

ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ  
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ ΚΑΙ  
ΕΙΔΙΚΟΤΕΡΑ ΤΟΥ *S. aureus* ΣΤΟ ΜΑΝΟΥΡΙ.

ΠΕΤΡΙΔΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2013

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ ΚΑΙ  
ΕΙΔΙΚΟΤΕΡΑ ΤΟΥ *S. aureus* ΣΤΟ ΜΑΝΟΥΡΙ.

ΠΕΤΡΙΔΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

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

ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ 2013

ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ :  
ΠΑΠΑΝΤΩΝΙΟΥ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

## *Ευχαριστίες*

*Θεωρώ υποχρέωσή μου να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όσους με τον τρόπο τους συνέβαλαν στην εκπόνηση της παρούσας εργασίας.*

*Αρχικά θέλω να ευχαριστήσω τον κ. Δημήτριο Παπακωνσταντίνου, καθηγητή Μικροβιολογίας Τροφίμων του τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων, του ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης και επιβλέποντα καθηγητή μου, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου ετούτη την πτυχιακή εργασία.*

*Τον ευχαριστώ, για την συνεχή παρακολούθηση της εργασίας μου, την πολύτιμη καθοδήγηση που όλες τις φορές που του ζητήθηκε και επιπλέον την αστείρευτη υπομονή που έδειξε μαζί μου καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας μου.*

*Τις κυρίες, Αφροδίτη Ακριτίδου και Μαρία Τουλιά, εργοδηγούς μικροβιολογίας, στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας Τροφίμων του τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων, του ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης, για την πολύτιμη βοήθειά τους, κατά την διεξαγωγή των αναλύσεων στο εργαστήριο.*

*Χωρίς την βοήθεια αυτών θα ήταν αδύνατη η εκπόνηση αυτής της εργασίας.*

*Κωσταντίνος Πετρίδης  
Θεσσαλονίκη, Ιανουάριος 2013*

# ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΕΡΑ ΤΟΥ *S. aureus* ΣΤΟ ΜΑΝΟΥΡΙ.

ΠΕΤΡΙΔΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

ΤΕΙ Θεσσαλονίκης, Σχολή Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής, Τμήμα Τεχνολογίας  
Τροφίμων, 57400 Θεσσαλονίκη Τ.Θ. 141

## Περίληψη

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η παρουσία των σταφυλόκοκκων και ειδικότερα του *S. aureus* στο μανούρι. Για το σκοπό αυτό αναλύθηκαν συνολικά 25 δείγματα μανουριού. Αυτά προέρχονταν από 5 διαφορετικές βιομηχανίες (C, D, G, K και T). Τα δείγματα αγοράστηκαν από καταστήματα λιανικής πώλησης της αγοράς της Θεσσαλονίκης. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα MINITAB 14.

Όλα τα δείγματα μανουριού των 5 βιομηχανιών που αναλύθηκαν βρέθηκαν μολυσμένα με βακτήρια του γ. *Staphylococcus*. Αυτά δεν παρουσίασαν μεταξύ τους στατιστικά σημαντική διαφορά στο συνολικό φορτίο σταφυλόκοκκων όσον αφορά την πηγή προέλευσης. 11 από τα 25 δείγματα, δηλ. ποσοστό 40%, ήταν μολυσμένα με *S. aureus*. Σύμφωνα με τον Κανονισμό 2073/2005 της Επιτροπής των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων που προβλέπει για τα τυριά τυρογάλακτος  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=10$  cfu/g και  $M=100$  cfu/g, διαπιστώθηκαν τα παρακάτω:

Η βιομηχανία C παράγει άριστης ποιότητας μανούρι, οι βιομηχανίες K και T παράγουν οριακά αποδεκτό προϊόν, ενώ οι βιομηχανίες D και G παράγουν μανούρι κακής ποιότητας, το οποίο κρίνεται απορριπτέο.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

## ΣΕΛΙΔΑ

1. Εισαγωγή	1
1.1. Ιστορικά στοιχεία της παραγωγής των τυριών	1
1.2. Λίγα στοιχεία για την κατανάλωσή του	2
1.3. Ταξινόμηση των τυριών	2
2. Σκοπός της εργασίας	4
3. Τυριά	5
3.1. Απαραίτητα υλικά για τη παρασκευή των τυριών	5
3.2. Παρασκευή των τυριών	8
3.3. Είδη τυριών	9
4. Μικροβιολογία των τυριών	18
4.1. Γενικά	18
4.2. Παθογόνα βακτήρια στα τυριά	19
4.3. Μικροβιολογικές αναλύσεις γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων	20
4.4. Τυριά και δημόσια υγεία	21
4.5. Μικροβιολογικά κριτήρια για το γάλα και τα τυριά τυρογάλακτος	22
4.6. Οι σταφυλόκοκκοι	23
5. Υλικά και μέθοδοι	35
5.1. Δειγματοληψία – Παρασκευή αραιώσεων	35
5.2. Καταμέτρηση των <i>Staphylococcus spp</i> και <i>S. aureus</i>	36
5.3. Χαρακτηριστικά των αποικιών του <i>S. aureus</i> στο Baird-Parker άγαρ	37
5.4. Αρίθμηση των αποικιών	38
5.5. Στατιστική ανάλυση	39
6. Αποτελέσματα – Συζήτηση	40
7. Συμπεράσματα	43
8. Βιβλιογραφία	44

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1. Ιστορικά στοιχεία της παραγωγής των τυριών.

Η ιστορία του τυριού αρχίζει το 8.000 π.Χ όταν στα οροπέδια του Ιράν, για πρώτη φορά πάνω στον πλανήτη εξημερώθηκαν τα πρώτα μηρυκαστικά, η κατσικά και η προβατίνα. Η ιστορία του τυριού ταυτίζεται αλλά και εξελίσσεται με αυτήν της Ευρώπης. Ο Αριστοτέλης και ο Διοσκουρίδης έδωσαν τις πρώτες συνταγές για την παραγωγή τυριού. Στην ιστορική εποχή οι μαρτυρίες για την κατασκευή τυριού είναι πλέον πάμπολλες. Σε τραγωδίες και κωμωδίες έχουμε μέχρι και συνταγή κατασκευής τυριού με χρήση γάλακτος συκιάς σαν πυτιά. Στην αγορά των Αθηνών υπήρχε χώρος ειδικά αφιερωμένος στα τυριά. Τα φρέσκα πουλιόντουσαν με το βάρος και τα ώριμα με το κομμάτι. Το ημερήσιο σιτηρέσιο των στρατιωτών περιελάμβανε συχνά τυρί. Στην αρχαία Σπάρτη υπήρχε ολόκληρη τελετουργική γιορτή κατά την οποία, όταν ενηλικιώνονταν οι νέοι, έκρυβαν σε δύσκολα και απρόσιτα μέρη τυράκια και άλλα φαγώσιμα, τα οποία έπρεπε να τα βρουν χωρίς να τους αντιληφθούν. Οι Ρωμαίοι υπήρξαν σπουδαίοι τυροκόμοι αλλά και φίλοι του τυριού. Αναφέρεται ότι έφτιαχναν ένα τυρί βάρους 1 τόνου και διαμέτρου 2 μέτρων που το έλεγαν LUNA. Τότε οι φρουρές για να επιβιώσουν έβρισκαν την τροφή τους τοπικά. Δημιουργούσαν μικρά κοπάδια μηρυκαστικών από τα οποία έπαιρναν το γάλα και το κρέας τους. Έμαθαν λοιπόν στους ντόπιους κατοίκους την τυροκομία ( Ιορδανίδης, 1965 ).

Κατά την διάρκεια της Βυζαντινής αυτοκρατορίας στον Ελληνικό χώρο η τυροκομία ήταν πολύ εκτεταμένη. Οι λίγες μαρτυρίες που έχουμε ομιλούν για το βλάχικο τυρί, τις μυζήθρες (απ' όπου πήρε το όνομά του και ο Μυζήθρας – Μιστράς). Τρωγόταν πολύ από τις κατώτερες κοινωνικές τάξεις μαζί με μαγειρεμένα λαχανικά. Πάμπολλες μαρτυρίες τόσο από Ευρωπαίους περιηγητές αλλά και Αραβικά κείμενα, αναφέρουν την Κρήτη ως σπουδαία παραγωγό τυριού και ιδιαίτερα τα Χανιά που έφεραν και το προσωνύμιο «ΤΥΡΟΠΟΛΙΣ». Επίσης στον Τουρκικό εμπορικό κώδικα αναφέρονται ρητά ακόμα αρκετά ελληνικά τυριά, μεταξύ των οποίων το καλαθάκι Λήμνου να κυριαρχεί ανάμεσά τους. Κατά την διάρκεια της Τουρκοκρατίας στα βουνά της Ηπειρωτικής Ελλάδας και των νησιών, η παράδοση συνεχίστηκε αμείωτα. Οι κτηνοτροφικοί πληθυσμοί μετακινούνταν με ευχέρεια πάνω στα ψηλά οροπέδια

και αντάλασσαν μεταξύ τους τεχνικές κατασκευής, μυστικά της τέχνης της ωρίμανσης ( Ζερφυρίδης, 2001 ).

Στο τέλος του 19ου αιώνα, το νεοσύστατο ελληνικό κράτος με τους υπουργούς του και ιδιαίτερα τον Εμμανουήλ Μπενάκη, αντελήφθη την οικονομική σημασία της κτηνοτροφίας και κάλεσε από το εξωτερικό το διαπρεπή τυροκόμο Ραϋμόνδο Δημητριάδη, τον οποίο επιφόρτισε με το καθήκον να εκπαιδεύσει τους νέους τυροκόμους της χώρας. Λίγο αργότερα οι επίσης μεγάλοι τυροκόμοι Ζυγούρης και Πολυχρονιάδης συνέχισαν το έργο του, διασχίζοντας τη χώρα και εκπαιδεύοντας νέους στην τέχνη. Με την εξέλιξη της χώρας οργανώθηκε η Γεωπονική Σχολή όπου εκατοντάδες νέοι γεωπόνοι μαθαίνουν την τέχνη. Αργότερα συγκροτήθηκε η Εθνική Επιτροπή Γάλακτος η οποία και προώθησε με κάθε τρόπο τα συμφέροντα των τυροκόμων ( Ανυφαντάκης, 1995).

## **1.2. Λίγα στοιχεία για την κατανάλωσή του**

Κοιτίδα του τυριού στον κόσμο είναι η Ευρώπη, ενώ όσο κι αν φανεί παράξενο τα 2/5 του πληθυσμού της γης δεν πίνουν γάλα, δεν τρώνε τυρί. Αγνωσούν τα γαλακτοκομικά. Παράδειγμα η Ιαπωνία και η Ινδία. Ακόμη και η βοοτρόφος Αργεντινή υποκαταναλώνει το γάλα .

Πρώτος λαός στην κατανάλωση τυριού στον παγκόσμιο χάρτη είναι η Ελλάδα με 23 κιλά ανά κάτοικο το έτος και διαφορά στήθους από τους ευρωγείτονες μας τους Γάλλους που τρώνε 22 κιλά περίπου. Οι Γερμανοί καταναλώνουν περίπου 20 κιλά το χρόνο και οι Ιάπωνες μόνο 1,6 κιλά και μάλιστα τυριά φρέσκα και ελαφριών γεύσεων, τελευταία εισαχθέντα από τις ΗΠΑ κυρίως ( Ζερφυρίδης, 2001 ).

## **1.3. Ταξινόμηση των τυριών**

Τα τυριά διακρίνονται σε διάφορες κατηγορίες με βάση τη μέγιστη επιτρεπόμενη υγρασία και την ελάχιστη λιποπεριεκτικότητα που συνήθως εκφράζεται στο ξηρό υπόλειμμα.

Με βάση την υγρασία έχουμε την εξής ταξινόμηση : Πολύ σκληρά (32%), Σκληρά (40%), Ημίσκληρα (41 – 46%), Μαλακά (56%), Τυριά από τυρόγαλα (65%),

Τυρός κρέμα ( $60 \pm 5\%$ ), Ανακατεργασμένα ή λειωμένα τυριά ( $60 \pm 5\%$ ), Τυριά που αλείφονται ( $60\%$ ).

Με βάση την λιποπεριεκτικότητα έχουμε την εξής ταξινόμηση : Μυζήθρα ( $16,0\%$ ), Ανθότυρο ( $16,6\%$ ), Φέτα ( $23,6\%$ ), Ανακατεργασμένο ( $30,0\%$ ), Γραβιέρα ( $34,6\%$ ), Μανούρι ( $36,7\%$ ). Ενδεικτικά αναφέρονται τα θρεπτικά συστατικά διαφόρων τυριών στον πίνακα 1 (Kramer, 1973 & Κανδαράκης, 1982).

**Πίνακας 1.** Κατά προσέγγιση σύνθεση διαφόρων τυριών.

Τυρί	Υγρασία %	Ολικά Στερεά %	Λίπος %	Αλάτι %	Πρωτεΐνη %	Τέφρα και Σάκχαρα %
Φέτα	55,0	45,0	23,6	2,8	20,0	2,7*
Γραβιέρα	34,0	66,0	34,6	1,6	26,7	4,4*
Cheddar	37,3	62,6	33,4	1,5	23,4	5,9
Ανθότυρος	68,4	31,6	16,6		9,6	1,5
Cottage	78,3	21,7	4,2	1,0	13,6	2,0
Ανακατεργασμένο	40,0	60,0	30,0	1,8	23,2	5,7
Cheese food	43,2	56,8	24,0	1,7	19,8	5,4
Cheese spread	48,6	51,4	21,4	1,6	16,0	4,5
Μανούρι	48,1	51,9	36,7	0,8	10,9	1,7*
Μυζήθρα ( ξηρή )	38,6	61,4	20,8	8,7	25,4	9,9
Μυζήθρα (φρέσκια)	66,4	66,4	33,6	16,0	0,8	1,7*

\* Μόνο τέφρα

(Kramer, 1973 & Κανδαράκης, 1982)



## 2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός αυτής της πτυχιακής εργασίας είναι η μελέτη της παρουσίας των σταφυλόκοκκων και ειδικότερα του *S. aureus* στο μανούρι. Αναλύθηκαν 25 δείγματα μανουριού 5 διαφορετικών βιομηχανιών παρασκευής μανουριού που πωλούνται στην αγορά της Θεσσαλονίκης. Χρησιμοποιήθηκαν εκλεκτικά υποστρώματα και καταμετρήθηκαν τόσο ο συνολικός αριθμός των σταφυλόκοκκων, όσο και του *S. aureus* χωριστά. Ακολούθως έγινε η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων για την διαπίστωση της σχέσης μεταξύ σταφυλόκοκκων και *S. aureus*, καθώς και των διαφορών μεταξύ των βιομηχανιών.

Για την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την υγιεινή κατάσταση του μανουριού των 5 βιομηχανιών που εξετάστηκαν, τα αποτελέσματα των καταμετρήσεων συγκρίθηκαν με το μικροβιολογικό πρότυπο του κανονισμού 2073/2005 της Ευρωπαϊκής Επιτροπής περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τρόφιμα, που δημοσιεύθηκε στην Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Μη ωριμασμένα μαλακά τυριά (νωπά τυριά) από γάλα ή ορό γάλακτος που έχει υποστεί παστερίωση.	Σταφυλόκοκκοι θετικοί στην πηκτάση*	n=5	C=2	m=10 cfu/g	M=100 cfu/g
--	-------------------------------------	-----	-----	---------------	----------------

\* Το κριτήριο εφαρμόζεται στο τέλος της διαδικασίας παρασκευής. Μέτρα που μπορούν να ληφθούν είναι βελτιώσεις στην υγιεινή της παραγωγής. Εάν βρεθούν τιμές  $> 10^5$  cfu/gr η παρτίδα τυριού πρέπει να ελεγχθεί για σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες.

## **3. ΤΥΡΙΑ**

### **3.1. Απαραίτητα υλικά για την παρασκευή τυριών**

#### **3.1.1. Το γάλα**

Το γάλα που χρησιμοποιείται για την παρασκευή τυροκομικών και γαλακτοκομικών προϊόντων πρέπει να είναι άριστης ποιότητας τόσο από χημικής όσο και μικροβιολογικής σύστασης, απαλλαγμένο από ακαθαρσίες και να προέρχεται από υγιή ζώα. Γάλα που προέρχεται από ζώα με μαστίτιδα ή που χορηγήθηκαν σ' αυτά αντιβιοτικά, δεν δίνει προϊόντα καλής ποιότητας.

Για την παρασκευή καλής ποιότητας τυριών, το γάλα πρέπει να παστεριώνεται για να καταστρέφονται οι βλαβεροί μικροοργανισμοί που βρίσκονται σ' αυτό και να χρησιμοποιείται ειδική καλλιέργεια μικροοργανισμών για να δώσει την κατάλληλη γεύση και ωρίμανση στο τυρί. Το μόνο είδος τυριού που η παστερίωση δεν είναι απαραίτητη, είναι το χαλούμι, και αυτό, γιατί το χαλούμι ψήνεται μετά την παρασκευή του και επομένως καταστρέφονται οι περισσότεροι μικροοργανισμοί ( Ζερφυρίδης, 2001 ).

#### **3.1.2. Η πυτιά**

Για την πήξη του γάλακτος για τυροποίηση χρησιμοποιείται η πυτιά. Αυτή προέρχεται από το τέταρτο τμήμα του στομάχου των μηρυκαστικών ζώων. Στην αγορά υπάρχουν διάφοροι τύποι πυτιάς, άλλοι σε μορφή σκόνης και άλλοι σε υγρή κατάσταση και με διαφορετική δραστηριότητα. Κατασκευάζονται, επίσης, πυτιές από μικροοργανισμούς που έχουν την ιδιότητα να ενεργούν σχεδόν με τον ίδιο τρόπο όπως και η πυτιά που προέρχεται από τα ζώα.

Οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν τη δύναμη της πυτιάς, εκτός από την ποσότητα που θα χρησιμοποιηθεί, είναι:

- Η θερμοκρασία πήξης του γάλακτος
- Η οξύτητα του γάλακτος

- Η χημική σύσταση του γάλακτος (λίπος, πρωτεΐνη) και η περιεκτικότητα του γάλακτος σε άλατα κυρίως ασβεστίου.

Στην αγορά υπάρχουν δύο ποιότητες τυτιάς όσον αφορά τη δυναμικότητα της. Η μια ποιότητα, που είναι και η πιο δυνατή, χρησιμοποιείται σε μεγάλα τυροκομεία και μπορεί να πήξει με κάθε 2 γραμ. τυτιάς, 100 κιλά γάλα σε 45 λεπτά περίπου. Η άλλη ποιότητα είναι πολύ πιο αδύνατη και κάθε 2 γραμ. τυτιάς πήζουν περίπου 25 κιλά γάλα. Αυτή χρησιμοποιείται κυρίως σε σπίτια και σε μικρές βιοτεχνίες. Η τυτιά, για να χρησιμοποιηθεί, διαλύεται σε νερό στο οποίο προστίθεται πενταπλάσια περίπου ποσότητα άλατος για να υποβοηθήσει στη διάλυσή της και να κρατήσει τη δυναμικότητά της σταθερή. Η ποσότητα του νερού εξαρτάται από την ποσότητα του γάλακτος και κυμαίνεται από 200 - 1000 κ.εκ. Η τυτιά, για να διατηρήσει τη σταθερή ποιοτική της δύναμη για περισσότερο χρονικό διάστημα, πρέπει να φυλάγεται σε σκοτεινό, δροσερό και ξηρό μέρος ( Ανυφαντάκης, 1976 ).

### **3.1.3. Το αλάτι**

Το άλας είναι απαραίτητο στοιχείο στην παρασκευή όλων σχεδόν των τυροκομικών προϊόντων. Η προσθήκη του άλατος έχει μεγάλη σημασία γιατί: α) υποβοηθά τη φυσικοχημική αλλαγή που γίνεται στο τυρόπηγμα (το στράγγισμα και την ωρίμανση του τυροπήγματος), β) εμποδίζει την ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών, γ) ελέγχει την ανάπτυξη των διαφόρων επιθυμητών μικροοργανισμών (π.χ. οξυγαλακτικών κτλ.) που χρειάζονται για την ωρίμανση των τυριών, δ) δίνει στο τυρί γεύση και ε) βελτιώνει την ποιότητα και τη διατήρηση του τυριού. Μερικά μειονεκτήματα, όπως ο χρωματισμός της επιφάνειας του τυριού, πολλές φορές οφείλονται στην κακή ποιότητα του άλατος, γι' αυτό πάντοτε πρέπει να χρησιμοποιείται καθαρό και καλής ποιότητας άλας ( Ζερφυρίδης, 2001 ).

### **3.1.4. Απόδοση του γάλακτος**

Η απόδοση του γάλακτος σε τυρί εξαρτάται από το είδος και τη χημική σύστασή του, κυρίως στο ποσοστό καζεΐνης και λίπους, ανάλογα φυσικά και με το είδος του τυριού που θα παρασκευασθεί. Για τα σκληρά τυριά χρειάζεται περισσότερο γάλα για την παρασκευή μιας μονάδας τυριού, ενώ για τα μαλακά χρειάζεται λιγότερο γάλα ( Ζερφυρίδης, 2001 ).

### 3.1.5. Εφόδια και εργαλεία τυροκομίας

Για να παράγονται ομοιόμορφα και καλής ποιότητας προϊόντα είναι αναγκαίο να χρησιμοποιούνται τα κατάλληλα εφόδια και εργαλεία που ταυτόχρονα θα διευκολύνουν και την όλη εργασία της επεξεργασίας του γάλακτος. Φυσικά δεν είναι απαραίτητο τα εργαλεία αυτά να είναι δαπανηρά (Ζερφυρίδης, 2001).

Εφόδια και εργαλεία τυροκομίας:

- Κουλιαστήρι (σουρωτήρι)
- Τυρολέβητες (διάφορα μεγέθη και είδη ανάλογα με το είδος προϊόντος που θα παρασκευαστεί).
- Τυροκόπτης (συρμάτινος ή από λάμα)
- Αναδευτήρας (ξύλινος ή συρμάτινος)
- Τσαντήλες (τυρόπαννα)
- Καλούπια (ξύλινα, μεταλλικά ή από πλαστικό, ανάλογα με το είδος του τυριού που θα παρασκευαστεί).
- Ταλάρια (από «σκληνίτζια» ή πλαστικό). Προτιμούνται τα πλαστικά για λόγους υγιεινής και εύκολου καθαρισμού.
- Τυροτράπεζες (μια ή περισσότερες, ανάλογα με την ποσότητα του γάλακτος).
- Πιεστήριο (μπορεί να γίνει συνδυασμός τυροτράπεζας - πιεστηρίου)
- Τρυπητή κουτάλα
- Θερμόμετρο
- Αλατόμετρο (για την πυκνότητα της άλμης)

### 3.2 Παρασκευή τυριών

Τα τυριά είναι προϊόντα ωρίμανσης του πήγματος, που λαμβάνεται από την πήξη του γάλακτος με πυτιά, οξέα ή ένζυμα . Το γάλα που χρησιμοποιείται μπορεί να είναι νωπό ή παστεριωμένο, να προέρχεται από μικρά ή μεγάλα μηρυκαστικά, να αποτελείται από μίγματά τους ή να είναι μερικώς αποβουτυρωμένο. Στην πρώτη ύλη μπορεί να προστεθεί κρέμα γάλακτος, ανάλογα με τον τύπο του τυριού που θέλουμε να παρασκευάσουμε ( Καρδούλης, 2003 ).

Τα στάδια παρασκευής του τυριού είναι τα εξής :

- ▶ 1<sup>ο</sup> στάδιο . Προετοιμασία του γάλακτος προς τυροκόμηση. (υγειονομικός – ποιοτικός έλεγχος – τυποποίηση –θερμική επεξεργασία – προσθήκη πυτιάς ή και μικροβιακών καλλιιεργειών )
- ▶ 2<sup>ο</sup> στάδιο. Πήξη του γάλακτος
- ▶ 3<sup>ο</sup> στάδιο. Επεξεργασία του τυροπήγματος που αποσκοπεί στην απομάκρυνση του τυρογάλακτος. ( Διαίρεση τυροπήγματος – ανάδευση - θέρμανση του τυροπήγματος στους 42°C για ημίσκληρα τυριά, 47°C για σκληρά τυριά και στους 50°C για τα πολύ σκληριά τυριά . Το τυρόπηγμα των μαλακών τυριών δεν θερμαίνεται – αλάτισμα – σχηματοποίηση των τυροκεφαλών σε θερμαινόμενο θάλαμο με σκοπό την περαιτέρω αποβολή του τυρογάλακτος – πίεση των τυροκεφαλών ).
- ▶ 4<sup>ο</sup> στάδιο. Αλάτισμα των τυριών. Στα σκληρά τυριά γίνεται με ξηρό αλάτισμα, που επαναλαμβάνεται πολλές φορές και στα μαλακά τυριά σε διάλυμα άλμης.
- ▶ 5<sup>ο</sup> στάδιο. Η ωρίμανση των τυριών. Κατά το στάδιο αυτό κάθε είδος τυριού δεν αποκτά μόνο τους ιδιαίτερους οργανοληπτικούς του χαρακτήρες, αλλά στο όξινο περιβάλλον που δημιουργείται επιτυγχάνεται και η καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών. Ο χρόνος ωρίμανσης εξαρτάται από την κατηγορία κάθε τυριού ( Καρδούλης, 2003 ).

### **3.3 Είδη τυριών**

#### **3.3.1. Μαλακά τυριά (λευκά τυριά άλμης)**

Ως λευκά τυριά άλμης χαρακτηρίζονται τα μαλακά τυριά που ωριμάζουν και διατηρούνται μέσα σε άλμη. Δύο χαρακτηριστικά παραδείγματα λευκών τυριών άλμης που παρασκευάζονται στην Ελλάδα, είναι η Φέτα και ο Τελεμές, ο οποίος μοιάζει πολύ με την Φέτα. Πρωτοκατασκευάστηκαν στη Νοτιοανατολική Ευρώπη και στις ανατολικές ηπειρωτικές χώρες. Φέρουν διάφορες ονομασίες ανάλογα με τις χώρες προέλευσής τους όπως π.χ. Αίγυπτος : Beda, Kariersh, Βουλγαρία : Bjato salamyreno sirene (feta), Telemea bulgarsca, Γιουγκοσλαβία : Beli sir u kriskama, Bijeni sir, Ελλάδα : Φέτα, Τελεμές, ΕΣΣΔ (πρώην) : Jerevanskii, Kobijskij, Ossetinskij, Tusinskij syr, Canach, Ισραήλ : Djibne, Ρουμανία : Telemea sarata (brinsa de braila), Συρία : Sirena, Τουρκία : Beyaz peynir, Teleme (Ζερφυρίδης, 2001).

#### **3.3.2. Τυριά αλοιφώδους υφής**

Χαρακτηριστικά παραδείγματα τυριών αλοιφώδους υφής είναι το Γαλοτύρι, το Κατίκι Δομοκού, το Πηκτόγαλο Χανίων, το Ανεβατό και η Κοπανιστή (Ζερφυρίδης, 2001).

#### **3.3.3. Σκληρά τυριά**

Κατά τον ελληνικό Κώδικα Τροφίμων του 1998 (άρθρο 83) σαν «σκληρά» χαρακτηρίζονται τα τυριά των οποίων η υγρασία της πρώτης ποιότητας είναι μικρότερη από 38% και περιλαμβάνει τους τύπους Κεφαλοτύρι, Κεφαλογραβιέρα, Λαδοτύρι Μυτιλήνης, Γραβιέρα ελληνικής κατασκευής και τους τύπους Cheddar, Colby, Grubre ή παρόμοιους προς αυτούς τύπους τυριών προέλευσης εξωτερικού (Ζερφυρίδης και Παππάς, 1989).

Ένα από τα χαρακτηριστικά σκληρά τυριά είναι το κεφαλοτύρι το οποίο παράγεται εκτός από την Ελλάδα και σε άλλες χώρες όπως στις Βαλκανικές και τις χώρες της Μέσης Ανατολής. Επομένως πρέπει να διαδόθηκε σ' αυτές από την Ελλάδα. Τα σκληρά τυριά που γινόταν παλαιότερα στην Ελλάδα σχεδόν όλα λέγονταν Κεφαλοτύρια. Ανάλογα με τον τόπο προέλευσής τους είχαν διαφορετικό

σχήμα, μέγεθος, τεχνολογία και ποιότητα γι' αυτό και ήταν γνωστά σαν Κεφαλοτύρι Ηπείρου, Θεσσαλίας, Μακεδονίας, Κρήτης, Κεφαλληνίας, Εύβοιας, Νάξου κλπ.

Εκτός από το Κεφαλοτύρι υπάρχουν και τα τυριά Κεφαλογραβιέρα και το Λαδοτύρι Μυτιλήνης. Η Κεφαλογραβιέρα είναι τυρί ΠΟΠ το οποίο παράγεται από πρόβειο γάλα ή αιγοπρόβειο και πρέπει να προέρχεται από τις περιοχές Δυτικής Μακεδονίας, Ηπείρου και των Νομών Αιτωλοακαρνανίας και Ευρυτανίας.

Το Λαδοτύρι Μυτιλήνης είναι τυρί ΠΟΠ, πρέπει να προέρχεται αποκλειστικά από το νησί Λέσβο και παράγεται παραδοσιακά από γάλα πρόβειο ή αιγοπρόβειο αυτού του νησιού (Ζερφυρίδης και Παππάς, 1989).

### **3.3.4. Ημίσκληρα τυριά**

Τα τυριά που χαρακτηρίζονται ημίσκληρα είναι κατηγορία τυριών των οποίων η πρώτη ποιότητα πρέπει να έχει υγρασία <40% και λίπος επί ξηρής ουσίας >40%. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται τα τυριά Μπάτσος, Σφαέλα, Φορμαέλα Παρνασσού, Κασέρι και τα ξενικής προέλευσης Gouda, Edam και Fontina. Τα τυριά αυτά χαρακτηρίζονται από τη μαλακή και πλαστική μάζα τους αλλά η τεχνολογία παραγωγής είναι τελείως διαφορετική μεταξύ τους (Ζερφυρίδης, 2001).

### **3.3.5. Τυριά τυρογάλακτος**

#### **3.3.5.1 Το τυρόγαλα**

Ως τυρόγαλα ορίζεται το υπολειμματικό προϊόν, που λαμβάνεται κατά την παρασκευή των τυριών ή καζεΐνης. Το τυρόγαλα σε υγρή κατάσταση, περιέχει τα φυσικά συστατικά που παραμένουν μετά την αφαίρεση της καζεΐνης και του μεγαλύτερου μέρους των λιπαρών ουσιών από το γάλα (Καρδούλης, 2003).

Το τυρόγαλα που αποβάλλεται κατά την τυροκόμηση εξακολουθεί να έχει πρωτεΐνες του γάλακτος που έχουν και υψηλότερη βιολογική αξία σε σύγκριση με την καζεΐνη η οποία πηγαίνει στο τυρί. Έτσι μπορεί το τυρόγαλα να ξανατυροκομηθεί με θέρμανση και οξίνιση. Τα τυριά που λαμβάνονται είναι τα «τυριά τυρογάλακτος» με αντιπροσωπευτικό ελληνικό τυρί τη Μυζήθρα και τα τυριά τύπου Μυζήθρας όπως ο Ανθότυρος και το Μανούρι. Το αντίστοιχο ξένο τυρί το οποίο είναι και ευρύτερα γνωστό στον κόσμο είναι το Ιταλικό Ricotta (Ζερφυρίδης, 2001).

Δύο είναι οι βασικοί λόγοι που επιβάλλουν την αξιοποίηση του τυρογάλακτος. Η μεγάλη θρεπτική του αξία και η μόλυνση του περιβάλλοντος όταν οι βιομηχανίες το διοχετεύουν στην αποχέτευση. Η σύνθεση του τυρογάλακτος δίνεται στον Πίνακα 2.

**Πίνακας 2. : Σύνθεση τυρογάλακτος.**

Συστατικό	Αναλογία %
Νερό	93,00-94,00
Λίπος	0,09-0,35
Πρωτεΐνη	0,86-1,00
Λακτόζη	4,80-5,50
Τέφρα	4,49-0,68
Σύνολο	6,24-7,53

(Ζερφυρίδης,2001)

Εκτός από αυτά τα συστατικά του γάλακτος στο τυρόγαλα πηγαίνουν επίσης οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες από τις οποίες η Β<sub>2</sub> (ριβοφλαβίνη) δίνει σ' αυτό το υποκίτρινο χρώμα του. Το τυρόγαλα περιέχει το 45% από τα θρεπτικά συστατικά του γάλακτος, με θερμιδική αξία περίπου 22 kcal από τα 65 που έχουν τα 100 g γάλα (Ζερφυρίδης, 1998).

### 3.3.5.2. Παρασκευή τυριών τυρογάλακτος

Κοινό γνώρισμα όλων των τυριών της κατηγορίας αυτής είναι ότι περιέχουν πρωτεΐνες του ορού που λαμβάνονται με θέρμανση τυρογάλακτος σε θερμοκρασίες άνω των 85°C με ή χωρίς οξίνισή του.

Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών ως «τυριά τυρογάλακτος με ή χωρίς ωρίμανση ορίζονται τα τυριά που λαμβάνονται με ισχυρή θέρμανση του τυρογάλακτος (με ή χωρίς οξίνιση) και με ή χωρίς προσθήκη γάλακτος (πρόσγαλα), γάλακτος και κρέμας γάλακτος (αφρόγαλα), βρώσιμο χλωριούχο νάτριο (αλάτι), τα οποία μπορούν να διατεθούν και με μερική αφυδάτωση (ξερά) και άλλα κατόπιν ωρίμανσης και των οποίων η υγρασία δεν υπερβαίνει το 70%».



Τα τυριά αυτής της κατηγορίας που παράγονται σήμερα στη χώρα μας καταναλώνονται κυρίως φρέσκα ή μετά από μερική αφυδάτωσή τους. Πρώτη ύλη για την παρασκευή τους αποτελούν συνήθως το πρόβειο και γίδινο τυρόγαλα, που προέρχεται από τυροκομήσεις σκληρών τυριών και φέτας. Τα πιο γνωστά ελληνικά τυριά τυρογάλακτος είναι η μυζήθρα, ο ανθότυρος και το μανούρι. Η μέση σύσταση των τυριών δίνεται στον Πίνακα 3, από τον οποίο προκύπτει ότι διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους στη λιποπεριεκτικότητα και την υγρασία (Ζερφυρίδης, 2001).

**Πίνακας 3. : Μέση σύσταση ελληνικών τυριών τυρογάλακτος.**

Συστατικά %	Είδη τυριών			
	Μυζήθρα		Ανθότυρος	Μανούρι
	Χωρίς πρόσγαλα	Με πρόσγαλα		
<b>Λίπος</b>	10-12	15-19	20-26	33-37
<b>Πρωτεΐνες</b>	12-14	12-13	10-12	10-11
<b>Λακτόζη</b>	3.5	3.5	3.0	2.5
<b>Άλατα</b>	1.5	1.5	1.5	1.5
<b>Νερό</b>	70-71	64-66	60-64	48-52

(Ζερφυρίδης, 2001)

Τα ελληνικά τυριά τυρογάλακτος ανήκουν στα τυριά τυρογάλακτος μεσογειακού τύπου που παρασκευάζονται από κροκίδωση των πρωτεϊνών του ορού στους 80-85°C και διαφέρουν σημαντικά στη σύνθεση από τα τυριά σκανδιναβικού τύπου που παρασκευάζονται με συμπύκνωση σε θερμοκρασίες 95-105°C. Αυτό προκύπτει από τον παρακάτω πίνακα 4 (Πολυχρονιάδου-Αληχανίδου, 2004).

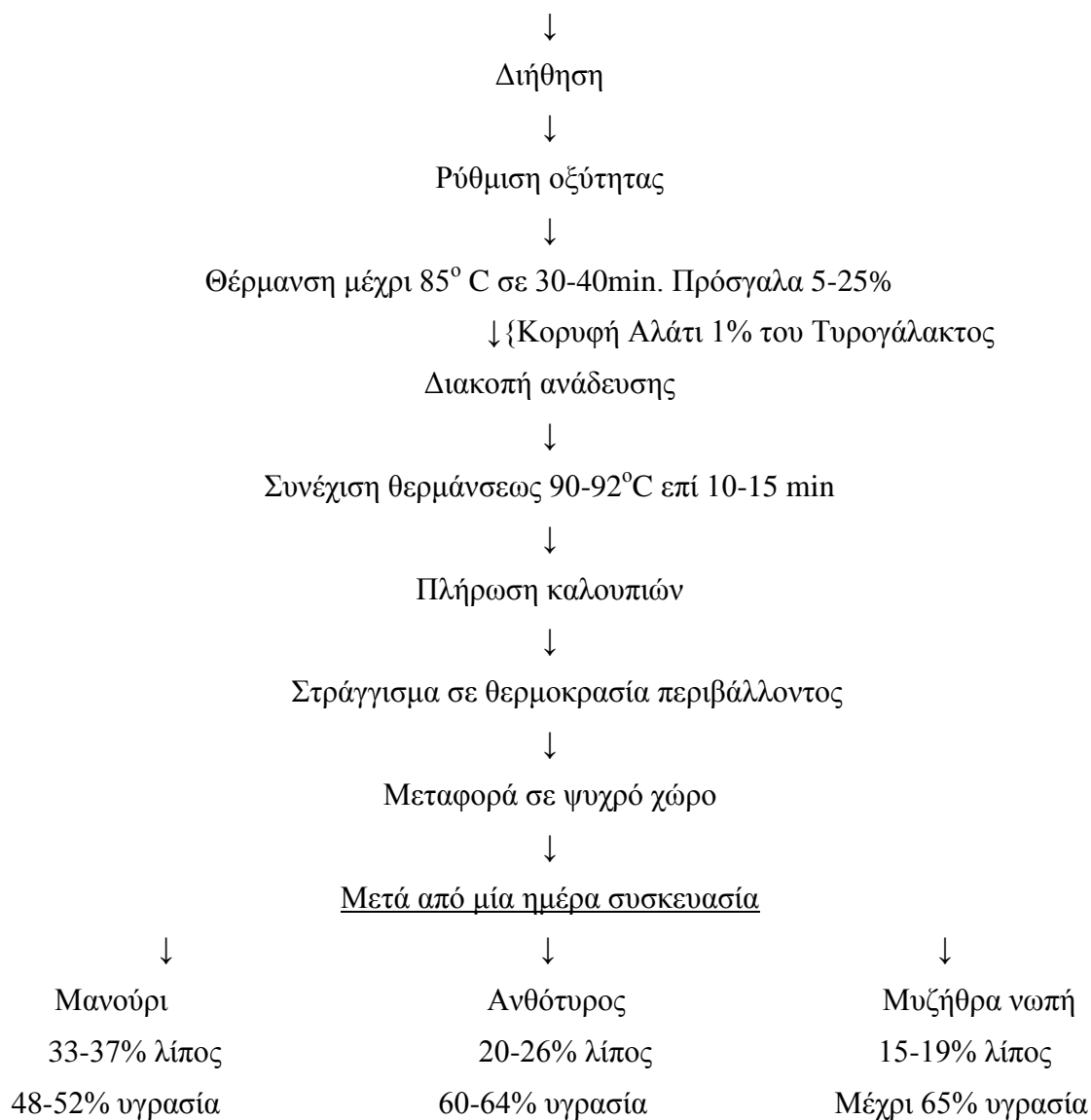
**Πίνακας 4. : Διαφορές στην τυπική σύνθεση των τυριών τυρογάλακτος μεσογειακού και σκανδιναβικού τύπου.**

	Τυριά τυρογάλακτος Μεσογειακού τύπου	Τυριά τυρογάλακτος Σκανδιναβικού τύπου
Ξηρά ουσία	24-63%	78-82%
Λίπος επί ξηρού	33-84%	20-35%
Λακτόζη	2,5-4%	36-46%
Πρωτεΐνη	6-15%	~ 12%

(Πολυχρονιάδου-Αληξανίδου, 2004)

Στο σχήμα 1, απεικονίζεται το διάγραμμα παρασκευής διαφόρων τύπων μυζήθρας.

#### ΤΥΡΟΓΑΛΛΑ



**Σχήμα 1 :** Διάγραμμα παρασκευής διαφόρων τύπων μυζήθρας.(Κανδαράκης, 1982)

Υπάρχουν κάποια σημεία που θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή και αυτά είναι τα εξής :

- Πριν από τη θέρμανση του τυρογάλακτος πρέπει να απομακρύνονται από αυτό υπάρχοντα σωματίδια τυροπήγματος. Σε αντίθετη περίπτωση, αυτά χάνουν υγρασία κατά τη θέρμανση του τυρογάλακτος, σκληραίνουν και βλάπτουν την ποιότητα των τυριών που λαμβάνονται από αυτό.
- Η προσθήκη προσγάλακτος και κρέμας στο τυρόγαλα πρέπει να γίνεται σε θερμοκρασία 65-70° C ώστε να έχουν καταστραφεί τα υπολείμματα πυτιάς που τυχόν υπάρχουν. Αν προστεθούν νωρίτερα, είναι δυνατό η πυτιά να προκαλέσει την πήξη τους και να καταστραφεί το μίγμα.
- Κατά τη διάρκεια της θέρμανσης πρέπει να γίνεται προσεκτική και συνεχής ανάδευση του τυρογάλακτος να μην «τσικνώσει».
- Πρέπει πάντοτε πριν τη θέρμανση να γίνεται διόρθωση της οξύτητας, ιδιαίτερα στην περίπτωση του αγελαδινού γάλακτος για να ληφθούν καλύτερα αποτελέσματα. Μια ογκομετρική οξύτητα τυρογάλακτος της τάξης του 0,15% περίπου σε γαλακτικό οξύ είναι επιθυμητή. Η διόρθωση της οξύτητας γίνεται συνήθως, με προσθήκη γαλακτικού ή κιτρικού οξέος.
- Όταν το τυρόγαλα αποκτήσει θερμοκρασία 78-80° C (εμφάνιση νιφάδων πήγματος), ο ρυθμός ανάδευσης πρέπει να μειωθεί σημαντικά και στους 85° C να σταματήσει. Έτσι επιτυγχάνεται καλύτερος διαχωρισμός των πρωτεϊνών και δημιουργία συσσωματωμάτων τους, που ανέρχονται σταδιακά στην επιφάνεια από όπου και συλλέγονται με προσοχή.
- Η μεταφορά του πήγματος, που δημιουργείται με τη θέρμανση του τυρογάλακτος στα καλούπια, γίνεται σταδιακά και με προσοχή αφενός για να μην σκορπίσει το πήγμα, αφετέρου για να στραγγίσει στο καλούπι ταχύτερα.
- Η στράγγιση του πήγματος των τυριών τυρογάλακτος είναι βραδεία εξαιτίας των πρωτεϊνών που περιέχει για το λόγο αυτό, πρέπει να τοποθετείται σε μικρά καλούπια, που συνήθως χωρούν 1 έως 2 Kg προϊόντος.

Σε γενικές γραμμές, μια πλήρης γραμμή τυρογάλακτος αποτελείται από δύο διακριτά τμήματα. Στο πρώτο, όπου γίνεται η προετοιμασία του τυρογάλακτος, υπάρχει σύστημα συνεχούς και αυτόματου ελέγχου του pH, δοχείο σταθεράς στάθμης

τροφοδοσίας, πλακοειδής εναλλάκτης θερμότητας απαερωτής, αντλία με μικρομετρητή για προσθήκη οξέος και συστήματα ελέγχου των συνθηκών λειτουργίας του συγκροτήματος.

Στο δεύτερο, γίνεται η αλλοδομή και η κροκίδωση των πρωτεϊνών του τυρογάλακτος με θέρμανση, η στράγγιση και η παραλαβή του πήγματος. Με διαφοροποίηση των παραμέτρων που επηρεάζουν την πήξη και στράγγιση του πήγματος και με χρήση διαφόρων πρώτων υλών (τυρόγαλα από αγελαδινό, πρόβειο ή γίδινο με ή χωρίς γάλα, με ή χωρίς κρέμα) είναι δυνατό να παρασκευασθούν διάφορα τυριά τυρογάλακτος (Ανυφαντάκης, 2004).

### 3.3.5.3 Μυζήθρα

Η Μυζήθρα παράγεται στην Ελλάδα παραδοσιακά από αιγοπρόβειο τυρόγαλα που είναι πλουσιότερο από το αγελαδινό τυρόγαλα σε υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες κι έτσι η χρησιμοποίησή του για παραγωγή Μυζήθρας είναι απλούστερη και η απόδοση του μεγαλύτερη. Όταν το τυρόγαλα πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για Μυζήθρα δεν αποκορυφώνεται διότι το λίπος πηγαίνει στη Μυζήθρα κι έτσι δεν χάνεται αλλά και η Μυζήθρα γίνεται πιο εύγεστη. Από αυτή την άποψη καλύτερη Μυζήθρα και περισσότερη γίνεται από το τυρόγαλα των σκληρών τυριών διότι έχουν παραπάνω λίπος (Ζερφυρίδης & συν., 1985).

Το τυρόγαλα που προορίζεται για παρασκευή μυζήθρας πριν τη χρήση του υποβάλλεται πάντα σε φιλτράρισμα, με σκοπό να απομακρυνθούν οι εναπομείναντες κόκκοι πήγματος. Αν δεν απομακρυνθούν, τότε γίνονται σκληροί κατά την θέρμανση του τυρογάλακτος και υποβαθμίζουν την ποιότητα της μυζήθρας.

Μετά το φιλτράρισμα, το τυρόγαλα μπαίνει σε ειδικούς λέβητες και θερμαίνεται με ατμό ο οποίος είτε κατευθύνεται στα διπλά τοιχώματα του λέβητα, είτε εγγέεται απευθείας στη μάζα. Η θέρμανση του τυρογάλακτος γίνεται υπό συνεχή ανάδευση.

Όταν η θερμοκρασία φτάσει τους 80-82°C εμφανίζονται τα τεμάχια του πήγματος εξαιτίας της αλλοδομής των πρωτεϊνών του. Στο στάδιο αυτό η θέρμανση επιταχύνεται μέχρι το τυρόγαλα να αποκτήσει θερμοκρασία 88-92°C και η ανάδευση επιβραδύνεται σημαντικά μέχρι τελικά να σταματήσει, όταν ένα πολύ λεπτό στρώμα πήγματος εμφανιστεί στην επιφάνεια του τυρογάλακτος.

Στην περίπτωση που η μυζήθρα καταναλωθεί φρέσκια, το τυρόγαλα θερμαίνεται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες ενώ όταν το προϊόν πρόκειται να αφυδατωθεί (ξηρή μυζήθρα) οι θερμοκρασίες είναι υψηλότερες. Για την παρασκευή «Ξηρής Μυζήθρας» μετά τη στράγγιση της μυζήθρας αυτή αλατίζεται και τοποθετείται σε καλά αεριζόμενους ψυχρούς θαλάμους όπου παραμένει μέχρι να αποκτήσει υγρασία χαμηλότερη από 40%. Κατά τη διάρκεια της παραμονής, πλήθος μικροβίων, κυρίως μυκήτων, αναπτύσσεται στην επιφάνειά της, τα οποία απομακρύνονται όταν ολοκληρωθεί η ξήρανση και η ξηρή μυζήθρα καλύπτεται με άσπρη παραφίνη ή συσκευάζεται σε πλαστικές σακούλες και είτε παραδίδεται στην αγορά είτε αποθηκεύεται για μήνες σε θαλάμους θερμοκρασίας 3-4°C (Ανυφαντάκης, 1998).

#### 3.3.5.4. Ανθότυρος

Ο Ανθότυρος είναι μια Μυζήθρα βελτιωμένης μορφής με αυξημένη λιποπεριεκτικότητα και μειωμένη υγρασία, πιο συνεκτική τυρώδη πάστα κρεμώδους μάλλον υφής και λιγότερο κοκκώδους απ' ό,τι η Μυζήθρα. Αυτό επιτυγχάνεται με την προσθήκη γάλακτος στο τυρόγαλα με ή χωρίς κρέμα. Το γάλα αυτό λέγεται «πρόσγαλα» και καλύτερα είναι να προστίθεται στο τυρόγαλα σε θερμοκρασία περίπου 70°C, γι' αυτό όταν το πρόσγαλα είναι πολύ μπαίνει στο τυρόγαλα σε δύο ή τρεις δόσεις (Καλατζόπουλος και Καμπουράκη-Ρήγα, 1985).

Τα καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά έχει ο Ανθότυρος ο οποίος γίνεται από τυρόγαλα αιγοπρόβειο με πρόσγαλα αιγοπρόβειο ή κατσίκισιο και είναι φρέσκος. Η σύνθεση του Ανθότυρου που κυκλοφορεί στην αγορά είναι διαφορετική από την αντίστοιχη της μυζήθρας. Η διαφορετική σύνθεση του Ανθότυρου από εκείνη της Μυζήθρας οφείλεται στην προσθήκη προσγάλακτος η οποία περιέχει καζεΐνη και λίπος και όσο περισσότερο είναι το πρόσγαλα τόσο μεγαλύτερες είναι οι διαφορές στην σύνθεση.

Επομένως, η τεχνολογία του Ανθότυρου είναι όπως της Μυζήθρας με τις διαφορές που προαναφέρθηκαν. Μετά το καλούπιασμα και το στράγγισμα του Ανθότυρου, εισάγεται στο ψυγείο και από την επόμενη μέρα μπορεί να διατεθεί στην κατανάλωση. Η διάθεσή του καλό είναι να γίνεται ύστερα από αεροστεγή

συσκευασία σε ειδικές πλαστικές σακούλες για να προστατεύεται από μύκητες και απώλεια υγρασίας (Ζερφυρίδης, 2001).

#### 3.3.5.5. Μανούρι

Το Μανούρι είναι τυρί ΠΟΠ της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Στην κατηγορία των τυριών τυρογάλακτος είναι το πλέον εύγεστο. Είναι πιο εμφανίσιμο, συνεκτικό και κρεμώδες απ' ό,τι ο Ανθότυρος διότι περιέχει διπλάσιο περίπου πρόσγαλα και κρέμα και κατά συνέπεια περιέχει περισσότερο λίπος και λιγότερη υγρασία απ' ό,τι ο Ανθότυρος. Η τεχνολογία του Μανουριού με τα σημερινά δεδομένα παραγωγής του είναι ίδια με του Ανθότυρου. Οι διαφορές συνίσταται στις διαφορετικές ποσότητες προσγάλακτος και κρέμας, το διαφορετικό σχήμα και τη μερική ωρίμανσή του. Το Μανούρι έχει σχήμα κυλινδρικό επίμηκες και αφήνεται αρκετό χρονικό διάστημα ώστε να στεγνώσει η επιφάνειά του. Έτσι το Μανούρι μπορεί και να παραφινωθεί σε αντίθεση με τον Ανθότυρο που δεν έχει τη δυνατότητα αυτή.

Η παραδοσιακή εντούτοις τεχνολογία του Μανουριού είναι διαφορετική από την σύγχρονη και αξίζει να σημειωθεί. Χρησιμοποιείται τυρόγαλα από κατσικίσιο γάλα ή με πρόσμιξη λίγου πρόβειου. Για την παραγωγή του τυρογάλακτος πήζεται πλήρες κατσικίσιο γάλα σε 32<sup>0</sup>C. Όταν αρχίζει να σχηματίζεται το πήγμα κόβεται σε ψιλά κομμάτια με σύγχρονη ανάδευση με τον τυροκόφτη (χτυπητό κόψιμο) ώστε το λίπος να μένει κατά μεγάλο μέρος στο τυρόγαλα. Η ανάδευση στην αρχή είναι αργή και μετά γρήγορη. Το τυρόπηγμα αναθερμαίνεται μέχρι 50<sup>0</sup>C και εξάγεται από το τυρόγαλα. Συνεχίζει η θέρμανση και ανάδευση, προστίθεται πρόσγαλα 5-10% ή και κρέμα στους 70<sup>0</sup>C με συνεχή θέρμανση και ανάδευση μέχρι να εμφανιστούν οι θρόμβοι της πρωτεΐνης στους 90<sup>0</sup>C. Στο σημείο αυτό σταματά η ανάδευση ενώ διατηρείται σταθερή η θερμοκρασία για 15 περίπου λεπτά για να γίνει το ψήσιμο του Μανουριού. Ακολούθως συλλέγεται, τοποθετείται σε ηθμούς από πανί (τσαντίλες) ή μεταλλικά καλούπια ορισμένου σχήματος για να υπάρχει ομοιόμορφη εμφάνιση. Αυτό μπορεί μετά από μια μέρα να πουληθεί νωπό αλατισμένο ή μη, ή ξηραίνεται στον ίσκιο σε χαμηλή θερμοκρασία. Στο ξηρό Μανούρι μπορεί να γίνει παραφίνωση.

Το Μανούρι που υπάρχει στην αγορά προέρχεται από όλα τα είδη γάλακτος και τυρογάλακτος και οι τεχνολογίες τους διαφέρουν (Ζερφυρίδης, 2001).

## 4. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΤΥΡΙΩΝ

### 4.1. Γενικά

Τα τυριά και πολλά άλλα τρόφιμα δεν είναι στείρα προϊόντα. Όλα τα είδη που ωριμάζουν φέρουν, σε σχετικά μεγάλους πληθυσμούς τα οξυγαλακτικά βακτήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τη ζύμωση και την ωρίμανσή τους. Παράλληλα και ανάλογα με τις συνθήκες υγιεινής που επικρατούν κατά τα διάφορα στάδια της παραγωγής τους προστίθενται και άλλα βακτήρια, ζύμες ή μύκητες. Ο μικτός αυτός πληθυσμός δε μένει σταθερός αλλά μεταβάλλεται ποιοτικά και ποσοτικά. Η πορεία της μεταβολής εξαρτάται από πολλούς παράγοντες αλλά κυρίως από το βαθμό οξύτητας, τη θερμοκρασία, τη συγκέντρωση του άλατος, το συντελεστή ενεργού νερού και το είδος του μικροβιακού ανταγωνισμού. Κάτω από ομαλές συνθήκες εξέλιξης της ζύμωσης το αρχικό μικροβιακό φορτίο του τυριού μειώνεται σταθερά και με το πέρας της ωρίμανσης πολλά είδη βακτηρίων, μεταξύ των οποίων και ορισμένα παθογόνα δεν ανευρίσκονται πλέον (Richter and Vedamuthu, 2001).

Ειδικότερα η μικροβιοχλωρίδα των τυριών αμέσως μετά την παρασκευή τους αποτελείται:

- Από τα ειδικά οξυγαλακτικά βακτήρια που προστέθηκαν και στα οποία βασίζεται η ζύμωση της λακτόζης και στη συνέχεια η ωρίμανση του τυριού.
- Από θερμοάντοχα είδη βακτηριδίων τα οποία επιζούν της παστερίωσης.
- Από βακτήρια επιμόλυνσης τα οποία προέρχονται από αλάτι, την πυτιά, τα άλλα πρόσθετα και κυρίως τα σκεύη, τα μηχανήματα και το περιβάλλον γενικά. (Παπαντωνίου, 2011)

Εάν το προς τυροκόμηση γάλα δεν παστεριώνεται τότε η πλούσια σε είδη και αριθμό μικροβιακή χλωρίδα του μεταφέρεται στο τυρόπηγμα. Στην περίπτωση αυτή το γάλα μπορεί να περιέχει και παθογόνους μικροοργανισμούς που προέρχονται από το ζώο.

Αυτό μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τη Δημόσια Υγεία γιατί οι μεταβολές της μικροβιακής χλωρίδας κατά τη φάση της ωρίμανσεως δεν είναι σταθερές και δεν εξασφαλίζουν την εξυγίανση του τυριού (Παπαγεωργίου, 2004).

Τα τυριά που δεν ωριμάζουν και ιδιαίτερα αυτά που παρασκευάζονται χωρίς την προσθήκη οξυγαλακτικής καλλιέργειας (μυζήθρα, μανούρι, Ricotta κ.α.), έχουν μικρό πληθυσμό οξυγαλακτικών βακτηρίων, η δε χλωρίδα τους είναι κυρίως αποτέλεσμα επιμολύνσεων. Τα ψυχρότροφα είδη από τη χλωρίδα αυτή πολλαπλασιάζονται κατά τη συντήρηση του προϊόντος και τελικά επιφέρουν την αλλοίωσή του (Μάντης, 1991).

## 4.2. Παθογόνα βακτήρια στα τυριά

Η παρουσία και η ανάπτυξη των παθογόνων βακτηρίων στα τυριά περιορίζεται από ορισμένους παράγοντες, όπως ο μικροβιακός ανταγωνισμός, το γαλακτικό οξύ, το χαμηλό  $a_w$  και το όξινο pH. Ωστόσο υπάρχουν περιπτώσεις, που η ανεπάρκεια της γαλακτικής καλλιέργειας οδηγεί στην παραγωγή μικρής ποσότητας γαλακτικού οξέος και σε σχετικά χαμηλή οξύτητα. Έτσι, ευνοείται η παρουσία και η ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων, όπως *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Listeria* και εντεροπαθογόνος *E. coli*. Επομένως, τα τυριά μπορούν να αποτελέσουν, αν και σπάνια, αφετηρία τροφικών δηλητηριάσεων (Παπαντωνίου, 2011).

Τα παθογόνα βακτήρια των τυριών προέρχονται από το νωπό γάλα ή από επαναμόλυνση μετά την παστερίωση. Τον πιο σοβαρό κίνδυνο υγείας από το τυρί εγκυμονεί ο *S. aureus*. Σε πολλούς τύπους τυριών (μαλακά, ημίσκληρα, σκληρά) η μέγιστη ανάπτυξη του σταφυλόκοκκου συμβαίνει όταν συμπληρώνεται το στράγγισμα και γενικά πριν το αλάτισμα. Ο μεγάλος αριθμός κυττάρων *S. aureus* στο τυρί ( $> 10^7$  cfu/g) οδηγεί στην παραγωγή εντεροτοξίνης. Αργότερα κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης οι σταφυλόκοκκοι μειώνονται σημαντικά και μόνο μικρός αριθμός αυτών υπάρχει στο τυρί. Εν τούτοις, η εντεροτοξίνη παραμένει στο προϊόν (Δεληκάρης, 1992).

Τα τυριά, θεωρητικά τουλάχιστον, δεν ανήκουν στα τρόφιμα που είναι επικίνδυνα για σαλμονέλωση. Ωστόσο, το 1984 στον Καναδά εκδηλώθηκε σοβαρή επιδημία γαστρεντερίτιδας από τυρί Cheddar, μολυσμένο με *Salmonella typhimurium*. Αιτία ήταν λανθασμένος χειρισμός σε βαλβίδα ροής, που διοχέτευσε νωπό γάλα στους κάδους του παστεριωμένου, έτοιμου για τυροκόμηση γάλακτος. Η λοιμογόνος δόση της σαλμονέλας, που επέζησε κατά την ωρίμανση, ήταν 1-10 cfu/g τυριού (Varnam and Sutherland, 1996).



Λιστέριες έχουν απομονωθεί από πολλούς τύπους τυριών (Cottage, Camembert, Cheddar). Η παρουσία του βακτηρίου οφείλεται στη χρησιμοποίηση μολυσμένου νοπού γάλακτος ή σε επαναμόλυνση. Από άποψη υγείας, το μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα φρέσκα τυριά. Δείγματα αυτών που εξετάστηκαν σε Η.Π.Α και Ευρώπη βρέθηκαν μολυσμένα με *L.monocytogenes* σε ποσοστό 2-10%. Οι αριθμοί του βακτηρίου στα δείγματα κυμαίνονταν από  $10^1$ - $10^7$  cfu/g τυριού.

Γενικά οι συνθήκες που ευνοούν την παρουσία και την ανάπτυξη της *L. monocytogenes* στα φρέσκα τυριά είναι η χαμηλή οξύτητα αυτών (pH>5,5) και η απουσία γαλακτικών καλλιεργειών κατά την παρασκευή τους.

Παλαιότερα είχαν εκδηλωθεί στις Η.Π.Α και σε άλλες χώρες πολλές επιδημίες γαστρεντερίτιδας από μαλακά τυριά μολυσμένα με εντεροπαθογόνο *E.colli* (EPEC). Σήμερα παρατηρείται ύφεση του προβλήματος. Ωστόσο, από ημίσκληρα τυριά χαμηλής οξύτητας και τυριά που ωριμάζουν επιφανειακά (surface-ripened cheese) έχουν απομονωθεί πολλά στελέχη EPEC. Το πρόβλημα επαναμόλυνσης των τυριών είναι καλά γνωστό, αλλά είναι εξαιρετικά δύσκολο να προληφθεί τελείως η παρουσία των παθογόνων βακτηρίων σε αυτό (Frank, 1997).

### **4.3. Μικροβιολογικές αναλύσεις γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων**

Το γάλα και τα προϊόντα του είναι τρόφιμα ευρείας κατανάλωσης και ευαλλοίωτα και περιέχουν ένα σημαντικό μικροβιακό φορτίο, μικρότερο ή μεγαλύτερο ανάλογα με την ποιότητά τους. Πολλές φορές στη μικροβιοχλωρίδα του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων περιλαμβάνονται και παθογόνα μικρόβια για τον άνθρωπο. Έτσι, ο μικροβιολογικός έλεγχος των προϊόντων αυτών παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον και σκοπεύει να εκτιμήσει τη μικροβιολογική τους ποιότητα: μεγάλο μικροβιακό φορτίο σημαίνει ποιοτικά υποβαθμισμένο προϊόν και μας πληροφορεί ότι οι συνθήκες συλλογής, συντήρησης και επεξεργασίας του δεν ήταν καλές. Γάλα που περιέχει παθογόνα μικρόβια είναι επικίνδυνο για τη δημόσια υγεία. Οι μικροβιολογικές αναλύσεις στο νοπό γάλα είναι οι ακόλουθες:

- 1) Εκτίμηση του μικροβιολογικού φορτίου.
- 2) Κολιμετρία.

- 3) Αρίθμηση των θερμοανεκτικών βακτηρίων (thermodurics).
- 4) Αρίθμηση των σπορογόνων βακτηρίων.
- 5) Αρίθμηση των ψυχροτρόφων βακτηρίων.
- 6) Αναζήτηση (ή και αρίθμηση παθογόνων βακτηρίων).

Ειδικά ο μικροβιολογικός έλεγχος των τυριών αποσκοπεί στη διαπίστωση της υγιεινής κατάστασης των τυριών και στηρίζεται κυρίως :

1. Στην αρίθμηση των κολοβακτηριοειδών και της *E.colli*.
2. Στην αρίθμηση του *Staphylococcus aureus*.
3. Στην ανίχνευση *Salmonella*.
4. Στην ανίχνευση (αρίθμηση) της *Listeria monocytogenes*.

(Roberts and Greenwood, 2003)

#### **4.4. Τυριά και Δημόσια Υγεία**

Παρά το γεγονός ότι τα τυριά δεν ενοχοποιούνται συχνά για κρούσματα τροφικών λοιμώξεων και τοξινώσεων, εντούτοις είναι δυνατόν να προκαλέσουν τέτοια σύνδρομα, εάν οι συνθήκες συλλογής και συντήρησης του γάλακτος και παραγωγής τυριών δεν είναι υγιεινές (Normano et al., 2007).

Η σταφυλοκοκκική τροφοτοξίνωση , θεωρείται ως η περισσότερο συχνή τροφική δηλητηρίαση από τυριά. Οι εντεροτοξιγόνοι σταφυλόκοκκοι προέρχονται είτε από το μαστό του ζώου (μαστίτιδα) (Michel et al.,2011) ή από τους ανθρώπους που χειρίζονται το γάλα. Η τοξίνη παράγεται είτε στο γάλα, λόγω κακής συντήρησης και στη συνέχεια περνά στο τυρόπηγμα, ή σχηματίζεται κατά τις πρώτες 24 ώρες από την πήξη, όταν η οξύτητα του τυριού δεν αυξάνεται ικανοποιητικά και οι σταφυλόκοκκοι μπορούν και πολλαπλασιάζονται. (Bryan, 1983, Tervis, 1988, Mikolajcik, 1980). (De Luca et al.,1977). Σύμφωνα με παλαιότερες έρευνες στη χώρα μας φαίνεται ότι οι περισσότερες τροφικές δηλητηριάσεις από τυριά ήταν σταφυλοκοκκικής αιτιολογίας (Πανέτσος και συν., 1970).

Ανεξάρτητα με το είδος του τυριού, μεγάλος πληθυσμός εντεροτοξινογόνων στελεχών σταφυλόκοκκων στο γάλα πριν από την πήξη, οδηγεί σε παραγωγή

εντεροτοξίνης. Το ίδιο συμβαίνει και όταν η πορεία της οξύτητας του τυριού δεν είναι ικανοποιητική κατά τις πρώτες 24 ώρες. Εφόσον παραχθεί εντεροτοξίνη αυτή παραμένει δραστική για πολλούς μήνες, ενώ οι σταφυλόκοκκοι καταστρέφονται σε χρόνο που κυμαίνεται από μία εβδομάδα έως 2 μήνες ανάλογα με τον αρχικό τους πληθυσμό και το είδος του τυριού (Tanini et al, 1973, Jay, 2005).

#### 4.5. Μικροβιολογικά κριτήρια για το γάλα και τα τυριά τυρογάλακτος

Σύμφωνα με τις οδηγίες 92/46 της ΕΟΚ και 94/71 της ΕΚ για το νωπό γάλα ισχύουν τα ακόλουθα κριτήρια :

##### A. Νωπό γάλα αγελάδας.

Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX) στους 30° C: < 100.000 cfu/ml

*S.aureus*: n=5, c=2, m=500 cfu/ml, M=2000cfu/ml (γάλα για την παραγωγή νωπών γαλακτοκομικών προϊόντων).

##### B. Νωπό γάλα άλλων ειδών (γίδινο , πρόβειο).

Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX) στους 30° C:<500.000 cfu/ml (για την παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων από νωπό γάλα) και

Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX) στους 30° C:<1.500.000 cfu/ml (για την παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων από θερμαινόμενο γάλα).

##### Γ. Τυριά τυρογάλακτος

Για τα τυριά τυρογάλακτος σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθμ. 2073/2005 της Επιτροπής των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων ισχύει το ακόλουθο κριτήριο:

Μη ωριμασμένα μαλακά τυριά (νωπά τυριά) από γάλα ή ορό γάλακτος που έχει υποστεί παστερίωση.	Σταφυλόκοκκοι  θετικοί στην πηκτάση *	n=5	c=2	m=10cfu/g	m=100cfu/g
--	--	-----	-----	-----------	------------

\* Το κριτήριο πραγματοποιείται στο τέλος της διαδικασίας παρασκευής . Μέτρα που μπορούν να ληφθούν είναι βελτιώσεις στην υγιεινή της παραγωγής. Εάν βρεθούν τιμές  $> 10^5$  cfu/g, η παρτίδα τυριού πρέπει να ελεγχθεί για σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες.

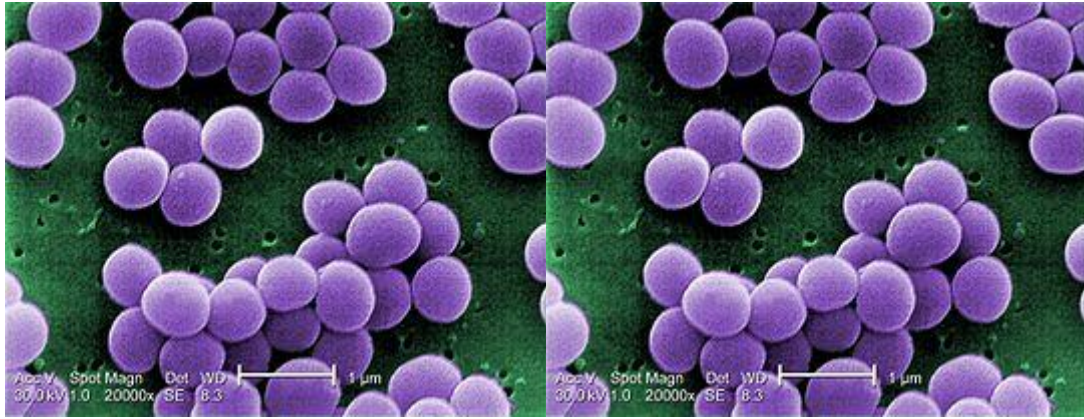
## 4.6. Οι σταφυλόκοκκοι

Οι σταφυλόκοκκοι περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τον σκωτσέζο χειρουργό Alexander Ogston ως η αιτία για πληθώρα πυογενών λοιμώξεων στον άνθρωπο. Το 1982 έδωσε το όνομα σταφυλόκοκκοι μετά από τη χαρακτηριστική εμφάνιση τους στο μικροσκόπιο (είχαν μορφή από τσαμπί σταφυλιού).

Η πρώτη περιγραφή τροφικών δηλητηριάσεων που προκλήθηκαν από σταφυλόκοκκους έγινε από τους Vaughan και Sternberg. Αυτοί διερεύνησαν μια μεγάλη επιδημία στο Michigan, που πιστεύεται ότι προκλήθηκε από τυρί που είχε μολυνθεί από σταφυλόκοκκους. Το 1914 ο Barber απέδειξε ότι οι σταφυλόκοκκοι είναι ικανοί να προκαλέσουν δηλητηρίαση μετά από κατανάλωση αγελαδινού γάλακτος, που προερχόταν από ζώο με μαστίτιδα. Το 1930, ο Dack, έδειξε ότι η τροφική δηλητηρίαση από σταφυλόκοκκο δημιουργείται από μια διυλίσιμη εντεροτοξίνη (Adams and Moss, 2008). Σήμερα το γένος *Staphylococcus* περιλαμβάνει 23 είδη. Από αυτά, το είδος *S.aureus* είναι το σημαντικότερο στη Μικροβιολογία και την Υγιεινή Τροφίμων.

### 4.6.1. Χαρακτηριστικά του *S.aureus*

Ο *S.aureus* είναι ένας θετικός κατά Gram κόκκος με σχήμα σφαιρικό μέχρι ωοειδές και διάμετρο περίπου 1  $\mu\text{m}$ . Εμφανίζεται μόνος, σε ζεύγη, σε κοντές αλυσίδες και πιο συχνά σε ακανόνιστα αθροίσματα που μοιάζουν με τσαμπί από σταφύλι (Adams and Moss, 2008). Πολλαπλασιάζεται σε περισσότερα από ένα επίπεδα έτσι ώστε να διαμορφώνουν τις ανώμαλες μάζες τους όπως φαίνεται στην εικόνα 1.



**Εικόνα 1. :** Μικροσκοπική εμφάνιση του *S. aureus*

Όπως όλοι οι σταφυλόκοκκοι έτσι και ο *S. aureus* είναι καταλάση θετικός, αρνητικός στην οξειδάση και προαιρετικά αναερόβιος. Οι αποικίες είναι γυαλιστερές, ημιδιαφανείς και κυκλικές που μπορούν να φτάσουν σε διάμετρο 4-6 mm σε μη εκλεκτικά υποστρώματα. Το χρώμα των αποικιών επηρεάζεται από της συνθήκες ανάπτυξης και ποικίλει από γκρί ή γκρί-άσπρο με μια κιτρινωπή απόχρωση, μέχρι κίτρινο-πορτοκαλί και σε πορτοκαλί (Roginski et al., 2002).

Ο *S.aureus* , όπως και όλοι οι σταφυλόκοκκοι, διαχωρίζεται από τα βακτήρια του γ. *Micrococcus* με την ικανότητά του να ζυμώνει τη γλυκόζη. Εν τούτοις υπάρχουν είδη και στα δύο γένη, όπου αυτή η διάκριση δεν είναι ευδιάκριτη λόγω της χαμηλής παραγωγής οξέος από μερικούς σταφυλόκοκκους και παραγωγής μικρών ποσοτήτων οξέος υπό αναερόβιες συνθήκες από μερικούς μικρόκοκκους. Η παραγωγή εντεροτοξινών επηρεάζεται αρνητικά από αναερόβιες συνθήκες (Kloos et al., 1992).

Ο *S.aureus* είναι ένα τυπικό μεσόφιλο βακτήριο με μεγάλο εύρος θερμοκρασιών ανάπτυξης που κυμαίνεται από τους 7-48°C με άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 37°C. Το εύρος θερμοκρασιών στις οποίες παράγεται η εντεροτοξίνη είναι στενότερο και έχει μία βέλτιστη θερμοκρασία 35-40°C (Πίνακας 5).

**Πίνακας 5. :** Παράγοντες που επιτρέπουν την ανάπτυξη και την παραγωγή εντεροτοξίνης από *S.aureus*.

Factor	Growth		Enterotoxin Production	
	Optimum	Range	Optimum	Range
Temperature, °C	35-37	7-48	35-40	10-45
pH	6,0-7,0	4,0-9,8	Ent.A. 5,3-6,8 others 6-7	4,8-9,0
NaCl	0,5-4,0%	0-20%	0,5%	0-20%
Water activity	0,98->0,99	0,83->0,99	>0,99	0,86->0,99
Atmosphere	Aerobic	Aerobic Anaerobic	5-20% DO <sub>2</sub>	Aerobic Anaerobic
Eh	> + 200mV	<-200 to >+200mV	>+200mV	?

Το βακτήριο έχει χρόνο υποδεκαπλασιασμού  $D_{62}=20-65$  sec και  $D_{72}=4.1$  sec όταν αναπτύσσεται στο γάλα και κατά τη λογαριθμική φάση. Η θερμοαντοχή του *S.aureus* στη φάση του μέγιστου σταθερού αριθμού (στάσιμη φάση) είναι τριπλάσια της αντίστοιχης στη λογαριθμική φάση (Adams and Moss, 2008).

Το βακτήριο αναπτύσσεται άριστα σε τιμές pH 6-7, με ελάχιστο και μέγιστο όριο 4,0 και 9,8-10,0 αντίστοιχα. Το εύρος των τιμών pH ανάπτυξης και τοξινογένεσης διαφέρουν με το τρόφιμο (Δεληγκάρης, 1992).

Ένα χαρακτηριστικό του *S.aureus* που είναι ιδιαίτερα σημαντικό είναι η ανοχή του στο αλάτι και στις χαμηλές τιμές ενεργότητας του νερού  $a_w$ . Αναπτύσσεται εύκολα σε υποστρώματα με μέση περιεκτικότητα 5-7% NaCl και μερικές φορές είναι ικανός να αναπτυχθεί και σε συγκεντρώσεις μέχρι και 20% NaCl. (Sutherland et al., 1994). Πολλαπλασιάζετε ελάχιστα σε υλικά με  $a_w=0,83$  και τότε ο χρόνος γενεάς είναι 300min. Το βακτήριο παράγει την εντεροτοξίνη σε υποστρώματα με ελάχιστη τιμή ενεργότητας  $a_w=0,86$  (Adams and Moss, 2008, Steen and Notermans, 1988).

Το γένος *Staphylococcus* περιλαμβάνει πολλά είδη και τα πιο σημαντικά από πλευράς τροφίμων αναφέρονται στον Πίνακα 6. (Roginski et al., 2002)

Από τα δεκαοκτώ (18) είδη και υποείδη που απεικονίζονται στον Πίνακα, μόνο 6 είναι θετικά στο τεστ της πηκτάσης και γενικά παράγουν Θερμονουκλεάση. Από τα είδη που είναι αρνητικά στο τεστ της πηκτάσης, τα δέκα (10) έχουν δείξει ότι παράγουν εντεροτοξίνες και δεν παράγουν θερμονουκλεάση ή παράγουν μια μορφή αυτής που είναι θερμοευαίσθητη.

**Πίνακας 6. :** Τα σημαντικότερα είδη του γ. *Staphylococcus*.

<i>Organisms</i>	Coagulase	Nuclease	Enterotoxin	Hemolysis	Mannitol	G+C DNA	of
<i>S.aureus subsp</i>							
<i>anaerobius</i>	+	TS	-	+	-	31,7	
<i>Aureus</i>	+	TS	+	+	+	32-36	
<i>S. intermedius</i>	+	TS	+	+	(+)	32-36	
<i>S. hyicus</i>	(+)	TS	+	-	-	33-34	
<i>S. delphini</i>	+	-		+	+	39	
<i>S.schleiferi subsp</i>							
<i>coagulans</i>	+	TS	+	+	(+)	35-37	
<i>schleiferi</i>		TS	+	+	-	37	
<i>S. caprae</i>	-	TL	+	(+)	-	36,1	
<i>S. cromogens</i>	-	-w	+	-	v	33-34	
<i>S. cohnii</i>	-	-	+	-	v	36-38	
<i>S. epidermidis</i>	-	-	+	v	-	30-37	
<i>S. haemolyticus</i>	-	TL	+	+	v	34-36	
<i>S. lentus</i>	-		+	-	+	30-36	
<i>S. saprophytikus</i>							
<i>S. sciuri</i>	-		+	-	+	30-36	
<i>S. simularis</i>	-	V		v	+	34-38	
<i>S. warneri</i>	-	TL	+	-w	+	34-35	
<i>S. xylosus</i>	-	-	+	+	v	30-36	

Note + = positive ; - = negative ; -w = negative to weekly positive ; (+) = weak reaction ; v = variable ; TS = thermostable ; TL= thermolabile.

#### 4.6.2. Βιότοποι του *S. aureus*

Οι κύριοι βιότοποι του βακτηρίου είναι ο μαστός της αγελάδας που πάσχει από σταφυλοκοκκική μαστίτιδα, οι άνθρωποι που είναι φορείς του βακτηρίου και το περιβάλλον.

##### Μολυσμένος μαστός.

Ο *S.aureus* βρίσκεται στο δέρμα, τις θηλές και τις μεμβράνες των θηλαστικών. Ο μολυσμένος μαστός των αγελάδων και των άλλων ζώων που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή γάλακτος είναι πολύ σημαντικές πηγές μόλυνσης. Από εδώ το βακτήριο μεταδίδεται στα χέρια του προσωπικού, στα ρούχα και τα σκεύη κατά τη διάρκεια του αρμέγματος ( Roginnski et al., 2002).

Όταν ο μαστός μολυνθεί, ο *S.aureus* καταμετρείται στο γάλα σε αριθμούς που κυμαίνονται από  $10^2$  έως  $10^8$  cfu / ml, αλλά ένα επίπεδο της τάξης των  $10^4$  cfu / ml είναι ποιο συνηθισμένο.

Η εμφάνιση του *S.aureus* στα ζώα είναι γενικά χαμηλότερη από αυτή στο ανθρώπινο είδος και κυμαίνεται μεταξύ 5 – 30% . Στα ζώα, μεταξύ των στελεχών του *S.aureus* που απομονώνονται, επικρατούν κυρίως εκείνα που παράγουν την εντεροτοξίνη τύπου C (Roginski et al., 2002).

##### Ανθρώπινες πηγές

Ο *S.aureus* βρίσκεται συχνά στο δέρμα, στη μύτη, στο φάρυγγα, στις μασχάλες, στον αφαλό, στο περίνεο, στο γαστρεντερικό σωλήνα, και στο ουρογεννητικό σύστημα του ανθρώπου. (Niven et al., 2009, Vickery et al., 1993, Herwaldt, 1998). Κυρίως απομονώνεται από τις ακαθαρσίες των νυχιών, το δέρμα και τους θύλακες των τριχών. Ο βλεννογόνος της μύτης αποτελεί την κύρια πηγή μόλυνσης. Σε διάφορες έρευνες, η συχνότητα εμφάνισης στον άνθρωπο κυμαίνεται από 4-60%. Η παραγωγή της εντεροτοξίνης A (SEA) είναι η πιο συχνή. Τα βακτήρια βρίσκονται στα τρόφιμα από τα χέρια (μολυσμένες πληγές, τραύματα δερμάτων) ή με βήξιμο και το φτάρνισμα. (Παπαντωνίου, 2011).

Γενικά ο άνθρωπος αποτελεί τη συχνότερη πηγή μόλυνσης των τροφίμων με *S. aureus* επειδή οι πληγές στο δέρμα είναι πολύ κοινές και συχνά δεν εφαρμόζονται μέτρα υγιεινής από τους χειριστές τροφίμων (Roginski et al., 2002).



## Περιβαλλοντικές πηγές

Προερχόμενος από τους ανθρώπους και τα ζώα ο *S.aureus* είναι διαδεδομένος στη φύση. Το βακτήριο έχει απομονωθεί σποραδικά από το χώμα, την άμμο, το θαλάσσιο και φρέσκο νερό, τα λύματα, τις επιφάνειες των φυτών και προϊόντα αυτών, τη σκόνη και τον αέρα των κατοικημένων περιοχών. (Roginski et al., 2002).

### **4.6.3. Παραγωγή τοξινών από *S. aureus***

Όλα τα στελέχη του *S. aureus* είναι δυνητικά παθογόνα. (Arvidson and Tegmark, 2001). Προκαλούν λοιμώξεις που ονομάζονται σταφυλοκοκκιάσεις όπως π.χ. δοθιήνωση, αποστήματα, διαπυήσεις τραυμάτων, μηνιγγίτιδα, πυαιμία, σηψαιμία και τροφοτοξινώσεις.

Τα στελέχη του σταφυλόκοκκου που προκαλούν τροφοτοξινώσεις παράγουν τοξίνες που επιδρούν στο έντερο, τις εντεροτοξίνες. Αυτές διακρίνονται ορολογικά σε 5 τύπους και χαρακτηρίζονται Staphylococcus Enterotoxin A (SEA), B (SEB), C1 (SEC1), C2 (SEC2), C3 (SEC3), D (SED), και E (SEE). (1, 3, 5, 10, 13, 19). (Luo et al., 2006, Rong-Hwa et al., 2010, Sospedra et al., 2012, Tong-Rong et al., 2001, Cremonesi et al., 2005, Stvachan et al., 1997). Πρόσφατα απομονώθηκαν και χαρακτηρίστηκαν οι εντεροτοξίνες G, H και I για τις οποίες έχουν περιγραφεί τα υπεύθυνα γονίδια. (Akineden et al., 2008).

Μερικά στελέχη παράγουν την τοξίνη 1 (παλαιότερα εντεροτοξίνη F), μία εξωτοξίνη που προκαλεί το σύνδρομο τοξικού σοκ ( TSS = toxic shok syndrome). Το σύνδρομο τοξικού σοκ εμφανίζεται με υψηλό πυρετό, εμετούς, διάρροιες και ξεφλούδισμα του δέρματος των χεριών και των ποδιών. Σε ποιο σοβαρές περιπτώσεις συνοδεύεται από υποτασικό shock με νεφρική και καρδιακή ανεπάρκεια.

Οι σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες είναι πρωτεΐνες χαμηλού μοριακού βάρους (26000-29000 Da), θερμοάντοχες και έχουν αντιγονικές ιδιότητες. Οι περισσότερες δηλητηριάσεις προκαλούνται από τις εντεροτοξίνες A και D.

Στο Ηνωμένο Βασίλειο, ο τύπος A είναι υπεύθυνος για το 52% των δηλητηριάσεων, ο τύπος D για το 6%, συνδυασμός A και D για το 19% και οι τύποι C και D σε συνδυασμό για το 9%. Η ευαισθησία ποικίλει μεταξύ των ατόμων αλλά έχει υπολογιστεί ότι στις τροφικές δηλητηριάσεις λιγότερο από 1 μg της καθαρής

τοξίνης απαιτείται για να εμφανιστούν τα συγκεκριμένα συμπτώματα. (Evenson et al., 1988, Notermans et al., 1991, Adams and Moss, 2008)

Ακόμα τα στελέχη του *S. aureus* παράγουν τις παρακάτω τοξίνες :

- α) τις  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  και  $\delta$  αιμολυσίνες, που έχουν αιμολυτικές ιδιότητες.
- β) τη λευκοτονίνη, που καταστρέφει τα λευκά αιμοσφαίρια και προκαλεί πύον.
- γ) ορισμένες ουσίες γνωστές σαν σταφυλοκοκκίνες και μικροκοκκίνες, με βακτηριοστατική ή βακτηριοκτόνο δράση σε άλλους σταφυλόκοκκους και σε ορισμένα άλλα βακτηριακά είδη.
- δ) β-λακταμάσες (πενικιλινάσες), ένζυμα που διασπούν τις πενικιλίνες.

#### 4.6.4. Θερμοαντοχή του *S. aureus*

Η γνώση της θερμοαντοχής του *S. aureus* είναι αποφασιστικής σημασίας στον καθορισμό του ζεύγους "χρόνος – θερμοκρασία" της θερμικής επεξεργασίας στην οποία οι βιομηχανίες παραγωγής τυριών υποβάλλουν το γάλα που προορίζεται για τυροκόμηση.

Παρασκευαστές διαφόρων ποικιλιών τυριού προτιμούν να χρησιμοποιούν το ακατέργαστο γάλα ή γάλα που υποβάλλεται σε χαμηλή θερμική επεξεργασία προφυλάσσοντας έτσι τα φυσικά ένζυμα που βοηθούν σημαντικά στην ωρίμανση των τυριών.

Οι Bhatt και Bennet, το 1964 θέρμαναν μίγματα από 171 στελέχη του *S. aureus* στο πλήρες γάλα και διεπίστωσαν " ποσοστά επιβίωσης " από 1,5% μετά 30 min στους 61,7°C και 0,38% μετά από 15sec στους 71,7°C. Κανένας επιζών *S. aureus* δεν ανιχνεύθηκε μετά από 45min στους 61,7°C ή 35sec στους 71,7°C. Οι ερευνητές αναφέρουν τις τιμές  $D_{61,7}=14,5$  min και  $D_{71,1}=0,128$  min.

Οι Zottola και Jezeski, το 1961 ανέφεραν πλήρη καταστροφή πλήρη καταστροφή των σταφυλόκοκκων στους 61,7°C για 21min ή στους 65,6°C για 16sec (Walker and Harmon, 1966) .

#### 4.6.5. Η παρουσία του *S.aureus* στα τρόφιμα

Η παρουσία μικρών αριθμών *S.aureus* στα τρόφιμα είναι συνηθισμένη. Εμφανίζεται στα πουλερικά και στο νωπό κρέας ως μέρος της μικροχλωρίδας του δέρματός τους.

Οι χειριστές των τροφίμων είναι ένας σημαντικός παράγοντας μετάδοσης των σταφυλόκοκκων στα τρόφιμα. Οι σταφυλόκοκκοι βρίσκονται στο δέρμα, στη ρινική και στοματική κοιλότητα και τους θύλακες των τριχών. Έτσι μπορούν να μεταδοθούν με το βήξιμο ή το φτάρνισμα ή με τα μολυσμένα χέρια (Adams and Moss, 2008).

Στον πίνακα 7 αναφέρονται διάφορα τρόφιμα, από τα οποία απομονώνεται ο *S. aureus*.

**Πίνακας 7. :** Απομόνωση του *S. aureus* από διάφορα τρόφιμα

Τρόφιμο	Αριθμός δειγμάτων που αναλύθηκαν	Θετικά για <i>S. aureus</i> %	cfu/g
Κιμάς βοδινού	1090	9	>100
Κρέας κυνηγιού	112	46	≥10
Λουκάνικο χοιρινό	67	25	100
Κιμάς γαλοπούλας	75	80	>3
Στρείδια	59	10	>4
Γαρίδες	1468	27	≥3
Αστακός	1315	24	≥4
Πίτες με κρέμα	465	1	>25
Βιομηχανικά συσκευασμένες σαλάτες	517	12	≥3

(Ray, 1996)

Μελέτες στις Ηνωμένες Πολιτείες και το Ηνωμένο Βασίλειο έχουν δείξει ότι τα προϊόντα πουλερικών και τα κρύα μαγειρεμένα κρέατα είναι τα τρόφιμα που συνήθως είναι υπεύθυνα για σταφυλοκοκκική τροφοτοξίνωση. Τα αλατισμένα προϊόντα

κρέατος όπως το ζαμπόν και το παστό βοδινό είναι ιδιαίτερα ευπαθή αφού ο *S. aureus* δεν αναστέλλεται από τα επίπεδα άλατος που εμποδίζουν ένα μεγάλο ποσοστό της ανταγωνιστικής χλωρίδας. Σταφυλοκοκκικές δηλητηριάσεις έχουν προκληθεί από σκληρά τυριά, κρύα γλυκά, γαλατόπιτες και προϊόντα γεμίσματος αρτοποιίας. Στην Ιαπωνία βρέθηκαν μολυσμένες με *S. aureus* μπάλες ρυζιού που μορφοποιήθηκαν με το χέρι, ενώ στην Ουγγαρία πολλά δείγματα χύμα παγωτού ήταν μολυσμένα με *S. aureus* (Adams and Moss, 2008).

#### 4.6.6. Ο *S. aureus* στα γαλακτοκομικά προϊόντα

Η κύρια πηγή μόλυνσης του νωπού γάλακτος είναι ο μολυσμένος μαστός. Για αυτόν τον λόγο, ο *S. aureus* είναι λογικό να βρίσκεται στο νωπό γάλα. Στην Ευρώπη, σύμφωνα με την οδηγία 92/46/EEC το κριτήριο για τον *S. aureus* που περιέχεται στο ακατέργαστο γάλα αγελάδων προοριζόμενο για την κατανάλωση χωρίς θέρμανση ήταν  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=100 \text{ ml}^{-1}$ ,  $M=500 \text{ ml}^{-1}$ , ενώ για την παραγωγή τυριών  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=500 \text{ ml}^{-1}$ ,  $M=2000 \text{ ml}^{-1}$ . Σήμερα, σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθμ. 2073/2005, για τους σταφυλόκοκκους θετικούς στην πηκτάση, στα μη ωριμασμένα μαλακά τυριά (νωπά τυριά) ισχύει το κριτήριο:  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=10 \text{ cfu/gr}$ , στο τέλος της διαδικασίας παρασκευής : εάν βρεθούν τιμές  $>10^5 \text{ cfu/g}$  η παρτίδα τυριού πρέπει να ελεγχθεί για σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες. Στα κριτήρια που αναφέρονται ανωτέρω,  $n$ =αριθμός δειγμάτων που αναλύονται,  $c$ = μέγιστος επιτρεπόμενος αριθμός ελαττωματικών μονάδων δειγμάτων,  $m$ = η αξία του χαρακτηριστικού που χωρίζει την καλή ποιότητα από την οριακά αποδεκτή ποιότητα,  $M$ = η αξία του χαρακτηριστικού που χωρίζει την οριακά αποδεκτή ποιότητα από την κακή ποιότητα ( $m < M$ ) (Roginski et al., 2002).

Γάλα νωπό και παστεριωμένο. Στο νωπό γάλα, οι σταφυλόκοκκοι καταστρέφονται κατά την παστερίωση. Εντούτοις, εάν συμβεί επαναμόλυνση ή μόλυνση από τις ουσίες που προστίθενται μετά από την παστερίωση, το παστεριωμένο γάλα είναι ένα άριστο μέσο για τον πολλαπλασιασμό των σταφυλόκοκκων και την παραγωγή εντεροτοξινών. (Yong et al., 2007), (Cremonesi et al., 2005). Έχουν καταγραφεί τροφοδηλητηριάσεις προκαλούμενες από γαλακτοκομικά προϊόντα όπως το γάλα σε σκόνη και το σοκολατούχο γάλα. Η ανάπτυξη του βακτηρίου και η παραγωγή εντεροτοξινών γίνεται στο νωπό γάλα, η

εντεροτοξίνη δεν καταστρέφεται σε διαδοχικές παστεριώσεις ενώ το βακτήριο καταστρέφεται.

Γενικά, το γάλα προς πόση είναι λιγότερο υπεύθυνο για την εμφάνιση τροφικής δηλητηρίασης από ότι το γάλα σε σκόνη ή το τυρί (Roginski et al., 2002).

Σκόνη γάλακτος. Η τεχνολογία παραγωγής της σκόνης γάλακτος περιλαμβάνει ειδική θερμική μεταχείριση, πρώτα συμπύκνωση και στη συνέχεια αποξήρανση. Εάν το γάλα είναι μολυσμένο με *S. aureus* είναι δυνατόν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παραγωγής να συμβεί αύξηση του αριθμού των σταφυλόκοκκων και τοξινογένεση. Κατά την αποθήκευση της σκόνης γάλακτος οι σταφυλόκοκκοι επιζούν ή ο αριθμός τους μειώνεται με αργό ρυθμό. Η τροφική δηλητηρίαση μπορεί να συμβεί μετά την ανασύσταση του γάλακτος και την παραμονή αυτού σε συνθήκες που επιτρέπουν τον πολλαπλασιασμό του *S. aureus* και φυσικά την τοξινογένεση (Roginski et al., 2002).

Ζυμούμενα γαλακτοκομικά προϊόντα. Τα ζυμούμενα γαλακτοκομικά προϊόντα θεωρούνται ασφαλή επειδή το ακατέργαστο γάλα θερμαίνεται σε υψηλές θερμοκρασίες. Εάν η επαναμόλυνση συμβαίνει κατά τη διάρκεια της παραγωγής, τα βακτήρια αδρανοποιούνται γρήγορα από τον ανταγωνισμό των χρησιμοποιούμενων καλλιεργειών εκκίνησης. Τα γαλακτικά βακτήρια (LAB) που αναπτύσσονται ενεργά εμποδίζουν την ανάπτυξη των σταφυλόκοκκων και μειώνουν δραστικά τους αριθμούς αυτών (Johnson et al., 1990a, Roginski et al., 2002).

Στην Ευρώπη, μέχρι το 2004, σύμφωνα με την οδηγία 92/46/EEC το κριτήριο για τον *S. aureus* σε τυριά από ακατέργαστο ή θερμασμένο γάλα ήταν  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=1000 \text{ g}^{-1}$ ,  $M=10000 \text{ g}^{-1}$ , άσχετα από την προέλευση του γάλακτος (αγελάδα, πρόβατο, κατσίκια). Σήμερα, σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθμ. 2073/2005, για τους σταφυλόκοκκους θετικούς στην πηκτάση, στα μη ωριμασμένα τυριά (νωπά τυριά) ισχύει το κριτήριο:  $n=10 \text{ cfu/g}$ ,  $M=100 \text{ cfu/g}$ , ενώ το στάδιο της εφαρμογής του κριτηρίου είναι στο τέλος της διαδικασίας παρασκευής. Εάν βρεθούν τιμές  $> 10^5 \text{ cfu/g}$  η παρτίδα τυριού πρέπει να ελεγχθεί για σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες.

#### 4.6.7. Η ασθένεια

Αν το τρόφιμο είναι μολυσμένο με εντεροτοξινογόνο στέλεχος του *S. aureus* και διατηρείται σε θερμοκρασίες ανάπτυξης του βακτηρίου (30-37°C), τότε η τοξίνη ανιχνεύεται σε 4-8 ώρες και ο πληθυσμός του *S. aureus* ανέρχεται σε  $10^6$ - $10^7$  cfu/g ή ml του τροφίμου. Κατανάλωση 30g του τροφίμου αυτού είναι αρκετά για την πρόκληση τροφοδηλητηρίασης σε ένα υγιές άτομο. Παιδιά, ηλικιωμένοι και άρρωστα άτομα νοσούν με μικρότερη ποσότητα τροφίμου. Η πιθανότητα να πάθει κάποιος τροφική δηλητηρίαση από σταφυλόκοκκο σχετίζεται με την ποσότητα της τοξίνης που καταναλώθηκε, την τοξικότητά της, την ευπάθεια και τη συνολική υγεία του ατόμου. Τα συμπτώματα εμφανίζονται συνήθως σε 2-4 ώρες, αν και έχουν καταγραφεί περιστατικά, στα οποία η ασθένεια (κυρίως εμετός) εμφανίστηκε σε 30 λεπτά. Τα κύρια συμπτώματα είναι εμετός, ναυτία, κοιλιακοί σπασμοί και διάρροια. Σπανιότερα μπορεί να εμφανισθούν ιδρώτας, ρίγος, πονοκέφαλος και αφυδάτωση. Σε 2.992 ασθενείς με διάγνωση τροφικής δηλητηρίασης από σταφυλόκοκκο, το 82% είχε εμετό, το 74% ένιωσε ναυτία, το 68% παρουσίασε διάρροια και το 64% εμφάνισε πόνους στην κοιλιά. Τόσο τα συμπτώματα όσο και η ένταση τους ποικίλουν μεταξύ των ατόμων. Η ασθένεια διαρκεί 1-2 ημέρες και πολύ σπάνια είναι θανατηφόρα (0,03% για τα υγιή άτομα, 4,4% για ευπαθείς πληθυσμούς) (Παπαντωνίου, 2011).

Η σταφυλοκοκκική τροφοτοξίνωση είναι η πιο συχνή τροφοτοξίνωση. Δεν γνωρίζουμε τον ακριβή αριθμό των κρουσμάτων, γιατί συνήθως δεν αναφέρονται στις αρμόδιες αρχές, αν δεν έχουν προσβληθεί πολλά άτομα. Χωρίς αμφιβολία όμως οι σταφυλοκοκκικές τροφοτοξινώσεις αποτελούν μεγάλο ποσοστό από όλες τις τοξιλομιώσεις (Δεληγκάρης, 1992).

Μολονότι το γάλα και τα προϊόντα του είναι συχνά μολυσμένα με *S. aureus*, τα γαλακτοκομικά προϊόντα σπάνια προκαλούν σταφυλοκοκκική τροφοδηλητηρίαση, επειδή συνήθως δεν επιτυγχάνεται η κρίσιμη πυκνότητα κυττάρων που είναι  $>10^5$  cfu/g. Εντούτοις, η σταφυλοκοκκική εντεροτοξίνη έχει συσχετιστεί με τροφική δηλητηρίαση από γαλακτοκομικά προϊόντα όπως το ακατέργαστο γάλα, το τυρί ή το γάλα σκόνη (Le Loir et al., 2003).

#### 4.6.8. Μέτρα πρόληψης

Σύμφωνα με έρευνες που έγιναν, διαπιστώθηκε ότι κύριοι παράγοντες που ευνοούν την εμφάνιση μιας σταφυλοκοκκικής τροφοτοξίνωσης είναι:

1. ακατάλληλη θερμοκρασία τροφίμου (52%)
2. άτομα που χειρίζονται τα τρόφιμα και είναι υγιείς-φορείς του *S. aureus*, όπως μάγειροι, ζαχαροπλάστες, πωλητές κ.α. (24%) και
3. ακάθαρτα σκεύη και εξοπλισμός (17%)

Οι περισσότερες τροφοδηλητηριάσεις έγιναν σε :

1. χώρους μαζικής εστίασης (25%)
2. σπίτια (15%)
3. πικνίκ (8,5%).

Το 64% των περιστατικών σημειώθηκαν μεταξύ Μαΐου και Οκτωβρίου, με μήνα αιχμής τον Αύγουστο. (Ray, 1996).

Με βάση τα παραπάνω, τα μέτρα που λαμβάνονται για τον περιορισμό των σταφυλοκοκκικών τροφοτοξινώσεων είναι:

1. Χρησιμοποιείται πρώτη ύλη και άλλα συστατικά καλής ποιότητας.
2. Εφαρμόζονται αυστηρά μέτρα καθαριότητας και υγιεινής των επιφανειών, των σκευών και του κουζινικού εξοπλισμού.
3. Επιβάλλεται αυστηρή ατομική υγιεινή του προσωπικού που χειρίζεται τα τρόφιμα. Άτομα όπως μάγειροι, ζαχαροπλάστες κ.ά., με ασθένειες του αναπνευστικού συστήματος, πληγές στα χέρια, εξανθήματα ακμής, κ.ά. πρέπει να απομακρύνονται.
4. Υποβάλλονται τα τρόφιμα σε θέρμανση για να καταστραφούν τα κύτταρα του *Staphylococcus aureus*.
5. Μετά το μαγείρεμα, αποφεύγονται περιττοί χειρισμοί του τροφίμου για να περιορισθεί η επαναμόλυνση.
6. Τοποθετείται το τρόφιμο σε θερμοκρασία <math><5^{\circ}\text{C}</math>.
7. Πριν το σερβίρισμα, αποφεύγεται η έκθεση του τροφίμου σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για μεγάλο χρονικό διάστημα.

## 5. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 5.1. Δειγματοληψία – Παρασκευή αραιώσεων

Επειδή το δείγμα πρέπει να απεικονίζει τη μικροβιολογική σύσταση του τροφίμου, πάρθηκαν όλα τα κατάλληλα μέτρα ασηψίας, ώστε κατά τη συλλογή του, τη μεταφορά και την ανάλυσή του να αποκλείεται μικροβιολογική μόλυνση από εξωτερικές πηγές. Για τη μελέτη της σημασίας των σταφυλόκοκκων και ιδιαίτερα του *S.aureus* αναλύθηκαν συνολικά 25 δείγματα μανουριού. Αυτά προέρχονταν από 5 διαφορετικές βιομηχανίες. Στον παρακάτω πίνακα 8 αναφέρονται η προέλευση και ο αριθμός των δειγμάτων που εξετάστηκαν.

**Πίνακας 8.:** Πίνακας προέλευσης δειγμάτων μανουριού που αναλύθηκαν.

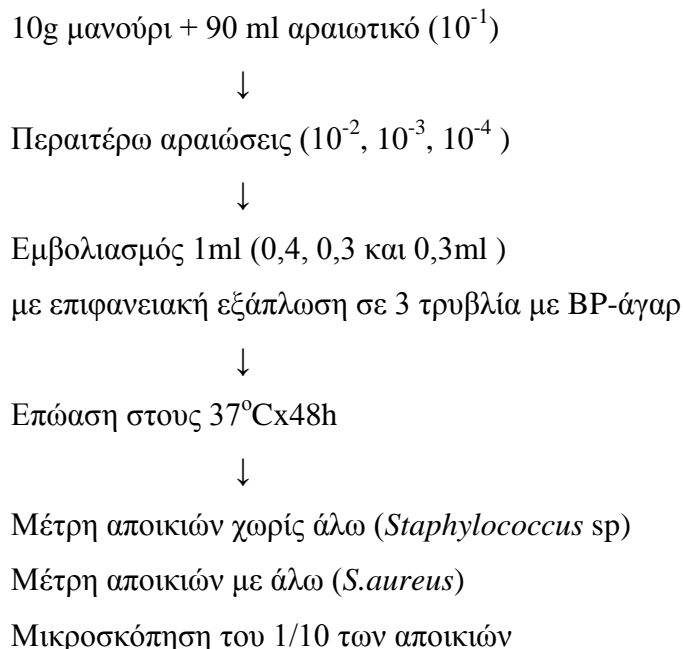
Είδος τυριού	Προέλευση δειγμάτων*	Αριθμός δειγμάτων (n)
Μανούρι	βιομηχανία C (MNC)	5
Μανούρι	βιομηχανία D (MND)	5
Μανούρι	βιομηχανία G (MNG)	5
Μανούρι	βιομηχανία K (MNK)	5
Μανούρι	βιομηχανία T (MNT)	5
Σύνολο δειγμάτων		25

\* Για λόγους εχεμύθειας η ονομασία προέλευσης των δειγμάτων είναι κωδικοποιημένη.

Τα δείγματα αγοράστηκαν από καταστήματα πώλησης στην αγορά της Θεσσαλονίκης. Κάθε μονάδα ανάλυσης ζύγιζε 100 gr. Αυτή μεταφέρθηκε υπό ψύξη γρήγορα στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων και συντηρήθηκε στο ψυγείο του εργαστηρίου σε θερμοκρασία 4°C μέχρι την ανάλυσή της. Κατά την ανάλυση, από τη μονάδα του δείγματος των 100g μεταφέρθηκαν ασηπτικά 10g μανουριού σε ειδική αποστειρωμένη πλαστική σακούλα ομογενοποίησης, στην οποία προστέθηκε 9-πλάσια ποσότητα αραιωτικού. Η



ομογενοποίηση έγινε σε συσκευή Stomacher για 30-60sec. Έτσι παρασκευάστηκε η αραιώση 1/10, που χρησίμευσε για την παρασκευή των περαιτέρω διαδοχικών αραιώσεων ( $10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}$ ). Στο παρακάτω σχήμα 2 φαίνεται συνοπτικά η πειραματική διαδικασία που εφαρμόστηκε.



**Σχήμα 2:** Συνοπτική απεικόνιση της πειραματικής διαδικασίας.

## 5.2. Καταμέτρηση των *Staphylococcus spp* και *S.aureus*

Για την καταμέτρηση του αριθμού των σταφυλόκοκκων και του *S.aureus* στο μανούρι χρησιμοποιήθηκε η πρότυπη μέθοδος αρίθμησης αποικιών σε τρυβλία. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην αρίθμηση των μονάδων των μικροβίων που σχηματίζουν αποικίες (colony forming units : cfu ). Ο ενοφθαλμισμός των τρυβλίων από τις αραιώσεις κάθε δείγματος έγινε με την τεχνική της επιφανειακής εξάπλωσης. Ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε το Baird-Parker άγαρ, που είναι ένα εκλεκτικό και ταυτόχρονα ένα υπόστρωμα διαφοροποίησης. Το BP-άγαρ περιέχει γλυκίνη, χλωριούχο λίθιο και τελουριούχο κάλιο, συστατικά που επιτρέπουν την ανάπτυξη άλλων σταφυλόκοκκων, ενώ αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων βακτηρίων. Ακόμα περιέχει κρόκο αυγού που επιτρέπει τη διαφοροποίηση του *S.aureus* από τους άλλους σταφυλόκοκκους.

Κατά την πειραματική διαδικασία, από κάθε αραιώση μεταφέρθηκε 1ml σε 3 τρυβλία με BP-άγαρ. Στο ένα τρυβλίο απλώθηκε ποσότητα 0,4ml, ενώ στα άλλα δύο

τρυβλία ποσότητες 0,3ml σε έναστο. Το ενοφθάλμισμα απλώθηκε αμέσως και προσεκτικά στην επιφάνεια του τρυβλίου με τη βοήθεια γυάλινης αποστειρωμένης ράβδου σχήματος Γ. Τα τρυβλία παρέμειναν 15-20min σε θερμοκρασία δωματίου με σκοπό να απορροφηθεί τελείως το ενοφθάλμισμα και στη συνέχεια επώσθησαν στους 37°C για 48h.

### 5.3. Χαρακτηριστικά των αποικιών του *S.aureus* στο Baird-Parker άγαρ

Τα χαρακτηριστικά των αποικιών του *S.aureus* στο Baird – Parker άγαρ είναι τα εξής :

Μετά από 24 ώρες οι αποικίες είναι μαύρες, (λόγω της συσσώρευσης του τελλουρίου στο κύτταρο) γυαλιστερές, κυρτές διαμέτρου 1- 1,5mm. Μερικά στελέχη παρουσιάζουν ζώνη διάφανη μόνο μετά 36 ώρες. Η ζώνη αυτή οφείλεται σε πρωτεόλυση. Αδιαφανής ζώνη που εκτείνεται μέσα στη διαφανή ζώνη οφείλεται στη δράση της λιπάσης και σχηματίζεται μετά από 48 ώρες επώσεως (λεκιθινάση+).

*Staphylococci* πηκτάση αρνητικοί ευκαιριακά αναπτύσσονται, αλλά σπάνια σχηματίζουν διαφανή ζώνη, αλλά οι αποικίες είναι πιο ακανόνιστες από του *S.aureus*. Πλατιές αδιαφανείς ζώνες σχηματίζονται εντός της διαφανούς ζώνης μετά 24 ώρες.

Στην παρακάτω εικόνα 2 φαίνονται οι τυπικές αποικίες του *S.aureus* καθώς και μη τυπικές αποικίες άλλων ειδών του γένους *Staphylococcus*.



**Εικόνα 2 :** Τυπικές αποικίες του *S.aureus* και μη τυπικές αποικίες *Staphylococcus spp.* στο Baird- Parker άγαρ.

#### 5.4. Αρίθμηση των αποικιών

Η μέτρηση των αποικιών έγινε με τη βοήθεια της συσκευής καταμέτρησης αποικιών. Για τον υπολογισμό του πληθυσμού των σταφυλόκοκκων επιλέχθηκαν τα τρυβλία εκείνης της αραιώσης που είχαν 25-250 αποικίες. Εάν όλα τα τρυβλία ενός δείγματος είχαν λιγότερες από 25 αποικίες, το αποτέλεσμα εκφράστηκε με βάση τον αριθμό των αποικιών στα τρυβλία της μικρότερης αραιώσης. Εάν κανένα τρυβλίο δεν είχε αποικίες, το αποτέλεσμα εκφράστηκε σαν μικρότερο από το συντελεστή της μικρότερης αραιώσης.

Στον πίνακα 9 αναγράφονται για κάθε πηγή προέλευσης χωριστά οι μέσοι όροι των αριθμών των μη τυπικών αποικιών του *S.aureus* που καταμετρήθηκαν στο μανούρι.

Τρόφιμο	Πηγή προέλευσης	Αριθμός δειγμάτων	Species (cfu/g)	
			Staphyl.spp	S.aureus
Μανούρι	βιομηχανία C	5	2114	10
Μανούρι	βιομηχανία D	5	1014	488
Μανούρι	βιομηχανία G	5	6780	540
Μανούρι	βιομηχανία K	5	1194	36
Μανούρι	βιομηχανία T	5	8196	22

**Πίνακας 9:** Μέσοι όροι πληθυσμού τους *Staphylococcus* spp. και *S.aureus* στο μανούρι.

## 5.5. Στατιστική ανάλυση

Για τη μελέτη της παρουσίας των σταφυλόκοκκων (*Staphylococcus* spp.) και ειδικότερα του *S.aureus* στο μανούρι, αναλύθηκαν 25 δείγματα 5 διαφορετικών βιομηχανιών παρασκευής μανουριού, που πωλούνται στην αγορά της Θεσσαλονίκης. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος MINITAB 14 και εξετάστηκε ο πληθυσμός των *Staphylococcus* spp. και *S.aureus* επηρεάζεται από τη διαφορετική πηγή προέλευσης του μανουριού. Οι συγκρίσεις αυτές έγιναν με την ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA), η οποία χρησιμοποιείται για τη σύγκριση δύο ή περισσότερων μέσων όρων δειγμάτων, τα οποία διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη μεταχείριση ενός ή περισσότερων παραγόντων. Τα αποτελέσματα των στατιστικών αναλύσεων αναφέρονται στα παρακάτω σχήματα.

## 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

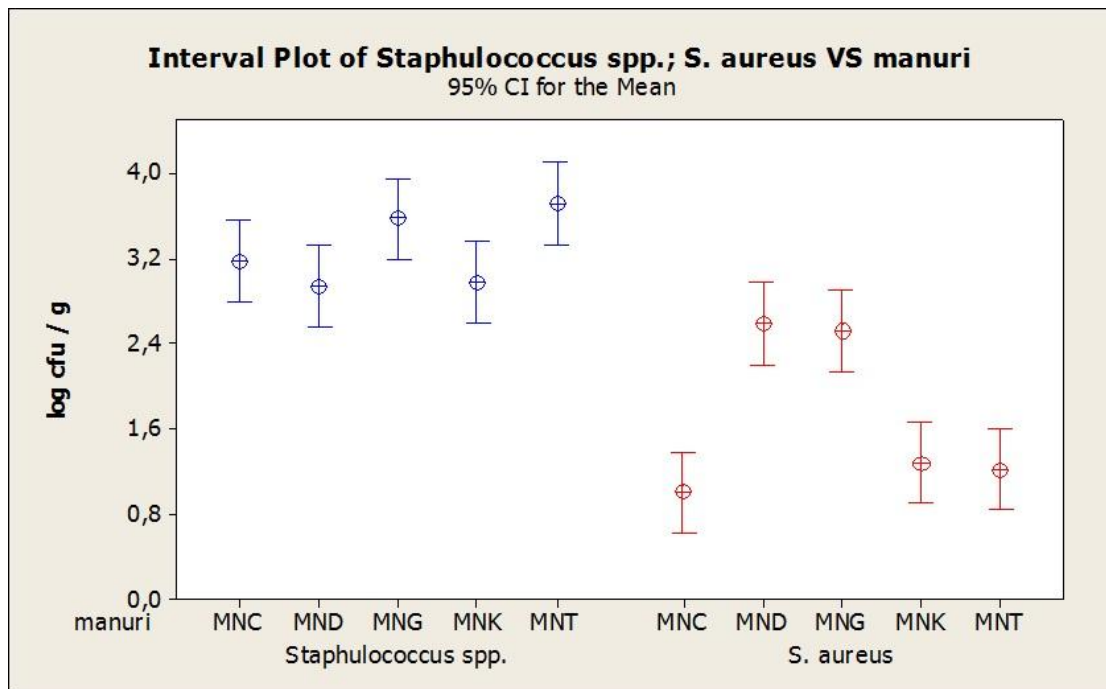
Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η παρουσία των σταφυλόκοκκων σε 25 δείγματα μανουριού με πηγή προέλευσης 5 διαφορετικές βιομηχανίες παρασκευής του προϊόντος αυτού (C, D, G, K και T). Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων των αναλύσεων έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος MINITAB 14 και ο σκοπός της εργασίας ήταν να διαπιστωθεί I) το επίπεδο μόλυνσης του μανουριού με σταφυλόκοκκους και II) αν ο πληθυσμός των *Staphylococcus* spp. και *S. aureus* επηρεάζεται από τη διαφορετική πηγή προέλευσης του μανουριού. Οι συγκρίσεις έγιναν με την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA), η οποία χρησιμοποιείται για τη σύγκριση δύο ή περισσότερων μέσων όρων δειγμάτων, τα οποία διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη μεταχείριση ενός ή περισσότερων παραγόντων.

Στο σχήμα 3 αποτυπώνονται οι μέσοι όροι και τα 95% όρια εμπιστοσύνης του πληθυσμού των *Staphylococcus* spp. και *S. aureus* των δειγμάτων του μανουριού των 5 βιομηχανιών που μελετήθηκαν. Όπως γίνεται εύκολα αντιληπτό και τα 25 δείγματα ήταν μολυσμένα με σταφυλόκοκκους της τάξης 2.0 – 5.0 λογαρίθμων. Από τα 95% όρια εμπιστοσύνης διαπιστώνεται ότι ο πληθυσμός των *Staphylococcus* spp. στο μανούρι δεν επηρεάζεται σημαντικά από τη διαφορετική πηγή προέλευσής του. Εν τούτοις μία πιο προσεκτική εκτίμηση των αποτελεσμάτων των καταμετρήσεων οδηγεί στη διαπίστωση ότι δύο (2) βιομηχανίες παραγωγής μανουριού D και K παρουσιάζουν το χαμηλότερο συνολικό πληθυσμό σταφυλόκοκκων, που κυμαίνεται μεταξύ 2 και 4 λογαρίθμων. Απεναντίας, οι βιομηχανίες G και T παρουσιάζουν τον υψηλότερο συνολικό πληθυσμό σταφυλόκοκκων που κυμαίνεται μεταξύ 3 και 5 λογαρίθμων. Έτσι, οι 5 βιομηχανίες με βάση το συνολικό αριθμό *Staphylococcus* spp. κατατάσσονται ως εξής:

$$\text{βιομηχ. D} \approx \text{βιομηχ. K} < \text{βιομηχ. C} < \text{βιομηχ. G} \approx \text{βιομηχ. T}$$

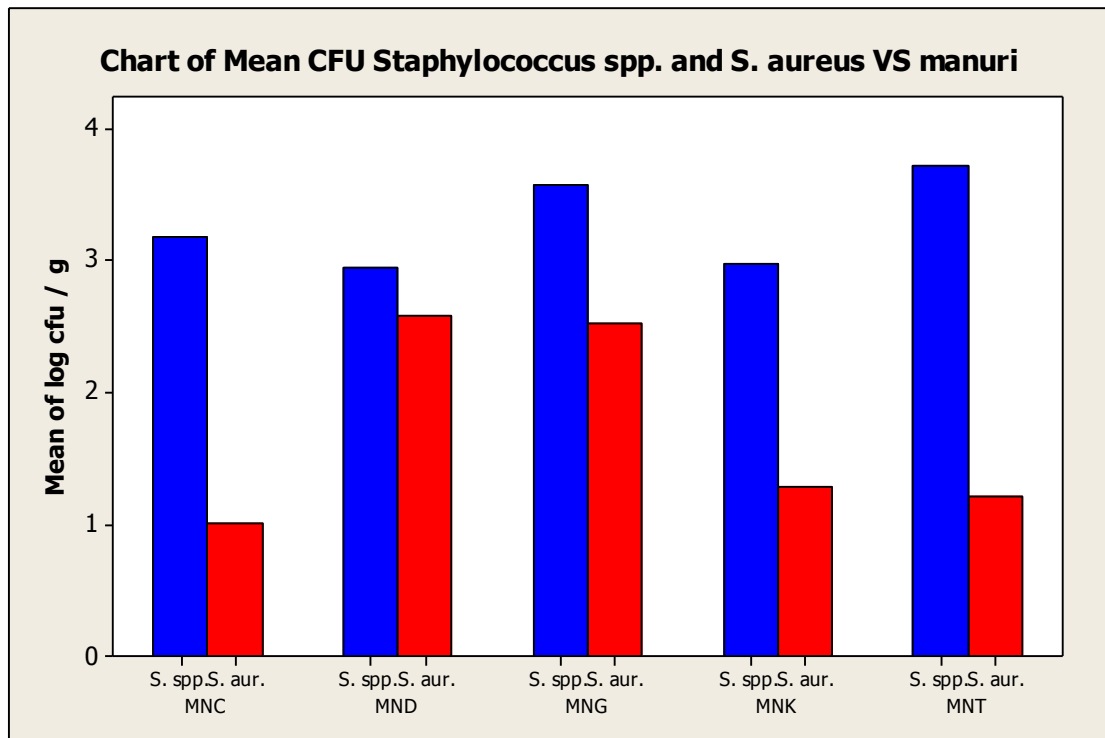
Διαφορετική εικόνα παρουσιάζουν τα αποτελέσματα της καταμέτρησης του *S. aureus* στα δείγματα μανουριού των 5 βιομηχανιών. Από το σχήμα 3 διαπιστώνεται ότι τα δείγματα της βιομηχανίας C είναι ελάχιστα μολυσμένα με *S. aureus* (<10 cfu/g) και ως εκ τούτου, με βάση την παρουσία/απουσία του *S. aureus* παρουσιάζουν άριστη μικροβιακή ποιότητα. Όσον αφορά τα δείγματα των 4 άλλων βιομηχανιών, αυτά

βρέθηκαν να είναι μολυσμένα με *S. aureus*. Από τα 95% όρια εμπιστοσύνης διαπιστώνεται ότι οι βιομηχανίες D και G αφ' ενός και K και T αφ' ετέρου μεταξύ τους δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά, ενώ ανά ζεύγη (D, G VS K, T) παρουσιάζουν μεταξύ τους στατιστικά σημαντική διαφορά. Συγκεκριμένα τα δείγματα των βιομηχανιών D και G έφεραν *S. aureus* της τάξης 2 – 3 λογαρίθμων, ενώ τα δείγματα των βιομηχανιών K και T έφεραν *S. aureus* της τάξης 1 – 2 λογαρίθμων, όπως φαίνεται στο σχήμα 4.



**Σχήμα 3:** Μέσοι όροι και 95% όρια εμπιστοσύνης των σταφυλόκοκκων σε 5 βιομηχανίες παραγωγής γαλακτοκομικών προϊόντων.

Είναι γνωστό ότι ο πιο σοβαρός κίνδυνος υγείας για τον καταναλωτή από τυρί που διακινείται στο εμπόριο είναι η σταφυλοκοκκική εντεροτοξίνη (Varnam and Sutherland, 1996; Loncarevic et al., 2005; Bhatia and Zahoor, 2007). Η διαπίστωση ότι το μανούρι είναι μολυσμένο με μεγάλο αριθμό διαφόρων ειδών του γ. *Staphylococcus*, δεν αποκλείει την παρουσία σε αυτό (δηλ. στο μανούρι) εντεροτοξινογόνων στελεχών *S. aureus*, που αποτελούν δυνητικό κίνδυνο υγείας για τον καταναλωτή.



**Σχήμα 4:** Ιστόγραμμα μέσων όρων σταφυλόκοκκων στο μανούρι ανά βιομηχανία.

## 7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Όλα τα δείγματα μανουριού και των 5 βιομηχανιών που αναλύθηκαν ήταν μολυσμένα με βακτήρια του γ. *Staphylococcus*. Αυτό υποδηλώνει ότι οι συνθήκες καθαριότητας και υγιεινής των επιφανειών, των σκευών και του εξοπλισμού των τυροκομείων δεν ήταν οι ενδεδειγμένες.

2. Τα 25 δείγματα του προϊόντος δεν παρουσίασαν μεταξύ τους στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά το συνολικό φορτίο σταφυλόκοκκων με το οποίο ήταν μολυσμένα. Ειδικότερα τα δείγματα των βιομηχανιών D και K έφεραν χαμηλότερο φορτίο σταφυλόκοκκων (επίπεδο 2 – 4 λογαρίθμων) έναντι των δειγμάτων των βιομηχανιών G και T (επίπεδο 3 – 5 λογαρίθμων).

3. 11 από τα 25 δείγματα που αναλύθηκαν (ποσοστό 40%) βρέθηκαν μολυσμένα με *S. aureus*. Με βάση το πρότυπο του Κανονισμού 2073/2005 της Επιτροπής Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων που προβλέπεται για τα τυριά τυρογάλακτος  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=10$  cfu/g και  $M=100$  cfu/g διαπιστώθηκαν τα παρακάτω:

Βιομηχανία C: Παράγει άριστη ποιότητα προϊόντος. Διαπιστώθηκε ότι  $c = 0 < 2$ , δηλ. όλα τα δείγματα είχαν αριθμούς *S. aureus*  $< 10$  cfu/g.

Βιομηχανίες K και T: Παράγουν οριακά αποδεκτό προϊόν. Διαπιστώθηκε ότι  $c=2$ , δηλ. παρουσιάζουν το μέγιστο επιτρεπόμενο αριθμό ελαττωματικών μονάδων.

Βιομηχανίες D και G: Παράγουν κακή ποιότητα προϊόντος. Διαπιστώθηκε ότι  $c = 5 > 2$ , δηλ. όλα τα δείγματα είχαν αριθμούς *S. aureus*  $> 100$  cfu/g. Το αποτέλεσμα αυτό υποδηλώνει πιθανή μόλυνση από το προσωπικό κατά τη διαδικασία παραγωγής του προϊόντος. Επομένως σύμφωνα με τον Κανονισμό 2073/2005 το προϊόν κρίνεται απορριπτέο.



## **8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

### **Ξένη Βιβλιογραφία**

1. Adams, R. M and D. M. Moos (2008). Food Microbiology, 3<sup>rd</sup> ed, RSC Publishing, p. 252-257.
2. Akineden, O., A.A. Hassan, E. Scheider and E. Usleber (2008). Enterotoxigenic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from goats milk cheese, International Journal of Food Microbiology, 124 : 211-216.
3. Arvidson and Tegmark, 2001. Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*, Int. J. Med. Microbiol.291 (2001), p.159-170.
4. Bhatia, A. and S. Zahoor (2007): *Staphylococcus aureus* enterotoxin: A review. Journal of Clinical and Diagnostic Research, 1(2): 188-197.
5. Cremonesi et al., 2005. Development of a multiplex PCR assay for the identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains isolated from milk and dairy products, Molecular and Cellular Probes 19 (2005), p. 299-305.
6. De Luca et al., 1977. *Staphylococcus aureus* in dairy products in the Bologna area, International Journal of Food Microbiology 35 (1997) p.267-270.
7. Evenson, M. L., M. W. Hinds, R. S. Berstain and M.S. Bergdoll (1988). Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak in staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. Journal Food Microbiology, 7:311.
8. Frank, J. F. (1997). Milk and Dairy Products. In : Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers, Ed. by Doyle, M. P., L. R. Beuchat and T. J. Montville, p.109-110, ASM press, Washington D.C.
9. Herwaldt, (1998). Reduction of *Staphylococcus aureus* nasal carriage ant infection in dialysis patients, Journal of Hospital Infection 40 (1998), p. 13-23.
10. Jay, J. M. (2005). Modern Food Microbiology, 7<sup>th</sup> ed., p. 149-169, Chapman and Hall, New York.
11. Jervis, D. I. (1988). Behaviour of pathogens in dairy products. Dairy Ind. Int. 53: 15-19.
12. Johnson, E. A., J. H. Nelsonn and M. Johnson(1990a). Microbiological safety of cheese made from heat-treated milk. Journal of Food Protection,53:441-452, 610-623.
13. Kloos, W. E., K.-H. Schleifer and F. Gotz (1992). The Genus *Staphylococcus* . In : The Prokaryotes, A Handbook on the biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications. p. 1369-1420. Springer Verlag, New York.

14. Le Loir, Y. L., K. Baron and M. Gautier (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genetics and molecular research, p. 63-76.
15. Loncaveric, S., Jorgensen, H.J., Lnseth, A., Mathisen, T., and L. M. Rovrik (2005): Diversity of *Staphylococcus aureus* enterotoxin types within single samples of raw milk and raw milk products. Journal of Applied Microbiology, 98: 344-350.
16. Luo et al., 2006. Chemiluminescent imaging detection of Staphylococcal enterotoxin C1 in milk and water samples, Food Chemistry 97 (2006), p. 355-360.
17. Michel et al., 2011. Intramammary infections with the contagious *Staphylococcus aureus* genotype B in Swiss dairy cows are associated with low prevalence of coagulase-negative staphylococci and Streptococcus spp., The Venerinary Journal 188 (2011) p. 313-317.
18. Mikolajcik, E. M. (1980). Psychrotrophic bacteria and dairy product quality. 3. Organisms of public health importance in fermented dairy foods. Cult. Dairy Prod. J. 15: 14-1.
19. Niven et al., 2009. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* nasal colonization and influence on outcome in the critically ill, Journal of Critical Care 24 (2009), p. 583-589.
20. Normano et al., 2007. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products, International Journal of Microbiology 115 (2007) p. 290-296.
21. Notermans, S., J. Dufrenne and P. In't Veld (1991). Feasibility of a reference material for staphylococcal enterotoxin A. International Journal of Food Microbiology, 14:325.
22. Ray, B. (1996). Fundamental Food Microbiology, CRC Press, p. 278-283.
23. Richter, R. L. and E. R. Vedamuthu (2001). Milk and Milk Products. in : Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Ed. By Downes, F. P. and K. Ito, 4<sup>th</sup> ed. APHA.
24. Robert, D. and M. Greenwood (2003). Practical Food Microbiology, 3<sup>rd</sup>.ed p.210-212, Blackwell Publishing.
25. Roberts, T. A., J. I. Pitt, J. Farkas, F. H. Grau (1998). Micro organisms in Foods. Microbial Ecology of Food Commodities, ICMSF, p.555 Blackie Academic and Professional.
26. Roginski. H., J. W. Fuquay and P. F. Fox (2002). Encyclopaedia of dairy products, p. 2563-2568.
27. Rong - Hwa at al., (2010). Gold nanoparticle-based lateral flow assay for detection of Staphylococcal enterotoxin B, Food Chemistry 118 (2010), p. 462-466.
28. Sospedra et al., (2012). Rapid whole protein quantification of Staphylococcal enterotoxin B by liquid chromatography, Food Chemistry 133 (2012), p. 163-166.

29. Straehan et al., (1977). Application of a rapid automated immunosensor for the detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxin B in cream, International Journal of Food Microbiology 35 (1977), p. 293-297.
30. Sutherland et al., (1994). Predictive modelling of *Staphylococcus aureus* : the effects of temperature, pH and sodium chloride, International Journal of Food Microbiology, 21 (1994) p. 217-236.
31. Tanini, S.R., J. J. Jezeski and H. A. Morris (1973). Production of Staphylococcal Enterotoxin A in Blue, Brick, Mozzarella and Swiss Cheeses. Journal of Dairy Science, 56:815.
32. Tong - Hwa et al., (2001). Develop mend and use of PCR primers for the investigation of C1, C2 and C3 enterotoxin types of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food-borne outbreaks, International Dairy Journal 12 (2002), p. 933-938.
33. Varnam, A.H and J.P. Sutherland (1996). Milk and Milk Products. Technology, chemistry and microbiology. p. 333, Chapman and Hall, London.
34. Varnam, H.A. and P.J. Sutherland (1996): Milk and Milk Products.Technology, chemistry and microbiology. pp. 332, Chapman & Hall, London.
35. Vickery et al., 1993(8). Strains of methicillin-resistand *Staphylococcus aureus* isolated in Australian hospitals from 1986 to 1990, Journal of Hospital Infection 24 (1993), p. 193-151.
36. Walker, G. C. and L. G. Harmon (1966). Thermal Résistance of *Staphylococcus aureus* in Milk, Whey and Phosphate Buffer. American Society for Microbiology, 14:584-590.
37. Yang et al., (2007). Detection of *Staphylococcus aureus* in Dairy Products by Polymerase Chain Reaction Assay, Agricultural Sciences in China 6 (2007), p. 857-862.

## Ελληνική Βιβλιογραφία

1. Ανυφαντάκης, Ε. (1976). Συμβολή εις την μελέτην της λαμβανόμενης εξ ηνύστρων αμνών και ερυφίων τυτιάς. Διατριβή επί υφηγεσία. Αθήνα.
2. Ανυφαντάκης, Ε. (1995). Μέτρα για την ουσιαστική κατοχύρωση και προβολή των παραδοσιακών μας τυριών. Εθνική Επιτροπή Γάλακτος Ελλάδος, Αθήνα.
3. Ανυφαντάκης, Μ.Ε. (1987). Τυροκομία. Εκδόσεις Καμπερόπουλος Α.Ε. Αθήνα.
4. Ανυφαντάκης, Μ.Ε. (2004). Τυροκομία, Β' έκδοση.
5. Δεληγκάρης, Ν. (1992). Μικροβιολογικός Έλεγχος Τροφίμων. ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης.
6. Ζερφυρίδης, Γ.Κ. (1998). Διατροφή του ανθρώπου. 4η έκδ. Εκδόσεις Γιακούδη-Γιαπούλη. Θεσσαλονίκη.
7. Ζερφυρίδης, Γ.Κ. και Χ.Π. Παππάς. (1989). Ειδική τυροκομία (Κεφαλοτύρι-Κασέρι-τελεμές) Εθνική Επιτροπή Γάλακτος Ελλάδος. Αθήνα.
8. Ζερφυρίδης, Γ.Κ., Κ.Σ. Μανωλκίδης και Μ.Δ. Σαμολαδά. (1985). Τα ελληνικά τυριά τυρογάλακτος και βελτιώσεις στην τεχνολογία λήψεως των πρωτεϊνών από αιγοπρόβειο τυρόγαλα. Δελτίο Εθνικής Επιτροπής Γάλακτος Ελλάδος, 2(1): 50-62.
9. Ιορδανίδης Ι.Ι. (1965). Η Τυροκόμησις εν Ελλάδι. Υπουργείο Γεωργίας, Αθήνα.
10. Καλατζόπουλος, Γ. και Ε. Καμπουράκη-Ρήγα. (1985). Μελέτη της επίδρασης του προσγάλακτος στην αξιοποίηση των πρωτεϊνών του τυρογάλακτος και την ποιότητα των τυριών που παράγονται. Δελτίο Εθνικής Επιτροπής Γάλακτος Ελλάδος, 2(1):50-62.
11. Κανδαράκης, Ι.Γ. (1982). Συμβολή στη μελέτη της τεχνολογίας της παρασκευής του τυριού μανούρι με τον παραδοσιακό τρόπο και με τη χρησιμοποίηση της υπερδιήθησης. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
12. Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 της Ευρωπαϊκής Επιτροπής περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα. Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 1-26.
13. Καρδούλης, Γ.Α. (2003). Εγκυκλοπαιδικό Λεξικό Τροφίμων και Ποτών.

14. Κώδικας Τροφίμων Ποτών και Αντικειμένων Κοινής Χρήσης. (1998). Υπουργείο Οικονομικών.
15. Μάντης, Ι.Α. (1991). Υγιεινή και Τεχνολογία Γάλακτος και των Προϊόντων του, 2η έκδοση. Αθήνα.
16. Οδηγία 92/46/ΕΟΚ του συμβουλίου της 16ης Ιουνίου 1992. Για τη θέσπιση των υγειονομικών κανόνων για την παραγωγή και την εμπορία νωπού γάλακτος, θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος και προϊόντων με βάση το γάλα. Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων. Αριθ. L. 268/14/9/1992. σελ.1.
17. Οδηγία 94/71/ΕΚ του συμβουλίου της 13ης Δεκεμβρίου 1994. Για την τροποποίηση της οδηγίας 92/46/ΕΟΚ. Αριθ. L.368/31.12.94. σελ.33.
18. Πανέτσος, Α., Μάντης, Α., Κιλικίδης, Σ. (1970). Ανίχνευση σταφυλοκοκκικής εντεροτοξίνης Α εις τυρόν φέτα προκαλέσαντα ομαδικόν κρούσμα τροφικής δηλητηριάσεως. Ιατρ. Επιθ. Εν. Δυν. 4:637.
19. Παπαγεωργίου, Δ.Κ. (2004). Υγιεινή του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων και η προστασία των καταναλωτών. Επιστήμη και Τεχνολογία Γάλακτος, τευχ.1, 56-75.
20. Παπαντωνίου, Δ. (2011). Μικροβιολογία Τροφίμων. ΑΤΕΙ – Θεσσαλονίκης.
21. Παππάς, Χ.Π. και Γ.Κ. Ζερφυρίδης. (1989). Τεχνολογία ελληνικών τυριών(Φέτα- Γραβιέρα). Εθνική Επιτροπή Γάλακτος Ελλάδος. Αθήνα.
22. Πολυχρονιάδου-Αληχανίδου, Α. (2004). Επιτέλους! Διεθνής Νομοθεσία για τα τυριά τυρογάλακτος. Επιστήμη της Τεχνολογίας Γάλακτος, τευχ.1, 79-84.