



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΗΣ ΖΩΟΤΕΧΝΙΑΣ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ
ΜΑΣΤΟΥ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥ
ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ ΣΤΑ ΣΩΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ
ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΤΩΝ ΠΡΟΒΑΤΙΝΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ



ΚΑΡΛΑ ΓΡΑΜΜΑΤΙΚΗ

Εξεταστική Επιτροπή:
Χαρισμάδου, Μ Λέκτορας
Κουτσούλη, Π. Λέκτορας
Οικονομόπουλος, Ι. Επίκουρος Καθηγητής

Αθήνα, Μάιος 2014



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΗΣ ΖΩΟΤΕΧΝΙΑΣ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ
ΜΑΣΤΟΥ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ
ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ ΣΤΑ ΣΩΜΑΤΙΚΑ
ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΤΩΝ ΠΡΟΒΑΤΙΝΩΝ**

ΚΑΡΛΑ ΓΡΑΜΜΑΤΙΚΗ

Εξεταστική Επιτροπή:

Χαρισμιάδου, Μ Λέκτορας

Κουτσούλη, Π. Λέκτορας

Οικονομόπουλος, Ι Επίκουρος Καθηγητής

Αθήνα, Μάιος 2014

Ευχαριστίες

Η εκπόνηση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής αποτέλεσε την πιο επίπονη αλλά συγχρόνως την πλουσιότερη σε εμπειρίες περίοδο της ζωής μου. Η επιστημονική μου κατάρτιση εμπλουτίστηκε, αποκτώντας πολύτιμες γνώσεις και εμπειρίες. Καθοριστικό ρόλο σε αυτό συνετέλεσε η συνεργασία μου με ανθρώπους καταξιωμένους στο χώρο οι οποίοι, ο καθένας με ξεχωριστό τρόπο, με βοήθησαν να φέρω εις πέρας την προσπάθειά μου. Θεωρώ, λοιπόν, χρέος μου να ευχαριστήσω όλους αυτούς και πιο συγκεκριμένα τους :

- κ. Πολίτη Ιωάννη, Καθηγητή και Διευθυντή του Εργαστηρίου Γενικής και Ειδικής Ζωοτεχνίας, για τη καθοδήγηση και τη πολύτιμη υποστήριξή του καθ' όλη τη διάρκεια της παραμονής μου στο εργαστήριο.
- κ. Χαρισμιάδου Μαρία, Λέκτορα του Εργαστηρίου Γενικής και Ειδικής Ζωοτεχνίας, για την επιλογή του θέματος, την υπομονή που έδειξε κατά τη διαδικασία της συγγραφής της παρούσας διατριβής αλλά κυρίως για την πολύτιμη επιστημονική καθοδήγηση που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής μου.
- κ. Οικονομόπουλο Ιωάννη, Επίκουρο Καθηγητή του Εργαστηρίου Ανατομίας και Φυσιολογίας Αγροτικών Ζώων, για τις καίριες παρατηρήσεις κατά τη διόρθωση της παρούσας μελέτης.
- κ. Κουτσούλη Παναγιώτα, Λέκτορα του Εργαστηρίου Γενικής και Ειδικής Ζωοτεχνίας, για τις χρήσιμες υποδείξεις της κατά τη διόρθωση της παρούσας διατριβής.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του Τμήματος Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών και ειδικότερα του Εργαστηρίου Γενικής και Ειδικής Ζωοτεχνίας και ιδιαιτέρως τον Επιστημονικό Συνεργάτη κ. Γεώργιο Θεοδώρου, καθώς από την πρώτη μέρα με αγκάλιασαν και με βοήθησαν να αισθανθώ σαν να ήμουν χρόνια μέλος της οικογενείας τους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως τους γονείς μου για την ηθική και ψυχολογική υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της μεταπτυχιακής μου μελέτης καθώς και όλα τα φιλικά μου πρόσωπα για τη πολυτιμότερη συμπαράστασή τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ		
1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
2	ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	4
2.1	Παγκόσμια παραγωγή	5
2.2	Φυλές εκτρεφόμενων προβάτων στην Ελλάδα	7
2.2.1	<i>Φυλή Χίου</i>	8
2.2.2	<i>Καραγκούνικη Φυλή</i>	10
2.2.3	<i>Ορεινή φυλή Ηπείρου - Μπούτσικο</i>	12
2.2.4	<i>Βελτιωμένη φυλή Ηπείρου</i>	13
3	ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	14
3.1	Χημική σύσταση του γάλακτος	15
3.1.1	<i>Πρωτεΐνες</i>	16
3.1.2	<i>Λίπος</i>	17
3.1.3	<i>Λακτόζη</i>	18
3.1.4	<i>Βιταμίνες</i>	18
3.1.5	<i>Στερεά συστατικά</i>	19
3.1.6	<i>Άλατα</i>	19
3.1.7	<i>Ένζυμα</i>	20
3.2	Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά	21
3.3	Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα	22

4	ΥΓΙΕΙΝΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ	25
4.1	Τύποι μαστίτιδας	26
4.2	Παράγοντες εμφάνισης μαστίτιδας	29
4.2.1	<i>Μολυσματικά αίτια</i>	29
4.2.2	<i>Μη μολυσματικά αίτια</i>	32
4.2.3	<i>Λοιπά αίτια</i>	32
4.2.4	<i>Συνθήκες περιβάλλοντος</i>	33
5	ΣΩΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ	34
5.1	Γενικά	34
5.2	Παράγοντες που επιδρούν στον αριθμό των σωματικών κυττάρων στο γάλα	38
5.2.1	<i>Στάδιο γαλακτικής περιόδου</i>	38
5.2.2	<i>Ηλικία του ζώου</i>	39
5.2.3	<i>Εποχή</i>	39
5.3	Ποσοστό λακτόζης	40
5.4	Ύψος γαλακτοπαραγωγής	40
6	ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΛΑΣΜΙΝΗΣ – ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ	42
6.1	Εξέταση σε βιοχημικό επίπεδο	42
6.2	Τρόπος δράσης του συστήματος πλασμίνης – πλασμινογόνου κατά την παρουσία / απουσία μαστίτιδας	43
7	ΣΚΟΠΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	50
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ		

1	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	51
1.1	Ζωικό κεφάλαιο- Επεμβάσεις	51
1.2	Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων	52
1.2α	Χημική σύσταση	52
1.2β	Προσδιορισμός ενεργότητας ενεργοποιητή πλασμινογόνου	54
1.3	Στατιστική ανάλυση	55
2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ	56
2.1	Επίδραση του αριθμού των σωματικών κυττάρων στη γαλακτοπαραγωγή	56
2.2	Επίδραση του αριθμού των σωματικών κυττάρων στη χημική σύσταση του γάλακτος	57
2.3	Επίδραση του αριθμού των σωματικών κυττάρων στην ενζυμική ενεργότητα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου	61
2.4	Επίδραση της φυλής στη γαλακτοπαραγωγή	63
2.5	Επίδραση της φυλής στη χημική σύσταση του γάλακτος	64
2.6	Επίδραση φυλής στη ενζυμική ενεργότητα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου	66
3	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ	67
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	69

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ενεργοποίηση του πλασμινογόνου κατέχει ζωτικό ρόλο σε ένα πλήθος φυσιολογικών φαινομένων. Η μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη ελέγχεται από την αλληλεπίδραση των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου και των αναστολέων του.

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής μελέτης ήταν η επίδραση της υγιεινής κατάστασης του μαστού (αριθμός σωματικών κυττάρων) σε προβατίνες τεσσάρων ελληνικών φυλών, κατά τη γαλακτική περίοδο, στο σύστημα πλασμίνης – πλασμινογόνου, προσδιορίζοντας τη σύσταση του πρόβειου γάλακτος και τον αριθμό των σωματικών κυττάρων. Οι φυλές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η φυλή Χίου, η Καραγκούνικη φυλή, η φυλή Μπούτσικο και μια Βελτιωμένη φυλή που προήλθε από διασταύρωση Μπούτσικου με τα πρόβατα Χίου και Άρτας. Όλα τα ζώα που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα στεγάζονταν στις εγκαταστάσεις του Κτηνοτροφείου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Συνολικά ελήφθησαν 192 δείγματα γάλακτος, από τα οποία 76 με υψηλό αριθμό σωματικών κυττάρων ($>1.000.000/\text{ml}$, Ομάδα 1), 20 με ενδιάμεσο αριθμό σωματικών κυττάρων ($300.000-1.000.000/\text{ml}$, Ομάδα 2) και 96 με χαμηλό αριθμό σωματικών κυττάρων ($<300.000/\text{ml}$, Ομάδα 3). Ο προσδιορισμός των περιεκτικότητων των συστατικών του γάλακτος έγινε με χρήση του μηχανήματος Milcoscan ενώ για τη μέτρηση του αριθμού των σωματικών κυττάρων χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Fossomatic Cell Counter. Τέλος, ο προσδιορισμός της ενεργότητας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου (ΕΠ) έγινε μέσω της χρωματομετρικής μεθόδου των Gilmore et al. (1995). Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο η ενεργότητα του ΕΠ υπολογίστηκε από την καμπύλη απορρόφησης στα 405 nm.

Όσον αφορά τον αριθμό σωματικών κυττάρων, η ομάδα με τον υψηλό αριθμό σωματικών κυττάρων (Ομάδα 1) παρουσίασε μεγαλύτερες τιμές ενεργότητας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (ΕΠ). Επίσης, παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά τόσο στην ημερήσια γαλακτοπαραγωγή των προβάτων που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη όσο και στη χημική σύσταση του γάλακτος.

Επιπλέον η ενεργότητα του ενεργοποιητή πλασμινογόνου, δεν διαφοροποιήθηκε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των 4 φυλών που χρησιμοποιήθηκαν. Αντίθετα παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά για όλα τα χαρακτηριστικά που αφορούν τη χημική σύσταση του πρόβειου γάλακτος και τη γαλακτοπαραγωγή.

ABSTRACT

The activation of plasminogen (PG) plays a crucial role in a variety of extracellular events. The conversion of plasminogen to plasmin is controlled by an interplay between plasminogen activators and PA inhibitors.

The purpose of this study was to investigate the effect of health status of ewes breast from four Greek breeds during lactation, to the system plasmin – plasminogen, by measuring the chemical composition of sheep's milk and the number of somatic cells (SCC). During the experimental procedure were used four breeds of sheep (Chios, Karagouniko, Boutsiko and a genetically improved breed that originated from a genetic cross of sheep of Chios, Boutsiko and sheep of Arta). All animals used in the experiment were housed in the Farm of the Agricultural University of Athens.

During the experimental procedure, 192 milk samples were totally taken, 76 of them with a high somatic cell count ($> 1,000,000$ cells/ml, Group 1), 20 with an intermediate number of somatic cells (from 300,000 to 1,000,000 cells/ml, Group 2) and 96 with a low somatic cell count ($< 300,000$ cells/ml, Group 3). The determination of chemical composition of milk was done by using the device Milcoscan while the number of somatic cells was measured by using the device Fossomatic Cell Counter. Finally, the determination of the activity of plasminogen activator was done via the colorimetric method of Gilmore et al. (1995). According to this method, the activity of plasminogen activator was calculated from the curve of absorbance at 405 nm.

Regarding somatic cell count, the group of high number of somatic cells (Group 1) showed higher values of activity of plasminogen activator (OP). Also, there is a statistically significant difference in both daily milk product and chemical composition of milk.

Moreover, the activity of plasminogen activator, did not change significantly between the four used breeds. In contrast, there was a statistically significant difference for all features on the chemical composition of sheep's milk and milk product.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η κτηνοτροφία αποτελεί κλάδο της πρωτογενούς παραγωγής με εξέχουσα σημασία για τη χώρα μας, λόγω της μεγάλης παράδοσής της στον τομέα. Στην Ελλάδα, η ζωική παραγωγή αντιπροσωπεύει περίπου το 1/4 της ακαθάριστης αξίας της γεωργικής παραγωγής (23,6 % το 2005) και παρέμεινε στάσιμη για τη δεκαετία 1995-2005. Παρά την περιορισμένη συμμετοχή της στην ακαθάριστη αξία της γεωργικής παραγωγής κατέχει σημαντικό ρόλο στην εθνική μας οικονομία, γιατί παρέχει εισόδημα και εργασία σε χιλιάδες οικογένειες, συμβάλλοντας έτσι καθοριστικά στην περιφερειακή ανάπτυξη και στη διατήρηση του κοινωνικού ιστού του τόπου μας σε περιοχές με ιδιαίτερα προβλήματα (ορεινές-μειονεκτικές). Η συμμετοχή των επί μέρους κλάδων της κτηνοτροφίας στο σύνολο της ζωικής παραγωγής υπολογίζεται σε 58,7% για την αιγοπροβατοτροφία, 19,25% για τη βοοτροφία, 9,9% για την πτηνοτροφία, 7,8% για τη χοιροτροφία και 4,45% για τους λοιπούς τομείς.

Η αιγοπροβατοτροφία αποτελεί παραδοσιακά έναν από τους δυναμικότερους κλάδους στη χώρα μας, συμβάλλοντας κατά 18% περίπου στο συνολικό αγροτικό εισόδημα. Η παραγωγική αυτή κατεύθυνση στηρίχθηκε στους άφθονους φυσικούς πόρους και προσαρμόστηκε στις ιδιαίτερες κλιματολογικές και εδαφολογικές συνθήκες της πατρίδας μας. Το αίγιο και πρόβιο κρέας και γάλα είναι δύο βασικές κατηγορίες προϊόντων με μεγάλη οικονομική σημασία κι αποτελούν τις κυριότερες πηγές του αγροτικού εισοδήματος των κατοίκων των ορεινών και μειονεκτικών περιοχών.

Αξίζει να σημειωθεί ότι ίσως το δυνατότερο σημείο του τομέα είναι η υψηλή ποιότητα του παραγόμενου κρέατος, ως αποτέλεσμα μιας σειράς παραμέτρων που χαρακτηρίζουν την ελληνική πραγματικότητα όπως το εκτατικό σύστημα εκτροφής, οι εγχώριες φυλές και οι χορηγούμενες ζωοτροφές (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης, 2007). Η αιγοπροβατοτροφία προσφέρεται ως μια διέξοδος της σύγχρονης αγροτικής οικονομίας, συμμετέχοντας κατά 45% περίπου στη συνολική ακαθάριστη αξία της ζωικής παραγωγής και κατά 15% περίπου στη συνολική αξία όλης της γεωργικής παραγωγής (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης, 2007).

Από αρχαιοτάτων χρόνων, το γάλα αποτελούσε εξαιρετική τροφή για τον άνθρωπο, αφού περιέχει ένα ευρύ φάσμα θρεπτικών ουσιών τα οποία λειτουργούν είτε ως δομικά

συστατικά για τον οργανισμό είτε ως πηγές ενέργειας. Είναι γεγονός ότι αποτελεί αναπόσπαστο τμήμα της καθημερινής ανθρώπινης διατροφής με μορφή διαφόρων ειδών γαλακτοκομικών προϊόντων. Το μοναδικό μειονέκτημα που εμφανίζει το γάλα είναι ότι εξαιτίας της ιδιαίτερα πλούσιας σύστασής του αποτελεί υπόστρωμα που ευνοεί την ταχεία ανάπτυξη μικροοργανισμών εάν δε ληφθούν τα κατάλληλα μέτρα.

Η μαστίτιδα, η φλεγμονή του μαστικού αδένου, θεωρείται η πιο συχνή και πιο δαπανηρή ασθένεια των γαλακτοπαραγωγών προβάτων στις αναπτυγμένες χώρες (Miller *et al.*, 1993). Το ετήσιο κόστος της μαστίτιδας μόνο στις ΗΠΑ εκτιμάται σε 2 δις. δολάρια (DeGraves and Fetrow, 1993). Η πιο κοινή κατηγορία μαστίτιδας είναι η σηπτική από περιβαλλοντικά βακτήρια (Christ *et al.* 1997, Harmon, 1994, Sheldrake *et al.*, 1983).

Εξαιτίας της τεράστιας σημασίας της ποιότητας του νωπού γάλακτος, όσον αφορά τον αριθμό των μικροοργανισμών για την ασφάλεια του καταναλωτή, σε όλες τις αναπτυγμένες χώρες, εφαρμόζονται αυστηροί νομοθετικοί κανονισμοί σχετικά με τις συνθήκες παραγωγής, αποθήκευσης και διακίνησης του νωπού γάλακτος. Τα σωματικά κύτταρα και οι μικροοργανισμοί μαζί με τη σύσταση του γάλακτος αποτελούν τα κύρια κριτήρια της ποιότητας του γάλακτος. Ο Κανονισμός 853/2004 της Ε.Ε. (European Union, 2004), είναι ο σχετικός κανονισμός με το θέμα της πρωτογενούς παραγωγής. Για το νωπό γάλα, η ποιότητα γάλακτος ορίζεται στον κανονισμό 1662/2006 (European Union, 2006), σύμφωνα με τον οποίο, ο κυλιόμενος γεωμετρικός μέσος όρος των σωματικών κυττάρων (SCC) κατά τη διάρκεια μιας περιόδου τριών μηνών με ένα τουλάχιστον δείγμα μηνιαίως πρέπει να είναι ≤ 400.000 scc/ml.

Η παρούσα μελέτη χωρίζεται σε Θεωρητικό και Πειραματικό μέρος. Στο πρώτο μέρος παρατίθενται ορισμένες γενικές πληροφορίες για το πρόβειο γάλα, όσον αφορά τη χημική του σύσταση αλλά και τα μεγέθη της παγκόσμιας και εγχώριας παραγωγής του. Στη συνέχεια γίνεται αναφορά στα κριτήρια ποιότητας γάλακτος, που θα πρέπει να εξετάζονται με ιδιαίτερη προσοχή. Ακολουθεί αναφορά στο αίτιο μαστίτιδας καθώς επίσης και οι παράγοντες κινδύνου που οδηγούν στην εμφάνισή της. Τέλος παρατίθενται λεπτομέρειες για το σύστημα πλασμίνης - πλασμινογόνου στο πρόβειο γάλα. Συγκεκριμένα εξετάζεται το σύστημα πλασμίνης - πλασμινογόνου σε βιοχημικό επίπεδο, ενώ γίνεται λόγος και για τον τρόπο δράσης που έχει στο ζώο και στο παραγόμενο γάλα κατά την παρουσία ή απουσία μαστίτιδας.

Στο δεύτερο μέρος αναφέρονται λεπτομερώς τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν στο πλαίσιο της πειραματικής διαδικασίας καθώς επίσης και η μεθοδολογία που

ακολουθήθηκε. Επίσης παρατίθενται εκτενώς τα αποτελέσματα έπειτα από τη στατιστική ανάλυση των πειραματικών μετρήσεων, μέσα από τα οποία εξάγονται συμπεράσματα, τα οποία και αυτά με τη σειρά τους αναφέρονται σε ξεχωριστό κεφάλαιο.

2. Γενικά περί πρόβειου γάλακτος

Από αρχαιοτάτων χρόνων τα γαλακτοκομικά προϊόντα θεωρούνταν τρόφιμα εξαιρετικής θρεπτικής αξίας γι' αυτό το λόγο μνημονεύονται σε κείμενα πολλών αρχαίων Ελλήνων συγγραφέων.

Νωπό γάλα χαρακτηρίζεται το γάλα που εκκρίνεται από τους μαστικούς αδένες του ζώου, το οποίο δεν έχει θερμανθεί σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 40°C, ούτε έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με ισοδύναμο αποτέλεσμα. Επισημαίνεται ότι απαγορεύεται η διάθεση και η πώληση νωπού γάλακτος, για λόγους ασφάλειας. Για τον άνθρωπο, όμως, το γάλα εξακολουθεί να αποτελεί μέρος της διαίτας του είτε αυτούσιο είτε με τη μορφή γαλακτοκομικών προϊόντων (τυρί, βούτυρο, γιαούρτι) για όλη τη διάρκεια της ζωής του (Μάντης, 2000).

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π. 1998), υπάρχει ο παρακάτω ορισμός για το γάλα (αγελαδινό) :

«Γάλα είναι το απαλλαγμένο από πρωτόγαλα προϊόν του ολοσχερούς , χωρίς διακοπή αρμέγματος υγιούς γαλακτοφόρου ζώου, που ζει και τρέφεται υπό υγιεινούς όρους και που δεν βρίσκεται σε κατάσταση υπερκόπωσης».

Αντίστοιχα, σύμφωνα με το FAO/WHO (1973) :

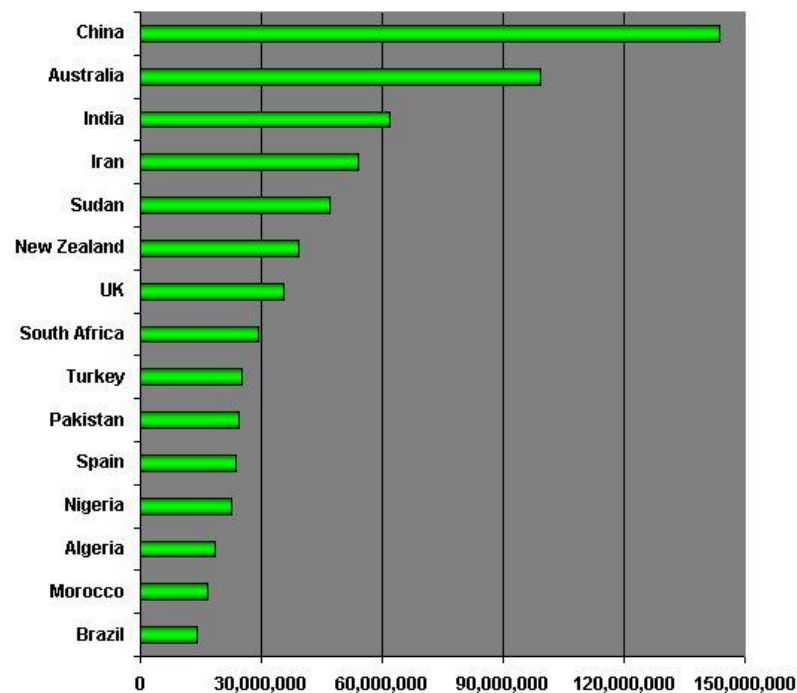
«Γάλα είναι το φυσιολογικό έκκριμα του μαστού που λαμβάνεται μετά από μία ή δύο αμέλξεις χωρίς να προστεθεί ή να αφαιρεθεί τίποτε και προορίζεται για κατανάλωση σε υγρή μορφή ή για περαιτέρω επεξεργασία».

Σύμφωνα με τον Κώδικα Γάλακτος των Η.Π.Α. (FDA, 2009) :

«Γάλα είναι το έκκριμα του μαστού το οποίο είναι απαλλαγμένο από πρωτόγαλα, λαμβάνεται με άμελξη μίας ή περισσότερων υγιών αγελάδων και το οποίο περιέχει τουλάχιστον 3,15% λίπος και 8,25% στερεά συστατικά άνευ λίπους».

2.1 Παγκόσμια παραγωγή

Ο κλάδος της αιγοπροβατοτροφίας και ιδιαίτερα της προβατοτροφίας, αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους κλάδους της πρωτογενούς ζωικής παραγωγής. Σε παγκόσμιο επίπεδο, η βασική παραγωγική κατεύθυνση του κλάδου είναι η παραγωγή κρέατος. Κύρια χώρα παραγωγής του πρόβειου κρέατος είναι η Κίνα, ενώ τη δεύτερη θέση καταλαμβάνει παγκοσμίως η Ευρωπαϊκή Ένωση (Ε.Ε.). Ο παγκόσμιος πληθυσμός των προβάτων υπολογίζεται γύρω στο ένα δισεκατομμύριο (Αγγελόπουλος, 2010).



Εικόνα 1: Πληθυσμός προβάτων για τις κυριότερες παραγωγούς χώρες σε παγκόσμιο επίπεδο (<http://provata-assaf.blogspot.gr>)

Στην Εικόνα 1 παρουσιάζεται ο πληθυσμός των προβάτων στα 15 κράτη τα οποία διαθέτουν το 65% του συνολικού πληθυσμού των προβάτων. Η Ευρωπαϊκή Ένωση διαθέτει περίπου 100 εκατομμύρια πρόβατα με το Ηνωμένο βασίλειο να διαθέτει το 1/3 του πληθυσμού και ακολουθούν Ισπανία, Ιταλία και Γαλλία. Η Ελλάδα κατέχει μόλις το 1% του Παγκόσμιου πληθυσμού και το 8,5% της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Ενδεικτικά αναφέρεται ότι η παγκόσμια κατανάλωση όσον αφορά το κρέας και το πρόβειο γάλα είναι μικρή : μόλις 1,8 κιλά κρέας/ κάτοικο και έτος ή με άλλα λόγια το

6% του συνολικώς παραγομένου κρέατος και στο πρόβειο γάλα το ποσοστό είναι ακόμη μικρότερο : 3% περίπου.

Ο τομέας της αιγοπροβατοτροφίας για το σύνολο των χωρών μελών της Ε.Ε. δεν έχει την ίδια σημασία όπως για τη χώρα μας. Στην Ε.Ε. εκτρέφονται περίπου 100,5 εκατομμύρια πρόβατα και αίγες. Οι σημαντικότερες χώρες, από πλευράς εκτρεφόμενου αριθμού προβάτων, είναι το Ηνωμένο Βασίλειο με 24,4 εκατομμύρια, η Ισπανία με 22,5 εκατομμύρια, η Ιταλία με 8,0 εκατομμύρια, η Γαλλία με 8,8 εκατομμύρια. Στην Ε.Ε. η εκτροφή προβάτων και αιγών πραγματοποιείται κυρίως για κρεοπαραγωγή ενώ στη χώρα μας οι φυλές προβάτων είναι γαλακτοπαραγωγικής κατεύθυνσης με αρμεγόμενα ζώα σε ποσοστό 95% (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης, 2007).

Το ζωικό κεφάλαιο σε επίπεδο Ε.Ε. παρουσιάζει μείωση στο σύνολό του σε ποσοστό 11,3% περίπου το διάστημα 2000-2006, μείωση που αφορά τόσο τα πρόβατα, όσο και τις αίγες. Η μείωση αυτή είναι ιδιαίτερα αισθητή κατά τα έτη 2005 και 2006, αν και τα υπάρχοντα μέχρι τώρα στοιχεία για τα έτη αυτά αποτελούν εκτιμήσεις ή προβλέψεις (Παπαθεοδώρου *et al.*, 2006).

Στην Ελλάδα με βάση τα στοιχεία του 2005 εκτρέφονται 8,5 εκατομμύρια πρόβατα. Σύμφωνα με στοιχεία του 2008 ο εκτρεφόμενος αριθμός προβάτων ανέρχεται στα 9.063.484 με ποσοστό 1% του πληθυσμού προβάτων παγκοσμίως (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης, 2007). Αξιοσημείωτο είναι ότι η χώρα μας παράγει το 30% περίπου του συνολικώς παραγομένου στην Ε.Ε. πρόβειου και αίγειου γάλακτος. Σημειώνεται επίσης ότι το 36% της συνολικής παραγόμενης ποσότητας γάλακτος στην Ελλάδα είναι πρόβειο. Στους Πίνακες 1-3 παρατίθενται στοιχεία σύμφωνα με στοιχεία του FAO, όσον αφορά τον αριθμό εκτρεφόμενων προβάτων, την παραγωγή πρόβειου γάλακτος και κρέατος στην Ελλάδα για το διάστημα 2005-2012.

Πίνακας 1: Η προβατοτροφία στην Ελλάδα για το διάστημα (2005-2012) (Πηγή: <http://faostat.fao.org>)

Αριθμός προβάτων									
	Προϊόν	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Ελλάδα	Πρόβατα	8827078	8791757	8831042	8896587	8994000	8966000	9781000	9585000

Πίνακας 2: Η παραγωγή νωπού πρόβειου γάλακτος (σε τόννους) στην Ελλάδα για το διάστημα (2005-2012) (Πηγή: <http://faostat.fao.org>)

Παραγωγή										
	Προϊόν	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	
Ελλάδα	Νωπό πρόβειο γάλα	752171	753470	749313	785000 *	779000 *	770000 *	773000 *	699500 *	

* = Ανεπίσημα ποσοστά [] =Επίσημα δεδομένα

Πίνακας 3: Η παραγωγή πρόβειου κρέατος (σε τόννους) στην Ελλάδα για το διάστημα (2005-2012) (Πηγή: <http://faostat.fao.org>)

F = εκτίμηση FAO

Παραγωγή										
	Προϊόν	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	
Ελλάδα	Πρόβειο κρέας	86000 F	90000 F	88500 F	86800 F	85370 F	86953 F	89550 F	89845 F	

2.2 Φυλές εκτρέφωμενων προβάτων στην Ελλάδα

Σήμερα στην Ελλάδα εκτρέφονται διάφορες εγχώριες φυλές προβάτων, ανάλογα με το ιδιαίτερο κλίμα και ανάγλυφο κάθε περιοχής. Συγκεκριμένα, υπάρχει ο παραδοσιακός τύπος εκτροφής σε ημιορεινές – ορεινές περιοχές με φυλές όπως Ορεινό Ηπείρου (Μπούτσικο), Καλαρρύτεκο, Σαρακατσάνικο. Επίσης συναντάται σε πεδινές κυρίως περιοχές ο εντατικός τύπος εκτροφής προβάτων με Εγχώριες φυλές όπως η φυλή Χίου και το πρόβατο Φριζάρτα. Στον ημιεντατικό τύπο εκτροφής, χρησιμοποιούνται φυλές όπως το Καραγκούνικο, (Θεσσαλία και γενικότερα σε πεδινές και ημιορεινές περιοχές) το Χιώτικο πρόβατο (Κεντρική Μακεδονία, πεδινές παραθαλάσσιες περιοχές, το πρόβατο Φριζάρτα (πεδινές περιοχές Δυτικής Ελλάδας, και το πρόβατο Σερρών (Κεντρική και Ανατολική Μακεδονία, Θράκη). Ακολουθεί μια

περιγραφή των εγχώριων φυλών προβάτου οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν στα πλαίσια της πειραματικής διαδικασίας της παρούσας διπλωματικής μελέτης (Κουτσώνης, 2011).

2.2.1 Φυλή Χίου

Το πρόβατο της φυλής Χίου είναι ένα μεγαλόσωμο πλατύουρο πρόβατο με κοιτίδα τη νήσο Χίο. Πιστεύεται ότι προήλθε από τη διασταύρωση εγχώριων ομοιόμαλλον λεπτούρων προβάτων με μικρασιατικά πλατύουρα αναμικτόμαλλα πρόβατα. Εμφανίζει πρόωμη γενετική ωριμότητα, υψηλή γαλακτοπαραγωγή και σημαντική ποσοτικά κρεατοπαραγωγή. Το ποσοστό διδυμίας ενέρχεται στο 175%, με υψηλό ποσοστό τριδυμίας. Η εριοπαραγωγή του είναι μέτρια. Μιγάδες των προβάτων Χίου εκτρέφονται σε όλες τις περιοχές της Ελλάδας με αποδόσεις πολύ καλύτερες των μη εγχώριων αβελτίωτων προβάτων (Katanos et al., 2007).

Πρόβατα της φυλής Χίου εκτρέφονται κυρίως στη Μακεδονία (νομοί Χαλκιδικής, Θεσ/κης, Ημαθίας και Πέλλας). Είναι μεγαλόσωμη φυλή. Το ύψος ακρωμίου είναι 84 cm για τους κριούς, 76 cm για τις προβατίνες, ενώ το σωματικό βάρος είναι 87 kg για τους κριούς και 66 kg για τις προβατίνες (εικόνα 2).

Ο χρωματισμός είναι λευκός με χαρακτηριστικές μαύρες κηλίδες στο πρόσωπο, τα αυτιά, τα άκρα και την κοιλιακή χώρα. Το μήκος ουράς είναι 31 cm και το πλάτος ουράς 10 cm (ημιπλατύουρο). Η κεφαλή είναι κωνική με μακρύ πρόσωπο. Τα αυτιά έχουν μεγάλο μέγεθος και είναι ημικρεμάμενα. Τα άκρα είναι ιδιαίτερα υψηλά, ευαίσθητα σε ανώμαλες επιφάνειες.

Αποτελεί μια φυλή πρόωμη με ηλικία ενήβωσης τις 290 ημέρες. Η διάρκεια οιστρικής περιόδου είναι 270 ημέρες και η διάρκεια οιστρικού κύκλου 17 ημέρες. Το μέγεθος τοκετοομάδων στη γέννηση είναι 1,6-2 αμνοί ανά προβατίνα και έτος.

Το βάρος κατά τη γέννηση των αμνών κυμαίνεται από 3,2-4,5 kg. Εκτρέφεται σε ποιμνία οικογενειακής μορφής άνω των 100 ατόμων υπό καλές έως πολύ καλές συνθήκες διατροφής. Είναι ένα ζώο ευαίσθητο σε συνθήκες υψηλής υγρασίας (Παπαθεοδώρου *et al.*, 2006).



Εικόνα 2: Προβατίνα φυλής Χίου με πεντάδυμα αρνιά (επάνω) και κριός φυλής Χίου (κάτω) .

Αποτελεί την πιο γνωστή ελληνική φυλή στον κόσμο κυρίως για την υψηλή πολυδυμία της. Η διάρκεια γαλακτικής περιόδου είναι 210-240 ημέρες και η γαλακτοπαραγωγή της είναι υψηλή και φθάνει η μεν ολική στα 241 kg, η δε αρμεγόμενη στα 174 kg. Η φυλή της Χίου παράλληλα με την καλή παραγωγικότητά της έχει και αρκετά μειονεκτήματα, όπως η παχιά ουρά με τη δυσμενή επίδραση στην ποιότητα του σφαγίου, η ανομοιομορφία του μαστού, η μειωμένη ανθεκτικότητα σε δύσκολες συνθήκες περιβάλλοντος, η έλλειψη προσαρμοστικότητας σε συνθήκες βόσκησης και η μη ικανοποιητική ποιότητα σφαγίου (Katanos et al., 2007).

Η φυλή Χίου χρησιμοποιείται πολύ σε διασταυρώσεις με άλλες εγχώριες φυλές για τη βελτίωση αυτών. Η διασταύρωση της φυλής Χίου με άλλες εγχώριες φυλές επιφέρει αύξηση της γαλακτοπαραγωγής, της πολυδυμίας και της κρεοπαραγωγικής ικανότητας των διασταυρωμένων ζώων. Η ποιότητα των σφαγίων όμως δεν είναι ικανοποιητική. Σε διασταυρωμένα αρνιά μεταξύ της φυλής Χίου και άλλων εγχώριων φυλών βρέθηκε ότι τα διασταυρωμένα αρνιά Χίου, ήταν βαρύτερα από τα καθαρόαιμα άλλων φυλών και από τα διασταυρωμένα μεταξύ άλλων εγχώριων φυλών.

Διασταυρώσεις της φυλής Χίου έγιναν και με άλλες φυλές στο εξωτερικό. Διασταύρωση της φυλής Χίου με το πρόβατο Awassi στην Κύπρο και στην Τουρκία, πραγματοποιήθηκε με πολύ καλά αποτελέσματα στην ανάπτυξη των διασταυρωμένων

αρνιών. Επίσης, στην Αίγυπτο με προβατίνες των φυλών Ossimi και Saidi, με καλά αποτελέσματα στη γαλακτοπαραγωγή, που ήταν αυξημένη έναντι των καθαρών εγχώριων φυλών (Katanos et al., 2007).

2.2.2 Καραγκούνικη Φυλή

Τα πρόβατα της Καραγκούνικης φυλής εκτρέφονται, κυρίως, στη Δυτική Θεσσαλία. Είναι η πολυπληθέστερη ελληνική φυλή. Εκτιμάται ότι ο αριθμός των αμιγώς εκτρεφόμενων προβάτων ανέρχεται σε 200.000 άτομα. Είναι από τα πιο γνωστά ελληνικά πρόβατα και από τα σημαντικότερα σε ό,τι αφορά τις αποδόσεις. Για τους λόγους αυτούς χρησιμοποιούνται, σε ευρεία κλίμακα, σε διάφορα σχήματα διασταυρώσεων που στοχεύουν στη βελτίωση της παραγωγικής ικανότητας άλλων ελληνικών φυλών (Ρογδάκης, 2002).

Τα Καραγκούνικα πρόβατα εκτρέφονται σε ποιμνία των 20 ως 150 ζώων. Φημίζονται για την προσαρμογή τους στις ιδιαίτερα υψηλές θερμοκρασίες του θέρους και τις χαμηλές του χειμώνα. Η Καραγκούνικη φυλή ανήκει στις μεγαλόσωμες φυλές ελληνικών προβάτων. Το ύψος ακρωμίου των κριαριών κυμαίνεται γύρω στα 78 εκ. και των προβατινών γύρω στα 68 εκ., τα αντίστοιχα μέσα σωματικά βάρη είναι 80 και 57 κιλά. Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της φυλής είναι το πολύ κυρτό επιρρίνιο, τα υψηλά άκρα τους και η στρογγυλή και πολύ μακριά ουρά τους, που σε μερικά ζώα αγγίζει σχεδόν το έδαφος.

Ο μαστός των προβατινών είναι στις περισσότερες περιπτώσεις κανονικής διάπλασης με ισχυρή πρόσφυση στους κοιλιακούς μυς. Ο χρωματισμός ποικίλλει από το λευκό ως το μαύρο. Υπάρχουν ζώα τελείως μαύρα, τελείως λευκά ή λευκά με μαύρες κηλίδες, διαφορετικής έκτασης, στον κορμό, στα άκρα και στο κεφάλι ή ολόλευκα με μαύρες κηλίδες μόνο γύρω από τους οφθαλμούς, στα αυτιά και στο ακρορρίνιο (Δεληγιάννης, 2009).

Τα κριάρια, σε ποσοστό 50% περίπου είναι κερασφόρα. Τα κέρατά τους είναι μεγάλα, ισχυρά, ελικοειδή και συνήθως περιτυλίγουν τα αυτιά. Μικρό ποσοστό κριαριών φέρει μικρά και λεπτά μάλλον κέρατα, ενώ τα υπόλοιπα είναι ακέρατα. Οι προβατίνες, κατά κανόνα είναι ακέρατες, υπάρχουν όμως και λίγες προβατίνες με μικρά κέρατα, ενώ εκείνες που φέρουν μικρά και προς τα πλάγια κατευθυνόμενα κέρατα είναι ελάχιστες. Ανήκει στα αναμικτόμαλλα πρόβατα και το μαλλί τους, που δεν έχει

ιδιαίτερη οικονομική σημασία πλέον, δε σχηματίζει μακρείς πλοκάμους και αφήνει ακάλυπτη την κεφαλή, το κάτω μέρος του τραχήλου, την κάτω κοιλιακή χώρα και τα άκρα κάτω από τον αγκώνα και τον ταρσό (Δεληγιάννης, 2009).

Είναι φυλή σχετικά πρώιμη. Κάτω από εντατικές συνθήκες εκτροφής, το 50% από τις αμνάδες είναι δυνατό να γονιμοποιηθεί στην ηλικία των 9-11 μηνών. Η αναπαραγωγική περίοδος εκτείνεται από τον Ιούλιο ως τα τέλη Μαρτίου, ενώ το 57,14% των προβατινών παρουσιάζουν ωοθηκική δραστηριότητα ολόκληρο το έτος. Ο δείκτης πολυδυμίας στη γέννηση κυμαίνεται στο 1,40. Τα περισσότερα αρνιά απογαλακτίζονται απότομα και σφάζονται σε ηλικία 35-45 ημερών. Λίγα μόνο γαλουχούνται επί 60 ημέρες.

Το σωματικό βάρος των μονόδυμων αρνιών στη γέννηση κυμαίνεται στα 4,5 kg και στην ηλικία των 42 ημερών (απογαλακτισμός) στα 14,7 kg. Η μέση ημερήσια αύξησή (ΜΗΑ) τους κυμαίνεται κατά την περίοδο της γαλουχίας από 205 έως 265 g, ενώ η ΜΗΑ των παχυνόμενων αρνιών μετά τον απογαλακτισμό και μέχρι τη σφαγή τους από 140 έως 218 kg (εικόνα 3).

Η γαλακτοπαραγωγική ικανότητα παρουσιάζει μεγάλη παραλλακτικότητα. Από την ανάλυση 48.427 γαλακτικών περιόδων προέκυψε ότι η διάρκεια της γαλακτικής περιόδου κυμαίνεται από 124 έως 206 ημέρες ανάλογα με την εποχή των τοκετών και η μέση γαλακτοπαραγωγή σε 188 kg. Η μέση λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος κυμαίνεται γύρω στο 7,0%.

Εξαιτίας των καλών της χαρακτηριστικών, αλλά και της σχετικά υψηλής γαλακτοπαραγωγικής της ικανότητας, η φυλή έχει χρησιμοποιηθεί σε ευρεία κλίμακα σε διασταυρώσεις αναβάθμισης πολλών πεδινών και ημιορεινών πληθυσμών προβάτων. Έτσι, 2.000.000 περίπου από τα εκτρεφόμενα σήμερα στην Ελλάδα πρόβατα φέρουν γονίδια από το Καραγκούνικο πρόβατο (Δεληγιάννης, 2009).



Εικόνα 3: Καραγκούνικο πρόβατο

2.2.3 Ορεινή φυλή Ηπείρου - Μπούτσικο

Το πρόβατο της Ορεινής φυλής Ηπείρου εκτρέφεται στις ορεινές περιοχές της Ηπείρου, όπου οι δύσκολες περιβαλλοντικές συνθήκες δεν επιτρέπουν την αντικατάστασή του με βελτιωμένες φυλές. Είναι πρόβατο ανθεκτικό και λιτοδίαιτο, άριστα προσαρμοσμένο σε περιοχές με δύσκολες κλιματικές συνθήκες και σε βοσκότοπους υποβαθμισμένους (Δεληγιάννης, 2009).

Ο χρωματισμός των προβάτων της Ορεινής φυλής Ηπείρου, είναι συνήθως λευκός με μαύρες ή ξανθές ή ερυθροκάστανες κηλίδες στο πρόσωπο, στα αυτιά και στα άκρα. Ανάλογα το χρώμα και τη μορφή των κηλίδων ονομάζονται Μπούτσικα, Κάτσενα, Κάλεσα, Μπάκαβα, Βάκρα, Λάϊα και Μπέλλα (Δεληγιάννης, 2009).

Το σωματικό βάρος των προβατινών κυμαίνεται από 35 μέχρι 45 kg και των κριαριών από 45 μέχρι 50 kg, ενώ το ύψος ακρωμίου είναι 65 cm (κριοί), 58 cm (προβατίνες). Η κεφαλή είναι μικρή, με τριγωνικό πρόσωπο. Το επιρρίνιο είναι ελαφρώς κυρτό στους κριούς, ευθύγραμμο στα θηλυκά. Τα αυτιά είναι μικρά έως μετρίου μεγέθους, λεπτά, οριζόντια ή ημιόρθια, το μήκος ουράς είναι 30 cm και το πλάτος ουράς 5 cm (εικόνα 4).

Είναι όψιμη φυλή, δεδομένου ότι εισέρχεται στην αναπαραγωγή σε ηλικία 18 μηνών περίπου. Η μέση εμπορεύσιμη γαλακτοπαραγωγή ετησίως ανέρχεται σε 80 – 100 kg, ωστόσο υπάρχουν άτομα τα οποία ξεπερνούν τα 200 kg και η πολυδυμία είναι της τάξεως του 1,15.

Κατά κανόνα έχουν καλό, συμμετρικό μαστό με καλή τοποθέτηση των θηλών. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος είναι εξαιρετικά. Η ύπαρξη της φυλής, λόγω της διαβλεπόμενης συνεχούς μείωσης του πληθυσμού, κρίνεται ιδιαίτερα επισφαλής (Δεληγιάννης, 2009).



Εικόνα 4: Μπούτσικο πρόβατο

2.2.4 Βελτιωμένη φυλή Ηλείου

Η βελτιωμένη φυλή Ηλείου που χρησιμοποιήθηκε στα πλαίσια της συγκεκριμένης μελέτης προέκυψε έπειτα από τον παρακάτω συνδυασμό: 50% ορεινή φυλή Ηλείου, 25% Φυλή Άρτας και 25% Χιώτικο. Οι φυλές προβάτων που χρησιμοποιήθηκαν για τη βελτίωση της φυλής Ηλείου επιλέχθηκαν με βάση τις αποδόσεις τους, ιδίως όσον αφορά τη γαλακτοπαραγωγή και την πολυδυμία, οι οποίες είναι οι σημαντικότερες από οικονομική άποψη, ιδιότητες.

Οι φυλές οι οποίες ανταποκρίνονται πληρέστερα στις παραπάνω προϋποθέσεις κρίθηκε ότι είναι οι φυλές Άρτας και Χίου. Στις φυλές αυτές η γαλακτοπαραγωγή και ο συντελεστής πολυδυμίας, όπως και το σωματικό βάρος αμνών κατά τον απογαλακτισμό είναι πολύ ανώτερα από της ορεινής φυλής Ηλείου. Οι δύο αυτές φυλές είναι, μαζί με την Καραγκούνικη, οι υψιπαραγωγές, γαλακτοπαραγωγές ελληνικές φυλές. Η φυλή Άρτας εμφανίζει υψηλότερη γαλακτοπαραγωγή (240 kg) από τη Χίου (200 kg), ενώ η φυλή Χίου υπερτερεί ελαφρώς στο συντελεστή πολυδυμίας (1,9 έναντι 1,8) (Ρογδάκης, 2002).

Οι δύο αυτές φυλές εμφανίζουν συμπληρωματικότητα και όσον αφορά τις κλιματικές τους απαιτήσεις η φυλή Χίου είναι περισσότερο ευαίσθητη στο υγρό κλίμα και η φυλή της Άρτας είναι περισσότερο ευαίσθητη σε ξηροθερμικό. Ωστόσο, ο συνθετικός πληθυσμός της Βελτιωμένης Ηλείου αναμένεται να διατηρήσει σε σημαντικό βαθμό την ευρωστία, την προσαρμοστικότητα και την ανθεκτικότητα της ορεινής φυλής Ηλείου, εφόσον αυτή συμμετέχει σε ποσοστό 50% στο γενετικό υλικό του (Εικόνα 5).



Εικόνα 5: Πρόβατο βελτιωμένης φυλής Ηλείου

3. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Σύμφωνα με τις διατάξεις του Κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 853/2004, καθορίζονται τα κριτήρια για το νωπό γάλα, τα οποία αφορούν:

- ✓ Σύσταση γάλακτος
- ✓ Μικροοργανισμοί που απαντώνται στο γάλα
- ✓ Υγιεινή κατάσταση του μαστού
- ✓ Αριθμός σωματικών κυττάρων
- ✓ Φυσικοχημικές ιδιότητες

Συνοπτικά μπορεί να ειπωθεί ότι οι έλεγχοι που πρέπει να γίνονται σε τακτά χρονικά διαστήματα στις μονάδες παραγωγής γάλακτος, ώστε να διασφαλίζεται ότι πληρούνται τα κριτήρια ποιότητας στο νωπό γάλα αλλά και για ένα μικροβιολογικά ασφαλές προϊόν για τους καταναλωτές, είναι οι εξής :

- 1) Έλεγχος της Ο.Μ.Χ. (Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα)
- 2) Έλεγχος της Χημικής Σύστασης:
 - περιεκτικότητα σε Λίπος
 - περιεκτικότητα σε Πρωτεΐνες
 - περιεκτικότητα σε Λακτόζη
 - περιεκτικότητα σε Σ.Υ.Α.Λ. (στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους)
- 3) Προσδιορισμός του Σημείου Πήξεως
- 4) Έλεγχος Σωματικών Κυττάρων
- 5) Ανίχνευση παρουσίας αντιμικροβιακών παραγόντων (αντιβιοτικά)
- 6) Ανίχνευση νοθείας

Ποιοτικά κριτήρια για την παραγωγή γάλακτος έχουν καθιερωθεί σε πολλές χώρες σύμφωνα με τα υγειονομικά, τεχνολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά του. Αυτά τα κριτήρια αποτελούν μέρος της διακίνησης του γάλακτος, κάτι που μπορεί να εξασφαλίσει την καλύτερη ποιότητα των τελικών προϊόντων (Raynal - Ljutovac *et al.*, 2008). Για το λόγο αυτό έχουν θεσπιστεί ποιοτικοί ελεγκτικοί μηχανισμοί κατά τους οποίους το γάλα συλλέγεται συστηματικά και αναλύεται.

Μηχανισμοί αυτού του είδους είναι καλά οργανωμένοι σε χώρες όπως η Γαλλία, η Ιταλία και η Ισπανία, αναπτύσσονται γρήγορα σε χώρες όπως η Ολλανδία, η Νορβηγία, η Πορτογαλία και η Νότιος Αμερική, ενώ στην Ελλάδα έχουν αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια και σχεδόν λείπουν από τις χώρες της Ανατολής (Pirisi *et al.*, 2007). Επίσης, η εφαρμογή του HACCP στα γαλακτοκομικά προϊόντα απαιτεί τη χρήση γρήγορων μεθόδων στη μικροβιολογία (Firstenberg-Eden *et al.*, 2002)

3.1 Χημική σύσταση του γάλακτος

Κάποιοι παράγοντες που επιδρούν στη χημική σύσταση του γάλακτος είναι οι διάφορες ασθένειες του ζώου, η διατροφή, η μέθοδος αρμέγματος, ο αριθμός και το είδος των μικροοργανισμών που συναντώνται στις ζωοτροφές, στα σκεύη και στη μηχανή άμελξης, καθώς επίσης και τα σωματικά κύτταρα (Ανυφαντάκης & Καλατζόπουλος, 1993).

Τα κυριότερα συστατικά του γάλακτος είναι το νερό, το λίπος, οι πρωτεΐνες, η λακτόζη, τα διάφορα ανόργανα άλατα (Ανυφαντάκης & Καλατζόπουλος, 1993). Στον Πίνακα 4 παρατίθεται ενδεικτικά η μέση σύσταση του γάλακτος όσον αφορά τα διάφορα θρεπτικά συστατικά για τα κυριότερα εκτρεφόμενα θηλαστικά.

Πίνακας 4: Μέση σύσταση του γάλακτος διαφόρων θηλαστικών (g/100g) (Mantis, 2000)

Είδος γάλακτος	Νερό	Λίπος	Πρωτεΐνες	Λακτόζη	Τέφρα	ΣΥΑΛ	Ολικά στερεά
Γίδινο	87,00	4,25	3,52	4,27	0,86	8,75	13,00
Αγελαδινό	87,2	3,70	3,50	4,90	0,70	9,10	12,80
Πρόβειο	80,71	7,90	5,23	4,81	0,90	11,39	19,29
Ανθρώπινο	87,43	3,75	1,63	6,98	0,21	8,82	12,57

3.1.1 Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος και ειδικότερα οι καζεΐνες, είναι το πολυτιμότερο συστατικό του καθώς αντιπροσωπεύουν ένα μεγάλο μέρος του γάλακτος και ευθύνονται για πολλά από τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (Stelwagen, 2002a). Το πρόβειο γάλα είναι ιδανικό για την παραγωγή γιαούρτης και τυριού λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς του σε πρωτεΐνη και ολικά στερεά (Haenlein, 1998).

Η μέση περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη του πρόβειου γάλακτος (5,23% w/w) είναι μεγαλύτερη από αυτή του αίγειου (3,52% w/w) και του αγελαδινού (3,5% w/w). Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ποικίλλει ευρέως μεταξύ των ειδών και επηρεάζεται από τη φυλή, το στάδιο της γαλακτοπαραγωγής, τη διατροφή, το κλίμα, την εποχή και την υγιεινή κατάσταση του μαστού (μαστίτιδες). Το αίγειο και το πρόβειο γάλα περιέχει περίπου 0,7-1,0% και 0,4-0,8% N₂ αντίστοιχα, το οποίο είναι κατανεμημένο σε κλάσματα, που παρουσιάζουν μεγάλη τεχνολογική και διατροφική σημασία.

Οι πρωτεΐνες στο πρόβειο γάλα αποτελούν το 95% του ολικού αζώτου. Το αίγειο γάλα έχει μεγαλύτερο ποσοστό μη πρωτεϊνικού N₂ και λιγότερο καζεϊνικό N₂ απ' ό,τι το πρόβειο και το αγελαδινό γάλα. Οι κύριες πρωτεΐνες στο πρόβειο και στο αίγειο γάλα είναι όμοιες με το αγελαδινό, διαφέρουν όμως ως προς τα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά (φυσικοχημικά χαρακτηριστικά), (Πίνακας 5).

Συγκεκριμένα, το πρόβειο και το αίγειο γάλα χρησιμοποιούνται στη χώρα μας, σχεδόν στο σύνολό τους, για τυροκόμηση. Κατά συνέπεια οι καζεΐνες τους, που αποτελούν το σκελετό όλων των τυριών, παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Αυτά τα δύο είδη γάλακτος παρουσιάζουν σημαντικότερες διαφορές στην καζεϊνοπεριεκτικότητά τους σε σχέση με το αγελαδινό γάλα (Πίνακας 6). Πέραν της περιεκτικότητας σε καζεΐνες, παρουσιάζονται επίσης και ποιοτικές διαφορές στις καζεΐνες των τριών ειδών γάλακτος. Και στα τρία είδη υπάρχουν 4 κύρια καζεϊνικά κλάσματα, τα οποία χαρακτηρίζονται ως α_{s1}-, α_{s2}-, β- και κ- καζεΐνες. Η δομή των μορίων των καζεϊνικών κλασμάτων στα 3 είδη γάλακτος διαφέρει. Περιέχουν διαφορετικό αριθμό αμινοξέων στο μόριό τους, ενώ και η πρωτοταγής δομή τους εμφανίζει διαφορές στην αλληλουχία τους. Η καζεΐνη υπάρχει στο πρόβειο και αίγειο γάλα, όπως και στο αγελαδινό, σε μορφή μικκυλών παρόμοιας δομής, όμως οι διαστάσεις τους είναι διαφορετικές (Ανυφαντάκης, 2004, Walstra et al., 2006).

Πίνακας 5: Σύσταση των πρωτεϊνών του βόειου, πρόβειου και αίγειου γάλακτος (Πηγή: Borkova & Snaselova, 2005)

Συστατικό (g/100 g)	Αγελαδινό γάλα	Πρόβειο γάλα	Αίγειο γάλα
Ολική πρωτεΐνη	3,2	4,6	3,2
Καζεΐνες	2,6	3,9	2,6
Πρωτεΐνες του ορού	0,6	0,7	0,6

Πίνακας 6: Αναλογία των κλασμάτων καζεΐνης σε νοπό αγελαδινό, πρόβειο και αίγειο γάλα (Πηγή: Huppertz *et al.*, 2006)

Είδος γάλακτος	Αγελαδινό γάλα	Πρόβειο γάλα	Αίγειο γάλα
Ολική πρωτεΐνη ^α	3,6	5,5	3,1
Καζεΐνες σε σχέση με την ολική πρωτεΐνη ^α	2,88	4,40	2,48
α_{s1} -καζεΐνη ^β	38	16	5
α_{s2} -καζεΐνη ^β	10	15	25
β -καζεΐνη ^{β, γ}	39	47	50
κ -καζεΐνη ^β	13	7	20

^α g / 100g γάλακτος

^β % της ολικής καζεΐνης

^γ συμπεριλαμβάνονται και οι γ -καζεΐνες

Όσον αφορά τις πρωτεΐνες ορού του γάλακτος, σήμερα η β -λακτογλοβουλίνη (β -Lg) έχει απομονωθεί και χαρακτηριστεί σε πρόβειο γάλα (Bell-McKenzie, 1964; Bell-McKenzie, 1967). Η ύπαρξη των δύο γενετικών παραλλαγών στο πρόβειο γάλα, β -LgA και β -LgB, αναφέρθηκε από τους Maubois *et al.* (1965). Ο Mc Kenzie (1971) ανέφερε τη σύνθεση σε αμινοξέα των πρόβειων β -Lg παραλλαγών

3.1.2 Λίπος

Το λίπος είναι το κυριότερο συστατικό του γάλακτος που προσδίδει ενέργεια το οποίο εμφανίζει τη μεγαλύτερη παραλλακτικότητα. Σε αυτό οφείλονται πολλές από τις φυσικές ιδιότητες του γάλακτος και παίζει σημαντικό ρόλο για τη μετέπειτα επεξεργασία του (McGuire and Bauman, 2002).

Η σύσταση του πρόβειου γάλατος παρουσιάζει αξιόλογη διακύμανση στην εκατοστιαία αναλογία των βασικών συστατικών του κατά τη διάρκεια της γαλακτικής

περιόδου και ιδιαίτερα το λίπος. Το λίπος παρουσιάζει μια σχετική μείωση μέχρι την τρίτη εβδομάδα και στη συνέχεια αυξάνεται. Κατά τη δίοδο όμως από τις 3 στις 2 αμέλξεις, ανά 24ωρο, παρατηρείται μία απότομη πτώση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος (2-3%) και απαιτούνται 3-4 εβδομάδες για να ανέλθει και πάλι στα προηγούμενο επίπεδο (Katsaounis & Zygoiannis 1984). Η λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος αυξάνεται σταδιακά κατά τη διάρκεια του αρμέγματος. Εάν το άρμεγμα δεν είναι πλήρες, τότε πέραν από τη μειωμένη απόδοση υπάρχει και χαμηλή λιποπεριεκτικότητα στο γάλα (Ανυφαντάκης, 2004).

3.1.3 Λακτόζη

Η περιεκτικότητα της λακτόζης στο γάλα των μηρυκαστικών παραλλάσσει λιγότερο από αυτή του λίπους και της πρωτεΐνης, είναι το κύριο οσμωτικό συστατικό του γάλακτος και καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την ποσότητα του νερού στο γάλα, δηλαδή την περιεκτικότητα του σε ολικά στερεά (Stelwagen, 2002b).

Θα πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι η γεύση του φρέσκου γάλακτος ποικίλλει από υπόγλυκη έως υφάλμυρη ως αποτέλεσμα της αναλογίας λακτόζης και χλωριούχων αλάτων που περιέχονται σε αυτό. Η γεύση του γάλακτος μπορεί να γίνει όξινη ως αποτέλεσμα της δράσης ποικίλων μικροοργανισμών οι οποίοι διασπούν τη λακτόζη σε γαλακτικό οξύ.

Αξιοσημείωτο είναι ότι η περιεκτικότητα του γάλακτος μηρυκαστικών σε λακτόζη παραλλάσσει λιγότερο από τα άλλα βασικά συστατικά του, ενώ αυξάνεται όταν μειώνεται η συγκέντρωση αλάτων, προκειμένου να διατηρείται σταθερή η οσμωτική πίεση του γάλακτος (Ανυφαντάκης, 2004).

3.1.4 Βιταμίνες

Στον Πίνακα 7 παρουσιάζεται η περιεκτικότητα του πρόβειου γάλακτος σε βιταμίνες. Η βιταμίνη Α υπάρχει κυρίως ως εστέρας του παλμιτικού οξέος και η D ως μίγμα D2 (προέρχεται από τις τροφές) και D3 (προέρχεται από απορρόφηση της προβιταμίνης D στο δέρμα του ζώου). Η βιταμίνη Ε απαντάται κυρίως ως α-τοκοφερόλη (0,1 mg / 100 ml) και ένα μικρό ποσοστό (5%) της όλης δραστηριότητας οφείλεται στη γ-τοκοφερόλη. Η βιταμίνη Κ ανευρίσκεται μόνο σε ίχνη. Από τις

υδατοδιαλυτές βιταμίνες εκείνες του συμπλέγματος Β (θειαμίνη, ριβοφλαβίνη, Β6, βιοτίνη, παντοθενικό οξύ) βρίσκονται σταθερά στο γάλα των μηρυκαστικών ανεξάρτητα από τη διακύμανση της περιεκτικότητάς τους στην τροφή.

Πίνακας 7: Περιεκτικότητα του γάλακτος προβάτου σε βιταμίνες (mg/100 ml) (Πηγή: Hartman & Dryden, 1974)

Βιταμίνη Α	143
Θειαμίνη (Β1)	0.07
Ριβοφλαβίνη (Β2)	0.328
Νιασίνη	0.427
Βιταμίνη Β6	-
Παντοθενικό οξύ	0.364
Βιοτίνη	0.0093
Βιταμίνη Β12	0.000064
Βιταμίνη C	0.43

3.1.5 Στερεά συστατικά

Το γάλα του προβάτου είναι περισσότερο πλούσιο σε στερεά συστατικά σε σύγκριση με το γάλα της αγελάδας (Πίνακας 4), αλλά η εκατοστιαία αναλογία των στερεών συστατικών του παρουσιάζει διακυμάνσεις ανάλογα με τη φυλή, τη γαλακτική περίοδο, τη διατροφή και τις κλιματικές συνθήκες.

3.1.6 Άλατα

Τα κύρια άλατα του γάλακτος είναι τα χλωριούχα, φωσφορικά και κιτρικά του ασβεστίου, μαγνησίου, καλίου και νατρίου (Πίνακας 8) όπου παρατηρείται ότι το γάλα του προβάτου υπολείπεται σε μαγνήσιο, θείο και κιτρικά άλατα σε σχέση με το αγελαδινό γάλα.

Πίνακας 8: Σύσταση των αλάτων και ιχνοστοιχείων του γάλακτος (Πηγή: Posati and Orr, 1976; IDF 1986; Saini and Gill, 1991).

Άλατα	Περιεκτικότητα γάλακτος σε άλατα	
	Πρόβατο	Αγελάδα
Κάλιο	1,5	1,6
Νάτριο	0,4	0,5
Ασβέστιο	2,3	1,3
Μαγνήσιο	-	0,14
Φώσφορος	1,6	1
Χλώριο	0,7	1,1
Θείο	-	0,35
Κιτρικά	-	1,8

3.1.7 Ένζυμα

Αρκετές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος. Ιδίως, ορισμένα πρωτεολυτικά ενζυμικά συστήματα όπως η πλασμίνη και η καθεψίνη D έχουν χαρακτηριστεί ευεργετικά στο βόειο γάλα, όσον αφορά την προέλευση και τον ρόλο τους στο το γάλα και το τυρί. Η πλασμίνη είναι το κύριο πρωτεολυτικό ένζυμο. Όπως έχει ήδη αναφερθεί βρίσκεται στο γάλα με τη μορφή ενός συστήματος (σύστημα πλασμίνης πλασμινογόνου και ένα σύμπλοκο από ενεργοποιητές και αναστολείς). Αυτό το σύστημα παίζει σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση των καζεϊνών, μειώνοντας την απόδοση του τυριού λόγω της απώλειας σε πρωτεόζες - πεπτόνες στον ορό του γάλακτος (Fox and Kelly, 2006). Άλλα ενδογενή πρωτεολυτικά ένζυμα που σχετίζονται με σωματικά κύτταρα στο γάλα είναι η ελαστάση, οι καθεψίνες και η κολλαγενάση (Kelly and McSweeney, 2002). Το επίπεδο της καθεψίνης D στο γάλα συσχετίζεται με τον αριθμό σωματικών κυττάρων (O'Driscoll et al., 1999) και συνδέεται με τα μακροφάγα (Owen και Campbell, 1999). Το ένζυμο αυτό συμβάλλει στη διάσπαση της

καζεΐνης και εμφανίζει μία πρωτεολυτική δραστηριότητα παρόμοια με εκείνη της χυμοσίνης. Η ελαστάση είναι μια ουδέτερη πρωτεΐνάσης τύπου σερίνης. Η δυνητική σημασία της ελαστάσης στην πρωτεόλυση και στην ποιότητα γάλακτος έχει ερευνηθεί (Considine et al., 1999, 2000).

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, πολλά από τα ένζυμα στο γάλα προέρχονται από τα σωματικά κύτταρα. Η παρουσία τους στο γάλα ως ενεργά ένζυμα υποδηλώνει ότι η διαρροή τους ή η έκκρισή τους είναι ανάλογη με τις διάφορες φυσιολογικές ή εξωτερικές επιδράσεις (π.χ. , το στάδιο γαλακτικής περιόδου ή την έναρξη ενδομαστικής μόλυνσης).

Αξίζει να διερευνηθεί κατά πόσον συγκεκριμένες ενζυμικές δραστηριότητες θα μπορούσαν να συνδέονται με διαφορετικό είδος σωματικών κυττάρων στο πρόβειο γάλα, δεδομένου ότι οι διαφορές στην ενεργότητα των ενζύμων γάλακτος είναι σημαντικές όχι μόνον με βάση τον φυσιολογικό ρόλο τους, αλλά και ως δείκτες ποιότητας του γάλακτος όσον αφορά τις ιδιότητες πήξης.

Η οξειδάση της ξανθίνης έχει αναφερθεί ότι στο πρόβειο γάλα περιέχει περισσότερη περιεκτικότητα ροδανάσης από το αγελαδινό γάλα (Alfonso and Berman, 1953). Το γάλα είναι η καλύτερη πηγή οξειδάσης της ξανθίνης, ενώ συναντάται επίσης στο ήπαρ και συντίθεται στα βακτηριακά κύτταρα. Η παρουσία του ενζύμου αυτού στο γάλα διαπιστώθηκε αρχικά από τον Schardinger, το 1902 και έκτοτε αναφέρεται συχνά με το όνομά του. Η ενεργότητα του ενζύμου λιπάσης έχει βρεθεί ότι είναι αυξημένη στο πρόβειο γάλα (Chandan *et al.*, 1968), ενώ δεν συμβαίνει το ίδιο με τη λυσοζύμη (Chandan *et al.*, 1965, Chandan *et al.*, 1968).

3.2 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά

Το ειδικό βάρος του γάλακτος αγελάδας κυμαίνεται από 1,029-1,038 και του πρόβειου γάλακτος από 1,034-1,038. Η οξύτητα του πρόβειου γάλακτος είναι σημαντικά υψηλότερη του αγελαδινού, γεγονός που οφείλεται στη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε καζεΐνη της οποίας ο όξινος χαρακτήρας είναι γνωστός αλλά και στην αυξημένη ρυθμιστική του ικανότητα. Γάλα με σημείο πήξης υψηλότερο του $-0,525\text{ }^{\circ}\text{C}$ πρέπει να θεωρείται νοθευμένο. Το μέσο σημείο πήξης του πρόβειου γάλατος υπολογίζεται ότι είναι $-0,580\text{ }^{\circ}\text{C}$ και του αγελαδινού $-0,550\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Τέλος, το γάλα περιέχει διάφορα είδη ιόντων κατά συνέπεια είναι αγωγός του ηλεκτρικού ρεύματος. Τα ιόντα του νατρίου, καλίου και χλωρίου του γάλακτος είναι

εκείνα που κατά βάση διαμορφώνουν την αγωγιμότητά του, επειδή υπάρχουν σε μεγάλη συγκέντρωση. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα του γάλακτος έχει χρησιμοποιηθεί από πολλούς ως δείκτης προσβολής των ζώων από μαστίτιδα (Zadoks *et al.*, 2004). Στις περιπτώσεις μαστίτιδας παρατηρείται αύξηση των ανιόντων χλωρίου και κατά συνέπεια αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας. Το πρόβειο γάλα έχει μικρότερη ηλεκτρική αγωγιμότητα από το αγελαδινό (Ανυφαντάκης, 2004).

3.3 Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX)

Η ποιότητα του γάλακτος μπορεί, να εκτιμηθεί από τη μέτρηση του μικροβιακού πληθυσμού στο γάλα, είτε με τον προσδιορισμό των ολικών βακτηρίων (*OMX: Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα* ή *TBC: Total Bacteria Count* ή *cfu: colony forming units*), είτε με την παρουσία συγκεκριμένων ειδών μικροοργανισμών. Το ενδιαφέρον σχετικά με την παρουσία βακτηρίων στο γάλα σχετίζεται με την υγεία του καταναλωτή.

Η ποιότητα του γάλακτος, όσον αφορά το μικροβιακό περιεχόμενο καθορίζει σε μεγάλο βαθμό τον τύπο του προϊόντος που προκύπτει (Muir, 1996). Επίσης, υψηλό μικροβιακό φορτίο στο φρέσκο γάλα σημαίνει πιθανά προβλήματα σε ό,τι αφορά την ασφάλεια του τελικού προϊόντος (Sorhaug and Stepaniak 1997, Gunasekera *et al.*, 2003; Gonzalo *et al.*, 2006). Λίγες πληροφορίες υπάρχουν σχετικά με την OMX στο γάλα του προβάτου (Muehlherr *et al.*, 2003), ενώ στην αγελάδα υπάρχουν στοιχεία που συσχετίζουν την OMX με την κλινική και υποκλινική μαστίτιδα (Jayarao and Wolfgang 2003, Phuektes *et al.*, 2003; Zadoks *et al.*, 2004).

Ο αριθμός (από μερικές εκατοντάδες μέχρι και εκατοντάδες χιλιάδες ανά ml) και το είδος των μικροοργανισμών που εμφανίζονται στο γάλα εξαρτάται από την εποχή του έτους, από τις συνθήκες υγιεινής που επικρατούν στην συγκεκριμένη εκτροφή, από την παρεχόμενη τροφή και από την αποτελεσματική και ταχεία ψύξη του γάλακτος (Frank and Hassan, 2003). Ιδιαίτερη σημασία για τη διατήρηση της ποιότητας του γάλακτος έχει η άμεση ψύξη του μετά το άρμεγμα. Η ταχύτητα αλλοίωσης του γάλακτος εξαρτάται από τον αριθμό και το είδος των μικροβίων που περιέχει καθώς και από τη θερμοκρασία που διατηρείται. Η κρίσιμη θερμοκρασία για τα βακτήρια, που συνήθως υπάρχουν στο γάλα είναι γύρω στους 13°C. Κάτω από αυτήν τη θερμοκρασία ο ρυθμός πολλαπλασιασμού τους επιβραδύνεται σημαντικά ενώ πάνω από 13°C επιταχύνεται (Ανυφαντάκης, 2004).

Για να επιτυγχάνεται ο έλεγχος του γάλακτος και να εξάγονται χρήσιμα συμπεράσματα μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα, νέες μέθοδοι και τεχνικές, όπως το αυτοματοποιημένο όργανο Bactoscan, έχουν υιοθετηθεί ευρέως για την ανάλυση μεγάλου αριθμού δειγμάτων (Kelly *et al.*, 2006). Μια τελευταία καινοτομία που εισήχθη στην αγορά είναι το Microfoss System, το οποίο βασίζεται στις αλλαγές των οπτικών χαρακτηριστικών του υποστρώματος οι οποίες συμβαίνουν λόγω της μεταβολικής δραστηριότητας των μικροοργανισμών (Shelef and Eden, 1996). Το Microfoss System είναι χρήσιμο στη γαλακτοβιομηχανία και προσφέρει ακρίβεια, ταχύτητα, αυτοματισμό και απαιτεί λιγότερο εργαστηριακό εξοπλισμό (Firstenberg-Eden *et al.*, 2002).

Στις Ηνωμένες Πολιτείες ανώτατο επιτρεπτό όριο για τον πληθυσμό των μικροοργανισμών στο αγελαδινό γάλα είναι 100.000 - 300.000 κύτταρα/ml. Για την οικογένεια των Κολοβακτηριδίων (Coliform) των οποίων η παρουσία είναι ενδεικτική ότι το γάλα παράγεται σε συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξη παθογόνων, τα νόμιμα όρια στις ΗΠΑ για το παστεριωμένο γάλα είναι μικρότερο των 10 cfu/ml. Ένα προτεινόμενο όριο για το φρέσκο γάλα είναι τα 100cfu/ml. Στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται ενδεικτικά διαφορετικές πηγές μόλυνσης του γάλακτος καθώς και τα είδη των μικροοργανισμών που προκαλούν αυτές τις μολύνσεις. Επιπρόσθετα, το φρέσκο γάλα περιέχει μικροοργανισμούς, των οποίων ο πολλαπλασιασμός εξαρτάται κυρίως από τη θερμοκρασία συντήρησής του και την ανταγωνιστικότητα της μικροχλωρίδας. Τα κύρια κριτήρια που καθορίζουν το γάλα ως «γάλα υψηλής ποιότητας» είναι η παρουσία μικρού αριθμού μικροοργανισμών και η απουσία παθογόνων σ' αυτό (Frank and Hassan, 2003).

Πίνακας 9: Πηγές μόλυνσης για το γάλα (Frank and Hassan, 2003)

Πηγή	Είδος μικροοργανισμού
Ανθρώπος	Coliforms, Salmonella, Enterococcus, Staphylococcus
Αέρας	Streptococci, Micrococci, Coryneforms, Bacillus, Yeast and moulds
Εσωτερικό του μαστού	Streptococcus, Micrococcus, Corynebacterium
Κόπρανα	Escherichia coli, Staphylococcus, Listeria, Mycobacterium, Salmonella
Εξωτερικό του μαστού και θηλές	Micrococcus, Staphylococcus, Enterococcus, Bacillus
Αμελκτικός εξοπλισμός	Micrococcus, Streptococci, Bacillus, Coliforms
Στρωμνή	Clostridium, Bacillus, Klebsiella
Έδαφος	Clostridium, Bacillus, Pseudomonas, Mycobacterium, Yeast and moulds
Τροφή	Clostridium, Listeria, Bacillus, Lactic acid bacteria
Νερό	Coliforms, Pseudomonas, Coryneforms, Alcaligenes

Η Ευρωπαϊκή Ένωση με τις οδηγίες 92/46 και 94/71 καθόρισε τα κριτήρια υγιεινής και βακτηριολογικής ποιότητας του αιγοπρόβειου γάλακτος όπως αυτά παρουσιάζονται στον Πίνακα 10.

Πίνακας 10: Κριτήρια της βακτηριολογικής ποιότητας του αιγοπρόβειου γάλακτος (Οδηγία 94/71/EC, 1994)

Γάλα	Για παραγωγή προϊόντων μετά από θερμική επεξεργασία		Για παραγωγή προϊόντων χωρίς θερμική επεξεργασία	
	OMX (Bacterial Count) στους 30°C (n/ml)	<3.000.000 (1/1/95)	<1.500.000 (1/12/99)	<1.000.000 (1/1/95)

Επιπλέον στον Πίνακα 11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών σχετικά με τις γαλακτοπαραγωγικές μονάδες της χώρας μας, τα οποία αναφέρονται στην πενταετία 2000 - 2004 (Ανυφαντάκης, 2004) και αφορούν τον αριθμό των σωματικών κυττάρων και την ολική μικροβιακή χλωρίδα ανά ml πρόβειου και αίγειου γάλακτος.

Πίνακας 11: Αριθμός σωματικών κυττάρων και ολική μικροβιακή χλωρίδα ανά ml πρόβειου και αίγειου γάλακτος διαφόρων περιοχών της χώρας (Ανυφαντάκης, 2004).

Περιοχές	Σωματικά κύτταρα		Μικρόβια	
	Πρόβειο	Γίδινο	Πρόβειο	Γίδινο
Καλαβρύτων	1.123 x 10 ³	890 x 10 ³	7.358 x 10 ³	8.041 x 10 ³
Θεσσαλίας	1.274 x 10 ³	1.386 x 10 ³	11.472 x 10 ³	12.457 x 10 ³
Κρήτης	1.140 x 10 ³	1.684 x 10 ³	5.710 x 10 ³	12.013 x 10 ³
Βοιωτίας	1.382 x 10 ³	1.602 x 10 ³	11.884 x 10 ³	12.229 x 10 ³

4. ΥΓΙΕΙΝΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

Η μαστίτιδα έχει συχνά ως συνέπεια την παραγωγή αλλοιωμένης σύστασης και μικρής ποσότητας γάλακτος, με μεγάλο αριθμό παθογόνων μικροοργανισμών.

Η συχνότητα εμφάνισης μαστίτιδας στα πρόβατα ποικίλλει από χώρα σε χώρα ακόμα και από περιοχή σε περιοχή. Οι πρόσφατες έρευνες στις ΗΠΑ δείχνουν ότι ο αριθμός των προβάτων που βγαίνουν εκτός παραγωγικής διαδικασίας με το αιτιολογικό της μαστίτιδας σε ορισμένες φυλές φτάνει το 46% ενώ στην Αγγλία κυμαίνεται από 13-50% ανάλογα με τη φυλή και τον τρόπο εκτροφής. Στη Γερμανία, έρευνα σε 6.500 πρόβατα έδειξε ότι το 7% νοσούσε από κλινική μαστίτιδα και το 84% από υποκλινική μαστίτιδα. Στην Ελλάδα το ποσοστό αυτό φαίνεται να είναι ιδιαίτερα μεγάλο, δεδομένου ότι υπάρχουν αναφορές με ποσοστά που κυμαίνονται από 40-80% των δειγμάτων που εξετάστηκαν (Ζδράγκας, 2012).

Η επίδραση της μαστίτιδας στην χημική σύσταση του παραγόμενου πρόβειου γάλακτος και κατ' επέκταση στην ποιότητά του αφορά (Ζδράγκας, 2012):

- Την αύξηση σωματικών κυττάρων που συνοδεύεται από μείωση της λακτόζης, της καζεΐνης, των ολικών στερεών και ελάχιστα της λιποπεριεκτικότητας, ενώ ταυτόχρονα την αύξηση των πρωτεϊνικής και μη πρωτεϊνικής φύσεως αζωτούχων ουσιών.
- Τις αλλαγές που επιδρούν δυσμενώς στις βασικές παραμέτρους της τυροκόμησης, όπως ο χρόνος πήξης, η αναλογία σχηματισμού τυροπήγματος, τυρογάλακτος και η σταθερότητα του τυροπήγματος.
- Ύπαρξη τοξικών ουσιών ή παθογόνων μικροβίων

Έτσι, το γάλα, που προέρχεται από αδένα προσβεβλημένο από μαστίτιδα, είναι χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος, πρωτεΐνες, λακτόζη και κάλιο, αλλά υψηλής σε νάτριο και χλώριο. Ακόμη, είναι αυξημένος ο αριθμός των μικροβίων και των σωματικών κυττάρων (μαστικά εκκρινικά κύτταρα και λευκά αιμοσφαίρια). Σύμφωνα με οδηγία της ΕΕ, το νωπό γάλα που προορίζεται για την παραγωγή θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος για κατανάλωση, π.χ. παστεριωμένο, θα πρέπει να περιέχει ανά ml, σωματικά κύτταρα το πολύ 200.000 / ml και OMX στους 30°C το πολύ 100.000 /ml (Μπελιμπασάκης, 2000).

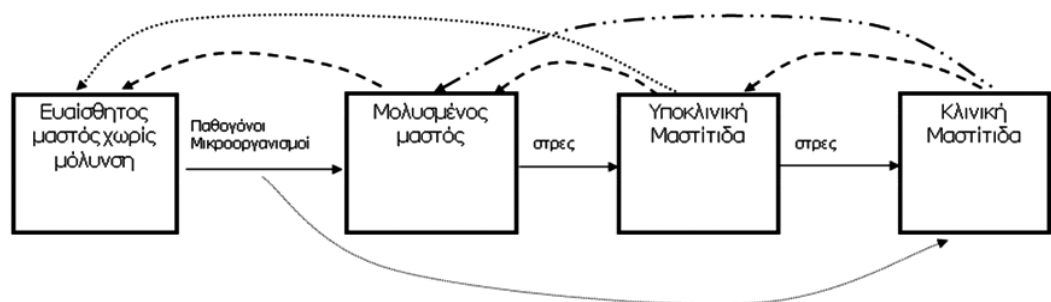
Όσον αφορά το pH του μασθητικού γάλακτος, η οξύτητα μειώνεται και σε σοβαρή προσβολή το γάλα γίνεται ελαφρά αλκαλικό. Στην περίπτωση μαστίτιδας υπάρχουν

σημαντικές μεταβολές και στις τιμές των ενζύμων που εμφανίζονται στο γάλα. Συγκεκριμένα, αυξάνεται η αλκαλική φωσφατάση και μειώνεται η όξινη (Andrews και Alichanidis, 1975). Επίσης, η ενεργότητα της καταλάσης χρησιμοποιείται στη διάγνωση του γάλακτος που προέρχεται από ζώα που πάσχουν από μαστίτιδα, διότι η δραστηριότητά της αυξάνεται κατά 10-15 φορές (Kitchen et al., 1970). Οι λιπάσες αδρανοποιούνται πλήρως στις μαστίτιδες, ενώ η δραστηριότητα της ξανθίνης-οξειδάσης αυξάνεται με αύξηση του αριθμού των σωματικών κυττάρων στο γάλα.

4.1 Τύποι μαστίτιδας

Ανάλογα με τις συνέπειες που προκαλούν τα μικρόβια και οι τοξίνες τους στα εκτρεφόμενα ζώα και κυρίως στο μαστό διακρίνονται οι παρακάτω περιπτώσεις:

1. **Λανθάνουσα μαστίτιδα:** Εμφάνιση μικροοργανισμών στο γάλα, απουσία κλινικών συμπτωμάτων.
2. **Υποκλινική μαστίτιδα:** Εμφάνιση μικροοργανισμών, αύξηση σωματικών κυττάρων, αλλοίωση ποιότητας γάλακτος, μείωση ποσότητας γάλακτος, χωρίς εξωτερικά συμπτώματα.
3. **Κλινική μαστίτιδα:** Συμπτώματα όπως της υποκλινικής μαστίτιδας με επιπλέον εξωτερικά συμπτώματα στο μαστό.



Εικόνα 7: Η εξέλιξη της μαστίτιδας προσδιορίζει και τις συνέπειές της (Πηγή: Στεφανάκης, 2008)

Στην Εικόνα 7, παρουσιάζεται ο μηχανισμός εκδήλωσης μαστίτιδας, που εμπλέκεται με τη μόλυνση του μαστού του ζώου. Ουσιαστικά, αναπαριστώνται τα πιθανά στάδια τα οποία μπορεί να οδηγήσουν στην εκδήλωση είτε υποκλινικής είτε κλινικής μαστίτιδας.

Στην κλινική μορφή μαστίτιδας υπάρχουν εμφανή σημάδια της ασθένειας στα ζώα. Ήπια συμπτώματα είναι η παρουσία πηγμάτων και νιφάδων στο γάλα και ένα ελαφρύ πρήξιμο στο μολυσμένο τεταρτημόριο του μαστού. Το ζώο μπορεί συχνά να παρουσιάζει ανορεξία, πυρετό και ταχυπαλμία. Σπάνια, η μαστίτιδα μπορεί να οδηγήσει ακόμη και στο θάνατο (Christ *et al.*, 1997). Τα περισσότερα κρούσματα μαστίτιδας είναι υποκλινικά. Δεν υπάρχουν εμφανή συμπτώματα της ασθένειας και η ασθένεια στον μολυσμένο μαστό είναι δύσκολο να ανιχνευθεί (Christ *et al.*, 1997). Δεν είναι ασυνήθιστο να βρίσκονται μέσα σε μια αγέλη ζώα με μαστίτιδα σε ποσοστό μέχρι 40%. Οι μολύνσεις μαστού ακολουθούνται από αύξηση στον αριθμό των σωματικών κυττάρων του γάλακτος. Αυτή η αύξηση είναι σημάδι ότι το ανοσοποιητικό σύστημα του ζώου έχει ενεργοποιηθεί. Ο αριθμός σωματικών κυττάρων του γάλακτος είναι ο καλύτερος δείκτης του βαθμού στον οποίο ο μαστικός αδένας καταπολεμά μια λοίμωξη και γι' αυτό αποτελεί και τον καλύτερο τρόπο για την ανίχνευση υποκλινικής μαστίτιδας.

Η ανίχνευση της υποκλινικής μαστίτιδας είναι ιδιαίτερα δύσκολη, καθώς το γάλα δείχνει φυσιολογικό και ο μαστός δεν είναι κόκκινος ή πρησμένος. Το ζώο εμφανίζεται υγιές χωρίς κανένα σημάδι πυρετού, κακουχίας ή δραματικής πτώσης στη παραγωγή γάλακτος από το μολυσμένο τεταρτημόριο. Επίσης, τα ζώα που δεν έχουν ανιχνευθεί ότι νοσούν, συμβάλλουν στη διάδοση της μόλυνσης στην αγέλη όταν η μαστίτιδα έχει προκληθεί από βακτήρια (Bailey, 1996) (Εικόνα 8).



Εικόνα 8: Περίπτωση κλινικής μαστίτιδας (αριστερά) και υποκλινικής μαστίτιδας (δεξιά) σε μαστό αγελάδας.



Εικόνα 9: Χρόνια μαστίτιδα σε πρόβατο με εμφανές οίδημα του μαστού (Πηγή: www.nadis.org.uk)

Ενώ στις γαλακτοπαραγωγές αγελάδες, από τα αποτελέσματα πολλών ερευνών, προκύπτει η μετάβαση από την υποκλινική μαστίτιδα στην κλινική και το αντίστροφο (Bakken & Gudding, 1982), αυτό δεν φαίνεται να ισχύει στις προβατίνες, όπου η κλινική και η υποκλινική μαστίτιδα, έχουν αυτοτελή πορεία (Bor et al., 1989) (εικόνα 9). Η διάγνωση της υποκλινικής μαστίτιδας στηρίζεται σε εργαστηριακές εξετάσεις όπως είναι: 1) η καταμέτρηση του αριθμού των σωματικών κυττάρων (scc) στο γάλα, 2) η μικροβιολογική εξέταση, 3) η καταμέτρηση της τιμής των πρωτεϊνών, αλβουμίνης (albumin) και αντιθρυψίνης (antitrypsin) στον ορό του γάλακτος, 4) η καταμέτρηση της τιμής των ενζύμων, N-ακετυλο-β-D-γλυκοσαμινιδάση (N-acetyl-β-D-glucosaminidase) - (NAGase), της γαλακτικής αφυδρογονάσης (lactate dehydrogenase LDH), της αμινοτρανσφεράσης του ασπαρτικού (asparat-aminotransferase) - (AST) στον ορό του γάλακτος και 5) η πρωτεόλυση και η παρουσία των D-αμινοξέων στο γάλα (Maisi et al., 1987; Kitchen et al., 1980).

4.2 Παράγοντες εμφάνισης μαστίτιδας

Η εμφάνιση της μαστίτιδας αποτελεί συνδυασμό παραγόντων, όπως το είδος του ζώου, το είδος παθογόνων μικροοργανισμών και οι συνθήκες περιβάλλοντος. Γενικά τα αίτια της μαστίτιδας μπορούν να διακριθούν σε μολυσματικά και μη μολυσματικά.

4.2.1 Μολυσματικά αίτια

Στα μολυσματικά αίτια της μαστίτιδας αναφέρονται τα βακτηριακά και τα ιογενή αίτια. Πάνω από 90 διαφορετικά είδη βακτηρίων και ιών έχουν απομονωθεί ως αιτιολογικοί παράγοντες πρόκλησης μαστίτιδας. Όμως, μερικά από αυτά, όπως είναι ο *Staphylococcus aureus*, οι αρνητικοί στην πηκτάση Σταφυλόκοκκοι, η *Pasteurella haemolytica*, ο *Streptococcus agalactiae* και *Streptococcus dysgalactiae*, ο *Streptococcus uberis* και ορισμένα εντεροβακτήρια απομονώθηκαν σε πάνω από 90% των περιπτώσεων μαστίτιδας (Philpot, 1978; Philpot, 1979). Τα αίτια της εμφάνισης μαστίτιδας σε ζώα γαλακτοπαραγωγής αφορούν τους μικροοργανισμούς που ακολουθούν (Μπελιμπασάκης, 2000):

- *Staph. aureus*, *Strep. agalactiae*, *Strep. dysgalactiae* (χρόνιες ή υποκλινικές μαστίτιδες με απευθείας εντόπιση εντός και επί του μαστού, με τον *Staph. aureus* να μην ανταποκρίνεται καλά στη θεραπεία).
- *Str. uberis*, *E. coli* (περιβαλλοντικές μαστίτιδες, δεν εποικίζουν συνήθως το μαστό αλλά βρίσκονται σε οργανικά υποστρώματα του περιβάλλοντος, συχνά εκδηλώνονται με συμπτώματα, αντιδρούν συνήθως στη θεραπεία).
- *Pseudomonas*, *Mycoplasma*

α) Βακτηριακά αίτια

1. Σταφυλόκοκκοι

Από μελέτες που έγιναν σε διάφορες χώρες, προκύπτει το συμπέρασμα ότι ο *S. aureus* αποτελεί παγκοσμίως τον πρωταρχικό αιτιολογικό παράγοντα πρόκλησης υποκλινικής, αλλά κυρίως κλινικής μαστίτιδας των προβάτων. (Nocard, 1887; Pegreff, 1963; El-Masannat, 1987, Jones, 1991). Ο μηχανισμός παθογένειας του *S. aureus* οφείλεται στην α-τοξίνη, την πηκτάση, την πρωτεΐνη Α, τη λευκοκτονίνη, τα

τειχοϊκά/τειχουρονικά οξέα και στις πεπτιδογλυκάνες. Οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι αποτελούν τους συχνότερους αιτιολογικούς παράγοντες πρόκλησης υποκλινικής μαστίτιδας τόσο των γαλακτοπαραγωγών όσο και των κρεοπαραγωγών προβάτων (El-Masannat, 1987; Fthenakis, 1988), των αιγών (Routrel, 1984), και των βοοειδών (Nickerson, 1987). Κάτω από ορισμένες συνθήκες είναι σε θέση να προκαλέσουν και κλινική μαστίτιδα (Fthenakis & Jones, 1990a). Η μαστίτιδα μπορεί να παραμείνει σ' όλη τη διάρκεια της γαλακτικής και της ξηράς περιόδου και να συνεχιστεί στην επόμενη γαλακτική περίοδο (Routrel, 1984; Nickerson, 1987). Οι σταφυλόκοκκοι αρνητικοί στην πηκτάση είναι ευρέως διαδεδομένοι στο δέρμα των ανθρώπων και των ζώων (Kloos, 1980). Μάλιστα στην περιοχή του μαστού και της θηλής των αγελάδων και των προβατίνων αποτελούν την κυριότερη μικροβιακή χλωρίδα. Τα κυριότερα στελέχη που απομονώνονται από την περιοχή αυτή είναι: *O. S. simulans*, *S. xylosus*, *S. hyicus subsp. chromogenes*, και *S. epidermidis* (Fthenakis, 1988).

2. Μυκοπλάσματα

Τα μυκοπλάσματα μπορεί να φθάσουν στο μαστικό αδένα, είτε δια μέσω του θηλαίου πόρου, είτε αιματογενώς μετά από γενικευμένη λοίμωξη. Η λοιμώδης αγαλαξία οφείλεται στο *Mycoplasma agalactiae*, που, εκτός από μαστίτιδα και αγαλαξία, προκαλεί αποβολές, κερατοεπιπεφυκίτιδα και αρθρίτιδα. Η παραγόμενη ποσότητα γάλακτος ελαττώνεται και μπορεί να φτάσει μέχρι την πλήρη αγαλαξία.

Το έκκριμα είναι ορώδες με πήγματα, έχει κίτρινη ή πρασινωπή χροιά και υφάλμυρη γεύση. Η θνησιμότητα των ζώων κυμαίνεται από 10 έως 30% (Turner, 1959). Η μυκοπλασματική μαστίτιδα εμφανίζεται πολύ συχνά στις χώρες της Μεσογείου, της Μέσης Ανατολής καθώς και της Βορείου Αφρικής. Άλλα είδη μυκοπλασμάτων, που έχουν συσχετιστεί με μαστίτιδα, είναι: *Mycoplasma arginini*, *Mycoplasma capricolum capricolum*, *Mycoplasma mycoides capri* και *Mycoplasma putrefaciens* (Jones, 1983), ενώ στα βοοειδή το *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma canadense* (Ball, 1990) και *Mycoplasma bovis*. Το *Mycoplasma capricolum capricolum* θεωρείται ότι είναι λιγότερο παθογόνο για το πρόβατα απ' ό,τι για τις αίγες, αν και υποστηρίζεται από ορισμένους ερευνητές (Jones, 1983) ότι το βακτήριο αυτό μπορεί να προκαλέσει σοβαρή λοίμωξη στα πρόβατα, ιδιαίτερα στα νεαρά. Παρόλα αυτά, φαίνεται ότι τα πρόβατα είναι λιγότερο ευαίσθητα από τις αίγες σε ενοφθαλμισμό του *Mycoplasma*

capricolum capricolum μέσω της ενδομαστικής οδού, καθότι στις προβατίνες προκαλεί μόνο μαστίτιδα, ενώ στις αίγες επιπλέον και γενικευμένη νόσο.

3. *Clostridium perfringens*

Στο παρελθόν πολλοί ερευνητές είχαν θεωρήσει ότι το *Clostridium perfringens* προκαλεί μαστίτιδα, επειδή απομονωνόταν από αυτές. Όμως, από άλλες έρευνες (Pegreff, 1963; El-Masannat, 1987) προέκυψε ότι αποτελεί κυρίως παράγοντα επιμόλυνσης της γαγγραινώδους μαστίτιδας.

4. Στρεπτόκοκκοι

Τα διάφορα είδη του γένους *Streptococcus* δεν παίζουν το ίδιο σημαντικό ρόλο στην παθολογία του μαστού των προβατινών, όσο στις γαλακτοπαραγωγές αγελάδες. Παρόλα αυτά, από έρευνες προκύπτει ότι αποτελούν αιτιολογικούς παράγοντες μαστίτιδας στις προβατίνες. Έτσι, ο Κογκον (1981) στη Βουλγαρία απέδειξε ότι ο *S. agalactiae* προκαλεί μαστίτιδα σε προβατίνες. Σε ανάλογες έρευνες ο Pisanu & Manca (1964) στην Ιταλία απέδωσαν την εμφάνιση μαστίτιδων σε κοπάδια προβατινών στον *S. uberis* και τέλος ο Pisanu (1960) στην Ιταλία στον *S. zooepidermicus*.

5. Άλλα βακτήρια

Ο *Actinobacillus lignieresii* προκαλεί διάφορες παθολογικές καταστάσεις στα πρόβατα, κυρίως στα μαλακά μέρη της κεφαλής. Από έρευνες που έγιναν στην περιοχή του Queensland της Αυστραλίας (Laws and Elder, 1969) προέκυψε ότι ο μικροοργανισμός αυτός προκαλεί και μαστίτιδα με φυσιολογική και πειραματική μόλυνση. Πολλά άλλα είδη βακτηρίων είναι επίσης σε θέση να προκαλέσουν μαστίτιδα στα πρόβατα. Μερικά από αυτά είναι: *Actinomyces pyogenes* (Weitz & Langridge, 1947; Fthenakis-Jones, 1990b), *Corynebacterium bovis* (Maisi et al., 1987), *Bacillus cereus* (Jones & Turnbull, 1981), *Brucella melitensis* (Quinlivan, 1972), *Pseudomonas aeruginosa* (Azizzuddin & Nair, 1954; Honhold & Carter, 1987), *Escherichia coli* (Quinlivan, 1968a), *Klebsiella pneumoniae* (Mandal et al., 1977).

β) Ιογενή αίτια

Ο ιός Maedi-Visna, της οικογένειας Lentivirus, έχει την ικανότητα να προκαλεί σε διάφορα όργανα λεμφοκυτταρικές αλλαγές. Αποδείχτηκε ότι ο παραπάνω ιός προκαλεί

τυπικές λεμφοκυτταρικές αλλοιώσεις στο μαστικό αδένα (Oliver *et al.*, 1981; Cutlip *et al.*, 1985; Molen *et al.*, 1985).

Για πρώτη φορά, στην Ολλανδία, αναφέρθηκε από τους Molen *et al.* (1985) μαστίτιδα οφειλόμενη σε ιό. Οι ερευνητές αυτοί βρήκαν ότι σε κοπάδια προβάτων μολυσμένα με τον ιό της Maedi-Visna η συχνότητα αλλοιώσεων του μαστικού αδένα ανερχόταν σε 63%, ενώ σε κοπάδια απαλλαγμένα από τη νόσο σε 8%. Έρευνες που έγιναν από τους Pekelder *et al.* (1994), σχετικές με την ανάπτυξη των αμνών, απέδειξαν, ότι δεν παρατηρείται διαφορά βάρους κατά τη γέννηση των αμνών μεταξύ υγιών προβατίνων και προβατίνων προσβεβλημένων με Maedi-Visna, αλλά ούτε στην θνησιμότητα των αμνών, που κυμαίνεται περίπου στο 10%. Υπάρχει όμως σημαντικότερη διαφορά βάρους των αμνών κατά τον απογαλακτισμό, που μπορεί να φτάσει ακόμη και στα 5 kg και είναι συνάρτηση της σοβαρότητας της λεμφοκυτταρικής μαστίτιδας που προκαλεί ο ιός στις προβατίνες.

4.2.2 Μη μολυσματικά αίτια

Όσον αφορά στα μη μολυσματικά αίτια της μαστίτιδας αναφέρονται α) οι διάφοροι τραυματισμοί του μαστού από κακή λειτουργία του συστήματος της αρμεκτικής μηχανής ή μη σωστού θηλασμού των αμνών (αμνοί πολύ πεινασμένοι ή μεγάλης ηλικίας) και β) οι περιπτώσεις μαστίτιδας που οφείλονται σε αλλεργικούς και νεοπλασματικούς παράγοντες (Tunncliffe, 1949).

4.2.3 Λοιπά αίτια

- Ζώα με υψηλή παραγωγή είναι πιο ευάλωτα στην εκδήλωση μαστίτιδων.
- Ζώα μεγάλα σε ηλικία είναι περισσότερο ευάλωτα από τα νεότερα.
- Μια αγελάδα στην αρχή της γαλακτοπαραγωγικής περιόδου είναι πιο ευάλωτη από το μέσον ή το τέλος της γαλακτικής περιόδου.
- Η ανατομική κατάσταση του μαστού. Μαστός με μεγάλες θηλές ή μεγάλος μαστός (κρεμάμενος) έχει μεγάλες πιθανότητες να προσβληθεί από μαστίτιδα.

4.2.4 Συνθήκες περιβάλλοντος

Οι παράγοντες του περιβάλλοντος που μπορεί να συμβάλλουν στην εμφάνιση μαστίτιδας είναι οι εξής:

- ❖ **Ενσταβλισμός:** Επιβάλλεται συχνή ανανέωση και η εξασφάλιση καθαρού αέρα του στάβλου για να αποβάλλονται το διοξείδιο του άνθρακα, οι παθογόνοι μικροοργανισμοί, η κακοσμία, οι υδρατμοί .
- ❖ **Κλίμα:** Διατήρηση θερμοκρασίας και υγρασίας σε σταθερά επίπεδα.
- ❖ **Συνθήκες υγιεινής:** Συχνός καθαρισμός του στάβλου από τη στρωμνή, την κοπριά και πλύσιμο - απολύμανση των θηλάστρων της αρμεκτικής μηχανής.
- ❖ **Σύστημα αρμέγματος:** Πιθανή επιμόλυνση του ζώου ή του νωπού γάλακτος από διάφορα παθογόνα (Klungel et al, 2000)

5. ΣΩΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

5.1 Γενικά

Η ποιότητα του γάλακτος μπορεί να εκτιμηθεί βάσει μέτρησης ορισμένων παραμέτρων οι οποίες δείχνουν κατά πόσο το προϊόν είναι κατάλληλο για κατανάλωση ή για επεξεργασία προς παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων καθώς επίσης και την κατάσταση της υγείας του ζώου ή ολόκληρου του ποιμνίου. Η κύρια παράμετρος που χρησιμοποιείται διεθνώς για την εκτίμηση των ανωτέρω, είναι ο αριθμός των σωματικών κυττάρων (*SCC: Somatic Cell Count*) του γάλακτος.

Όταν ο μαστός μολυνθεί, το ανοσοποιητικό σύστημα της αγελάδας ενεργοποιείται και ο αριθμός των σωματικών κυττάρων αυξάνεται. Η μέτρηση των σωματικών κυττάρων στο γάλα είναι γνωστή στη διεθνή βιβλιογραφία με τη συντομογραφία **SCC (Somatic Cell Count)** και χρησιμοποιείται ως δείκτης της υγείας του μαστού καθώς και της σοβαρότητας της μαστίτιδας.

Τα σωματικά κύτταρα του γάλακτος μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις τύπους: στα επιθηλιακά κύτταρα, στα λευκοκύτταρα (λεμφοκύτταρα, μακροφάγα, πολυμορφοπύρηνα) και στα κυτταροπλασματικά σωματίδια. Η αναλογία μεταξύ των τύπων αυτών μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου και της υγιεινής κατάστασης του μαστού και συγκεκριμένα : α) σε υγιή μαστό, η αναλογία λεμφοκυττάρων/πολυμορφοπύρηνων/επιθηλιακών κυττάρων είναι 1:1,5:14 ενώ β) σε μαστό με μαστίτιδα, η αναλογία λεμφοκυττάρων/πολυμορφοπύρηνων/επιθηλιακών κυττάρων είναι 1:10:10. Ουσιαστικά, όμως αυτός ο δείκτης αναφέρεται στον αριθμό των λευκοκυττάρων/ml και ιδίως των πολυμορφοπύρηνων καθώς αυτά αποτελούν την πλειοψηφία των σωματικών κυττάρων και αυξάνονται κατά τη μαστίτιδα. (Pirisi *et al.*, 2007). Τα κύτταρα αυτά είναι μέρος του ανοσοποιητικού συστήματος του μαστού και των προστατευτικών μηχανισμών του μαστικού αδένου (Harmon, 1994).

Ο αριθμός των σωματικών κυττάρων στο γάλα (**SCC**) αποτελεί αντικείμενο δημοσιευμένων ερευνών από το 1910 (Prescott and Breed, 1910) και αποτελεί το ευρύτερα αποδεκτό κριτήριο βαθμονόμησης της υγιεινής κατάστασης του μαστού σε μία γαλακτοπαραγωγό αγέλη. Σε έναν υγιή μαστό ο αριθμός σωματικών κυττάρων είναι σχεδόν σταθερός με εξαίρεση τις πρώτες εβδομάδες μετά τον τοκετό. Ένας σχετικά

σταθερός αριθμός κυττάρων εκκρίνεται στο γάλα κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου (Emanuelson & Persson, 1984, Miller *et al.*, 1993).

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η έκκριση των συστατικών γάλακτος στα αιγοπρόβατα είναι διαφορετική από ό,τι στις αγελάδες. Η έκκριση των συστατικών γάλακτος στα αιγοπρόβατα είναι αποκρινής, σε σύγκριση με τη μεροκρινή έκκριση στις αγελάδες. Η αποκρινής έκκριση οδηγεί σε απώλεια πυρηνικών και μη πυρηνικών οργανιδίων στο γάλα. Τα πυρηνικά οργανίδια συμπεριλαμβάνονται στο συνολικό αριθμό των σωματικών κυττάρων. Για το λόγο αυτό το φυσιολογικό γάλα αιγοπροβάτων έχει μεγαλύτερο αριθμό σωματικών κυττάρων σε σχέση με το αγελαδινό γάλα. Αυτή η υψηλότερη τιμή στο γάλα αιγοπροβάτων εν μέρει προκαλείται από αύξηση του ποσοστού αποβολής επιθηλιακών κυττάρων και από την παρουσία κυτταροπλασματικών μαζών που συμβαίνουν ως επακόλουθο της αποκρινούς εκκριτικής διαδικασίας. Οι ηλεκτρονικοί μετρητές κυττάρων δεν μπορούν να διαφοροποιήσουν με ακρίβεια τα επιθηλιακά κύτταρα, τα κυτταροπλασματικά σωματίδια και τα λευκοκύτταρα. Μόνο οι μέθοδοι μέτρησης που είναι εξειδικευμένοι στο δεσοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA) μπορούν να κάνουν διάκριση μορίων με μορφή κυττάρων από τα σωματικά κύτταρα, δίνοντας έτσι μια αξιόπιστη εκτίμηση του αριθμού SCC στο γάλα αιγοπροβάτων.

Πολλοί ερευνητές (El-Masannat, 1987; Fthenakis, 1988; Green, 1984; Mackie and Rodgers, 1986; Stefanakis *et al.*, 1995) προτείνουν την τιμή των 1×10^6 κύτταρα/ml στα Ελληνικά πρόβατα. Οι Saratsis *et al.* (1999) σε πειραματική μελέτη με προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής και σε διασταυρωμένες Χιώτικες προβατίνες δεν κατάφεραν να απομονώσουν κανένα βακτήριο σε δείγματα με SCC μικρότερο από 1×10^6 κύτταρα/ml. Άλλοι ερευνητές έχουν θέσει τιμές οι οποίες βρίσκονται πολύ κοντά σε αυτές που ισχύουν για το αγελαδινό γάλα.

Στο επίπεδο του συνολικού μαστού και σε επίπεδο τεταρτημορίου ο φυσιολογικός αριθμός σωματικών κυττάρων είναι γενικά κάτω από 200.000/ml γάλακτος και μπορεί να είναι και κάτω από 100.000/ml σε ζώα πρώτης γαλακτικής περιόδου (Harmon & Reneau, 1993). Έχει προταθεί ότι αγελάδες με αριθμό σωματικών κυττάρων χαμηλότερο από 200.000/ml είναι απίθανο να έχουν μολυνθεί από κάποιο από τα κυριότερα παθογόνα της μαστίτιδας, ενώ αγελάδες με αριθμό μεγαλύτερο από 300.000/ml έχουν πιθανόν μολυνθεί (Brolund, 1985, Smith, 1996). Σύμφωνα με μια μελέτη του Eberhart και των συνεργατών του (1979) το 50% των μη μολυσμένων αγελάδων είχε αριθμό σωματικών κυττάρων κάτω από 100.000/ml και το 80% κάτω από 200.000/ml.

Το όριο των 200.000 κυττάρων/ml γάλακτος είναι αυτό που χρησιμοποιείται περισσότερο ως ένδειξη μαστίτιδας (Dohoo, 2001). Επίσης αξίζει να σημειωθεί σε μαστό αγελάδας ότι έχει σημασία αν η μέτρηση των σωματικών κυττάρων έχει γίνει στο γάλα όλου του μαστού ή σε επίπεδο τεταρτημορίου. Οι Timms και Schultz (1984) έδειξαν σε μια μελέτη τους ότι το 70-80% των μολυσμένων αγελάδων ήταν μολυσμένες μόνο σε ένα τεταρτημόριο.

Έχει παρατηρηθεί ότι σε μη μολυσμένα τεταρτημόρια ο αριθμός σωματικών κυττάρων αυξάνεται από 83.000 την 35^η ημέρα γαλακτοπαραγωγής στις 160.000 την 265^η ημέρα (Sheldrake *et al.*, 1983). Το γεγονός της αύξησης των σωματικών κυττάρων καθώς προχωρά η γαλακτοπαραγωγή επιβεβαιώνεται και από πιο πρόσφατες έρευνες (Rupp *et al.*, 2000, Haile-Mariam *et al.*, 2001, Fadlemoula *et al.*, 2008). Ο αριθμός των σωματικών κυττάρων είναι υψηλός αμέσως μετά τον τοκετό και μειώνεται γρήγορα κατά τη διάρκεια της πρώτης εβδομάδας της γαλακτοπαραγωγής. Αυτός ο υψηλός αριθμός σωματικών κυττάρων τις πρώτες ημέρες της γαλακτοπαραγωγής οφείλεται στο υψηλό ποσοστό ανοσοσφαιρινών του πρωτογάλακτος. Αν το ζώο έχει ένα μολυσμένο μαστό ο αριθμός σωματικών κυττάρων μειώνεται πιο αργά (Saloniemi, 1995).

Η προσβολή των γαλακτοπαραγωγών εκτρεφόμενων ζώων από νοσήματα, έχει ως αποτέλεσμα συχνά τη μείωση της ποσότητας του παραγόμενου γάλακτος και πολλές φορές τη μεταβολή της σύστασής του. Χαρακτηριστικές αλλαγές στη σύνθεση του γάλακτος παρατηρούνται σε περίπτωση μαστίτιδων (Πίνακας 12).

Στην περίπτωση αυξημένου αριθμού σωματικών κυττάρων η περιεκτικότητα ΣΥΑΛ (στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους) του γάλακτος διαφέρει ελάχιστα, ενώ τα επίπεδα λίπους του γάλακτος, η καζεΐνη και η λακτόζη συνήθως μειώνονται. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του γάλακτος αυξάνεται λόγω της κυκλοφορίας των συστατικών του αίματος στο γάλα και ιδιαίτερα των ανοσοσφαιρινών. Το ιοντικό περιβάλλον του γάλακτος αλλάζει με την αύξηση των επιπέδων νατρίου και χλωρίου και την μείωση του επιπέδου του καλίου. Η περιεκτικότητα σε ασβέστιο μειώνεται όσο το επίπεδο της καζεΐνης, μειώνεται. Δεδομένου ότι το ισοζύγιο αλάτων είναι φορτισμένο, το ίδιο ενδέχεται να συμβαίνει με το pH, με άνοδο πάνω από το κανονικό επίπεδο του pH 6,5 έως 6,7.

Οι επιπτώσεις της ασθένειας στην ποιότητα του γάλακτος για τη μεταποίηση είναι ποικίλες. Αυξημένα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων και ανάπτυξη ανεπιθύμητων οσμών (**off-flavours**). Αυτό έχει σημασία για την ποιότητα των προϊόντων αυξημένης λιποπεριεκτικότητας, όπως η κρέμα γάλακτος, το βούτυρο και

ορισμένα τυριά. Η πρωτεόλυση, σε συνδυασμό με την αλλαγή στην ιοντική ισορροπία, μπορεί να μειώσει την σταθερότητα στη θερμότητα του γάλακτος, με αποτέλεσμα τα προϊόντα, να καθίστανται ελαττωματικά κατά τη διάρκεια της παστερίωσης και υψηλότερης θερμικής κατεργασίας. Η μείωση της καζεΐνης, επηρεάζει αρνητικά την απόδοση και την ποιότητα του τυριού (Schallibaum, 2001).

Πίνακας 12: Σύσταση % μαστιτικού αγελαδινού γάλακτος, με βάση τον αυξανόμενο αριθμό των σωματικών κυττάρων (Πηγή: Schallibaum, 2001).

Συστατικά γάλακτος	SCC ($\times 10^3$ cells/ml)			
	<100	<250	500-1000	>1000
Μείωση (σε g/100ml)				
Λακτόζη	4.90	4.74	4.60	4.21
Καζεΐνη	2.81	2.79	2.65	2.25
Λίπος	3.74	3.69	3.51	3.13
Αύξηση (σε g/100ml)				
Πρωτεΐνες ορού γάλακτος (Ολικές)	0.81	0.82	1.10	1.31
Αλβουμίνες ορού	0.02	0.15	0.23	0.35
Ανοσογλοβουλίνες	0.12	0.14	0.26	0.51
Cl	0.091	0.096	0.121	0.147
Na	0.057	0.062	0.091	0.105
K	0.173	0.180	0.135	0.157
pH	6.6	6.6	6.8	6.9

Σήμερα, ο αριθμός των σωματικών κυττάρων (SCC) του γάλακτος χρησιμοποιείται ευρέως για την εκτίμηση της ποιότητας του γάλακτος αγελάδων, προβάτων αλλά και αιγών και κατ' επέκταση καθορίζει και την τιμή του (Morgante *et al.*, 1996; Kalantzopoulos *et al.* 2004, Paare *et al.* 2007). Επίσης, χρησιμοποιείται στη γενετική επιλογή (Pirisi *et al.*, 2007) ενώ αποτελεί ταυτόχρονα κριτήριο καταλληλότητας του γάλακτος για κατανάλωση και περαιτέρω επεξεργασία για παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων (Kelly *et al.*, 2006). Οι περισσότερες μελέτες έχουν γίνει στο αγελαδινό γάλα και έχουν δείξει ότι μία αύξηση στο SCC προκαλεί μείωση της γαλακτοπαραγωγής και επηρεάζει τη σύνθεση του γάλακτος, οδηγώντας σε επιδείνωση της τυροκομικής του ικανότητας (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008). Οι έρευνες, όμως, που μελετούν την επίδραση του SCC στην γαλακτοπαραγωγή είναι σπάνιες για τα αιγοπρόβατα (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008), ίσως, επειδή παρουσιάζουν σχετικά υψηλότερα επίπεδα SCC στο γάλα των υγιών μαστών τους (Paare *et al.*, 2007). Το SCC του γάλακτος των προβατίνων μπορεί να φτάσει τιμές της τάξης του $20-60 \times 10^6$ κύτταρα/ml χωρίς να παρουσιαστούν κλινικά συμπτώματα μαστίτιδας και με το γάλα να διατηρεί τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά του (Paare *et al.*, 2001).

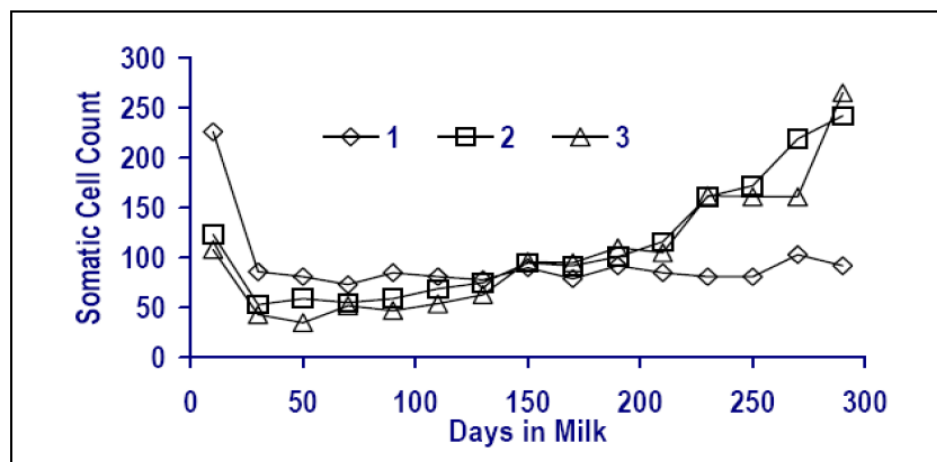
5.2 Παράγοντες που επιδρούν στον αριθμό των σωματικών κυττάρων στο γάλα

5.2.1 Στάδιο γαλακτικής περιόδου

Ο αριθμός των σωματικών κυττάρων στο γάλα μη μολυσμένων αγελάδων είναι υψηλός μετά τον τοκετό, χαμηλός στη μέση της γαλακτικής περιόδου και έχει την υψηλότερη τιμή του λίγο πριν από τη ξηρά περίοδο (Reneau, 1986). Η εξέλιξη του αριθμού των σωματικών κυττάρων κατά τη γαλακτική περίοδο συνήθως είναι η αντίστροφη της καμπύλης της γαλακτοπαραγωγής (Eberhart *et al.*, 1979) (εικόνα 10).

Με βάση τη μελέτη των Bianchi *et al.* (2004), που αφορούσε την επίδραση της υγιεινής κατάστασης του μαστού και του σταδίου γαλακτικής περιόδου στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του γάλακτος, παρατηρήθηκε ότι οι τιμές pH παρέμειναν εντός του φυσιολογικού εύρους στο πρόβειο γάλα, ενώ η οξύτητα αυξήθηκε ($P < 0,05$) προς το τέλος της γαλακτικής περιόδου, γεγονός που υποδηλώνει ένα υψηλότερο περιεχόμενο μορίων με ρυθμιστική δραστηριότητα, όπως οι καζεΐνες (Alais,

1984). Η περιεκτικότητα σε λακτόζη παρουσίασε τάση μείωσης με προώθηση της γαλουχίας ($P < 0,05$), ενώ το λίπος και οι καζεΐνες αυξήθηκαν ($P < 0,05$) με την πρόοδο της γαλακτικής περιόδου. Όπως ήταν αναμενόμενο προς το τέλος της γαλακτικής περιόδου, η χαμηλότερη παραγωγή γάλακτος συνδέθηκε με μια προοδευτική αύξηση σε συγκεντρώσεις λίπους γάλακτος και πρωτεϊνών.



Εικόνα 10: Σωματικά κύτταρα στο γάλα αγελάδων πρώτου (◆), δεύτερου(■) και τρίτου(▲) τοκετού σε σχέση με το στάδιο γαλακτοπαραγωγής (Woloszyn, 2007)

5.2.2 Ηλικία του ζώου

Γενικά όσο αυξάνεται η ηλικία του ζώου αυξάνεται και ο αριθμός των σωματικών κυττάρων στο γάλα. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται από διάφορους ερευνητές (Fadlemula *et al.*, 2008). Σε μία έρευνα αναφέρεται ότι ο μέσος αριθμός σωματικών κυττάρων, ανεξαρτήτως της κατάστασης μόλυνσης, ήταν 232.000 στην πρώτη γαλακτική περίοδο και 868.000 σε αγελάδες μεγαλύτερες των 7 ετών (Eberhart *et al.*, 1979).

5.2.3 Εποχή

Γενικά, ο αριθμός των σωματικών κυττάρων είναι υψηλότερος κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού και χαμηλότερος το χειμώνα (Emanuelson & Persson, 1984). Η εποχιακή επίδραση στον αριθμό των σωματικών κυττάρων στο γάλα είναι αμφισβητήσιμη, διότι δεν μπορεί να θεωρηθεί ότι οφείλεται στη φυσιολογία του ζώου αλλά είναι μάλλον

αποτέλεσμα της αυξημένης βακτηριακής μόλυνσης λόγω των ευνοϊκών συνθηκών για την ανάπτυξη των βακτηρίων (Reneau, 1986).

5.3 Ποσοστό λακτόζης

Μεταξύ του αριθμού των σωματικών κυττάρων και του ποσοστού λακτόζης υπάρχει μια έντονα αρνητική συσχέτιση (Berglund *et al.*, 2007). Το ποσοστό της λακτόζης στο μαστιτικό γάλα είναι μειωμένο κατά 10%. Η λακτόζη είναι το σημαντικότερο ωσμωτικό συστατικό του γάλακτος και το μειωμένο επίπεδό της οδηγεί σε διατάραξη της ισορροπίας μεταξύ αίματος και γάλακτος (Πίνακας 13).

Πίνακας 13: Ποσοστά λακτόζης σε σχέση με τον αριθμό των σωματικών κυττάρων (Rajčević *et al.*, 2003).

Scc (10 ³ /ml)	<100	<250	250-500	500- 1.000	>1.000
Λακτόζη %	4,68	4,61	4,54	4,49	4,38

5.4 Ύψος γαλακτοπαραγωγής

Γενικά ο αυξημένος αριθμός σωματικών κυττάρων στο γάλα συνδέεται με μείωση στη γαλακτοπαραγωγή. Αύξηση του αριθμού σωματικών κυττάρων περισσότερο από 100.000/ml γάλακτος έχει συνδεθεί με προοδευτική μείωση στη γαλακτοπαραγωγή. Στον Πίνακα 14 φαίνεται η εκτιμώμενη έκταση μαστίτιδας και η εκτιμώμενη μείωση της γαλακτοπαραγωγής σε σχέση με τον αυξημένο αριθμό σωματικών κυττάρων στο συνολικό γάλα της εκμετάλλευσης γαλακτοπαραγωγών αγελάδων (Jones *et al.*, 1984).

Πίνακας 14: Εκτιμώμενη μείωση της γαλακτοπαραγωγής που σχετίζεται με την αύξηση του δείκτη των σωματικών κυττάρων στο γάλα (Jones *et al.*, 1984).

Μέσος όρος του δείκτη σωματικών κυττάρων	Μέσος όρος του αριθμού σωματικών κυττάρων μιας αγελάδας (κύτταρα/ml)	Μείωση γαλακτοπαραγωγής	
		1 ^η γαλακτική περίοδος	2 ^η ή μεγαλύτερη γαλακτική περίοδος
		(Kgr/αγελάδα/305 ημέρες)	
0	12.500	-	-
1	25.000	-	-
2	50.000	-	-
3	100.000	90	180
4	200.000	180	360
5	400.000	270	540
6	800.000	360	720
7	1.600.000	450	900

6. ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΛΑΣΜΙΝΗΣ – ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ

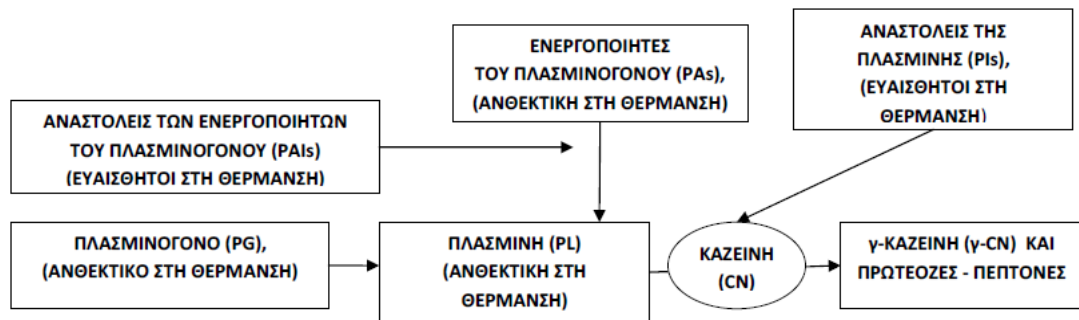
6.1 Εξέταση σε βιοχημικό επίπεδο

Το σύστημα ενεργοποίησης του πλασμινογόνου ή σύστημα πλασμίνης - πλασμινογόνου είναι ένα χρονικά ελεγχόμενο, πολλαπλών χρήσεων, ενζυμικό σύστημα. Η κύρια πρωτεΐνη του συστήματος είναι το πλασμινογόνο. Το πλασμινογόνο είναι ένα προένζυμο το οποίο δύναται να μετατραπεί στο ενεργό ένζυμο πλασμίνη, μέσω της δράσης των δύο ενεργοποιητών του πλασμινογόνου (ΕΠ) α) ιστικού τύπου (ΕΠ-I) και β) τύπου ουροκινάσης (ΕΠ-O) (Bastian and Brown, 1996). Το ανενεργό ζυμογόνο πλασμινογόνο μετατρέπεται στο ενεργό ένζυμο της πλασμίνης μέσω της διάσπασης του πρωτεϊνικού δεσμού μεταξύ των αμινοξέων αργινίνης⁵⁶⁰ και βαλίνης⁵⁶¹ στον άνθρωπο (Robbins et al., 1967, Sottrup - Jensen et al., 1975) και του δεσμού αργινίνης⁵⁵⁷-ισολευκίνης⁵⁵⁸ στα βοοειδή (Schaller et al., 1985).

Η πλασμίνη (ΠΛ) είναι μια πρωτεΐνάση τύπου σερίνης, η οποία βρίσκεται στο γάλα μαζί με την ανενεργό της μορφή, το πλασμινογόνο (ΠΓ) (Politis *et al.*, 1989 a και b, Politis, 1996). Η πλασμίνη και το πλασμινογόνο εισέρχονται στο γάλα, κυρίως από το αίμα, μέσω του τοιχώματος των γαλακτικών κυττάρων και συνδέονται με το κλάσμα της καζεΐνης του γάλακτος. Παρουσιάζει βέλτιστη ενεργότητα σε pH 7,5 - 8 και σε θερμοκρασία 37°C αλλά είναι σταθερή και ενεργή σε σχετικά ευρεία περιοχή pH, όπως φαίνεται από τη δραστηριότητά της σε διάφορα τυριά (Bastian and Brown, 1996). Είναι χαρακτηριστική η σταθερότητά της στη θέρμανση, καθώς για την αδρανοποίησή της στο γάλα απαιτούνται πολύ έντονες συνθήκες θέρμανσης, π.χ. 73°C για 40 min (Walstra *et al.*, 2006).

Η ενεργότητα της πλασμίνης στο γάλα ελέγχεται από ένα σύστημα ενεργοποιητών ενζύμων και αναστολέων (Εικόνα 11). Η μετατροπή του πλασμινογόνου (ΠΓ) σε πλασμίνη (ΠΛ) και επομένως και η υδρόλυση της καζεΐνης μπορεί να επιβραδυνθεί από τη δράση των αναστολέων των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου (PAIs). Οι αναστολείς της πλασμίνης (PIs) και οι αναστολείς των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου (PAIs) βρίσκονται κυρίως στον ορό του γάλακτος και η ενεργότητά τους επηρεάζεται από τις διακυμάνσεις του pH και τη θερμική επεξεργασία. Οι ενεργοποιητές του πλασμινογόνου (PAs), θεωρούνται ακόμη πιο σταθεροί στη

θέρμανση σε σχέση με την πλασμίνη (ΠΛ) και το πλασμινογόνο (ΠΓ) και επιβιώνουν της παστερίωσης, σε αντίθεση με τους αναστολείς τους (PAIs). Ως εκ τούτου, οι ενεργοποιητές του πλασμινογόνου (PAs) μπορεί να έχουν σημαντική επίδραση στην ενεργότητα της πλασμίνης (ΠΛ) στο γάλα, η οποία με τη σειρά της μπορεί να προκαλέσει είτε ευεργετική είτε επιζήμια πρωτεόλυση στα γαλακτοκομικά προϊόντα.



Εικόνα 11: Σύστημα πλασμίνης – πλασμινογόνου (Richardson, 1983a)

Η ενεργότητα της πλασμίνης (ΠΛ) ή των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου (PAs) μπορεί να ανασταλεί από τους αναστολείς της πλασμίνης (PIs) ή από τους αναστολείς των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου (PAIs), αντίστοιχα.

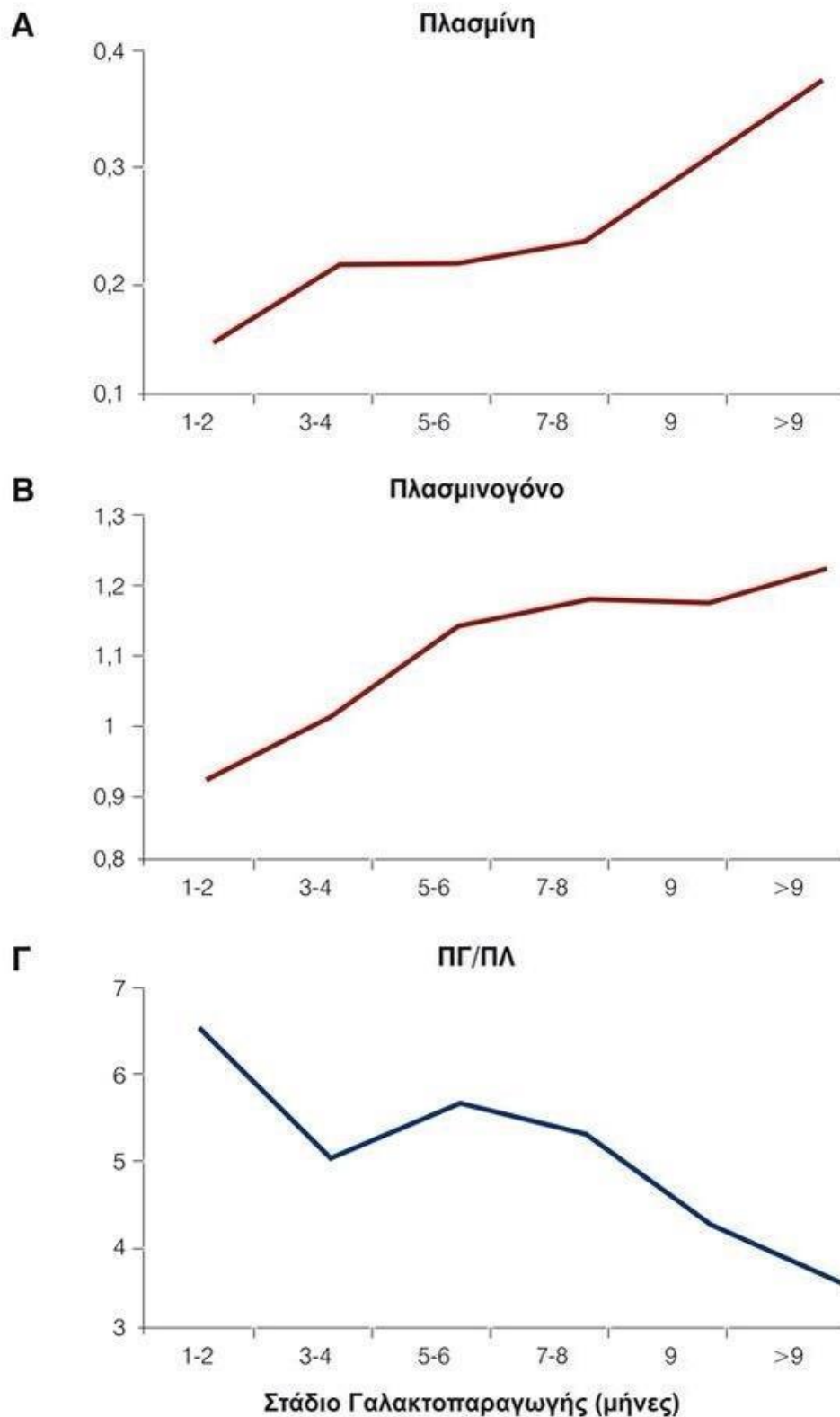
6.2 Τρόπος δράσης του συστήματος πλασμίνης - πλασμινογόνου κατά την παρουσία / απουσία μαστίτιδας

Η ενεργότητα της πλασμίνης και των ενζύμων που απαρτίζουν όλο το σχετικό σύστημα μπορεί να επηρεάσει δυσμενώς την ποιότητα νωπού γάλακτος εξαιτίας της πρωτεόλυσης, αλλά σχετίζεται και με τη σταθερότητα πολλών γαλακτοκομικών προϊόντων.

Οι Gilmore *et al.* (1995 b) μελέτησαν την ενεργότητα του ΕΠ-Ο στο γάλα με χαμηλό αριθμό σωματικών κυττάρων από γαλακτοπαραγωγές αγελάδες κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου. Οι ερευνητές παρατήρησαν αυξημένη ενεργότητα του ΕΠ-Ο κατά το τελευταίο στάδιο της γαλακτοπαραγωγής, σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην αρχή και το μέσο της γαλακτοπαραγωγής στο κλάσμα της

καζεΐνης. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στην ενεργότητα του ΕΠ-Ο κατά τη διάρκεια της γαλακτοπαραγωγής στο κλάσμα του ορού του γάλακτος. Οι Politis *et al.* (1989a) μελέτησαν, επίσης, την επίδραση του σταδίου της γαλακτοπαραγωγής στο σύστημα πλασμίνης - πλασμινογόνου σε αγελάδες γαλακτοπαραγωγής. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ενεργότητα των ενζύμων ήταν ιδιαίτερος χαμηλή στα πρώτα στάδια της γαλακτικής περιόδου (1-2 μήνες μετά τον τοκετό). Επιπλέον, ο λόγος πλασμινογόνου/πλασμίνης ήταν υψηλός κατά το ίδιο στάδιο της γαλακτικής περιόδου. Συνεπώς, το σύστημα παραμένει ανενεργό σε φυσιολογικό μαστό κατά τα πρώτα στάδια της γαλακτοπαραγωγής που συμπίπτουν με το μέγιστο της γαλακτοπαραγωγής.

Ακολουθώς, παρατηρείται μία σημαντική αυξητική τάση της ενεργότητας των ενζύμων κατά τον 3^ο έως 4^ο μήνα και τον 5^ο έως 6^ο μήνα της γαλακτοπαραγωγής. Η αυξητική τάση συνεχίζεται με συνέπεια να παρατηρούνται τα μέγιστα της ενεργότητας και για τα δύο ένζυμα στο τελικό στάδιο της γαλακτοπαραγωγής (>9 μήνες μετά τον τοκετό). Επίσης ο λόγος πλασμινογόνου/πλασμίνης ο οποίος εκφράζει την ταχύτητα μετατροπής του πλασμινογόνου σε πλασμίνη είχε τη χαμηλότερη τιμή του την ίδια χρονική περίοδο (Εικόνα 12), γεγονός που δείχνει ότι η διαδικασία της σταδιακής παλινδρόμησης του μαστού συνδέεται με αυξημένη ταχύτητα μετατροπής του πλασμινογόνου σε πλασμίνη.



Εικόνα 12: Διαγραμματική απεικόνιση των συγκεντρώσεων πλασμίνης (Α) και πλασμινογόνου (Β) καθώς και του λόγου πλασμινογόνου / πλασμίνης (Γ) κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου στις γαλακτοπαραγωγές αγελάδες.

Οι Athie *et al.* (1997) μελέτησαν το σύστημα πλασμίνης πλασμινογόνου σε γαλακτοπαραγωγές αγελάδες στις οποίες η διαδικασία παλινδρόμησης του μαστού είχε επιταχυνθεί με χορήγηση οιστραδιόλης-17β (2 ομάδες ζώων, 1 πειραματική ομάδα και 1 ομάδα-μάρτυρας). Παρατηρήθηκε ότι οι συγκεντρώσεις του πλασμινογόνου και της πλασμίνης αυξήθηκαν νωρίτερα στα ζώα της πρώτης ομάδας, η οποία εμφάνισε εντονότερα το φαινόμενο της παλινδρόμησης του μαστού, σε σύγκριση με τα ζώα της δεύτερης ομάδας.

Ομοίως, ο λόγος πλασμινογόνου/πλασμίνης μειώθηκε νωρίτερα στα ζώα της πρώτης ομάδας. Τα παραπάνω αποτελέσματα είναι σύμφωνα με την υπόθεση της ενεργοποίησης του συστήματος πλασμίνης – πλασμινογόνου κατά τη διάρκεια της παλινδρόμησης του μαστού στις γαλακτοπαραγωγές αγελάδες.

Η αυξημένη συγκέντρωση πλασμίνης στο γάλα συνδέεται με μειωμένη απόδοσή της στο αίμα (Zachos *et al.*, 1992). Οι Bianchi *et al.*, (2004) εξέτασαν την ενεργότητα του πλασμινογόνου, της πλασμίνης και του ενεργοποιητή πλασμινογόνου στο γάλα προβάτων της φυλής Σαρδηνίας κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 15.

Πίνακας 15: Ενεργότητα πλασμινογόνου, πλασμίνης, ενεργοποιητή πλασμινογόνου (ΕΠ-Ο) και ο λόγος πλασμινογόνου/πλασμίνης στο γάλα γαλακτοπαραγωγών προβάτων κατά τη γαλακτική περίοδο.

	Ενεργότητα (Units/ml)		
	Ημέρες μετά τον τοκετό		
	90±13	121±12	157±16
Πλασμινογόνο	29.69 ^β	25.99 ^α	24.79 ^α
Πλασμίνη	14.01 ^α	15.63 ^α	20.20 ^β
ΕΠ-Ο	342.70 ^α	551.85 ^β	610.72 ^β
ΠΓ/ΠΛ	2.40 ^γ	1.77 ^β	1.08 ^α
^{α,β,γ} Διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια σειρά δηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.05			

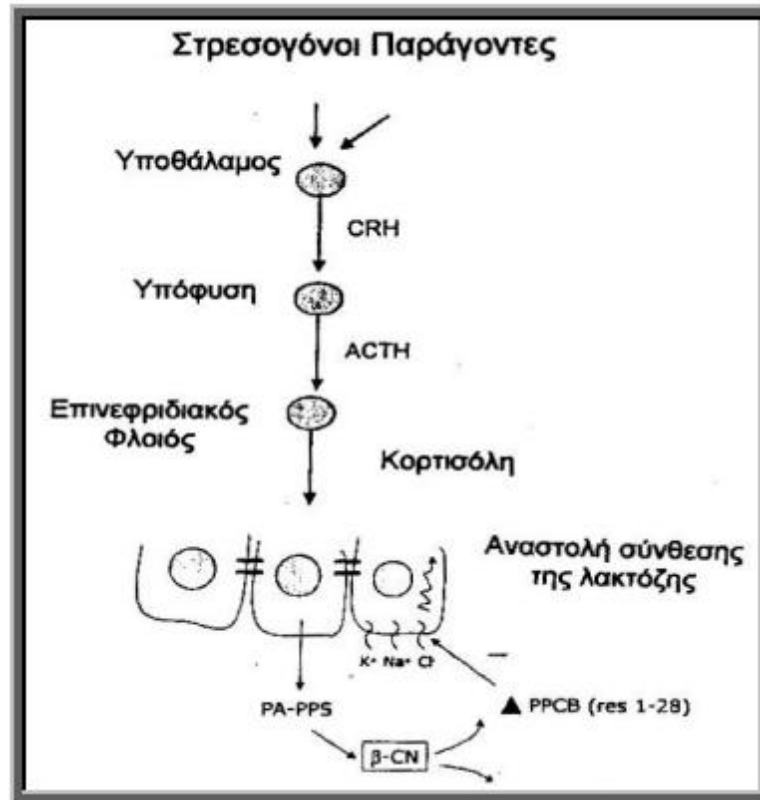
Παρατηρήθηκε μείωση της ενεργότητας του πλασμινογόνου στο δεύτερο στάδιο και τρίτο της γαλακτικής περιόδου, ενώ αντίθετα παρατηρήθηκε αύξηση της ενεργότητας της πλασμίνης στο τρίτο στάδιο της γαλακτικής περιόδου και της ενεργότητας του ΕΠ-Ο στο δεύτερο και τρίτο στάδιο. Ο λόγος πλασμινογόνου/πλασμίνης μειώθηκε κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου υποδηλώνοντας αυξημένο ρυθμό μετατροπής του πλασμινογόνου σε πλασμίνη με τη πτώση της γαλακτοπαραγωγής.

Επίσης, ορισμένοι φυσικοί παράγοντες καταπόνησης, όπως η στέρηση ύδατος ή οι υψηλές θερμοκρασίες, μπορεί να επηρεάσουν την παραγωγή γάλακτος και κατ' επέκταση το σύστημα πλασμίνης - πλασμινογόνου. Ο περιορισμός κατά 50% της κατά βούληση πρόσληψης νερού για τέσσερις (4) ημέρες, μείωσε κατά 74% την παραγωγή γάλακτος στις αγελάδες σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα. Επιπλέον, οι αγελάδες υπό περιορισμό νερού, συμπεριφέρθηκαν πολύ επιθετικά γύρω από την ποτίστρα τους και ξόδεψαν περισσότερο χρόνο κοντά της (Little, 1980). Δύο βασικοί μηχανισμοί εμπλέκονται στην αντίδραση των ζώων στην καταπόνηση (stress):

1. Ένας τοπικός μηχανισμός, που συνδέει το σύστημα πλασμινογόνου-πλασμίνης με την αυτοκρινική αναστολή της γαλακτοπαραγωγής (Silanakone κ.ά., 2000).
2. Ένας συστηματικός μηχανισμός, που συσχετίζεται με τον άξονα υποθάλαμος- υπόφυση – επινεφρίδια (YYE) στη ρύθμιση του ρυθμού εκκρίσεως του γάλακτος (Matteri κ.ά., 2000).

Οι Silanakone κ.ά., (2000), έδειξαν ότι το στρες ενεργοποιεί τον άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – επινεφρίδια (YYE), που απελευθερώνει την κορτιζόλη στο πλάσμα του αίματος. Αυτό, προκαλεί στη συνέχεια, την απελευθέρωση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PA) από τα επιθηλιακά κύτταρα του μαστού στη δεξαμενή του μαστού, όπου ενεργοποιεί το σύστημα της πλασμίνης η οποία διασπά την β-καζεΐνη και παράγεται η 1-28 β-καζεΐνη.

Η διαδικασία αυτή καλείται: «Απόφραξη της οδού πρωτεάσης – πεπτόνης». Το σύστημα πρωτεάσης – πεπτόνης αναστέλλει τη λειτουργία των αντλιών των Na, Cl, K στη βασοπλευρική μοίρα των επιθηλιακών κυττάρων και κατά συνέπεια, εμποδίζει την έκκριση της λακτόζης και των μονοσθενών ιόντων. Αυτό οδηγεί σε μια μείωση του όγκου του γάλακτος (Εικόνα 13).



Εικόνα 13: Σχηματική απλοποιημένη παρουσίαση των τοπικών μηχανισμών παραγωγής του κλάσματος της 1-28 β-καζεΐνης (PPCB), λόγω της δραστηριότητας της πλασμίνης επί της β-καζεΐνης στο μαστικό αδέν (PA-PPS) (Silanakove et al., 2000).

Στη μελέτη των Weng et al., (2006) επαληθεύτηκε η αυτόματη υποχώρηση της παλινδρόμησης του μαστικού αδέν 12 αιγών κατά τη διάρκεια της γαλουχίας 2 φορές ημερησίως λόγω της αισθητής μείωση της καζεϊνόλυσης μέσω μικρής ενεργοποίησης του πλασμινογόνου. Διερευνήθηκαν επίσης περαιτέρω αλληλεξαρτήσεις μεταξύ καζεϊνόλυσης και ενεργοποιητών πλασμινογόνου εντός των αδένων και του ρόλου των σωματικών κυττάρων, όπου επτά αίγες από τις 12 βρέθηκαν με αναλογίες καζεΐνης λιγότερο από 60 % .

Το πρόβειο γάλα παράγει άμεσα πρωτεόζες - πεπτόνες από τις καζεΐνες κατά την επώαση ή την αποθήκευση, στην οποία η β- καζεΐνη είναι πιο επιδεκτική σε υδρόλυση από ό,τι η α_{SI}-καζεΐνη (Andrews, 1983). Σχεδόν όλα τα συστατικά του κλάσματος πρωτεόζες – πεπτόνες αυξήθηκαν κατά την αποθήκευση και εμφανίστηκαν ως προϊόντα της κύριας πρωτεάσης της πλασμίνης του φυσιολογικού γάλακτος.

Τα αποτελέσματα καζεϊνόλυσης των Weng *et al.*, (2006) στο αίγιο γάλα, κατά τη διάρκεια της γαλουχίας, είναι παρόμοια με εκείνα των Le Roux *et al.*, (1995) και των Ferranti *et al.* (2004). Η μελέτη των Le Roux *et al.*, (1995) απέδειξε ότι καζεϊνόλυση εντός του μαστικού αδένου αυξήθηκε με την εξέλιξη του σταδίου της γαλουχίας .

Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών δείχνουν ότι το σύστημα ενεργοποίησης του πλασμινογόνου μέσα στον αδένου που υφίστανται παλινδρόμηση αποδίδεται σημαντικά στην καζεϊνόλυση των πρωτεϊνών. Εν τω μεταξύ, οι ενζυμικές ενεργότητες του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου του συνηθισμένου γάλακτος αυξήθηκαν ελαφρά , αλλά όχι σημαντικά με μείωση της αναλογίας των καζεϊνών. Οι Le Roux *et al.*, (1995) ανέφεραν μια σημαντική ($P < 0,01$) αρνητική συσχέτιση μεταξύ ενζυμικής ενεργότητας της πλασμίνης και αναλογίας των καζεϊνών ($r=-0,77$) για τις υγιείς αγελάδες που θηλάζουν , ανεξάρτητα από τον αριθμό SCC. Η μελέτη των Leitner *et al.* (2004a, b) σε γάλα από πρόβατα και αίγες κατέληξε σε αύξηση της ενεργότητας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου και της πλασμίνης εντός του μαστού μετά από μόλυνση των μαστών. Οι ενεργότητες συσχέτιστηκαν αρνητικά και θετικά με το περιεχόμενο σε καζεΐνη και πρωτεόζες- πεπτόνες, αντίστοιχα.

Οι Moussaoui *et al.* (2002) πρότειναν ότι η πλασμίνη ήταν υπεύθυνη για τη βραχυπρόθεσμη δραστηριότητα καζεϊνόλυσης σε μαστικό γάλα, ενώ οι κυτταρικές πρωτεάσες του γάλακτος ήταν υπεύθυνες για τη μακροπρόθεσμη καζεϊνόλυση.

Μεγαλύτερη έμφαση θα πρέπει να δοθεί σχετικά με το ρόλο των σωματικών κυττάρων στη ρύθμιση της δραστηριότητας της πλασμίνης. Συνολικά, η πρωτεόλυση της καζεΐνης συμβαίνει αυθόρμητα στο γάλα κατά την εξέλιξη της γαλακτοπαραγωγής των αιγοπροβάτων. Η ενεργοποίηση του πλασμινογόνου που οφείλεται στη μεσολάβηση της αύξησης των σωματικών κυττάρων κατά την παλινδρόμηση του μαστού χρησιμεύει ως ένα βαθμό σαν σημαντικός τοπικός παράγοντας για την περαιτέρω προώθηση της πρωτεόλυσης της καζεΐνης και ενδεχομένως της μαστικής πρωτεΐνης του συνδετικού ιστού. Ο διαφορικός ρόλος του ενδομαστικού συστήματος ενεργοποίησης του πλασμινογόνου στην καζεϊνόλυση και την αναδιάπλαση του ιστού κατά τη διάρκεια της γαλουχίας και της παλινδρόμησης παραμένει ακόμα υπό διερεύνηση.

7. ΣΚΟΠΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Λόγω του ότι οι περισσότερες έρευνες για το σύστημα πλασμίνης- πλασμινογόνου, μέχρι σήμερα, έχουν διεξαχθεί σε αγελαδινό γάλα, σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί η επίδραση της υγιεινής κατάστασης του μαστού των προβατινών κατά τη γαλακτική περίοδο στη χημική σύσταση του γάλακτος, στην ποσότητα του παραγόμενου γάλακτος και στην ενεργότητα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1.1 Ζωικό κεφάλαιο- Επεμβάσεις

Για το σκοπό του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν προβατίνες από 4 διαφορετικές φυλές και συγκεκριμένα από τη φυλή Χίου, από τη Καραγκούνικη φυλή, από την Ορεινή φυλή Ηπείρου -(Μπούτσικο) και από μια συνθετική φυλή - (Βελτιωμένο) (50% Ορεινή φυλή Ηπείρου-Μπούτσικο, 25% φυλή Άρτας και 25% φυλή Χίου) για 11 γαλακτομετρήσεις, που έλαβαν χώρα, ανά 15ήμερο από τις 5 Φεβρουαρίου 2013 έως τις 25 Ιουνίου 2013. Όλα τα ζώα που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα στεγάζονταν στις εγκαταστάσεις του Κτηνοτροφείου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Σε κάθε γαλακτομέτρηση λαμβάνονταν δείγματα από όλα τα αρμεγόμενα ζώα του προβατοστασίου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών για το προσδιορισμό της χημικής σύστασης και του αριθμού των σωματικών κυττάρων. Στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας, επιλέχθηκαν 192 δείγματα γάλακτος για τον προσδιορισμό της ενεργότητας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, τα οποία χωρίστηκαν σε 3 κατηγορίες βάσει του αριθμού των σωματικών τους κυττάρων. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν 76 δείγματα με αριθμό σωματικών κυττάρων ($>1.000.000/\text{ml}$, Ομάδα 1) και μ.ο. σωματικών κυττάρων 5.021.368,42 , 20 δείγματα με αριθμό σωματικών κυττάρων (300.000-1.000.000, Ομάδα 2) με μ.ο. σωματικών κυττάρων 659.812,5 και 96 δείγματα με αριθμό σωματικών κυττάρων ($<300.000/\text{ml}$, Ομάδα 3) με μ.ο. σωματικών κυττάρων 47.304,69.

1.2 Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων

1.2α Χημική σύσταση

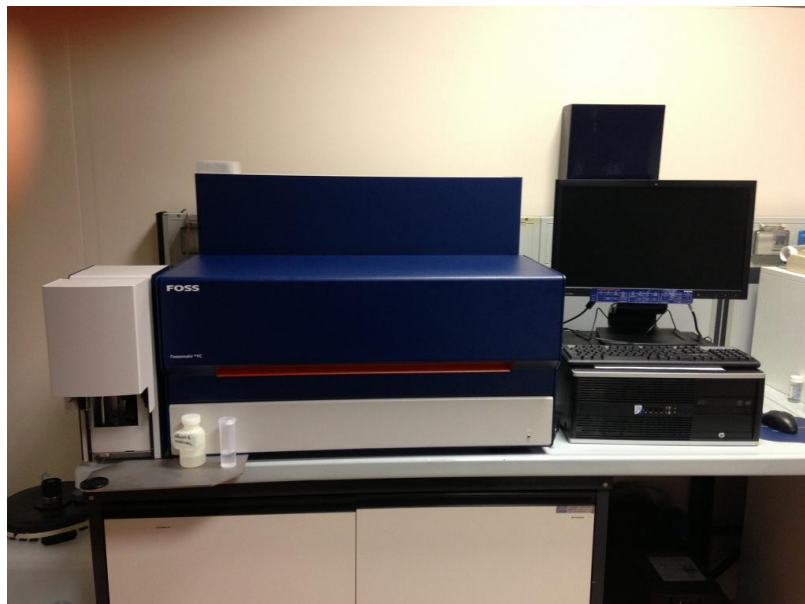
Την ημέρα της γαλακτομέτρησης, οι προβατίνες αμέλγονταν μηχανικά και ατομικά το απόγευμα στις 4μμ. (απογευματινό γάλα) και το επόμενο πρωί στις 6πμ. (πρωινό γάλα), στις εγκαταστάσεις του Κτηνοτροφείου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Κατόπιν πραγματοποιούνταν διήθηση του γάλακτος μέσω ειδικής φαρμακευτικής γάζας, έτσι ώστε να απομακρυνθούν όλα τα ανεπιθύμητα ξένα σώματα. Στη συνέχεια, τα δείγματα γάλακτος χωρίζονταν σε δύο μέρη. Το πρώτο εξ αυτών χρησιμοποιούνταν άμεσα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης λίπους, πρωτεΐνης, λακτόζης, ολικών στερεών, στερεού υπολείμματος άνευ λίπους και σωματικών κυττάρων στο Εργαστήριο Ποιοτικού Ελέγχου της ΔΕΛΤΑ - Τρόφιμα ΑΕ, ενώ το δεύτερο μέρος του δείγματος φυλασσόταν στους -20°C για τον μετέπειτα προσδιορισμό της ενεργότητας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου.

Ο προσδιορισμός των περιεκτικότητων των συστατικών του γάλακτος πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του μηχανήματος Milcoscan 133 (Foss Electric, Hillerod, Denmark, Εικόνα 14) βαθμονομημένο σύμφωνα με τις μεθόδους Mojonnier για το λίπος, Kjeldahl για την πρωτεΐνη και την πολωσιμετρική μέθοδο για τη λακτόζη (AOAC 1980). Αντίστοιχα στην Εικόνα 15 παρουσιάζεται η συσκευή Fossomatic Cell Counter (Foss Electric, Hillerod, Denmark) η οποία χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση του αριθμού των σωματικών κυττάρων στα εξεταζόμενα δείγματα γάλακτος.



Εικόνα 14: Μετρητής σύστασης γάλακτος Milcoscan



Εικόνα 15: Συσκευή Fossomatic Cell counter για τον προσδιορισμό του αριθμού σωματικών κυττάρων στο γάλα.

1.2β Προσδιορισμός ενεργότητας ενεργοποιητή πλασμινογόνου

Την ημέρα της γαλακτομέτρησης παραλήφθηκαν 100ml γάλακτος από κάθε ζώο και φυγογεντρήθηκαν για 15 λεπτά σε 2000 g και σε θερμοκρασία 4°C, ώστε να διαχωριστεί το λίπος, το άπαχο γάλα και το ίζημα των σωματικών κυττάρων. Απομακρύνθηκε το λίπος και το άπαχο γάλα και το ίζημα ξεπλύθηκε με 1ml διάλυμα PBS [phosphate-buffered saline (0,15 M NaCl – 0,01 M NaH₂PO₄, pH=7,2)] το οποίο διατηρήθηκε στους -20°C μέχρι την ημέρα της ανάλυσης.

Τρεις φορές καθ' όλη την πειραματική περίοδο προσδιορίστηκε και η ζωτικότητα των κυττάρων σε φρέσκο γάλα. Συγκεκριμένα σε 20μL γάλακτος προστέθηκαν 5μL 0,25% (w/v) trypan blue και μετρήθηκε το ποσοστό των κυττάρων που ήταν ζωντανά (Zachos *et al.* 1992).

Την ημέρα της διαδικασίας προσδιορισμού του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (ΕΠ) έγιναν όλες οι απαραίτητες αραιώσεις ή μη, στο σύνολο των 192 δειγμάτων, ώστε να επιτευχθεί ένας καθορισμένος αριθμός σωματικών κυττάρων, ο οποίος ήταν 10⁶/ml. Για τον προσδιορισμό της ενεργότητας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (ΕΠ) χρησιμοποιήθηκε η χρωματομετρική μέθοδος των Gilmore *et al.* (1995).

Η ενεργότητα του ΕΠ προσδιορίστηκε στα εκχυλίσματα του γάλακτος αφού προστέθηκε πλασμινογόνο (ΠΓ). Ο προσδιορισμός βασίστηκε στη μετατροπή του εξωγενούς προστιθέμενου πλασμινογόνου (ΠΓ) σε πλασμίνη (ΠΛ) από τους ενδογενείς ενεργοποιητές: 10 μL εκχυλίσματος αναμείχθηκαν με 150 μL ρυθμιστικού διαλύματος [Tris-HCl συγκέντρωσης 0,1 M (pH 8,0)], το οποίο περιείχε 100mM NaCl και 0,6 mM βαλίνης-λευκίνης-λυσίνης-π-νιτροανιλίνης (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) και προστέθηκαν 20 μL πλασμινογόνο ΕΠ-Ο (American Diagnostica. Greenwich, CT 06836). Το μίγμα αντίδρασης επώαστηκε στους 37°C και η απορρόφηση του φωτός σε μήκος κύματος 405 nm καταγραφόταν ανά μία ώρα. Ως αρνητικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν δείγματα χωρίς πλασμινογόνο. Η μέτρηση της απορρόφησης γινόταν σε φασματοφωτόμετρο U-3010 Hitachi, το οποίο βρισκόταν στο Εργαστήριο Γενικής και Ειδικής Ζωοτεχνίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Η ανωτέρω μέθοδος βασίζεται στην αρχή όπου : ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου που βρίσκεται στο κλάσμα της καζεΐνης μετατρέπει το εξωγενούς προέλευσης πλασμινογόνο που προστίθεται στο διάλυμα της τελικής αντίδρασης, στην ενεργή πλασμίνη η οποία υδρολύει το υπόστρωμα. Οι αλλαγές στην απορρόφηση του

φάσματος συνδέονται άμεσα με τη συγκέντρωση της πλασμίνης και ως εκ τούτου εμμέσως με την ενεργότητα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου. Η ενεργότητα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου υπολογίστηκε από το γραμμικό τμήμα της καμπύλης της απορρόφησης σε σχέση με το χρόνο και ορίζεται ως η ποσότητα του ενζύμου, η οποία προκαλεί την αλλαγή της απορρόφησης στα 405 nm κατά 0,1 μέσα σε 60 λεπτά.

1.3 Στατιστική Ανάλυση

Πραγματοποιήθηκε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων ως προς τη χημική σύσταση του γάλακτος, την ποσότητα του γάλακτος και την ενζυμική ενεργότητα του ενεργοποιητή πλασμινογόνου (εξαρτημένες μεταβλητές), με ανάλυση διακύμανσης με το πρόγραμμα Proc GLM του στατιστικού λογισμικού SAS (SAS, 2005), με ανεξάρτητες μεταβλητές τον αριθμό των σωματικών κυττάρων στο γάλα, τη φυλή και την αλληλεπίδρασή τους. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε σε $P=0.05$. Η σύγκριση του μέσου όρου των τιμών έγινε σύμφωνα με το κριτήριο του Bonferroni.

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

2.1 Επίδραση του αριθμού των σωματικών κυττάρων στη γαλακτοπαραγωγή

Στον Πίνακα 16 παρουσιάζεται η επίδραση του αριθμού των σωματικών κυττάρων στο επίπεδο γαλακτοπαραγωγής. Παρατηρείται ότι υφίσταται στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημερήσια γαλακτοπαραγωγή των μελετώμενων προβάτων, σε επίπεδο $p < 0,001$. Συγκεκριμένα παρατηρείται μια σημαντική μείωση στην ποσότητα γαλακτοπαραγωγής στην Ομάδα 1, με τον υψηλό αριθμό σωματικών κυττάρων, με παραγωγή $835,40 \pm 57,27$ g και των $982,29 \pm 107,46$ g για τη δεύτερη Ομάδα έναντι των $1384,85 \pm 86,44$ για την τρίτη Ομάδα.

Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι υψηλό SCC στο γάλα που οφείλεται στην υποκλινική μαστίτιδα έχει σαν αποτέλεσμα τις χαμηλότερες αποδόσεις σε γάλα. Η μείωση της γαλακτοπαραγωγής, ως συνέπεια του αυξημένου SCC, οφείλεται κατά κύριο λόγο στην αναμενόμενη διαταραχή της λειτουργικής επάρκειας των μαστικών κυττάρων, η οποία έχει ως συνέπεια τη μείωση της συνθετικής και εκκριτικής ικανότητας του μαστικού αδένου (Kitchen, 1981).

Πίνακας 16: Μέση απόδοση (\pm Τυπικό Σφάλμα) Γαλακτοπαραγωγής (g) για τις 3 Ομάδες (1: αριθμός σωματικών κυττάρων/ml $>1.000.000$, 2: αριθμός σωματικών κυττάρων/ml $1.000.000 - 300.000$, 3: αριθμός σωματικών κυττάρων/ml <300.000)

Παράμετροι	Ομάδα			P	Σημαντικότητα
	1 n=76	2 n=20	3 n=96		
Γαλακτοπαραγωγή(g)	$835,40 \pm 59,27^a$	$982,29 \pm 107,46^a$	$1384,85 \pm 86,44^b$	$<0,001$	***

$p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$

^{a,b} Διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια σειρά δηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο $P < 0.05$

n=αριθμός ζώων ανά ομάδα

Παρότι ο SCC βρίσκεται στο επίκεντρο της επιστημονικής έρευνας οι έρευνες που εστιάζονται στην επίδραση του SCC στον όγκο της γαλακτοπαραγωγής είναι ελάχιστες για τα αιγοπρόβατα (Raynal-Ljutovac et al., 2008).

Στην Ισπανία οι Gonzalo et al., (1994a) σε έρευνα που διενέργησαν σε πρόβατα της Ισπανικής φυλής Churra και αργότερα οι El-Saied et al. (1999) βρήκαν αρνητική φαινοτυπική συσχέτιση του SCC με την παραγωγή γάλακτος ($r = -0,14$ και $r = -0,16$ αντίστοιχα).

2.2 Επίδραση του αριθμού των σωματικών κυττάρων στη χημική σύσταση του γάλακτος

Στον Πίνακα 17 παρουσιάζεται η επίδραση του αριθμού των σωματικών κυττάρων προβάτων επί της χημικής σύστασης του γάλακτος. Συγκεκριμένα, ο υψηλός αριθμός των σωματικών κυττάρων ήταν ανάλογος της λιποπεριεκτικότητας ($P < 0,05$), πρωτεϊνοπεριεκτικότητας ($P < 0,001$), και του ποσοστού συνολικών στερεών του γάλακτος ($P < 0,01$), όπου η υψηλότερη τιμή παρατηρήθηκε στην Ομάδα 1 με τον υψηλότερο αριθμό σωματικών κυττάρων, ενώ μείωσε το ποσοστό της λακτόζης ($P < 0,001$) όπως φαίνεται στον Πίνακα 17. Στην περίπτωση του ΣΥΑΛ του γάλακτος δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις 3 ομάδες με διαφορετικό αριθμό σωματικών κυττάρων.

Πίνακας 17: Μέσοι όροι (\pm Τυπικό Σφάλμα) του Λίπους (%), της Πρωτεΐνης (%), της Λακτόζης (%), των Στερεών Υπολειμμάτων Άνευ Λίπους (%) και των Συνολικών Στερεών (%), για τις 3 ομάδες (1: αριθμός σωματικών κυττάρων/ml $>1.000.000$, 2: αριθμός σωματικών κυττάρων/ml $1.000.000 - 300.000$, 3: αριθμός σωματικών κυττάρων/ml <300.000)

Παράμετροι (%)	Ομάδα			P	Σημαντικότητα
	1 n=76	2 n=20	3 n=96		
Λίπος	6,08 \pm 0,13 ^α	5,89 \pm 0,26 ^{αβ}	5,46 \pm 0,19 ^β	0,0355	*
Πρωτεΐνη	5,35 \pm 0,07 ^α	5,12 \pm 0,12 ^{αβ}	4,83 \pm 0,08 ^β	<0,001	***
Λακτόζη	4,47 \pm 0,04 ^α	4,66 \pm 0,07 ^β	4,82 \pm 0,04 ^{αβ}	<0,001	***
ΣΥΑΛ	10,77 \pm 0,08 ^α	10,70 \pm 0,15 ^{αβ}	10,47 \pm 0,09 ^β	0,0531	*
Συνολικά Στερεά	16,95 \pm 0,19 ^α	16,76 \pm 0,35 ^α	15,85 \pm 0,21 ^β	0,0008	***

p<0,05*, p<0,01**, p<0,001***
^{α,β} Διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια σειρά δηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.05
n=αριθμός ζώων ανά ομάδα

2.2.1 Πρωτεΐνες

Η επίδραση του SCC στην ποσοστιαία περιεκτικότητα του γάλακτος σε λίπος και σε πρωτεΐνη δεν έχει διερευνηθεί πλήρως και συχνά παρατηρείται ασυμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων (Raynal-Ljutovac et al., 2008). Έτσι, υπάρχουν έρευνες που δεν βρίσκουν κάποια ισχυρή συσχέτιση του SCC με την περιεκτικότητα του γάλακτος σε λίπος και σε πρωτεΐνη, ενώ άλλες μελέτες που βρίσκουν ότι συσχετίζεται θετικά (Raynal-Ljutovac et al., 2008).

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας οι Bufano et al. (1996), El-Saied et al. (1999), Nudda et al. (2003), Leitner et al. (2003), Albenzio et al. (2004) και οι Bianchi et al. (2004a) αναφέρουν ότι το πρόβειο γάλα με υψηλό SCC περιέχει περισσότερη ολική πρωτεΐνη από ό,τι το γάλα με χαμηλό SCC. Οι Albenzio et al. (2004) βρήκαν ότι το πρωτεϊνικό περιεχόμενο του γάλακτος ήταν υψηλότερο στο γάλα με υψηλό SCC καθ' όλη τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου και συγκεκριμένα συγκρίνοντας δείγματα γάλακτος με $SCC < 5 \times 10^5$ κύτταρα/ml και δείγματα με $SCC > 1 \times 10^6$ κύτταρα/ml. Αντίθετα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι αυτά των Jaeggi et al. (2003) οι οποίοι βρήκαν ότι η συγκέντρωση της ολικής πρωτεΐνης ήταν χαμηλότερη στο γάλα με τα υψηλότερα επίπεδα σωματικών κυττάρων. Οι Duranti and Casoli (1991), οι Pirisi et al. (2000), οι Pellegrini et al. (1997), οι Albenzio et al. (2005) και οι Quintanna et al. (2006) δεν βρήκαν σημαντικές διαφορές στο ποσοστό του γάλακτος σε ολική πρωτεΐνη μεταξύ δειγμάτων γάλακτος που εμφάνιζαν υψηλό SCC σε σχέση με αυτά που εμφάνιζαν χαμηλό SCC.

Σύμφωνα με τους Pirisi et al. (2000) το γεγονός ότι σε κάποιες μελέτες δεν παρατηρείται σημαντική επίδραση του επιπέδου του SCC στην περιεκτικότητα του γάλακτος σε ολικές πρωτεΐνες, σχετίζεται με το γεγονός ότι όταν υπάρχει αύξηση του SCC, οι πρωτεΐνες που συντίθενται στον μαστό μειώνονται, ενώ οι πρωτεΐνες που προέρχονται από την κυκλοφορία του αίματος αυξάνονται. Αυτές οι αυξήσεις και μειώσεις της πρωτεΐνης του γάλακτος λόγω των ανωτέρω παραγόντων μπορεί να αλληλοεξουδετερώνονται, κάτι που έχει σαν αποτέλεσμα η περιεκτικότητα του σε ολική πρωτεΐνη να παραμένει ουσιαστικά ανεπηρέαστη.

Οι Leitner et al., (2003) αποδίδουν την αύξηση της πρωτεϊνικής συγκέντρωσης αυξανόμενου του SCC κυρίως στη μειωμένη γαλακτοπαραγωγή των μολυσμένων ημιμορίων ή πιθανολογούν ότι αυτή ενισχύεται και από την είσοδο πρωτεϊνών του ορού.

2.2.2 Λίπος

Οι Othmane et al. (2002) παρατήρησαν μικρή θετική συσχέτιση ($r=0,04$) του SCC με το ολικό λίπος του γάλακτος. Τέλος οι Bianchi et al. (2004) βρήκαν ότι το λίπος του γάλακτος που είχε SCC μεγαλύτερο από 5×10^5 κύτταρα/ml παρουσίασε μια αύξηση της τάξης του 4% σε σχέση με την περιεκτικότητα του λίπους στο γάλα με τον μικρότερο αριθμό SCC.

Τα αποτελέσματα αρκετών ερευνητών δείχνουν ότι το SCC δεν επηρέασε τη συγκέντρωση του λίπους στο γάλα τόσο των προβάτων (Albenzio et al., 2004; Jaeggi et al., 2003; Pirisi et al. 2000; Quintanna et al., 2006) όσο και των αιγών (Ying et al., 2002). Αντίθετα οι Bianchi et al. (2004a) παρατήρησαν μια σημαντική μείωση του λίπους του γάλακτος προβατίνων με μολυσμένα ημιμόρια καθώς και οι Pisoni et al. (2005) οι οποίοι παρατήρησαν χαμηλότερη περιεκτικότητα σε λίπος του γάλακτος αιγών προσβεβλημένων με *S. aureus* (μέσος όρος SCC 4.651×10^6 /ml) σε σχέση με το μη μολυσμένο γάλα (μέσος όρος SCC 1.03×10^6 /ml).

Σε θεωρητική βάση, η άνοδος του SCC και η εκδήλωση υποκλινικής μορφής μαστίτιδας, θα έπρεπε να μειώνει την λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος λόγω της μείωσης που επιφέρει στη συνθετική και εκκριτική ικανότητα του μαστικού αδένου (Raynal-Ljutovac et al., 2007). Ίσως η αύξηση της λιποπεριεκτικότητας που έχει παρατηρηθεί σε μεγάλο αριθμό εργασιών να οφείλεται στο γεγονός ότι η επίδραση της αύξησης του SCC στη μείωση της γαλακτοπαραγωγής να είναι πολύ ισχυρότερη από ό,τι η μείωση του παραγόμενου από το μαστό λίπους.

2.2.3 Λακτόζη

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης σχετικά με τη μείωση της περιεκτικότητας του γάλακτος σε λακτόζη στο γάλα αυξανόμενου του SCC βρίσκονται σε συμφωνία με την πλειοψηφία των ερευνητικών εργασιών που έχουν εκπονηθεί μέχρι σήμερα.

Έχει αναφερθεί ότι η συγκέντρωση της λακτόζης μειώνεται με την αύξηση του SCC στο πρόβειο (Albenzio et al., 2004; Bianchi et al. 2004b; Bufano et al, 1996; Leitner et al 2003; Nudda et al. 2003; Pirisi et al. 2000; Quintanna et al. 2006) και στο αίγαιο γάλα (Zeng and Escobar, 1996).

Αυτή η μείωση οφείλεται στη καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης των εκκριτικών κυττάρων του μαστικού αδένου κατά την προσβολή τους από τους μικροοργανισμούς, προκαλώντας μείωση της συνθετικής ικανότητας του μαστικού αδένου (Pirisi et al., 1996). Επίσης η αύξηση του SCC μπορεί να προκαλεί μείωση της ροής του αίματος προς τον μαστό, κάτι που έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της προμήθειάς του με γλυκόζη η οποία είναι και η κύρια πρόδρομος ένωση για τη σύνθεση της λακτόζης (Martí de Olives and Molina Pons, 1998). Τέλος, η μείωση της περιεκτικότητας του γάλακτος σε λακτόζη μπορεί να οφείλεται στη μερική υποκατάσταση της λακτόζης από άλλες οσμωτικά ενεργές ουσίες, κυρίως από ιόντα

χλωρίου (Albenzio et al 2004). Ωστόσο, η τελευταία υπόθεση συμφωνεί με τα ερευνητικά αποτελέσματα άλλων ερευνητών (Bianchi et al. 2004, Le Roux et al., 1995; Mariani et al., 1999) οι οποίοι παρατήρησαν μια αύξηση του περιεχόμενου του γάλακτος σε CI στο γάλα με αυξημένο SCC. Παρόλο που η πτώση στη συγκέντρωση της λακτόζης δεν έχει κάποια επίπτωση στην τυροκόμηση του γάλακτος είναι ενδεικτική της μείωσης της παραγωγικότητας του μαστικού αδένου (Leitner et al., 2003).

2.2.4 Συνολικά Στερεά γάλακτος

Οι Quintanna et al., (2006) οι Pirisi et al. (2000) και οι Fuertes et al. (1998) βρήκαν αύξηση της περιεκτικότητας του γάλακτος σε ολικά στερεά, ενώ οι Jaeggi et al. (2003) βρήκαν μείωσή τους. Το γεγονός ότι οι Jaeggi et al., (2003) βρήκαν μείωση της περιεκτικότητας σε ολικά στερεά σχετίζεται με το γεγονός ότι ταυτόχρονα βρήκαν και μείωση της περιεκτικότητας του γάλακτος σε λίπος και σε πρωτεΐνη με την άνοδο του SCC, σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης.

2.3 Επίδραση του αριθμού των σωματικών κυττάρων στην ενζυμική ενεργότητα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου

Στον Πίνακα 18 παρουσιάζεται η επίδραση του αριθμού των σωματικών κυττάρων προβάτων στην ενζυμική ενεργότητα του ενεργοποιητή πλασμινογόνου. Συγκεκριμένα, στην Ομάδα 1 με τον υψηλό αριθμό σωματικών κυττάρων, παρατηρείται και η μεγαλύτερη τιμή ενζυμικής ενεργότητας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου με διαφορά στατιστικά σημαντική με τις υπόλοιπες ομάδες ($P < 0,001$).

Πίνακας 18: Μέσοι όροι (\pm Τυπικό Σφάλμα) της Ενζυμικής Ενεργότητας του Ενεργοποιητή του Πλασμινογόνου (ΔA), για τις 3 ομάδες (1: αριθμός σωματικών κυττάρων/ml $>1.000.000$, 2: αριθμός σωματικών κυττάρων/ml $1.000.000 - 300.000$, 3: αριθμός σωματικών κυττάρων/ml <300.000)

Παράμετροι	Ομάδα			P	Σημαντικότητα
	1 n=76	2 n=20	3 n=96		
Ενζυμική ενεργότητα Ενεργοποιητή Πλασμινογόνου (ΔA)	$0,57 \pm 0,02^{\alpha}$	$0,21 \pm 0,03^{\beta}$	$0,06 \pm 0,02^{\gamma}$	$<0,001$	***
<p>$p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$</p> <p>α, β, γ Διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια σειρά δηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο $P < 0,05$</p> <p>n=αριθμός ζώων ανά ομάδα</p>					

Οι ενεργοποιητές του πλασμινογόνου σχετίζονται με τα σωματικά κύτταρα (SCC) και μάλιστα έχει αναφερθεί σύνδεση των ΕΠ-Ι με τις καζεϊνικές μικκύλες και των ΕΠ-Ο με τα σωματικά κύτταρα (Heegaard *et al.*, 1994b). Η δραστηριότητα του ΕΠ-Ι ενισχύεται σημαντικά από το ινώδες και οι δραστηριότητες και των δύο ενεργοποιητών, ΕΠ-Ι και ΕΠ-Ο, αυξάνουν παρουσία των πρωτεϊνών του γάλακτος και ειδικά της α₁-καζεΐνης (Politis *et al.*, 1995).

Οι περισσότερες έρευνες για το σύστημα πλασμίνης- πλασμινογόνου έχουν διεξαχθεί σε αγελάδες, ενώ για τα πρόβατα δεν υπάρχει αρκετή βιβλιογραφία.

Το επίπεδο της ΠΛ και του ΠΓ μπορεί να διαφέρουν σημαντικά ανάλογα με το στάδιο της γαλακτικής περιόδου (αυξανόμενα προς το τέλος της), τον αριθμό της γαλακτικής περιόδου (υψηλότερα σε αγελάδες μεγάλης ηλικίας), και την κατάσταση υγείας του μαστού (Politis *et al.*, 1989, Bastian *et al.*, 1991). Η αυξημένη ενεργότητα της πλασμίνης στο μαστιτικό γάλα και στο τέλος της γαλακτικής περιόδου έχει αποδοθεί στο αυξημένο επίπεδο των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου (Politis *et al.*, 1989).

2.4 Επίδραση της φυλής στη γαλακτοπαραγωγή

Ο Πίνακας 19 παρουσιάζει την επίδραση της φυλής στο ύψος της γαλακτοπαραγωγής. Η φυλή Χίου, όπως αναμενόταν, παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά ($P < 0,001$) με μεγαλύτερη γαλακτοπαραγωγή από τις υπόλοιπες φυλές. Συγκεκριμένα, τα Καραγκούνικα ζώα παρήγαν κατά μ.ο. $1000,06 \pm 79,99$ g, τα Χιώτικα $1517,82 \pm 73,04$ g, τα Μπούτσικα $967,87 \pm 130,80$ g και τα Βελτιωμένα $784,32 \pm 105,92$ g.

Πίνακας 19: Μέσοι όροι (\pm Τυπικό Σφάλμα) της Γαλακτοπαραγωγής (g) για τις 3 φυλές (1: Καραγκούνικο, 2: Χιώτικο, 3: Μπούτσικο, 4: Βελτιωμένο

Παράμετροι (g)	Φυλή				P	Σημαντικότητα
	1 n=49	2 n=100	3 n=16	4 n=27		
Γαλακτοπαραγωγή	$1000,06 \pm 79,99^a$	$1517,82 \pm 73,04^b$	$967,8 \pm 130,80^a$	$784,32 \pm 105,92^a$	<0,001	***

p<0,05*, p<0,01**, p<0,001***

^{a,b} Διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια σειρά δηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.05

n=αριθμός ζώων ανά ομάδα

Σε παρόμοια μελέτη που έγινε από τους Theodorou et al., (2007) παρατηρήθηκε ότι το ύψος της γαλακτοπαραγωγής ήταν μεγαλύτερο στα πρόβατα της φυλής Χίου, γεγονός που συμφωνεί απόλυτα με το αποτέλεσμα της παρούσας μελέτης και ακολουθούν τα ζώα της Βελτιωμένης φυλής, ενώ στην παρούσα μελέτη η γαλακτοπαραγωγή της Βελτιωμένης φυλής βρίσκεται στη τελευταία θέση.

2.5 Επίδραση της φυλής στη χημική σύσταση του γάλακτος

Ο Πίνακας 20 παρουσιάζει την επίδραση της φυλής στη χημική σύσταση του πρόβειου γάλακτος. Παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά για όλα τα χαρακτηριστικά που αφορούν τη χημική σύσταση του πρόβειου γάλακτος, με βάση τις 4 φυλές που χρησιμοποιήθηκαν. Στο Μπούτσικο παρατηρείται η μεγαλύτερη τιμή λίπους γάλακτος (6,12%), ενώ η μικρότερη παρουσιάζεται στην περίπτωση του Χιώτικου προβάτου (5,21%). Αντίστοιχα η πρωτεΐνη γάλακτος παρουσιάζει μεγαλύτερη τιμή στο Καραγκούνικο πρόβατο (5,26%) ενώ η μικρότερη παρατηρείται στο Χιώτικο (4,89). Το περιεχόμενο % σε λακτόζη παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των φυλών Καραγκούνικου - Χίου αλλά χωρίς μεγάλη παραλλακτικότητα στις τιμές της, κάτι που ισχύει επίσης και για το ΣΥΑΛ γάλακτος. Τέλος, τα συνολικά στερεά γάλακτος παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη τιμή στην περίπτωση του Μπούτσικου (16,99%), ενώ σημαντικά μικρότερη τιμή εμφανίζεται στην περίπτωση του Χιώτικου προβάτου (15,72%).

Πίνακας 20: Μέσοι όροι (\pm Τυπικό Σφάλμα) του Λίπους (%), της Πρωτεΐνης (%), της Λακτόζης (%), των Στερεών Υπολειμμάτων Άνευ Λίπους (%), των Συνολικών Στερεών (%) για τις 3 φυλές (1: Καραγκούνικο, 2: Χιώτικο, 3: Μπούτσικο, 4: Βελτιωμένο)

Παράμετροι (%)	Φυλή				P	Σημαντικότητα
	1 n=49	2 n=100	3 n=16	4 n=27		
Λίπος	5,90 \pm 0,18 ^a	5,21 \pm 0,18 ^{βγ}	6,12 \pm 0,29 ^a	6,02 \pm 0,26 ^{αγ}	0,0076	**
Πρωτεΐνη	5,26 \pm 0,08 ^a	4,89 \pm 0,06 ^β	5,16 \pm 0,13 ^a	5,07 \pm 0,13 ^a	0,0026	**
Λακτόζη	4,61 \pm 0,04 ^a	4,75 \pm 0,03 ^β	4,63 \pm 0,08 ^{αβ}	4,60 \pm 0,08 ^{αβ}	0,0454	*
ΣΥΑΛ	10,81 \pm 0,09 ^a	10,46 \pm 0,07 ^β	10,70 \pm 0,16 ^{αβ}	10,61 \pm 0,16 ^{αβ}	0,0334	*
Συνολικά Στερεά	16,72 \pm 0,22 ^a	15,72 \pm 0,18 ^β	16,99 \pm 0,38 ^a	16,65 \pm 0,38 ^a	0,0005	***

p<0,05*, p<0,01**, p<0,001***

^{α,β,γ} Διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια σειρά δηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.05

n=αριθμός ζώων ανά ομάδα

Οι Theodorou *et al.*, (2007), μελέτησαν την επίδραση τριών ελληνικών φυλών προβάτου στη συγκέντρωση των κύριων συστατικών του γάλακτος (λίπος, πρωτεΐνη και λακτόζη) και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 21. Ουσιαστικά δηλαδή πρόκειται για τις ίδιες φυλές που εξετάστηκαν στα πλαίσια της παρούσας μελέτης με εξαίρεση την Καραγκούνικη φυλή.

Η συγκέντρωση όλων των συστατικών του γάλακτος (λίπος, πρωτεΐνη, λακτόζη) ήταν στατιστικώς σημαντικά χαμηλότερες στο γάλα των προβατινών της φυλής Χίου σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές στο γάλα των προβάτων της ορεινής φυλής Ηπείρου και στο γάλα των προβατινών της φυλής Χίου σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές στο γάλα των προβατινών της συνθετικής φυλής. Τα αποτελέσματά τους έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Αναλυτικότερα, δεν παρατηρούνται μεγάλες διαφορές στις συγκεντρώσεις των κύριων συστατικών πρόβειου γάλακτος, αν συγκριθούν οι 3 κοινές φυλές στις 2 αυτές μελέτες.

Πίνακας 21: Συγκεντρώσεις των κύριων συστατικών του γάλακτος (%) (\pm SEM) στις 3 ελληνικές φυλές προβάτου (Theodorou *et al.*, 2007)

	Φυλή		
	Ορεινή Ηπείρου	Συνθετική	Χίου
Παρατηρήσεις (ν)	112	146	124
Λίπος, %	7,07 \pm 0,14 ^α	6,39 \pm 0,12 ^β	6,14 \pm 0,12 ^β
Πρωτεΐνη, %	5,85 \pm 0,05 ^α	5,74 \pm 0,04 ^α	5,49 \pm 0,05 ^β
Λακτόζη, %	4,77 \pm 0,03 ^α	4,72 \pm 0,02 ^α	4,61 \pm 0,02 ^β

^{αβ} Διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια σειρά δηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο p<0,05

2.6 Επίδραση φυλής στην ενζυμική ενεργότητα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου

Ο Πίνακας 22 παρουσιάζει τα αποτελέσματα της διερεύνησης σχετικά με τη διαφοροποίηση της ενζυμικής ενεργότητας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου στις τέσσερις φυλές. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 4 φυλών προβάτων.

Πίνακας 22: Μέσοι όροι (\pm Τυπικό Σφάλμα) της Ενζυμικής Ενεργότητας του Ενεργοποιητή του Πλασμινογόνου (ΔA), για τις 4 φυλές (1: Καραγκούνικο, 2: Χιώτικο, 3: Μπούτσικο, 4: Βελτιωμένο)

Παράμετροι	Φυλή				P	Σημαντικότητα
	1 n=49	2 n=100	3 n=16	4 n=27		
Ενζυμική ενεργότητα Ενεργοποιητή Πλασμινογόνου (ΔA)	0,28 \pm 0,02	0,28 \pm 0,02	0,26 \pm 0,04	0,29 \pm 0,03	0,8783	NS
NS: Μη στατιστικά σημαντικές διαφορές $p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$ n=αριθμός ζώων ανά ομάδα						

3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Παρατίθενται συγκεντρωτικά τα κυριότερα συμπεράσματα που εξάγονται από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης:

- Ο υψηλός αριθμός σωματικών κυττάρων, επέδρασε αρνητικά στην ημερήσια γαλακτοπαραγωγή των μελετώμενων προβάτων ($P < 0,001$). Αυτό είναι αναμενόμενο δεδομένου ότι είναι γνωστή η επίδραση που έχει ο μεγάλος αριθμός σωματικών κυττάρων και κατ' επέκταση η παρουσία μαστίτιδας (καταπόνηση του μαστικού αδένου) στο ύψος της γαλακτοπαραγωγής. Η αύξηση των σωματικών κυττάρων του γάλακτος στην περίπτωση μολύνσεων του μαστού είναι σημάδι ότι το ανοσοποιητικό σύστημα του ζώου έχει ενεργοποιηθεί και η μείωση της γαλακτοπαραγωγής οφείλεται στη καταστροφή των κυτταρικών μεμβρανών των εκκριτικών κυττάρων του μαστικού αδένου κατά την προσβολή τους από μικροοργανισμούς.
- Ο υψηλός αριθμός σωματικών κυττάρων αύξησε τη λιποπεριεκτικότητα ($P < 0,05$), την πρωτεϊνοπεριεκτικότητα ($P < 0,001$) και τα συνολικά συστατικά ($P < 0,01$), μείωσε όπως αναμενόταν, το περιεχόμενο της λακτόζης ($P < 0,001$) ενώ δεν επηρέασε τα ΣΥΑΛ. Η καταστροφή της βασοπλευρικής μοίρας των γαλακτικών – εκκριτικών κυττάρων του μαστού, λόγω μαστίτιδας και συνεπώς υψηλού αριθμού σωματικών κυττάρων επέφερε ανισορροπία στη βιοσυνθετική λειτουργία του και συνεπώς αλλαγή της χημικής σύστασης του παραγόμενου γάλακτος.
- Επίσης ο υψηλός αριθμός σωματικών κυττάρων στο γάλα των προβατινών επέφερε μεγαλύτερη τιμή απορρόφησης για τον ενεργοποιητή πλασμινογόνου ($P < 0,001$). Η πρωτεϊνόλυση που πραγματοποιείται σε μαστούς που έχουν προσβληθεί οδηγεί στην ενεργοποίηση των πρωτεολυτικών ενζύμων και συγκεκριμένα αύξηση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου που μετατρέπει το πλασμινογόνο σε πλασμίνη.
- Η Χιώτικη φυλή ήταν αναμενόμενο, λόγω της γενετικής της σύστασης να παράγει τη μεγαλύτερη ποσότητα γάλακτος ($P < 0,001$) και συνεπώς τη μικρότερη λιποπεριεκτικότητα ($P < 0,01$) αφού ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ γαλακτοπαραγωγής και λιποπεριεκτικότητας είναι αρνητικός.
- Η ενεργότητα του ενεργοποιητή πλασμινογόνου δε διαφοροποιήθηκε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των 4 φυλών που χρησιμοποιήθηκαν (Καραγκούνικο, Χιώτικο, Μπούτσικο, Βελτιωμένο). Με το αποτέλεσμα αυτό δίνεται η δυνατότητα να εξαχθεί

το συμπέρασμα ότι ο παράγοντας φυλή τουλάχιστον για τις συγκεκριμένες που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη δεν επέδρασε στην ενεργότητα των πρωτεολυτικών αυτών ενζύμων και δεν αποτελεί παράγοντα θετικό ή αρνητικό για τη δράση τους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alais, C. (1984). "Science du lait. Principes des techniques laitieres". SEPAIC, Paris
- Albenzio, M., Caroprese, M., Marino, R., Santillo, A., Taibi, L., Sevi, A. (2005). "Effects of somatic cell count and stage of lactation on the plasmin activity and cheese-making properties of ewe milk". *J. Dairy Sci.* 87:533-542.
- Albenzio, M., Marin, R., Caroprese M., Santillo A., Annicchiarico G., Sevi, A. (2004). "Quality of milk and of Canestrato pugliese cheese from ewes exposed to different ventilation regimens". *J. Dairy Res.* 71: 434-443
- Alfonso, C.G. and Berman, C. (1953). "Contribution a l'etude de la composition du lait. Anhydrase carbonique, rhodanase et phosphomonocetrase alcaline dans le laits de vache, de chevre et de brebis. (Contribution to the study of milk composition, carbon anhydrose, rhodanase and alkaline phosphomonoesterase in the milk of cows, goats and sheep". *Lait*, 37: 386-390.
- Andrews, A. T. (1983). "Proteinases in normal bovine milk and their actions on caseins". *J. Dairy Res.* 50:45-55.
- Andrews A.T., Alichanidis E.C. (1975), "Acid phosphatases activity in cheese and starters", *Journal of Dairy Research* 42, p. 327-339.
- AOAC, (1980). Official Methods of Analysis, 13th edition. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Athie, F., K. C. Bachman, H. H. Head, M. J. Hayen, and C. J. Wilcox (1997). "Milk plasmin during mammary involution that has been accelerated by estrogen". *J. Dairy Sci.* 80:1561-1568.
- Azizzuddin, I.M. & Nair, K.P.C. (1954). "Studies on Pseudomonas aeruginosa infection in animals". *Madras Veterinary College Annual* 12:17-22.

- Bailey, T. (1996). "Negative influence of subclinical mastitis". Virginia State University. <http://www.ext.vt.edu.news/periodicals/dairy/1996-10/subclinmast.html>
- Bakken, G. & Gudding, R. (1982). *Acta Agriculturae Scandinavica* 32:17.(Αναφέρεται στην εργασία των Bor et al 1989).
- Ball, H.J. (1990). "Experimental mastitis caused by *Mycoplasma bovis* and *M. canadense* in the ewe". *Microbiology* 22:383-388.
- Bastian, E.D., Brown, R.J. (1996). *Int. Dairy J.* 6:435-457
- Bastian, E. D., Brown, R. J. & Ernstrom, C. A. (1991). "Plasmin activity and milk coagulation". *Journal of Dairy Science* 74 3677-3685
- Bell, K. and McKenzie, H.A. (1964). "B-Lactoglobulin". *Nature*, 204: 1275- 1279.
- Bell, K. and McKenzie, H.A. (1967). "The whey proteins of ovine milk. B-Lactoglobulin A and B". *B & hem. Biophys. Acta*, 147: 123-134.
- Berglund I., G. Pettersson, K. Ostensson, and K. Svennersten-Sjaunja (2007). "Quarter milking for improved detection of increased SCC". *Reproduction in Domestic Animals*. 42, 427-432.
- Bianchi L., Bolla A., Budelli E., Caroli A., Casoli C., Pauselli M., Duranti E. (2004). "Effect of udder health status and lactation phase on the characteristics of Sardinian ewe milk". *J. Dairy Sci.* 87, 2401-2408
- Bor, A., Winkler, M., & Gootwine, E. (1989). "Non-clinical intramammary infection in lactating ewes and its association with clinical mastitis". *British Veterinary Journal* 145: 178 - 184.

- Borkova, M. and Snaselova, J. (2005). "Possibilities of different animal milk detection in milk and dairy products - a review," *Czech J. Food Sci* 23(2), 41-50
- Brolund, L. (1985), "Cell count in bovine milk: Causes of variation and applicability for diagnosis of subclinical mastitis". *Acta Vet. Scand.*, Suppl. 80, 1-123. Thesis.
- Bufano G., Dario C., Pieragostini E. (1996). "La situazione attuale delle razze autoctone pugliesi", Atti Conv. "Ruolo del germoplasma animale autoctono nella salvaguardia del territorio", Bari 17/09/1996;
- Chandan RC, Parry RM, Shahani KM (1968). "Lysozyme, lipase, and ribonuclease in milk of various species", *J Dairy Sci.* 51:606–607
- Chandan, R. C., R. M. Parry Jr. and K. M. Shahani (1965). "Lysozyme, lipase and ribonuclease in milk of various species". *J. Dairy Sci.* 51:606-607.
- Christ, W. L., Harmon, R.J. O'Leary, J. and McAllister, A.J. (1997). "Mastitis and its control". University of Kentucky, USA.
<http://www.uky.edu/Ag/AnimalSciences/extension/pubpdfs/asc140.pdf>
- Clark, R. G. (1980). "Ovine mammary diseases". A review. Proceedings of 10th seminar of New Zealand Veterinary Association Sheep & Beef Cattle Society, July 1980, New Zealand, pp. 16-29.
- Considine, T., A. Healy, A. L. Kelly, and P. L. H. McSweeney. (1999). "Proteolytic specificity of elastase on bovine β -casein. *Food Chem.* 66:463–470.
- Considine, T., A. Healy, A. L. Kelly, and P. L. H. McSweeney. (2000). "Proteolytic specificity of elastase on bovine α s1-casein". *Food Chem.* 69:19–26.
- Cutlip, R.C., Lehmkuhl, H.D., Brogden, K.A., & Bolin, S.R. (1985). "Mastitis associated with Ovine Progressive Pneumonia Virus infection in Sheep". *American Journal of Veterinary Research* 46: 326 - 328.

- DeGraves, FJ and Fetrow, J. (1993). "Economics of mastitis and mastitis control". *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 9: 421-434.
- Directive 94/71/EC (1994). "Directive amending Directive 92/46/EC laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat-treated milk and milk-based products". *Office Journal of European Community L.* 368:33-37.
- Dohoo, I. (2001). "Setting SCC cutpoints for cow and herd interpretation". National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, pp. 10-18
- Duranti E. & Casoli C. (1991). "Variazione della composizione azotata e dei parametri lattodinamografici del latte di pecora in funzione del contenuto di cellule somatiche". *Zoot. Nutr. Anim.*, 17, 99-105
- Eberhart, R. J., H. C. Gilmore, L. J. Hutchinson, and S. B. Spencer (1979). "Somatic cell counts in DHI samples". Page 32 in Proc. 18th Annu. Mtg. Natl. Mastitis Council., Louisville, KY. Natl. Mastitis Council., Inc., Arlington, VA.
- El-Masannat, E.T.S (1987). "Ovine mastitis with special reference to mastitis caused by *Pasteurella haemolytica*". Ph.D. thesis, The Royal Veterinary College, University of London
- El-Saied, U.M., Carriedo, J.A., de la Fuente, L.F. and San Primitivo F. (1999). "Genetic parameters of lactation cell counts and milk and protein yields in dairy ewes". 82: 639-644.
- Emanuelson, V. and Persson, E. (1984), "Studies on somatic cell counts from Swedish dairy cows". *Acta Agric. Scand.* 34:33.
- European Union (2004). Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for the hygiene of foodstuffs. *Official Journal of the European Union L139*, 30.4.2004, 55-205

- European Union (2006). Commission Regulation (EC) No 1662/2006 of 6 November 2006 amending Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council laying down specific hygiene rules for food of animal origin. *Official Journal of the European Union* L320, 18.11.2006, 1-10
- Fadlemoula. A.A., Anacker, G., Fahr, R.D. and Swalve H.H. (2008). "Factors Affecting Test-Day Somatic Cell Counts and Milk Yield of Dairy Cows". *International Journal of Dairy Science* 3 (2):105-111.
- FAO (2009), "Grade A Pasteurized Milk Ordinance", U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, Retrieved:
<http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/UCM209789.pdf>
- Ferranti, P., M. V. Traisci, G. Picariello, A. Nasi, V. Boschi, M. Siervo, C. Falconi, L. Chianese, and F. Addeo (2004). "Casein proteolysis in human milk: Tracing the pattern of casein breakdown and the formation of potential bioactive peptides". *J. Dairy Res.* 71:74–87.
- Firstenberg-Eden, R., D. L. Foti, S. T. McDougal, and J. Baker (2002). "Optical instrument for the rapid detection of microorganisms in dairy products". *Int. Dairy J.* 12:225-232
- Food and Agriculture Organization/World Health Organization (1973). "WHO Technical Report Series No. 522", FAO Nutrition Meetings Report Series No. 52. FAO/WHO, Geneva.
- Food and Drug Administration (FDA) (2009), www.fda.gov/food
- Fox, P. F., and A. L. Kelly. (2006). "Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects—Part 1". *Int. Dairy J.* 16:500 – 516.

- Frank, J.F. & Hassan, A.N. (2003). "Microorganisms associated with milk". In: Roginski, H., Fuquay, J.W. & Fox, P.F. (eds.). *Encyclopedia of dairy sciences*. London, UK. Academic Press, Elsevier Science. pp. 1786-1796.
- Fthenakis, G.C. & Jones, J.E.T. (1990a). "The effect of inoculation of coagulase-negative staphylococci into the ovine mammary gland". *Journal of Comparative Pathology* 102: 211-219.
- Fthenakis, G.C. & Jones, J.E.T. (1990b). "The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lambs". *British Veterinary Journal* 146: 43-49.
- Fthenakis, G. (1988). "Ovine mastitis with special reference to subclinical mastitis associated with Coagulase-negative Staphylococci". Ph. D. thesis. The Royal Veterinary College, University of London.
- Fuertes, J.A., Gonzalo, C., Carriedo, J.A. and San Primitivo, F. (1998). "Parameters of test day milk yield and milk components for dairy ewes". 3, 81: 1300-1307.
- Gilmore, A. P., Ohanian, V., Spurr, N. K. and Critchley, D. R. (1995a). "Localisation of the human gene encoding the cytoskeletal protein talin to chromosome" 9p. *Hum. Genet.* 96, 221-224.
- Gilmore, J., J. H. White, B. Zavizion, and I. Politis. (1995b). "Effect of stage of lactation and somatic cell count on plasminogen activator activity in bovine milk". *J. Dairy Res.* 62:141-145.
- Gonzalo C, Carriedo JA, Beneitez E, Juarez MT, De La Fuente LF, San Primitivo F (2006). "Short communication: bulk tank total bacterial count in dairy sheep: factors of variation and relationship with somatic cell count". *J. Dairy Sci* 89: 549-552

- Gonzalo, C., J. A. Carriedo, J. A. Baro, and F. San Primitivo (1994). "Factors influencing variation of test day milk yield, somatic cell count, fat and protein in dairy sheep". *J. Dairy Sci.* 77:1537–1542
- Green, T.J. (1984). "Use of somatic cell counts for detection of subclinical mastitis in ewes". *The Veterinary Record* 114, 43
- Gunasekera, T. S., D. A. Veal, and P. V. Attfield (2003). "Potential for broad applications of flow cytometry and fluorescence technique in microbiological and somatic cell analyses of milk". *Int. J. Food Microbiol.* 85:269–279
- Haenlein, G.F.W. (1998). "The value of goat and sheep to sustain mountain farmers". *Int. J. Anim. Sci.* 13, 187–194.
- Haile-mariam, M., P.J., Bowman and M.E. Goddard (2001). "Genetic and environmental correlations between test-day somatic cell count and milk yield traits". *Livestock Production Science.* 73:1-13.
- Harmon, R. J. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 77:2103-2112.
- Harmon, R.J. and Reneau, J.K. (1993) "Factors affecting the somatic cell count in milk", National mastitis Council Annual Meeting Proceedings, pp 48-54
- Hartman, A. M., and L. P. Dryden (1974). "Vitamins in milk and milk products". Pages 325–401 in *Fundamental of Dairy Chemistry*. 2nd ed. B. H. Webb, A. H. Johnson, and J. A. Alford, ed. AVI/Van Norstrand Reinhold, New York, NY.
- Heegaard CW, Rasmussen LK & Andresen PA (1994b). "The plasminogen activation system in bovine milk: differential localization of tissue-type plasminogen activator and urokinase in milk fractions is caused by binding to casein and urokinase receptor". *Biochimica et Biophysica Acta– Molecular Cell Research* 1222 45–55

- Honhold, N. & Carter, M.E. (1987). "Pseudomonas aeruginosa mastitis in Sabi ewe". *The Veterinary Record* 120, 16.
- Huppertz T, Fox PF, De Kruif CG & Kelly AL (2006a). "High pressureinduced changes in bovine milk proteins: a review". *Biochimica et Biophysica Acta – Proteins and Proteomics*, 1764 593–598
- IDF (1986). "The Manufacture and Characteristics of Ewe and Goat Milk". *Bulletin of the International Dairy Federation* No. 202, 222 pp
- JAEGGI, J. J., GOVINDASAMY-LUCEY, S., BERGER, M. Y., JOHNSON, E. M., McKUSICK, C. B., THOMAS, L. D., WENDORFF, L. W. (2003). "Hard Ewe's Milk Cheese Manufactured from Milk of Three Different Groups of Somatic Cell Counts". *J. Dairy Sci.*, 86:3082-3089.
- Jayarao, B. M., and D. R. Wolfgang (2003). "Bulk-tank milk analysis. A useful tool for improving milk quality and herd udder health". *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 19:75–92.
- Jones, J.E.T. (1991). "Mastitis In: Diseases of sheep", 2nd ed., Eds W.B. Martin & I.D.Aitken. pp. 75-78 Oxford, U.K.Blackwell Scientific publications
- Jones, G. M., R. E. Pearson, G. A. Clabaugh, and C. W. Heald (1984). "Relationships between somatic cell counts and milk production". *Journal of Dairy Science* 67(8): 1823-31.
- Jones, G.E. (1983). "Mycoplasmas of sheep and goats". *The Veterinary Record* 113: 619-620.
- Jones, T.O. & Turnbull, P.C.B. (1981). "Bovine mastitis caused by bacillus cereus". *The Veterinary Record* 108: 272-274.
- Kalantzopoulos, G., Dubeuf, J.P., Vallerand, F., Pirisi, A., Casalta, E., Lauret, A., Trujillo, T., (2004). "Characteristics of sheep and goat milks: quality and hygienic

- factors for the sheep and goat dairy sectors". In: *International Dairy Federation Bulletin* No. 390, pp. 17–28.
- Katanos, J., Karampalis, K., Papadopoulou, Sm. (2007). "Status of Sheep and Goat farming in Lagkada Province of Thessalonika prefecture", Central Macedonia, Greece. *Options Mediterraneennes Series A: Mediterranean Seminars 2009*, Number 85.
- Katsaounis, N., Zygoiannis, D. (1984). "Production laiti'ere et composition du lait de brebis de race karagouniko 1. Brebis allaitant des agneaux de race Karagouniko". *Rec. M'ed. V'et.* 160 (10), 825–832.
- Kelly, P.T., Berry, D.P., O'Brien, B., O'Sullivan, K., O'Callaghan, E.J., Rath, M. and W.J. Meaney (2006). "Temporal trends in bulk tank milk quality". In: proceedings of Irish Grassland and Animal Production Association. Tullamore, Co. Offaly. 15th-16th March. pp.27
- Kelly, A. L., and P. L. H. McSweeney.(2002). "Indigenous proteinases in milk". *Adv. Dairy Chem.* 1:494–519.
- Kitchen, B. J. (1981). "Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests". *J. Dairy Res.* 48:167-188.
- Kitchen, B.J., Middleton, G., Durward, I.G., Andrews, R.J. and Salmon, M.C. (1980). "Mastitis diagnostic tests to estimate mammary gland epithelial cell damage". *Journal of Dairy Science* vol. 63: No 6: 978-983.
- Kitchen, B. J., G. C. Taylor and I. C. White (1970), "Milk enzymes, their distribution and activity". *J. Dairy Res.*, 37: p. 279-288.
- Kloos, W.E. (1980). "Natural population of the genus *Staphylococcus*". *A. Rev. Microbiol.* 34: 559-592.
- Klungel G. H., B. A. Slaghuis and H. Hogeveen (2000). "The Effect of the Introduction of Automatic Milking Systems on Milk Quality", *J. Dairy Sci* 83:1998–2003.

- Korukov, H.(1981)."Streptococcal mastitis in ewes". *Veterinaria Sbiraska, Sofia* 79: 29-30.
- Laws, L., & Elder, J.K. (1969). "Mastitis in sheep caused by *Actinobacillus Lignieresii*". *Australian Veterinary Journal* 5: 401-403.
- Leitner, G., M. Chaffer, A. Shamay, F. Shapiro, U. Merin, E. Ezra, A. Saran, and N. Silanikove. (2004a). "Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep". *J. Dairy Sci.* 87:46–52.
- Leitner, G., U. Merin, and N. Silanikove (2004b). "Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats". *J. Dairy Sci.* 87:1719–1726.
- Leitner, G., M. Chaffer, Y. Carasso, E. Ezra, D. Kababea, M. Winkler and A. Saran (2003). "Udder infection and milk somatic cell count, NAGase activity and milk composition—fat, protein and lactose—in Israeli Assaf and Awassi sheep". *Small Rumin. Res.* 49:157–164.
- Le Roux, Y., O. Colin, and F. Laurent (1995). "Proteolysis in samples of quarter milk with varying somatic cell counts. Comparison of some indicators of endogenous proteolysis in milk". *J. Dairy Sci.* 78:1289–1297.
- Little, D.A. (1980). "Observations on the phosphorus requirement of cattle for growth". *Res. Vet. Sci.* 28:258-268.
- Mackie, D.P. and Rodgers, S.P. (1986). "Mastitis and cell content in milk from Scottish Blackface ewes". *Vet Rec.* 118: 20-21.
- Maisi, P., Junttila, J. and Seppanen, J. (1987). "Detection of subclinical mastitis in ewes". *Br. Vet. Journal* 143: 402-409.
- Maubois, J.L., Ron, R. and Ribadeau-Dumas, B. (1965). "Preparation et etude de la B-lactoglobulin de brebis cristallise" (Preparation and study of crystallized sheep E-lactoglobulin) *B&hem. Biophys. Acta*, 501: 65-68.

- Mandal, P.C., Sharma, D.R., & Ahuja, S.P. (1977). "Observations on a spontaneous case of fatal ovine mastitis due to *Klebsiella Pneumoniae*". *Zentralblatt fur Veterinarmadizin Reihe* 24:168-174.
- Margetin M, Capitrak A, Spanic J, Foltys V. (1996). "Somatic cell count in ewe milk correlated with yield and composition during suckling and milking". *Czech J Anim Sci* 41, 543-50 [in Czech]
- Matteri, R. L., J. A. Carroll, and C. J. Dyer (2000). "Neuroendocrine responses to stress". In: G. P. Moberg and J. A. Mench (ed.) *The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. pp 43–76. CABI Publishing, Oxon, U.K
- Mavrogenis, A. P., A. Koumas, C. K. Kakoyiannis and C. K. Taliotis (1995). "Use of somatic cell counts for the detection of subclinical mastitis in sheep". *Small Rum. Res.* 17:79–94.
- McGuire MA, Bauman DE. (2002). "Milk biosynthesis and secretion". In: Roginski H, Fuquay JW, Fox PF editor. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. London, UK: Elsevier Science Ltd, p. 1828–1834
- McKenzie, H. A. (1971). "Whole casein: isolation, properties and zone electrophoresis". In *Milk Proteins, Chemistry and Molecular Biology*, pp. 87-116 [H. A. McKenzie, editor]. New York and London: Academic Press.
- Miller, G. Y., P. C. Barlet, S. E. Lance, J. Anderson and L. E. Heider (1993). "Cost of clinical mastitis and mastitis prevention in dairy herds". *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 202: 1230-1236.
- Molen, E.J., Van der Vecht, U. & Houwers D.J. (1985). "A chronic in durative mastitis in sheep associated with maedi-visna virus infection". *Veterinary Quarterly* 7: 112-119.
- Morgante M., Ranucci, S., Pauselli, M., Beghelli, D., Mencaroni, G., (1996). Total and differential cell count by direct microscopic method on ewe milk. *J. Vet. Med.* 43:451-458.

- Moussaoui, F., I. Michelutti, Y. Le Roux, and F. Laurent (2002). "Mechanisms involved in milk endogenous proteolysis induced by a lipopolysaccharide experimental mastitis". *J. Dairy Sci.* 85:2562–2570.
- Muehlherr, J.E., Zweifel, C., Corti, S., Blanco, J.E., Stephan, R. (2003). "Microbiological quality of bulk-tank raw milk of goat and ewe in Switzerland". *J. Dairy Sci.* 86, 3849–3856.
- Muir D.D. (1996). "Le Shelf-life of Dairy Products: 3. Factors Influencing Intermediate and Long Life Dairy Products". *J. Soc. Dairy Technol.*, 49, 67–72.
- Nickerson, S.C. (1987). "Resistance mechanism of the bovine udder. New implications for mastitis control at the teat end". *Journal of the American Veterinary Medical Association* 191: 1484 (cited in Burriel 1997).
- Nocard, M.E. (1887). "A note on the gangrenous mastitis of dairy ewes", *Annales del' Institut Pasteur de Paris* 1: 417-428
- Nudda A., Feligini M., Battacone G., Macciotta N.P.P., Pulina G. (2003). "Effects of lactation stage, parity, b-lactoglobulin genotype and milk SCC on whey protein composition in Sarda dairy ewes". *It. J. Anim. Sci.*, 1: 29-39.
- O'Driscoll, B. M., F. P. Rattray, P. L. H. McSweeney, and A. L. Kelly. (1999). "Protease activities in raw milk determined using a synthetic heptapeptide substrate". *J. Food Sci.* 64:606–611.
- Oliver, R.E., Gorham, J.R., Parish, S.F., Hadlow, W.J., Narayan, O. (1981). "Ovine Progressive Pneumonia: Pathologic and Virologic Studies on the Naturally Occurring Disease". *American Journal Of Veterinary Research* 42: 1554-1559
- Othmane, M.H., Carriedo, J.A., de La Fuente, L.F. and San Primitivo, F. (2002b). "Factors affecting test-day milk composition in dairy ewes, and relationships amongst various milk components". *J. Dairy Res.*, 69: 53-62.

- Owen, C. A., and E. J. Campbell. (1999). "The cell biology of leukocytemediated proteolysis". *J. Leukoc. Biol.* 65:137–150.
- Paape, M.J., Wiggans, G.R., Bannerman, D.D., Thomas, D.L., Sanders, A.H., Contreras, A., Moroni, P., Miller, R.H. (2007). "Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts". *Small Ruminant Res.* 68:114-125.
- Paape, M.J., Poutrel, B., Contreras, A., Marco, J.C., Capuco, A.V. (2001). "Milk somatic cells and lactation in small ruminants". *J. Dairy Sci.* 84: p. 237-243
- Pegreff, G. (1963). "Mastitis in sheep and in goat". *Bulletin de l'office internationale des Epizooties* 60:1009-1040
- Pekelder, J.J., Veenink, G.J., Akkermans, J.P.W.M., Eldik, P., Elving, L., Houwers, D.J. (1994). "Ovine lentivirus induced indurative lymphocytic mastitis and its effect on the growth of lambs". *Veterinary Record* 134: 348-350
- Pellegrini, O., F. Remeuf, M. Rivemale, and F. Barillet (1997). "Renneting properties of milk from individual ewes: Influence of genetic and non-genetic variables, and relationship with physiochemical characteristics". *J. Dairy Res.* 64: 355-366.
- Philpot, W.N. (1979). "Control of mastitis by hygiene and therapy". *J. Dairy Sci.* 62:168-176
- Philpot, W.N. (1978). "Prevention of mastitis by hygiene". In Wilcox, C.J. et al., 1978. Large dairy herd management. University of Florida, Gainesville, Florida. 1046 pages.
- Phuektes, Patchara Browning, Glenn F.; Anderson, Garry and Mansell, Peter D. (2003). "Multiplex polymerase chain reaction as a mastitis screening test for *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis* in bulk milk samples". *Journal of Dairy Research*, vol. 70, no. 2, p. 149-155.

- Pirisi, A., A. Lauret and J.P. Dubeuf (2007). "Basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality". *Small Rumin. Res.*, 68: 167-178
- Pirisi, A., Piredda, G., Corona, M., Pes, M., Pintus, S., Ledda, A. (2000). "Influence of somatic cell count on ewe's milk composition, cheese yield and cheese quality". 6th Great Lake Dairy Sheep Symposium, November 2-4,. Guelph, Ontario, Canada.
- Pisanu, S. & Manca, A. (1964). "Infectious mastitis caused by *Streptococcus uberis* in sheep milked by machine". *Veterinaria Italiana* 15:824-832, & 833-841.
- Pisanu, S. (1960). "A new form of infectious mastitis of sheep caused by *Streptococcus zooepidermicus*", *Veterinaria Italiana* 11:886-893.
- Pisoni, G., A. Quasso and P. Moroni (2005). "Phylogenetic analysis of small-ruminant lentivirus subtype B1 in mixed flocks: evidence for natural transmission from goats to sheep". *Virology*, 339: 147-152.
- Politis, I. (1996). "Plasminogen activator system: implications for mammary cell growth and involution". *Journal of Dairy Science* 79 1097-1107
- Politis, I., Hidioglou, M., Batra, T.R., Gilmore, J.R., Gorewit, R.C., Scherf, H. (1995). "Effects of vitamin E on immune function of dairy cows". *American Journal of Veterinary Research* 56, 179–184
- Politis, I., Lachance, E. Block, E. Turner, J. D. (1989a). "Plasmin and plasminogen in bovine milk: a relationship with involution?" *Journal of Dairy Science* 72:900-906.
- Politis, I., Ng Kwai Hang, K. F. & Giroux, R. N. (1989b). "Environmental factors affecting plasmin activity in milk". *Journal of Dairy Science* 72 1713–1718
- Posati, L.P. and Orr, M.L. (1976). "Composition of foods. Dairy and egg products: Raw, processed, prepared". Agriculture Hand-book No. 8-I.U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC.

- Poutrel, B. (1984). "Udder infection of goat by coagulase-negative staphylococci". *Veterinary Microbiology* 9: 131-137.
- Prescott, S.C. and R. S. Breed (1910). "The determination of the number of body cells in milk by a direct method". *J. Inf. Dis.* 7:362
- Quinlivan, T.D. (1972). "Ovine mastitis. Proceedings of 2nd seminar of New Zealand Veterinary Association Sheep Society", June 1972, Palmerston North, *New Zealand*, pp 33-40.
- Quinlivan, T.D. (1968a). "Survey observation on ovine mastitis in New Zealand stud Romney flocks.1.The incidence of ovine mastitis". *New Zealand Veterinary Journal* 16:149-153.
- Rajčević Marija, Potočnik Klemen and Levstek Joze (2003). "Correlations Between Somatic Cells Count and Milk Composition with Regard to the Season", *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 68:221-226.
- Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccar, P., Guillet, I. and Chilliari, Y. (2008). "Composition of goat and sheep milk products": An update. *Small Ruminant Research* 79: 57-72.
- Raynal-Ljutovac, K., Pirisi, A., de Crémoux, R., & Gonzalo, C. (2007). "Somatic cells of goat and sheep milk: analytical, sanitary, productive and technological aspects". *Small Ruminant Research*, 68, 126-144
- Raynal-Ljutovac, K., Gaborit, P., & Lauret, A. (2005). "The relationship between quality criteria of goat milk, its technological properties and the quality of the final products". *Small Ruminant Research* 60, 167-177.
- Reneau J.K. (1986). "Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control". *J. Dairy. Sci.* 69:1708 – 1720.

- Richardson, B. C. (1983a). "The proteinases of bovine milk and the effect of pasteurisation on their activity". *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* 18 233-245
- Robbins, K.C., Summari, L., Hsieh, B., Shah, R.J. (1967). "The peptide chains of human plasmin. Mechanism of activation of human plasminogen to plasmin". *J. Biol. Chem.* 242,233-2342
- Rupp, R., C. Bertrand and S. Bazin (2000). "Overview of milk somatic cell counts in French dairy cattle breeds". *Prod. Anim.* 13 (4): 257-267.
- Saini, A.L. and Gill, R.S. (1991). "Goat milk: An attractive alternate". *Indian Dairyman*, 42: 562-564.
- Saloniemi, H. (1995). "Use of somatic cell count in udder health work". In: The bovine udder and mastitis. (Eds. Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L. & Pyörälä S.) University of Helsinki, Faculty of Medicine, Helsinki. 105-110.
- Saratsis P., Alexopoulos C., Tzora A., Fthenakis G.C. (1999). "The effect of experimentally induced subclinical mastitis on the milk yield of dairy ewes". *Small Ruminant Research.* 32, 205-209.
- SAS Institute Inc. (2005). "Statistical analysis systems users guide". Version 9.1.3. SAS Institute, Inc., Cary, NC
- Schaller, J., Moser, P.W., Dannegger-Muller, G.A., Rosselet, S.J., Kampf, U., Rickli, E.E., (1985). "Complete amino acid sequence of bovine plasminogen. Comparison with human plasminogen". *Eur. J. Biochem.* 149,267-268
- Schallibaum Melchior (2001). National Mastitis Council, Inc. 40th Annual Meeting Proceedings.
- Sheldrake, R. F., R. J. T. Hoare and G. D. McGregor (1983). "Lactation stage, parity, and infection affecting somatic cells, electrical conductivity, and serum albumin in milk". *J. Dairy Sci.* 66:542-547.

- Shelef, L.A. and G. Eden (1996). "Optical instrument rapidly detects and enumerates microorganisms in food", *Food Technology* 50: 82-85.
- Shoops, D.S., Myers, L.L. (1984). "Serologic analysis of isolates of *Pasteurella haemolytic* and *Staphylococcus aureus* from mastitic ewes". *Am. J. Vet. Res.*, 45: 1944- 1946.
- Silanikove, N, A. Shamay, D. Shinder, and A. Moran (2000). "Stress down regulates milk yield in cows by plasmin induced β – casein product that blocks k^+ channels on the apical membranes". *Life Sci.*, 67:2201 – 2212
- Sinapis, E.; Marnet, P.G.; Skapetas, B. & Hatziminaoglou, I. (2007). "Vacuum level for opening the teat sphincter and the change of the teat end wall thickness during the machine milking of mountainous Greek breed (Boutsiko) ewes". *Small Ruminant Research*, Vol. 69, No. 1-3, pp. 136-143
- Smith, K.L. (1996). "Standards for somatic cell count in milk: physiological and regulatory". *International Dairy Federation Mastitis Newsletter*, September, p.7.
- Sorhaug, T. and Stepaniak, L. (1997). "Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects". *Trends Food Sci. Technol.* 8, 35-41.
- Sottrup-Jensen, L., Zajdel, M., Claeys, H., Petersen, T.E., Magnusson, S. (1975). "Amino-acid sequence of activation cleavage site in plasminogen:homology with pro part of prothrombin". *Proc. Natl.Acad. Sci. U.S.A.* 72, 2577-2581
- Stefanakis, A., Boskos, C., Alexopoulos, C. and Samartzis, F. (1995). "Frequency of subclinical mastitis and observation on somatic cell counts in ewe's milk in northern Greece". *Anim. Sci* 61: 69-76.
- Stelwagen, K. (2002a). "Milk biosynthesis and secretion: protein". In: Roginski, H., J.W. Fuquay and P.F. Fox (eds.). *Encyclopedia of Dairy Sciences*, pp. 1835-1842. London: Academic Press.

- Stelwagen, K. (2002b). "Milk biosynthesis and secretion: lactose". In: Roginski, H., J.W. Fuquay and P.F. Fox (eds.). *Encyclopedia of Dairy Sciences*, pp. 1842-1847. London: Academic Press.
- Theodorou G., Kominakis A., Rogdakis E., Politis I. (2007). "Factors affecting the plasmin -plasminogen system in milk obtained from three Greek dairy sheep breeds with major differences in milk production capacity". *Journal of Dairy Science* 92:4, 1330-1337
- Timms, L.L and Schultz, L.H. (1984). "Mastitis therapy for cows with elevated somatic cell count or clinical mastitis", *Journal of Dairy Science* 67:367-371.
- Tunncliffe, E.A. (1949). "Pasteurella mastitis in ewes". *Vet. Med.* 49: 498-502.
- Turner, A.W. (1959). "Pleuro-Pneumonia group of diseases". In: Infectious Diseases due to Bacteria, Eds A.W. Stableforth & Galloway, I.A., vol. 2, pp.437-480. London, U.K. Butterworths.
- Ubertalle, A.; Battaglini, L. M.; Fortina, R.; Bianchi, M. (1996). "Effect of some variation factors on somatic cell count in Delle Langhe sheep milk", *International Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies*, Food and Agriculture Organization
- Vivar-Quintana AM, De La Mano EB, Revilla I. (2006). "Relationship between somatic cell counts and the properties of yoghurt made from ewes' milk". *Int. Dairy J.* 16(3):262-267
- Walstra, P., J.T.M. Wouters and T.J. Geurts (2006). "Dairy Science and Technology", 2nd Ed. Taylor and Francis Group, Boca Raton, London
- Weitz, B.& Langridge, R. (1947). "Studies on C. pyogenes antitoxin in relation to immunity. II. the effect of alum-precipitated toxoid and vaccine on the artificial

infection of the udder of the ewe with *C. pyogenes*". *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics* 57:286-293.

Weng M. H., C. J. Chang, W. Y. Chen, W. K. Chou, H. C. Peh, M. C. Huang, M. T. Chen and H. Nagahata (2006). "Contribution of Somatic Cell-Associated Activation of Plasminogen to Caseinolysis Within the Goat Mammary Gland", *J. Dairy Sci.* 89: 2025–2037

Woloszyn Marta (2007). "Natural Variations of Milk Somatic Cell Count in Dairy Cows", Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala Department of Animal Nutrition and Management

Ying, C., H.-T. Wang and J.-T. Hsu (2002). "Relationship of somatic cell count, physical, chemical and enzymatic properties to the bacterial standard count in dairy goat milk". *Livestock Prod. Sci.* 74:63-77.

Zadoks RN, Gonzalez RN, Boor KJ, Schukken YH (2004). "Mastitis-causing streptococci are important contributors to bacterial counts in raw bulk tank milk". *J Food Prot* 67: 2644-2650

Zachos, T., Politis, I., Gorewit, R.C. and Barbano, D.M. (1992). "Effect of mastitis on plasminogen activator of milk somatic cells". *Journal of Dairy Research*, 59: 461-467.

Zeng S.S., Escobar E.N. (1996). "Effect of breed and milking method on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk". *Small Ruminant Research* 19 (1996), 169-175

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αγγελόπουλος Σ. (2010). "Προοπτικές ανάπτυξης της Κτηνοτροφίας στο νέο οικονομικό περιβάλλον", Τμήμα Αγροτικής Ανάπτυξης και Διοίκησης Αγροτικών Επιχειρήσεων, Αλεξάνδρειο Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης
- Ανυφαντάκης, Ε. (2004). "Τυροκομία Χημεία - Φυσικοχημεία - Μικροβιολογία", Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα.
- Ανυφαντάκης Ε. & Καλαντζόπουλος Γ. (1993). "Γαλακτοκομία", Α΄ και Β΄ Τόμοι (Εκδόσεις Σταμούλης).
- Δεληγιάννης Κ. (2009). "Καραγκούνικο πρόβατο" Τακτικός Ερευνητής Σταθμός Γεωργικής Έρευνας Παλαμά Καρδίτσας, ΕΘΙΑΓΕ, Τεύχος 415
- Ζδράγκας Α. (2012). "Μαστίτιδες μικρών μηρυκαστικών", Ινστιτούτο Κτηνιατρικών Ερευνών Θεσσαλονίκης, ΕΘΙΑΓΕ, Τεύχος 12/13
- Κουτσώνης Ε. (2011), «Η σημασία των ελληνικών φυλών προβάτων». Γεωπόνος – ζωοτέχνης. Μέλος της Π.Ο του Κ.Π.Ε. Πετρουλίου - Τρικκαίων
- Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π. 1998)
- Μάντης Α. (2000). "Υγιεινή και Τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του", Εκδόσεις Κυριακίδη.
- Μπελιμπασάκης Γ. Νικόλαος (2000). "Βοοτροφία", Εκδόσεις Ζυγός,
- Παπαθεοδώρου Α., Νικολάου Ν., Τσολακίδη Α. (2006). "Η κατάσταση της Αιγοπροβατοτροφίας στην Ελλάδα και στην Ε.Ε.", Αθήνα
- Παππάς, Γ.Β., Κούγκουλος, Χ. Χ. (1979). "Το Καραγκούνικο πρόβατο". Υπουργείο Γεωργίας, Κέντρο Γενετικής Βελτίωσης Ζώων Καρδίτσας. Καρδίτσα

Ρογδάκης , Ε. (2002). "Εγχώριες φυλές προβάτων". Εκδόσεις Αγροτύπος Α.Ε. Αθήνα
Στεφανάκης Α. (2008). "Επίδραση της υγείας των ζώων στην ποιότητα του γάλακτος",
<http://www.zookomos.gr>

ΥΠΑΑΤ, Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (2007). Ανάπτυξη Τομέα
Αιγοπροβατοτροφίας

ΠΗΓΕΣ ΑΠΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

<http://faostat.fao.org>

<http://provata-assaf.blogspot.gr>

www.nadis.org.uk