολύμανσης. Μια δεύτερη επίσκεψη έγινε επίσης σε πέντε μονάδες παραγωγής για αποδείξουν την πιστοποίηση των διαδικασιών του καθαρισμού και απολύμανσης. Από τα 112 δείγματα, το 17% των δειγμάτων των επιφανειών επεξεργασίας ωμού προϊόντος βρέθηκε να είναι θετικό καθώς και το 7% του τελικού προϊόντος. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι οι διαδικασίες καθαρισμού και απολύμανσης δεν ήταν σε θέση να εξαλείψουν τις πηγές της *L. monocytogenes*, όταν δεν εφαρμόζονται σωστά μέτρα.

### **3 Υλικά και μέθοδοι**

#### **3.1 Σκοπός της εργασίας**

Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης βασικών διαλυμάτων σαπουνιού με αιθέρια έλαια ρίγανης σε υγρά μαντήλια καθαρισμού ενάντια σε παθογόνα βακτήρια που σχετίζονται με τα τρόφιμα καθώς και η χρήση τους για την απολύμανση ανοξειδωτης μεταλλικής επιφάνειας. Για το σκοπό αυτό μελετήθηκε η επίδραση διαλύματος σαπουνιού και διαλύματος σαπουνιού με συγκέντρωση 0,5% v/v ριγανελαίου. Το ριγανέλαιο που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία περιείχε 73,5% καρβακρόλη και 2,1% θυμόλη.

#### **3.2 Μέθοδος απολύμανσης επιφανειών**

##### **3.2.1 Προετοιμασία επιφανειών**

Χρησιμοποιήθηκε ανοξειδωτη μεταλλική επιφάνεια του εργαστηρίου, η οποία πριν τη διεξαγωγή του πειράματος αποστειρώθηκε και στην συνέχεια απολυμάνθηκε με διάλυμα αλκοόλης ώστε να εξασφαλιστεί η πλήρης απομάκρυνση των βακτηρίων.

##### **3.2.2 Προετοιμασία ενοφθαλμίσματος**

Για τη διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 4 καλλιέργειες: *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* NCTC 12900, *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* DT 193 και *L. monocytogenes* NCTC 10527. Τα στελέχη ήταν διατηρημένα στη κατάψυξη. Κάθε στέλεχος μεταφέρθηκε με τη τεχνική της απομόνωσης σε τρυβλία σε

υπόστρωμα Plate Count Agar και επώαστηκαν στους 37°C για 24h (*E. coli* και *S. aureus*) και για 48h (*Salmonella typhimurium* και *L. monocytogenes*) αντίστοιχα. Μετά το πέρας της επώασης μια απομονωμένη αποικία από το καθένα, μεταφέρθηκε σε ζωμό Tryptone Soy Broth (TSB, Lab M Limited, UK) και επώαστηκε στους 37°C για 24h (*E. coli* και *S. aureus*) και για 48h (*Salmonella typhimurium* και *L. monocytogenes*) αντίστοιχα για να ανακτηθεί η ζωτικότητα τους. Μετά την επώαση χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα 100μl καλλιέργειας από το κάθε βακτήριο.

Για τη καταμέτρηση των αρχικών πληθυσμών των βακτηρίων πραγματοποιήθηκε ανάπτυξη του κάθε στελέχους σε ζωμούς TSB στους 37°C, για 24h (*E. coli* και *S. aureus*) και 48h (*Salmonella typhimurium* και *L. monocytogenes*).

### **3.2.3 Πειραματική διαδικασία απολύμανσης επιφανειών**

Το πείραμα έγινε ξεχωριστά για κάθε βακτήριο υπό ασηπτικές συνθήκες, με χρήση φλόγας και γαντιών. Περιλάμβανε 3 μεθόδους καθαρισμού: με αποστειρωμένο αποιονισμένο νερό, με σαπούνι Cleaner Lan (Λουφάκης Χημικά ABEE) και με σαπούνι με 0,5% v/v ριγανέλαιο. Πραγματοποιήθηκαν δυο επαναλήψεις με δυο δείγματα για κάθε βακτήριο και κάθε πειραματική διαδικασία δίνοντας ένα σύνολο τεσσάρων δειγμάτων.

Κοινά μαντήλια καθαρισμού (AquaPur Universal τύπου Wettex, Lidl Hellas) κόπηκαν σε τετράγωνα κομμάτια διαστάσεων 6cm x 6cm και αποστειρώθηκαν. Ενοφθαλμίστηκε η καλλιέργεια με τη μορφή σταγόνων (100μl) στη καθαρή ανοξείδωτη μεταλλική επιφάνεια, και η σταγόνα απλώθηκε έτσι ώστε να καλύψει μια κυκλική επιφάνεια με διάμετρο περίπου 5cm. Κατόπιν αφέθηκε να στεγνώσει για 1 ώρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Μετά το πέρας της μίας ώρας τοποθετήθηκε ασηπτικά ένα μαντήλι σε ένα τρυβλίο και προστέθηκαν 2,5ml νερό. Με το μαντήλι καθαρίστηκε η επιφάνεια από την καλλιέργεια με συγκεκριμένες κινήσεις (4 φορές από δεξιά προς τα αριστερά, 4 από αριστερά προς τα δεξιά, 4 από πάνω προς τα κάτω και 4 από κάτω προς τα πάνω) και έγινε προσπάθεια ώστε η πίεση που ασκήθηκε στην επιφάνεια κατά τη διάρκεια καθαρισμού με το μαντήλι να είναι ομοιόμορφη και



ίδια σε όλη την επιφάνεια. Κατόπιν τοποθετήθηκε το μαντήλι σε σακούλα stomacher, προστέθηκαν 50ml αραιωτικό ¼ Ringer's (Lab M Limited, UK) και έγινε ομογενοποίηση στο Stomacher 400 (Seward) για 30s. Έγιναν δεκαδικές αραιώσεις και ενοφθαλμισμός των τρυβλίων με τη μέθοδο της ενσωμάτωσης και τη χρήση Plate Count Agar (Lab M Limited, UK). Με 2 αποστειρωμένους βαμβακοφορείς εμποτισμένους σε ¼ Ringer's + 0,5% Tween 80 (Merk, Germany) καθαρίστηκε η ίδια επιφάνεια πάλι με συγκεκριμένες κινήσεις και τοποθετήθηκαν οι βαμβακοφορείς σε αραιωτικό Ringer's + 0,5% Tween 80 (στον ίδιο δοκιμαστικό σωλήνα) και αναμίχθηκαν (vortex) για 30s. Έγιναν δεκαδικές αραιώσεις και ενοφθαλμίστηκαν τα τρυβλία με την ίδια μέθοδο. Επώαστηκαν στους 37°C, για 24h (*E. coli* και *S. aureus*) και 48h (*Salmonella typhimurium* και *L. monocytogenes*). Επαναλήφθηκε η ίδια διαδικασία με σαπούνι και με σαπούνι + 0,5% v/v ριγανέλαιο.

### **3.3 Μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης υγρών μαντηλιών**

#### **3.3.1 Πειραματική διαδικασία μελέτης της αντιμικροβιακής δράσης υγρών μαντηλιών**

Το πείραμα έγινε ξεχωριστά για κάθε βακτήριο υπό ασηπτικές συνθήκες, με χρήση φλόγας και γαντιών. Τα διαλύματα που μελετήθηκαν περιλάμβαναν το βασικό σαπούνι Cleaner Lan (Λουφάκης Χημικά ABEE), το σαπούνι με 0,5% v/v ριγανέλαιο καθώς και αποστειρωμένο απιονισμένο νερό, το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως έλεγχος (control). Πραγματοποιήθηκαν δυο επαναλήψεις με δυο δείγματα για κάθε βακτήριο και κάθε πειραματική διαδικασία δίνοντας ένα σύνολο τεσσάρων δειγμάτων.

Χρησιμοποιήθηκαν κοινά μαντήλια καθαρισμού (AquaPur Universal τύπου Wettex, Lidl Hellas) κόπηκαν σε τετράγωνα κομμάτια διαστάσεων 6cm x 6cm και αποστειρώθηκαν. Τοποθετήθηκαν 7 μαντήλια σε 7 ξεχωριστά τρυβλία με ασηπτικό τρόπο και προστέθηκαν 2,5ml νερό, με τέτοιο τρόπο ώστε να εμποτιστεί όλη η επιφάνεια του μαντηλιού. 100μl από την καλλιέργεια αραιωμένη 1/10 σε ¼ Ringer's ενοφθαλμίστηκαν πάνω στο υγρό μαντήλι ως μια διαγώνια γραμμή (από τη μια γωνία στην άλλη) και έπειτα ξεκίνησε η καταμέτρηση του χρόνου. Κάθε μισό λεπτό γινόταν

δειγματοληψία μέχρι να ολοκληρωθεί ο χρόνος της πειραματικής διαδικασίας που ήταν 3 min εξετάζοντας με αυτό τον τρόπο επτά μαντήλια καθαρισμού με διαφορά ενοφθαλμισμού 30 sec το καθένα. Το κάθε μαντήλι μετά τον ενοφθαλμισμό μεταφερόταν ασηπτικά σε σακούλα stomacher η οποία περιείχε 50ml διαλύματος ¼ Ringer's και γινόταν ομογενοποίηση στο Stomacher 400 (Seward) για 30s. Έγιναν δεκαδικές αραιώσεις και τοποθετήθηκαν σε τρυβλία όπου αναμίχθηκαν με Plate Count Agar (Lab M Limited, UK) με τη μέθοδο της ενσωμάτωσης. Τα τρυβλία επωάστηκαν στους 37°C, για 24h (*E. coli* και *S. aureus*) και 48h (*Salmonella typhimurium* και *L. monocytogenes*). Επαναλήφθηκε η ίδια διαδικασία με σαπούνι και με σαπούνι με 0,5% v/v ριγανέλαιο.

### **3.4 Καταμέτρηση αποικιών**

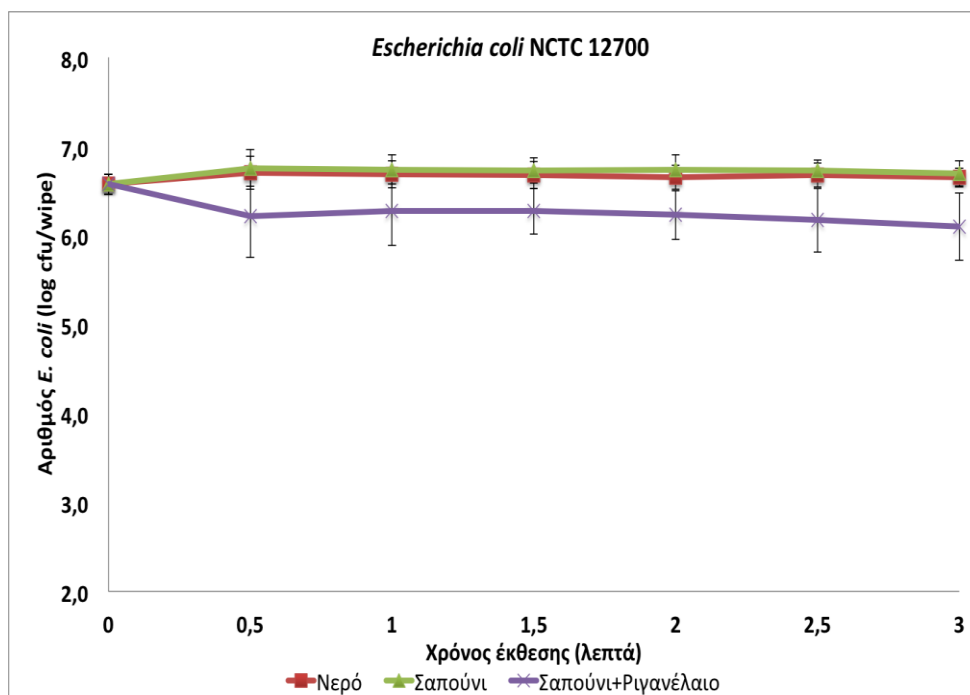
Επιλογή των κατάλληλων τρυβλίων για την καταμέτρηση έγινε με βάση τον αριθμό των αποικιών που αναπτύχθηκαν στο κάθε τρυβλίο. Επιλέχθηκαν τρυβλία με αριθμό αποικιών από 30 έως 300. Έγινε ο υπολογισμός των βακτηρίων ανάλογα με τις αραιώσεις και έπειτα η μετατροπή σε log cfu και log cfu per wipe. Για την διεξαγωγή των τελικών αποτελεσμάτων και διαγραμμάτων για κάθε βακτήριο χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος των λογαρίθμων των δειγμάτων που προαναφέρθηκαν.

### **3.5 Στατιστική ανάλυση**

Για στατιστική επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το Microsoft Office Excel 2007. Χρησιμοποιήθηκαν οι έλεγχοι της υπόθεσης σύγκρισης δυο ανεξαρτήτων δειγμάτων και δυο εξαρτημένων δειγμάτων (two sample t test) με επίπεδο σημαντικότητας  $p < 0.05$ .

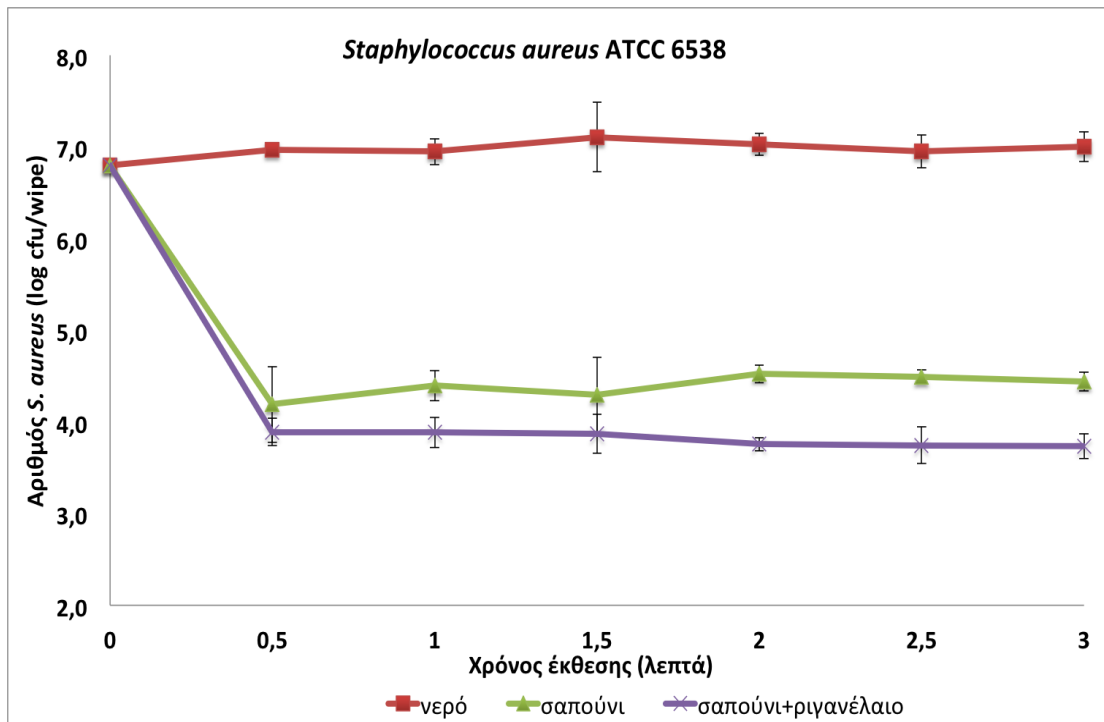
## 4 Αποτελέσματα

### 4.1 Αντιμικροβιακή δράση υγρών μαντηλιών



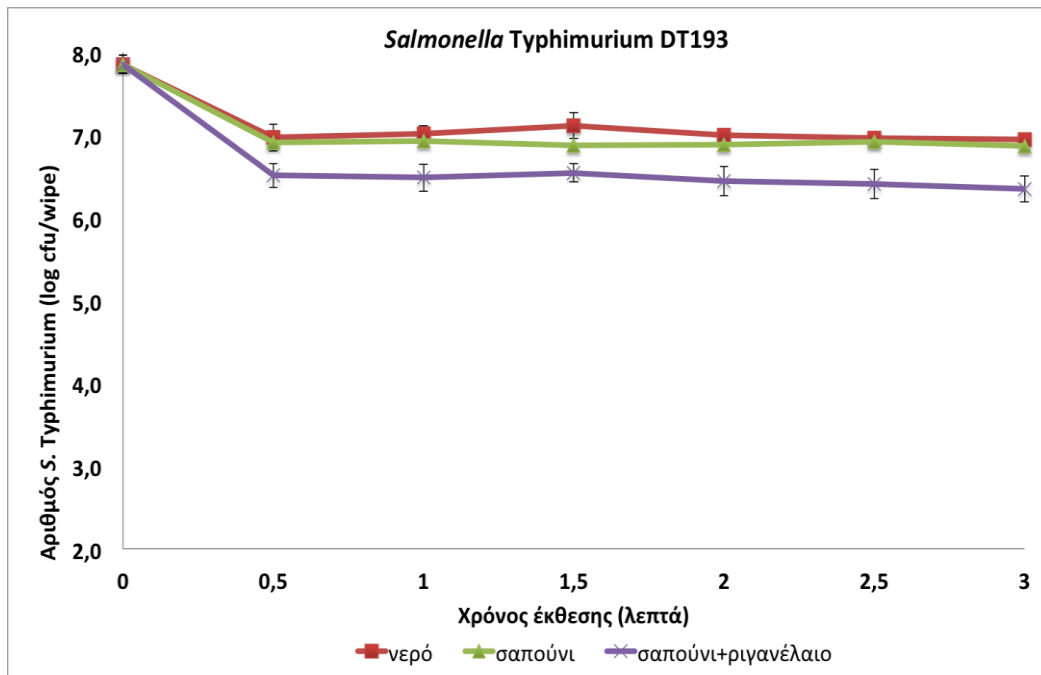
**Σχήμα 1.** Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης σε υγρά μαντηλάκια στον πληθυσμό *E. coli* NCTC 12900.

Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά ( $p > 0.05$ ) στον πληθυσμό της *E. coli* με τη χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού σε σχέση με το νερό. Η χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά ( $p < 0.05$ ) τον πληθυσμό της *E. coli* κατά  $\sim 0,4 \log_{10}$  cfu/wipe σε σχέση τόσο με το νερό όσο και με το διάλυμα σαπουνιού μετά από 1,5 min χρόνου έκθεσης μέχρι το τέλος της πειραματικής διαδικασίας.



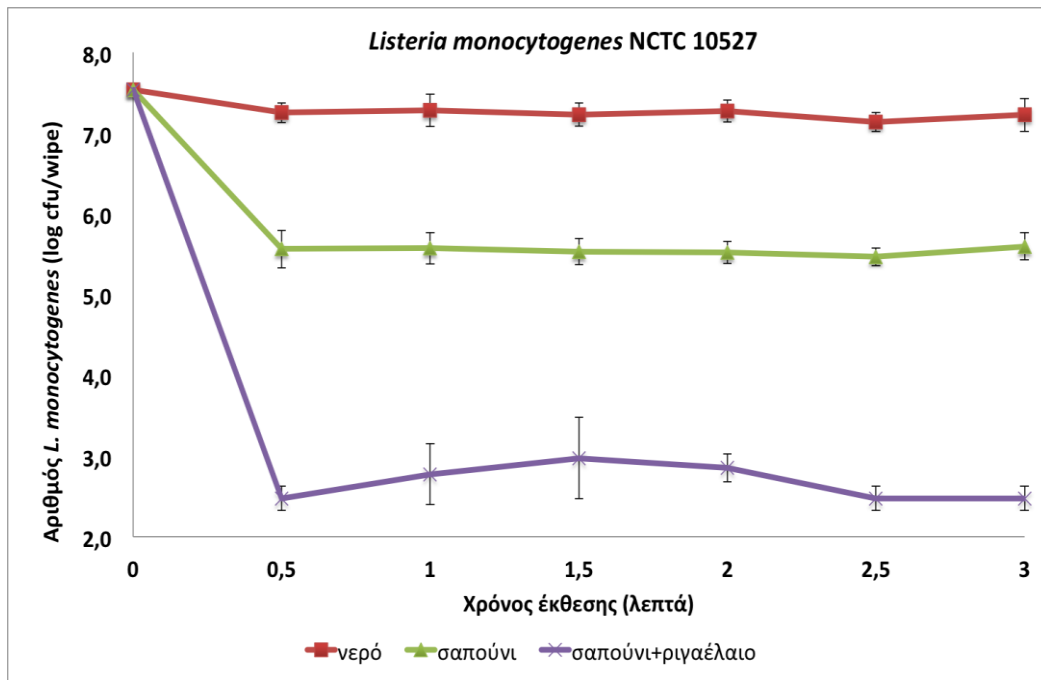
**Σχήμα 2.** Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης σε υγρά μαντηλάκια στον πληθυσμό *S. aureus* ATCC 6538.

Παρατηρήθηκε σημαντική ( $p < 0.05$ ) μείωση του πληθυσμού του *S. aureus* κατά  $\sim 2,7$   $\log_{10}$  cfu/wipe και  $\sim 3$   $\log_{10}$  cfu/wipe με τη χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού και τη χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο αντίστοιχα σε σχέση με το νερό. Σημαντική ( $p < 0.05$ ) μείωση μεταξύ των μαντηλιών σαπουνιού και σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιου παρατηρήθηκε μετά από 1 min, 2 min και μέχρι το τέλος της πειραματικής διαδικασίας. Τόσο με τη χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού όσο και με τη χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο παρατηρήθηκε σημαντική ( $p < 0.05$ ) μείωση του πληθυσμού του *S. aureus* κατά  $\sim 3$   $\log_{10}$  cfu/wipe μέσα σε 30 δευτερόλεπτα επαφής, η οποία διατηρήθηκε μέχρι το τέλος της πειραματικής διαδικασίας σε σχέση με το νερό.



**Σχήμα 3.** Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης σε υγρά μαντηλάκια στον πληθυσμό της *Salmonella typhimurium* DT 193.

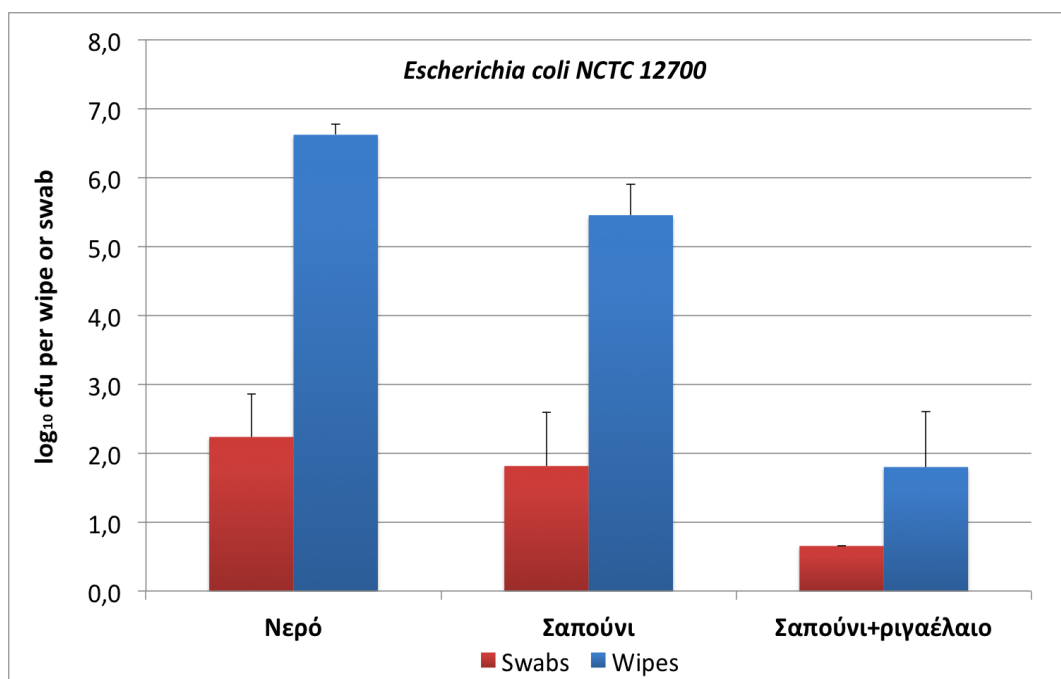
Δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση ( $p > 0.05$ ) του πληθυσμού της *Salmonella typhimurium* με τη χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού σε σχέση με το νερό. Η χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά ( $p < 0.05$ ) τον πληθυσμό της *Salmonella typhimurium* τόσο σε σχέση με το νερό όσο και σε σχέση με το διάλυμα σαπουνιού μετά από 0,5 min έκθεσης και μέχρι το τέλος της πειραματικής διαδικασίας.



**Σχήμα 4.** Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης σε υγρά μαντηλάκια στον πληθυσμό της *L. monocytogenes* NCTC 10527.

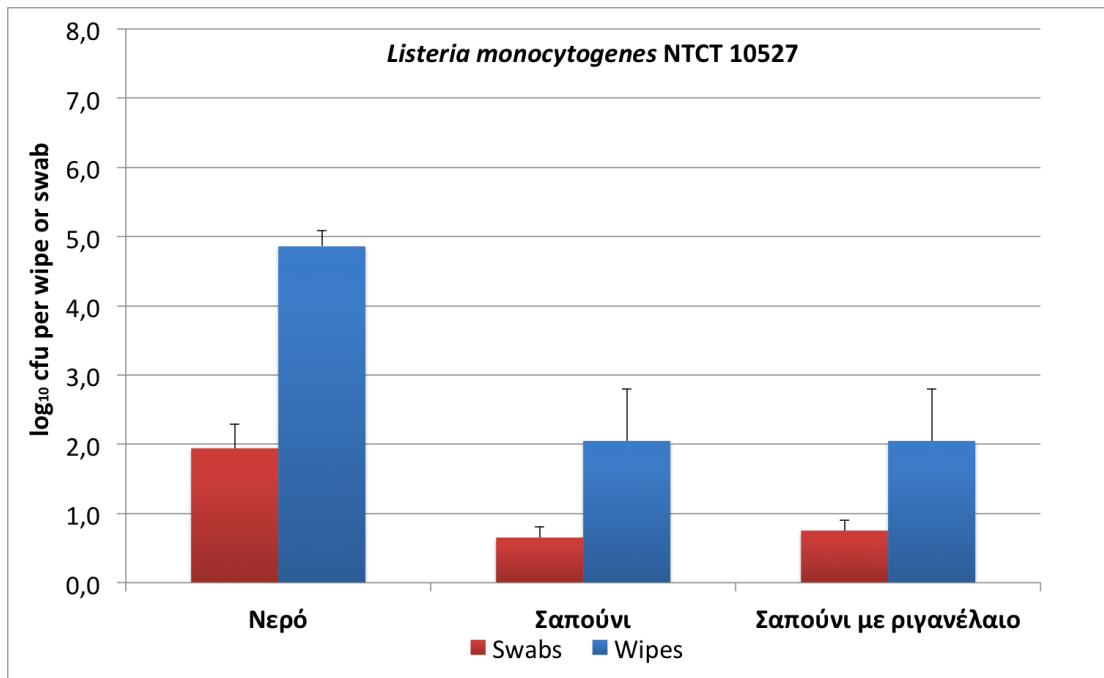
Παρατηρήθηκε σημαντική ( $p < 0.05$ ) μείωση του πληθυσμού της *L. monocytogenes* με τη χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού σε σχέση με το νερό κατά  $\sim 1,7 \log_{10}$  cfu/wipe μετά από 0,5 min έκθεσης και μέχρι το τέλος της πειραματικής διαδικασίας. Η χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά ( $p < 0.05$ ) τον πληθυσμό της *L. monocytogenes* κατά  $\sim 4,8 \log_{10}$  cfu/wipe και κατα  $\sim 3,1 \log_{10}$  cfu/wipe σε σχέση με το νερό και το διάλυμα σαπουνιού αντίστοιχα μετά από 0,5 min έκθεσης και μέχρι το τέλος της πειραματικής διαδικασίας.

## 4.2 Απολύμανση ανοξείδωτης επιφάνειας



**Σχήμα 5.** Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης στον πληθυσμό της *E. coli* NCTC 12900 σε ανοξείδωτη επιφάνεια.

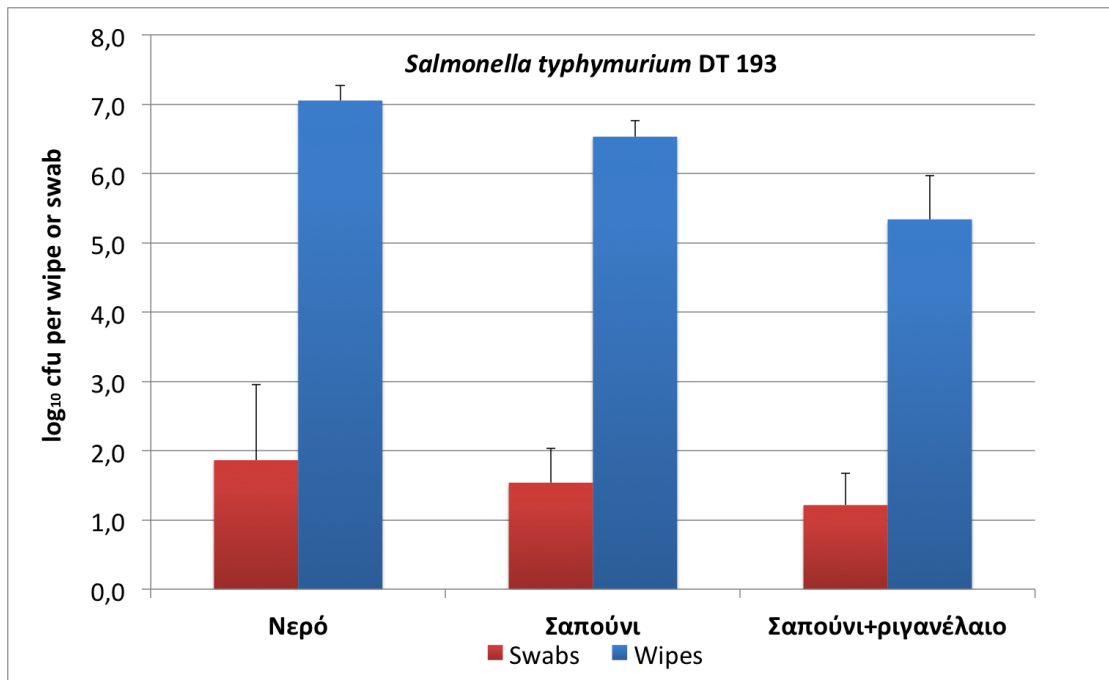
Η χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού προκάλεσε σημαντική ( $p < 0.05$ ) μείωση του πληθυσμού της *E. coli* κατά  $\sim 1,1 \log_{10}$  cfu/wipe σε σχέση με το νερό. Η χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά τον πληθυσμό του βακτηρίου σε σχέση τόσο με το βασικό διάλυμα σαπουνιού όσο και με το νερό. Η μείωση του πληθυσμού της *E. coli* ήταν της τάξης των  $\sim 4,8 \log_{10}$  cfu/wipe και  $\sim 3,7 \log_{10}$  cfu/wipe σε σχέση με το νερό και το μαντήλι με διάλυμα σαπουνιού αντίστοιχα. Στους βαμβακοφορείς που χρησιμοποιήθηκαν μετά από τον καθαρισμό με μαντήλια δεν παρατηρήθηκε σημαντική ( $p > 0.05$ ) μείωση στον πληθυσμό της *E. coli* στο διάλυμα σαπουνιού σε σχέση με το νερό. Το σαπούνι με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά ( $p < 0.05$ ) τον πληθυσμό της *E. coli* κατά  $\sim 1,5 \log_{10}$  cfu/swab σε σχέση με το νερό και κατά  $\sim 1,1 \log_{10}$  cfu/swab σε σχέση με το διάλυμα σαπουνιού.



**Σχήμα 6.** Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης στον πληθυσμό της *L. monocytogenes* NCTC 10527 σε ανοξειδωτή επιφάνεια.

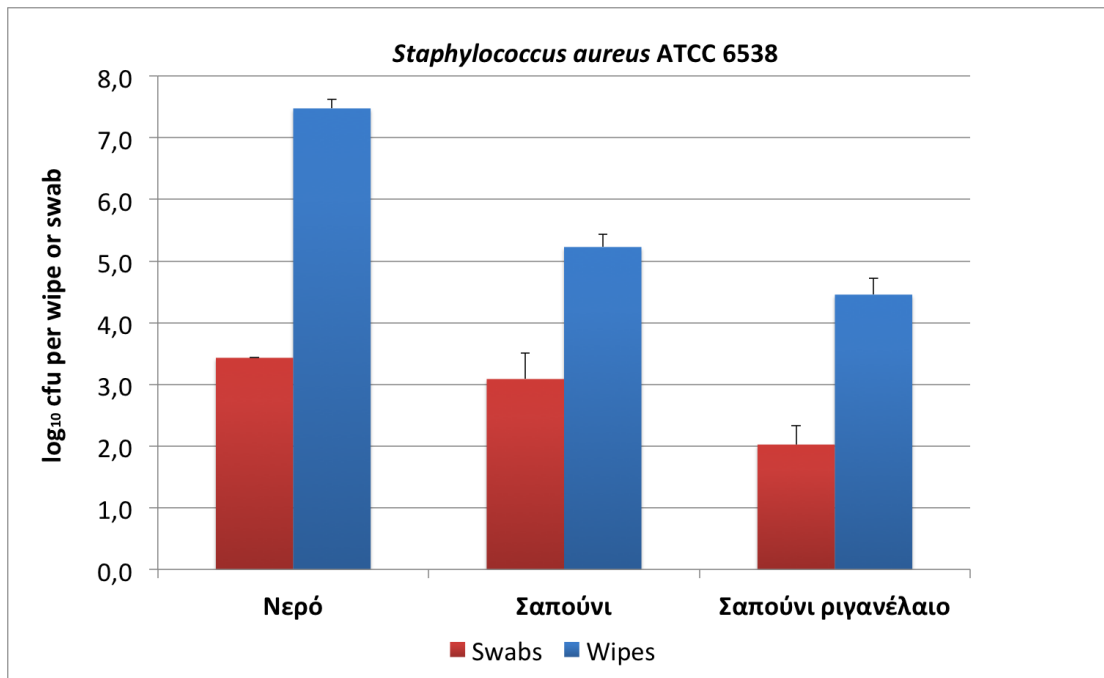
Η χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού και διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο προκάλεσε σημαντική ( $p < 0.05$ ) μείωση του πληθυσμού της *L. monocytogenes* κατά  $\sim 2,9 \log_{10}$  cfu/wipe σε σχέση με το νερό. Στους βαμβακοφορείς που χρησιμοποιήθηκαν μετά από τον καθαρισμό με μαντήλια παρατηρήθηκε σημαντική ( $p < 0.05$ ) μείωση του πληθυσμού της *L. monocytogenes* κατά  $\sim 1,2 \log_{10}$  cfu/swab και  $\sim 1,1 \log_{10}$  cfu/swab στο διάλυμα σαπουνιού και στο διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο αντίστοιχα σε σχέση με το νερό. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική ( $p > 0.05$ ) διαφορά στον πληθυσμό της *L. monocytogenes* μεταξύ του διαλύματος σαπουνιού και του σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο τόσο στα μαντηλάκια όσο και στους βαμβακοφορείς.





**Σχήμα 7.** Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης στον πληθυσμό της *Salmonella typhimurium* DT 193 σε ανοξείδωτη επιφάνεια.

Η χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού και με διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο προκάλεσε σημαντική ( $p < 0.05$ ) μείωση κατά  $\sim 0,6 \log_{10}$  cfu/wipe και  $\sim 1,8 \log_{10}$  cfu/wipe του πληθυσμού της *Salmonella typhimurium* αντίστοιχα σε σχέση με το νερό. Το μαντήλι με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά ( $p < 0.05$ ) τον πληθυσμό της *Salmonella typhimurium* κατά  $\sim 1,2 \log_{10}$  cfu/wipe σε σχέση με το βασικό διάλυμα σαπουνιού. Στους βαμβακοφορείς δεν παρατηρήθηκε σημαντική ( $p > 0.05$ ) μείωση του πληθυσμού της *Salmonella typhimurium* μεταξύ των τριών μεταχειρίσεων.



**Σχήμα 8.** Επίδραση των μεθόδων απολύμανσης στον πληθυσμό του *S. aureus* ATCC 6538 σε ανοξειδωτη επιφάνεια.

Η χρήση μαντηλιού με διάλυμα σαπουνιού και διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο προκάλεσε σημαντική ( $p < 0.05$ ) μείωση του πληθυσμού του *S. aureus* κατά  $\sim 2.0 \log_{10}$  cfu/wipe και  $\sim 3,0 \log_{10}$  cfu/wipe σε σχέση με το νερό. Το διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο προκάλεσε σημαντική ( $p < 0.05$ ) μείωση του πληθυσμού του *S. aureus* κατά  $\sim 0,7 \log_{10}$  cfu/wipe σε σχέση με το διάλυμα σαπουνιού. Στους βαμβακοφορείς που χρησιμοποιήθηκαν μετά από τον καθαρισμό με μαντήλια δεν παρατηρήθηκε σημαντική ( $p > 0.05$ ) μείωση στον πληθυσμό του *S. aureus* στο διάλυμα σαπουνιού σε σχέση με το νερό. Το σαπούνι με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά ( $p < 0.05$ ) τον πληθυσμό του *S. aureus* κατά  $\sim 1,4 \log_{10}$  cfu/swab και κατά  $\sim 1,1 \log_{10}$  cfu/swab σε σχέση με το νερό και με το διάλυμα σαπουνιού αντίστοιχα.

## 5 Συζήτηση

### 5.1 Υγρά μαντηλάκια

Τα αποτελέσματα από τα πειράματα του χρόνου έκθεσης παθογόνων βακτηρίων σε μαντηλάκια εμποτισμένα με διαλύματα σαπουνιού και σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο χρησιμοποιώντας ως μάρτυρα μαντηλάκια εμποτισμένα με νερό, έδειξαν ότι:

Τα υγρά μαντηλάκια εμποτισμένα με βασικό διάλυμα ήταν σχεδόν το ίδιο αναποτελεσματικά όσο και το νερό ενάντια στα Gram αρνητικά βακτήρια δηλαδή την *E. coli* και την *S. typhimurium* σημαντική μείωση παρατηρήθηκε με τη χρήση ενώ βασικού διαλύματος σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο σε σχέση με το νερό και το βασικό διάλυμα σαπουνιού ωστόσο τα αποτελέσματα δεν ήταν το ίδιο εντυπωσιακά ενάντια στα Gram αρνητικά βακτήρια σε σχέση με τα Gram θετικά. Επιβεβαιώνεται έτσι ο προστατευτικός ρόλος της εξωτερικής κυτταρικής μεμβράνης που έχουν τα Gram αρνητικά βακτήρια (Govaris *et al.*, 2011).

Στα Gram θετικά βακτήρια που στερούνται εξωτερικής κυτταρικής μεμβράνης, *S. aureus* και *L. monocytogenes* τα αποτελέσματα ήταν πολύ καλύτερα. Παρατηρήθηκε σημαντική ( $p < 0.05$ ) μείωση του πληθυσμού των Gram θετικών βακτηρίων με τη χρήση μαντηλιών με διάλυμα σαπουνιού και με διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο μετά από 0.5 min έκθεσης σε σχέση με το νερό και για όλη την διάρκεια του πειράματος. Η χρήση μαντηλιών με διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο μείωσε σημαντικά ( $p < 0.05$ ) τα Gram θετικά βακτήρια που μελετήθηκαν σε σχέση με το διάλυμα σαπουνιού.

### 5.2 Απολύμανση ανοξείδωτης επιφάνειας με υγρά μαντηλάκια

Η απολύμανση ανοξείδωτων επιφανειών με υγρά μαντηλάκια με νερό σε σχέση με το σαπούνι και το σαπούνι με 0,5% ριγανέλαιο έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ανάλογα με τον υπό μελέτη μικροβιακό πληθυσμό.

Η απολύμανση των επιφανειών με νερό δεν είχε ουσιαστικά καμία επίδραση στους αρχικούς βακτηριακούς πληθυσμούς. Το βασικό διάλυμα σαπουνιού είχε σημαντική

αντιβακτηριακή δράση ενάντια στη *L. monocytogenes*. Η *L. monocytogenes* αποδείχθηκε ότι είναι ευαίσθητος μικροοργανισμός στους αντιμικροβιακούς παράγοντες και δεν επιβιώνει εύκολα παρόλο την ικανότητα που έχει να σχηματίζει βιοφίλμ σε ανοξειδωτες επιφάνειες που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα (Monteville & Matthews, 2005). Στο σαπούνι με προσθήκη ριγανελαιίου τα αποτελέσματα ήταν ακόμη καλύτερα. Ο πληθυσμός της *L. monocytogenes* έφτασε και σε όρια κάτω από την τεχνική ανιχνευσιμότητας. Η καρβακρόλη και η θυμόλη οι δυο ουσίες υπεύθυνες για την αντιμικροβιακή δράση του ριγανελαιίου ενίσχυσαν τη δράση του σαπουνιού. Η αντιμικροβιακή δράση των ουσιών επιβεβαιώνεται και από τον Burt (2004).

Το βασικό διάλυμα σαπουνιού είχε επίσης αντιβακτηριακή δράση ενάντια στον *S. aureus* μειώνοντας το αρχικό ενοφθάλμισμα μετά την χρήση των μαντηλιών κατά  $2,1 \log_{10}$  cfu/swab. Το αρχικό ενοφθάλμισμα μειώθηκε ακόμα περισσότερο όταν χρησιμοποιήθηκε διάλυμα σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο. Η μείωση ήταν της τάξης των  $2,5 \log_{10}$  cfu/swab. Σύμφωνα με τους Nostro *et al.*, (2007) σε στελέχη των *S. aureus* και *S. epidermidis* που εξετάστηκαν βρέθηκε ότι η ανασταλτική συγκέντρωση για τη δημιουργία βιοφίλμ ήταν από 0,125 έως 0,500%, v/v, για τη ρίγανη, και 0,031 έως 0,125% v/v, για την καρβακρόλη και θυμόλη. Η συγκέντρωση για την εξάλειψη δημιουργίας βιοφίλμ ήταν 0,25-1,0%, v/v, για τη ρίγανη και 0,125 έως 0,500%, v/v, για την καρβακρόλη και θυμόλη. Οι τιμές ήταν διπλάσια ή τετραπλάσια μεγαλύτερες από την συγκέντρωση που απαιτείται για την αναστολή πλαγκτονικών μορφών ανάπτυξης.

Το βασικό διάλυμα σαπουνιού δεν ήταν αποτελεσματικό ενάντια στην *E. coli* και την *S. typhimurium*. Ήταν σχεδόν αναποτελεσματικό όσο και το νερό. Σημαντική μείωση στον αρχικό πληθυσμό της *E. coli* παρατηρήθηκε μόνο με την χρήση σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο. Ο αρχικός πληθυσμός της *E. coli* μειώθηκε μετά την χρήση των μαντηλιών κατά  $1,5 \log_{10}$  cfu/swab πλησιάζοντας το όριο ανιχνευσιμότητας της τεχνικής. Σύμφωνα με τους Burt & Reinders (2003) η βακτηριοκτόνος συγκέντρωση ριγανελαιίου  $625 \mu\text{l l}^{-1}$  στους 10, 20 και 37°C, καταστρέφει ανεπανόρθωτα τα κύτταρα *E. coli* O157: H7 μέσα σε 1 λεπτό.

Η *S. typhimurium* αποδείχθηκε το πιο ανθεκτικό βακτήριο παρότι είχαμε μείωση του αρχικού πληθυσμού της μετά την χρήση διαλύματος σαπουνιού με 0,5% ριγανέλαιο. Τα επίπεδα της  $1,2 \log_{10}$  cfu/swab μπορούν να θεωρηθούν επικίνδυνα

καθώς σύμφωνα με FDA η *Salmonella* πρέπει να είναι απύσασ από τα τρόφιμα. Συγκεκριμένα σε 25 gr τροφίμου δεν πρέπει να υπάρχει κύτταρο *Salmonella*. Η απαιτούμενη μολυσματική δόση είναι  $10^7 - 10^9$  κύτταρα / g τροφίμου. Έχουν αναφερθεί όμως και τροφικές δηλητηριάσεις οι οποίες προκλήθηκαν από λιγότερα από 1 κύτταρο/g τροφίμου (Μπαλατσούρας, 2006).

Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν σε προϊόντα τα οποία είναι κατοχυρωμένα με αριθμό πατέντας (Patent number US 2010/0323939 A1). Συγκεκριμένα σε εμπορικά προϊόντα καθαρισμού χεριών ενάντια διάφορων παθογόνων μικροοργανισμών, εταιρία παρήγαγε διάλυμα σαπουνιού με διάφορες απολυμαντικές ουσίες στις οποίες προσέθεσε και αιθέρια έλαια ρίγανης σε ποσοστό από 0,2 έως 0,5 %. Στη συνέχεια σύγκρινε τα αποτελέσματα της έναντι άλλων εμπορικών σαπουνιών κοινής αποδοχής και ονομασίας. Τα αποτελέσματα ήταν θετικά όσο αναφορά στη μη ανάπτυξη των μικροοργανισμών ακόμη και σε ποσοστό 0,2%. Σε ποσοστό 0,2% υπήρχε πλήρης αναστολή των μικροοργανισμών. Το νέο σαπούνι με 0,2% ριγαέλαιο ήταν καλύτερο με διαφορά από τα υπόλοιπα σαπούνια του εμπορίου με αντιβακτηριακές ιδιότητες. Το ριγανέλαιο που χρησιμοποιήθηκε στην μελέτη περιείχε 83,05% καρβακρόλη και 0,61% θυμόλη. Η δοκιμή αναστολής έγινε σε τρυβλία και οι μικροοργανισμοί αναπτύχθηκαν σε άγαρ αίματος στους 30°C για 16-24 ώρες.

**Πίνακας 7 Πίνακας 1. Περιεκτικότητα δραστικών ουσιών διαφόρων αιθέριων ελαίων.**

Μικροοργανισμοί	0,2 % ριγανέλαιο	Purell®	Clean well™	GermX®	Vicks®	Μάρτυρας
<i>S.aureus</i>	-	+	+	+	-	+
MRSA	-	+	+	+	-	+
<i>E. faecalis</i>	-	+	+	+	-	+
<i>E. coli</i>	-	+	+	+	-	+
<i>K. pneumonia</i>	-	+	+	+	-	+
<i>C. albicans</i>	-	+	+	+	+	+
<i>A. baumannii</i>	-	+	+	+	-	+
<i>P. vulgaris</i>	-	+	+	-	-	+
<i>S. odorifera</i>	-	+	+	+	+	+
<i>Salmonella spp</i>	-	+	+	+	-	+
<i>Shigella spp</i>	-	+	+	+	-	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	+
<i>P. mirabilis</i>	-	+	+	-	-	+

- = αναστολή ανάπτυξης

+ = ανάπτυξη αποικίας / μη αναστολή μικροοργανισμού.

Ανάπτυξη μικροοργανισμών χρησιμοποιώντας 0.02% ριγανέλαιο στο διάλυμα σαπουνιού σε σύγκριση με εμπορικά σκευάσματα διαφόρων εταιριών.

Τα μαντηλάκια με σαπούνι και ριγανέλαιο εκμεταλλεύονται τις απορρυπαντικές ιδιότητες του σαπουνιού και ενισχύουν την απολυμαντική ιδιότητα του διαλύματος με τις αντιμικροβιακές ιδιότητες των αιθέριων ελαίων που περιέχουν δίνοντας έτσι ένα πολύ καλό συνδυαστικό προϊόν έναντι των μικροοργανισμών που επιμολύνουν τα τρόφιμα μέσω των επιφανειών. Έχουν πλεονέκτημα έναντι άλλων απολυμαντικών μεθόδων γιατί είναι ευκολόχρηστα, δε χρειάζονται ξέπλυμα και είναι μιας χρήσης. Βέβαια χρειάζεται προσοχή κατά την εφαρμογή τους.

Σύμφωνα με τους De Vere και Purchase (2007) τα μαντηλάκια βρέθηκαν να είναι λιγότερο αποτελεσματικά από σπρέι και αυτό θα μπορούσε να οφείλεται στην ποσότητα του προϊόντος που καλύπτει την επιφάνεια κατά τη διάρκεια της εφαρμογής των δύο τύπων προϊόντος. Οι επιφάνειες δέχονται πάντα μία μεγαλύτερη ποσότητα προϊόντος από ψεκασμούς. Η ποσότητα του προϊόντος που φτάνει στην επιφάνεια από ένα μαντηλάκι εξαρτάται από αυτόν που εφαρμόζει και ελέγχει την περιοχή της επιφάνειας καθώς και το επίπεδο της πίεσης που χρησιμοποιείται. Ένα άλλο πρόβλημα που σχετίζεται με τα μαντηλάκια, ήταν ότι αυτό το προϊόν έδειξε να μετακινεί την καλλιέργεια των μικροοργανισμών στην άκρη της επιφάνειας σε πλαστικές επιφάνειες. Σε μία επιφάνεια οικιακής κουζίνας ή βιομηχανίας τα βακτήρια αυτά θα παραμείνουν στην άκρη της δυνητικά διαθέσιμα για να μολύνουν τα τρόφιμα είτε άμεσα είτε μέσω των χεριών και των σκευών. Αυτή η μελέτη δείχνει ότι εξαιτίας της φύσης των μαντηλιών θα πρέπει να έρχονται σε άμεση επαφή με τα βακτήρια για να είναι αποτελεσματικά.

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα του πειράματός μας το σαπούνι με ριγανέλαιο ήταν περισσότερο αποτελεσματικό ενάντια στα gram-θετικά βακτήρια (*S. aureus* και *L. monocytogenes*) παρά στα gram-αρνητικά (*E. coli* και την *S. typhimurium*) το οποίο και επιβεβαιώνεται από τους Govaris *et al.*, (2011) που έδειξαν ότι τα αιθέρια έλαια έχουν καλύτερα αποτελέσματα στα gram-θετικά βακτήρια σε σχέση με τα gram-αρνητικά βακτήρια γεγονός που οφείλεται στον προστατευτικό ρόλο που έχει η εξωτερική κυτταρική μεμβράνη και η οποία απαντάται μόνο στα gram-αρνητικά βακτήρια.

## 6 Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Για μελλοντική έρευνα θα μπορούσε να μελετηθεί η επίδραση του ριγανελαίου και σε άλλες επιφάνειες, οικιακού ή βιομηχανικού τύπου ακόμη και για απολύμανση εξοπλισμού. Επίσης μπορεί να ερευνηθεί η αποτελεσματικότητα του και σε άλλα παθογόνα βακτήρια που είναι υπεύθυνα για τροφολοιμώξεις όπως το *Campylobacter* spp. και η *Shigella* spp. Όσον αφορά την απολύμανση επιφανειών θα μπορούσαν να παραχθούν αντισηπτικά μαντηλάκια καθαρισμού ή τζελ με προσθήκη ριγανελαίου. Επίσης θα μπορούσε να μελετηθεί η αποτελεσματικότητα της προσθήκη ριγανέλαιου σε κοινά προϊόντα καθαρισμού ευρείας χρήσεως για ενίσχυση της αντισηπτικής τους δράσης. Το προϊόν έχει μυρωδιά ρίγανης η οποία αναλόγως της χρήσης και της επεξεργασίας των τροφίμων ίσως μεταφέρει οσμές και πικρή γεύση στα προϊόντα που έρχονται σε επαφή με τις καθαρές επιφάνειες.



## 7 Βιβλιογραφία

- Beresford R.M., Andrew W.P. and Shama G. (2001). *Listeria monocytogenes* adheres to many materials found in food-processing environments. *Journal of Applied Microbiology*, **90**, 1000-1005.
- Beumer, R., Bloomfield, S., Exner, M., Fara, G.M., Scott, E. (1998). Guidelines for prevention of infection and cross infection in the domestic environment. Intramed Communicatios s.r.l., Milan, 5.
- Burt S.A. (2004). Antibacterial activity of essential oils: potential applications in food. *International Journal of Food Microbiology*, **94**, 223-253.
- Burt S.A. and Reinders R.D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*, **36**, 162-167.
- Burton M., Cobb E., Donachie P., Judah G., Curtis V. and Schmidt W.P. (2011). The effect of handwashing with water or soap on bacterial contamination of hands. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **8**, 97-104.
- Davidson, M.P. and Branden L.A., (1981). Antimicrobial activity of non-halogenated phenolic compounds. *Journal of Food Protection*, **44**, 623-632.
- De Wit, J.C., Broekhuizen, G., Kampelmacher, E.H., 1979. Cross-contamination during the preparation of frozen chickens in the domestic kitchen. *Journal of Hygiene, Cambridge* **83**, 27-32.
- DeVere, E. and Purchase D. (2007). Effectiveness of Domestic Antibacterial Products in Decontaminating Food Contact Surfaces. *Food Microbiology* **24**, 425-430.
- Dorman H.J.D. and Deans S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, **88**, 308-316.
- Dourou D., Beauchamp S.C., Yoon Y., Geornaras I., Belk E.K., Smith C.G., Nychas E.G-J. and Sofos J.N. (2011). Attachment and biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7 at different temperatures, on various food-contact surfaces encountered in beef processing. *International Journal of Food Microbiology*, **149**, 262-268.

- Forsythe S.J. and Hayes P.R. (1998). Food Hygiene Microbiology and HACCP, 3<sup>rd</sup> ed. Gaithersburg, Maryland Aspen Publishers Inc. pp 123456789.
- Giovannacci, I., Ragimbeau, C., Queguiner, S., Salvat, G., Vendeuvre, J.L., Carlier, V. and Ermel, G. (1999) *Listeria monocytogenes* in pork slaughtering and cutting plants. Use of RAPD, PFGE, and PCR-REA for tracing and molecular epidemiology. *International Journal of Food Microbiology* **53**, 127–140.
- Gorman R., Bloomfield S. and Adley C.C. (2002). A study of cross-contamination of food-borne pathogens in the domestic kitchen in the Republic of Ireland. *International Journal of Food Microbiology*, **76**, 143-150.
- Hammer K.A., Carson C.F. and Riley T.V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *International Journal of Food Microbiology*, **86**, 985-990.
- Hargreaves, L.L., Jarvis, B., Rawlinson, A.P. and Wood, J.M. (1975). The antimicrobial effects of spices, herbs and extracts from these and other food plants. *The British Food Manufacturing Industries Research Association Scientific and Technical Surveys*, **88**. 155-157.
- Hood, S.K. and Zottola, E.A. (1995). Bio@lms in food processing. *Food Control* **6**, 9-18.
- Jones, C.E., Shama, G., Jones, D., Roberts, I.S. and Andrew, P.W. (1997). Physiological and biochemical studies on psychrotolerance in *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Microbiology* **83**, 31-35.
- Jong A.E.I., Verhoeff-Bakkenes L., Nauta M.J. and Jonge R. (2008). Cross-contamination in the kitchen: effect of hygiene measures. *Journal of Applied Microbiology*, **105**, 615-624.
- Kathariou, S. (2002) *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. *Journal of Food Protection* **65**, 1811–1829.
- Kokkini, S., Karousou, R., Dardioti, A., Krigas, N., Lanaras, T. (1997). Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochemistry* **44**, 883-886.
- Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P.J. and Nychas G-J.E. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *International Journal of Food Microbiology*, **91**, 453-462.

- Lunden, J. and Korkeala, H. (2000) *Listeria monocytogenes* contamination pattern in pig slaughterhouses. *Journal of Food Protection* **63**, 1438–1442.
- Manfreda G., Cevoli C., Lucchi A., Pasquali F., Fabbri A. and Franchini A. (2010). Hot air treatment for surface decontamination of table eggs experimentally infected with *Salmonella*, *Listeria* and *Escherichia coli*. *Veterinary Research Communication* **34** (1), 179-182.
- McDonell G. and Russell A.D. (1999). Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, **12**, 147-179.
- Merritt, K., Hitchins, V.M., Brown, S.A., 2000. Safety and cleaning of medical materials and devices. *Journal of Biomedical and Material Research* **53**, 131 – 136.
- Monteville T.J. and Matthews K.R. (2005). Μικροβιολογία Τροφίμων, pp 103-121, 135-154, 191-209, Εκδόσεις Ίων, Αθήνα.
- Morris J.A., Khettry A. and Seitz E.W. (1979). Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. *International Flavors and Fragrances*, **56**, 595-603.
- Nostro A., Roccaro A.S., Bisignano G., Marino A., Cannatelli M.A., Pizzimenti F.C., Cioni P.L., Procopio F. and Blanco R.A. (2007). Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Journal of Medical Microbiology*, **56**, 519-523.
- Roberts, D., 1982. Factors contributing to outbreaks of food poisoning in England and Wales 1970 – 1979. *Journal of Hygiene*, Cambridge **89**, 491–498.
- Rosec, J.P., Guiraud, J.P., Dalet, C., Richard, N. (1997). Enterotoxin production by Staphylococci isolated from foods in France. *International Journal of Food Microbiology* **35**, 213–221.
- Saeed S. and Perween T. (2009). Antibacterial activity of oregano (*origanum vulgare linn.*) against gram positive bacteria. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, **22** (4), 421-424.
- Salvat G., Toquin M.T., Michel Y. and Colin P. (1995). Control of *Listeria monocytogenes* in the delicatessen industries: the lessons of a listeriosis outbreak in France. *International Journal of Food Microbiology*, **25**, 75-81.

- Schlech W. F. (1991). Listeriosis: epidemiology, virulence and the significance of contaminated foodstuffs. *Journal of Hospital Infection*, **19**, 211-224.
- Scott, E. (1996). Foodborne diseases and other hygiene issues in the home. *Journal of Applied Bacteriology* **80**, 5–9.
- Sheen S. and Hwang C. (2010). Mathematical modeling the cross-contamination of *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of ready-to-eat meat product while slicing. *Food Microbiology*, **27**, 37-43.
- Sikkema, J., de Bont, J. A. M., and Poolman., B. (1995). Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiology reviews* **59**, 201-222
- Skandamis P.N. and Nychas G-J.E. (2001). Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology*, **91**, 1011-1022.
- Smith-Palmer A., Stewart J. and Fyfe L. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, **26**, 118-122.
- Thevenot D., Dernburg A. and Vernozy-Rozand C. (2006). An updated review of *Listeria monocytogenes* in the pork meat industry and its products. *Journal of Applied Microbiology*, **101**, 7-17.
- Ultee A., Kets E.P.W. and Smid J.E. (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, **65** (10), 4606-4610.
- Vokou, D., S. Vereltzidou & P. Katinakis, (1993). Effects of aromatic plants on potato storage: sprout suppression and antimicrobial activity. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **47**, 223–235.
- Wiliam Eng. (2010). Alcohol-based skin cleanser. *Patent application Publication*, pub. No Us2010/0323939 A1, pp 1-7.
- Wilks S.A., Michels H. and Keevil C.W. (2005). The survival of *Escherichia coli* O157 on a range of metal surfaces. *International Journal of Food Microbiology*, **105**, 445-454.
- Δεληγκάρης Ν. (1980). Μικροβιολογία Τροφίμων, pp 128-131, 175-180, Θεσσαλονίκη.

- Ηλιόπουλος Β. (2010). Μελέτη της επίδρασης του ερυθρού οίνου και του αιθέριου ελαίου του θυμαριού στην μικροβιακή χλωρίδα του κρέατος σε διαφορετικές συνθήκες συντήρησης. Μεταπτυχιακή διατριβή, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Κοτζεκίδου-Ρούκα Π. (2000). Μικροβιολογία Τροφίμων, pp 232-238, 250-258, Έκδοση Υπηρεσία Δημοσιευμάτων, Αθήνα.
- Μπαλατσούρας Γ. (2006). Μικροβιολογία Τροφίμων, pp 75-80, 82-91, 162-164, 514-518, Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.