

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ
ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΠΜΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ
ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ
ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ανίχνευση των παθογόνων μικροοργανισμών *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157 και *Staphylococcus aureus*, σε επιφάνειες κινητών τηλεφώνων και χεριών, από φοιτητές του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

ΕΥΓΕΝΙΑ ΦΟΥΣΤΕΡΗ



Αθήνα, 2019

Επιβλέπων καθηγητής: ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ ΝΥΧΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ανίχνευση των παθογόνων μικροοργανισμών *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157 και *Staphylococcus aureus*, σε επιφάνειες κινητών τηλεφώνων και χεριών, από φοιτητές του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών



ΕΥΓΕΝΙΑ ΦΟΥΣΤΕΡΗ

Επιβλέπων καθηγητής: ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ ΝΥΧΑΣ

Εξεταστική επιτροπή

Γεώργιος-Ιωάννης Νυχάς, Καθηγητής

Ευθυμία Τσακαλίδου, Καθηγήτρια

Ευστάθιος Πανάγου, Αν. Καθηγητής

Ανίχνευση των παθογόνων μικροοργανισμών *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157 και *Staphylococcus aureus*, σε επιφάνειες κινητών τηλεφώνων και χεριών, από φοιτητές του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

Detection of pathogenic microorganisms *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157 and *Staphylococcus aureus* on mobile phones and hand surfaces by students of the Agricultural University of Athens

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σε μία εποχή που το κινητό τηλέφωνο αποτελεί απαραίτητο εξοπλισμό στη καθημερινότητα του ανθρώπου, δημιουργήθηκε η ανάγκη για έρευνα, με σκοπό να αφυπνίσει και να φέρει στην επιφάνεια, τους κινδύνους υγείας που μπορεί να προκαλέσει η επαφή των χεριών με το κινητό τηλέφωνο και στη συνέχεια με το εκάστοτε τρόφιμο, χωρίς τη διαμεσολάβηση πλύσης και απολύμανσής τους. Στην παρούσα διπλωματική εργασία, έγινε ανίχνευση των παθογόνων μικροοργανισμών *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157 και *Staphylococcus aureus*, σε επιφάνειες κινητών τηλεφώνων και χεριών, από φοιτητές του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Στη συνέχεια, αξιολογήθηκε η ανάπτυξη του παθογόνου μικροοργανισμού *St.aureus*, μέσω διασταυρούμενης μόλυνσης από εμβολιασμένο κινητό τηλέφωνο σε κύβους ψημένου κοτόπουλου.

Αρχικά, δείγματα κινητών τηλεφώνων και χεριών λήφθηκαν, από φοιτητές του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Πραγματοποιήθηκε ανίχνευση των παθογόνων μικροοργανισμών *Salmonella* spp., *E.coli* O157 και *St.aureus*, μέσω κλασικών μεθόδων. Σύμφωνα με τα ληφθέντα αποτελέσματα, ο μικροοργανισμός *Staphylococcus*, εμφανίστηκε σε ποσοστό 83% (34% σε χέρια και κινητό ταυτόχρονα, 11% μόνο σε χέρια, 38% μόνο σε κινητό), ο μικροοργανισμός *E.coli*, εμφανίστηκε σε ποσοστό 14% (3% σε χέρια και κινητό ταυτόχρονα, 4% μόνο σε χέρια, 7% μόνο σε κινητό) και ο μικροοργανισμός *Salmonella* spp., εμφανίστηκε σε ποσοστό 17% (3% σε χέρια και κινητό ταυτόχρονα, 5% μόνο σε χέρια, 9% μόνο σε κινητό). Οι μικροοργανισμοί που δήλωσαν παρουσία, ταυτοποιήθηκαν και επιβεβαιώθηκαν ως παθογόνοι, δειγματοληπτικά, μέσω ορροσυγκολλητικών τεστ, τα οποία είναι ακριβή και βασισμένα στο ISO. Με βάση τα ακόλουθα αποτελέσματα, μόνο 1 απομόνωση των μικροοργανισμών *Salmonella* spp. και *E.coli*, έκαστος, θεωρήθηκε ως πιθανή αποικία των παθογόνων *Salmonella* spp. και *E.coli* O157, αντίστοιχα. Συμπληρωματικά, 5 απομονώσεις του μικροοργανισμού *Staphylococcus*, θεωρήθηκαν ως πιθανές αποικίες του παθογόνου *St.aureus*.

Από τις αποικίες του *St.aureus*, οι οποίες είχαν επιβεβαιωθεί ως θετικές, νωρίτερα μέσω ταχείας δοκιμής συγκόλλησης ορού, ακολούθησε η δημιουργία δύο εμβολίων, από δύο χρονικές επαναλήψεις το κάθε ένα, με μεσοδιάστημα 15 ημερών, των οποίων η διαφορά βρισκόταν στη τιμή pH του θρεπτικού ζωμού. Στη πρώτη περίπτωση το pH παρέμενε στο 7,14. Στη δεύτερη περίπτωση, το pH ρυθμιζόταν σε 4,5. Εν συνεχεία, γινόταν ο εμβολιασμός της επιφάνειας συσκευής κινητού τηλεφώνου Galaxy S3 Mini, και η επιμόλυνση από αυτό, μέσω χεριού, σε κύβους ψημένου κοτόπουλου, διαδοχικά. Τα ληφθέντα αποτελέσματα υπέδειξαν, ότι η διαφοροποίηση του pH ως εμπόδιο στην ανάπτυξη του παθογόνου *St.aureus* δεν ήταν επαρκής, διότι τα αποτελέσματα της επιμόλυνσης του κοτόπουλου δεν έδειξαν να διαφέρουν, σε καμία από τις δύο περιπτώσεις, πέρα από την «ένταση» εμφάνισης του παθογόνου, που ήταν μειούμενη σε αυτά που αντιστοιχούσαν στο εμβόλιο με pH 4,5. Συμπερασματικά, επιβεβαιώθηκε ότι απαιτούνται 2-3 εμπόδια για να ελέγξουμε τους μικροοργανισμούς.

Τα ευρήματα αυτής της μελέτης, θα μπορούσαν να αποτελέσουν τη βάση για περαιτέρω έρευνα, σχετικά με τους παθογόνους μικροοργανισμούς που μπορούν να βρεθούν στη συσκευή ενός κινητού τηλεφώνου, με σκοπό την απόδειξη ανάγκης χρήσης απολυμαντικών και μέσων καθαρισμού και την σαφή τήρηση των σωστών κανόνων υγιεινής.

Κύρια επιστημονικά πεδία: Γεωπονικές Επιστήμες, Μικροβιολογία Τροφίμων.

Λέξεις-κλειδιά: κινητό τηλέφωνο, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157, *Staphylococcus aureus*, φοιτητές, διασταυρούμενη μόλυνση, κύβους κοτόπουλου, κλασσικές μεθόδους, δοκιμή συγκόλλησης ορού, εμβόλια, pH, παθογόνους, εμπόδιο.

ABSTRACT

At a time when the mobile phone is an essential equipment in everyday life, the need for research was created, to awaken, and highlight the health risks that hand contact with the mobile phone, and then each food, can cause, without the means of washing and disinfecting them. In this diploma thesis, the pathogenic microorganisms *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157 and *Staphylococcus aureus* were detected on mobile phone and hand surfaces by students of the Agricultural University of Athens. The growth of the pathogenic microorganism *St.aureus*, by cross-infection from an inoculated cell phone to baked chicken cubes, was then evaluated.

Initially, samples of mobile phones and hands were received by students from the Agricultural University of Athens. Detection of pathogenic microorganisms *Salmonella* spp., *E.coli* O157 and *St.aureus*, was accomplished through classical methods. According to the obtained results, *Staphylococcus* appeared at 83% (34% both hands and phone, 11% hands only, 38% phone only), *E. coli* appeared at 14% (3% both hands and phone, 4% hands only, 7% phone only) and *Salmonella* spp. appeared at 17% (3% both hands and phone, 5% hands only, 9% phone only). The microorganisms present were identified and confirmed as pathogenic, by sampling, using serum agglutination tests which are accurate and ISO-based. Based on the following results, only 1 isolation each of *Salmonella* spp. and *E.coli*, was considered a possible colony of *Salmonella* spp. and *E.coli* O157, respectively. Additionally, 5 isolations of the microorganism *Staphylococcus* were considered as possible colonies of the pathogen *St.aureus*.

From the colonies of *St.aureus*, which were confirmed as positive earlier through a rapid serum agglutination test, two vaccines were developed, two repetitions each, with a 15-day interval, the difference being at the pH of the nutrient broth. In the first case the pH remained at 7.14. In the second case, the pH was rendered at 4.5. Thereafter, inoculation on the surface of the Galaxy S3 Mini cell phone, and successive contamination by hand, to baked chicken cubes, were performed. The results obtained indicated that the differentiation of the pH as an obstacle to the growth of the pathogen *St.aureus* was not sufficient because the effects of chicken contamination did not appear to differ in either case beyond the "intensity" of the pathogen, which was decreasing on those corresponding to the pH 4.5 vaccine. In conclusion, it was confirmed that 2-3 obstacles are required to control microorganisms.

The findings of this study could be the basis for further research into the pathogenic microorganisms that can be found on a mobile phone device to demonstrate the need for disinfectants and cleansers and to ensure that proper hygiene rules are adhered to.

Main Scientific Disciplines: Agricultural Sciences, Food Microbiology.

Keywords: cell phone, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157, *Staphylococcus aureus*, students, cross infection, chicken cubes, classical methods, serum agglutination test, vaccines, pH, pathogens, obstacle.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία, εκπονήθηκε στο πλαίσιο μεταπτυχιακών σπουδών, με τίτλο Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων και Διατροφή του ανθρώπου, στο τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του ανθρώπου, στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κύριο Γεώργιο-Ιωάννη Νυχά, για τον χρόνο που μου αφιέρωσε, καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές και υποδείξεις για την εκπόνηση της παρούσας μελέτης. Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά το υπόλοιπο προσωπικό του εργαστηρίου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, για τη συμπαράσταση που μου έδειξε, ηθικά και οικονομικά, καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	15
1.1.Μικροβιακή ανάπτυξη.....	16
1.1.1.Τυπική σιγμοειδής καμπύλη ανάπτυξης μικροοργανισμού.....	16
1.2.Θεωρία των εμποδίων (Hurdle Technology).....	17
1.2.1.Παράγοντες που επηρεάζουν τη μικροβιακή ανάπτυξη (Hurdles).....	17
1.2.1.1.Το pH ως χημικό εμπόδιο (Chemical Hurdle)-Οργανικά οξέα.....	19
1.2.1.1.1.Η χημειωσμοτική θεωρία του Mitchel.....	20
1.3.Η επιφάνεια προσάρτησης των μικροοργανισμών στη συσκευή κινητού τηλεφώνου και οι περιβαλλοντικές παράμετροι.....	20
1.4.Επιμόλυνση.....	21
1.4.1.Διασταυρούμενη επιμόλυνση.....	21
1.4.1.1.Διασταυρούμενη επιμόλυνση σε οικιακό επίπεδο.....	22
1.4.1.2.Διασταυρούμενη επιμόλυνση σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης.....	22
1.4.1.3.Ο ρόλος της διασταυρούμενης επιμόλυνσης στη μετάδοση τροφιμογενών λοιμώξεων.....	23
1.4.1.4.Μεταφορά επιμόλυνσης σε οικιακό περιβάλλον.....	23
1.4.1.5.Παράγοντες που επηρεάζουν τη διασταυρούμενη επιμόλυνση.....	23
1.4.1.5.1.Εξωγενείς παράγοντες.....	24
1.4.1.5.2.Ενδογενείς παράγοντες.....	24
1.4.1.6.Πρόληψη διασταυρούμενης επιμόλυνσης.....	25
1.5.Κατηγορίες κινδύνων.....	25
1.6.Τροφιμογενείς λοιμώξεις και παθογόνοι μικροοργανισμοί.....	26
1.6.1.Τροφιμογενείς λοιμώξεις.....	26
1.6.2.Τροφιμογενή παθογόνα.....	26
1.6.2.1.SALMONELLA SPP.....	27
1.6.2.1.1.Χαρακτηριστικά.....	27
1.6.2.1.2.Ταξινόμηση.....	27
1.6.2.1.3.Κλινικές εκδηλώσεις.....	28

1.6.2.1.4.Επιδημιολογία.....	28
1.6.2.1.5.Συσχετισμός με τρόφιμα.....	29
1.6.2.1.6.Τρόποι πρόληψης.....	29
1.6.2.1.7.Μέθοδος απομόνωσης και ταυτοποίησης της <i>Salmonella</i> spp.....	30
1.6.2.1.7.Νομοθεσία.....	31
1.6.2.2. <i>ESCHERICHIA COLI</i>	31
1.6.2.2.1.Χαρακτηριστικά.....	31
1.6.2.2.2.Ταξινόμηση.....	32
1.6.2.2.3.Κλινικές εκδηλώσεις.....	32
1.6.2.2.4.Επιδημιολογία.....	32
1.6.2.2.5.Συσχετισμός με τρόφιμα.....	32
1.6.2.2.6.Τρόποι πρόληψης.....	33
1.6.2.3. <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	33
1.6.2.3.1.Χαρακτηριστικά.....	33
1.6.2.3.2.Ταξινόμηση.....	33
1.6.2.3.3.Κλινικές εκδηλώσεις.....	34
1.6.2.3.4.Επιδημιολογία.....	34
1.6.2.3.5.Συσχετισμός με τρόφιμα.....	35
1.6.2.3.6.Συνθήκες ανάπτυξης και προληπτικά μέτρα.....	35
1.6.2.3.6.Μέθοδοι ανίχνευσης και επιβεβαίωσης του <i>Staphylococcus aureus</i>	36
1.6.2.3.7.Νομοθεσία.....	37
1.7.ΚΡΕΑΣ.....	37
1.8.Σκοπός της μελέτης.....	38
2.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	38
2.1.Δειγματοληψία.....	38
2.2.Απουσία/Παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών.....	40
2.2.1.Τεχνική απομόνωσης αποικιών.....	40

2.2.2.Ανίχνευση του παθογόνου μικροοργανισμού <i>Salmonella</i> spp. με εμπλουτισμό.....	41
2.2.3.Ανίχνευση του παθογόνου μικροοργανισμού <i>Staphylococcus aureus</i>	41
2.2.4.Ανίχνευση του παθογόνου μικροοργανισμού <i>Escherichia coli</i> O157.....	41
2.2.5. Ταχεία δοκιμή συγκόλλησης ορού σε τυπικές αποικίες <i>Staphylococcus aureus</i>	42
2.2.6. Ταχεία δοκιμή συγκόλλησης ορού σε τυπικές αποικίες <i>Salmonella</i> spp....	44
2.2.7. Ταχεία δοκιμή συγκόλλησης ορού σε τυπικές αποικίες <i>Escherichia coli</i> O157.....	45
2.3.Επιμόλυνση κοτόπουλου.....	48
2.3.1.Δημιουργία εμβολίων.....	48
2.3.1.1. Μετατροπή του pH του TSB από 7,14 σε 4,5.....	48
2.3.1.2.Μέτρηση του πληθυσμού των εμβολίων.....	49
2.3.2. Εμβολιασμός επιφάνειας κινητού τηλεφώνου.....	50
2.3.3. Επιμόλυνση κοτόπουλου	50
3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	52
3.1.ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ.....	52
3.2.Ανίχνευση παθογόνων μικροοργανισμών με εμπλουτισμό.....	54
3.2.1. <i>Salmonella</i> spp.....	54
3.2.2. <i>Escherichia coli</i> O157.....	56
3.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	58
3.3.Αποτελέσματα οροσυγκολλητικών τεστ.....	61
3.3.1.Ταχεία δοκιμή συγκόλλησης ορού σε τυπικές αποικίες <i>Salmonella</i> spp....	61
3.3.2.Ταχεία δοκιμή συγκόλλησης ορού σε τυπικές αποικίες <i>Escherichia coli</i> O157.....	61
3.3.3.Ταχεία δοκιμή συγκόλλησης ορού σε τυπικές αποικίες <i>Staphylococcus aureus</i>	62
3.4.Επιμόλυνση κύβων κοτόπουλου.....	64
4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	66
5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	68
5.1.ΕΛΛΗΝΙΚΗ.....	68

5.2.ΞΕΝΗ.....	68
---------------	----

ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 1.1: Επιστημονική ταξινόμηση του βακτηρίου <i>Salmonella</i> spp.....	27
Πίνακας 1.2: Επιστημονική ταξινόμηση του βακτηρίου <i>Escherichia coli</i>	31
Πίνακας 1.3: Επιστημονική ταξινόμηση του βακτηρίου <i>Staphylococcus aureus</i>	33
Πίνακας 3.1: Ηλικία φοιτητών.....	53
Πίνακας 3.2: Φύλο φοιτητών.....	53
Πίνακας 3.3: Πλύσιμο χεριών και καθαριότητα συσκευής κινητού τηλεφώνου φοιτητών σε καθημερινή βάση.....	54
Πίνακας 3.4: Αποτελέσματα εμπλουτισμού για την ανίχνευση του μικροοργανισμού <i>Salmonella</i> spp.....	54
Πίνακας 3.5: Αποτελέσματα εμπλουτισμού για την ανίχνευση της <i>E.coli</i> O157....	57
Πίνακας 3.6: Αποτελέσματα εμπλουτισμού για την ανίχνευση του <i>Staphylococcus aureus</i>	58
Πίνακας 3.7: Αποτελέσματα δοκιμής συγκόλλησης ορού για τις απομονώσεις από επιφάνειες συσκευών κινητού και χεριών, στα οποία ανιχνεύθηκε η παρουσία τυπικών αποικιών <i>Salmonella</i> spp.....	61
Πίνακας 3.8: Αποτελέσματα δοκιμής συγκόλλησης ορού για τις απομονώσεις από επιφάνειες συσκευών κινητού και χεριών, στα οποία ανιχνεύθηκε η παρουσία τυπικών αποικιών <i>E.coli</i> O157.....	62
Πίνακας 3.9: Αποτελέσματα δοκιμής συγκόλλησης ορού για τις απομονώσεις από επιφάνειες συσκευών κινητού και χεριών, στα οποία ανιχνεύθηκε η παρουσία τυπικών αποικιών <i>St.aureus</i>	63
Πίνακας 3.10: Αποτελέσματα επιμολυσμένων κομματιών κοτόπουλου, από εμβόλιο με pH 7, ως προς το παθογόνο μικροοργανισμό <i>St.aureus</i>	65
Πίνακας 3.11: Αποτελέσματα επιμολυσμένων κομματιών κοτόπουλου, από εμβόλιο με pH 4,5, ως προς το παθογόνο μικροοργανισμό <i>St.aureus</i>	65

ΕΙΚΟΝΕΣ

EIKONA 1: Αποστειρωμένο swab, της εταιρείας Micro Biotech.....	39
EIKONA 2: Swabs με Buffered Peptone Water (BPW) (Biolife Italiana S.r.l.)....	39
EIKONA 3: Διάλυση του περιεχομένου του swab σε συσκευή vortex.....	40

EIKONA 4: Δείγματα σε αποστειρωμένα φάλκον.....	40
EIKONA 5: Τυπικές αποικίες του παθογόνου <i>St.aureus</i>.....	42
EIKONA 6: Τυπική αποικία του παθογόνου <i>St.aureus</i>, σε εκλεκτικό υπόστρωμα BPA και μη εκλεκτικό υπόστρωμα TSA.....	43
EIKONA 7: Microgen Staph rapid latex test.....	43
EIKONA 8: Θετική αποικία <i>St.aureus</i> στην κοαγκουλάση/ πρωτεΐνη Α, στη δοκιμή Microscreen Staph.....	43
EIKONA 9: Τυπικές αποικίες του παθογόνου <i>Salmonella</i> spp.....	44
EIKONA 10: Τυπική αποικία του παθογόνου <i>Salmonella</i> spp., σε μη εκλεκτικό υπόστρωμα TSA.....	45
EIKONA 11: Θετική και αρνητική αποικία του παθογόνου <i>Salmonella</i> spp., στη δοκιμή Microscreen Salm.....	45
EIKONA 12: Αποικίες με τυπική εμφάνιση αυτών του παθογόνου <i>E.coli</i> O157....	46
EIKONA 13: Τυπική αποικία του παθογόνου <i>E.coli</i> O157, σε εκλεκτικό υπόστρωμα TBX και σε μη εκλεκτικό υπόστρωμα TSA.....	47
EIKONA 14: Microgen <i>E.coli</i> O157 rapid latex test.....	47
EIKONA 15: Θετική αποικία του παθογόνου <i>E.coli</i> O157, στη δοκιμή Microscreen <i>E.coli</i> O157.....	47
EIKONA 16: Το πεχάμετρο.....	49
EIKONA 17: Διαδικασία μετατροπής του pH του θρεπτικού ζωμού TSB.....	49
EIKONA 18: Κινητό τηλέφωνο Galaxy S3 Mini, με προστατευτική μεμβράνη...50	
EIKONA 19: Κομμάτια ψητού κοτόπουλου, προς επιμόλυνση, δύο τεχνικών επαναλήψεων.....	51
EIKONA 20: Σακούλες Stomacher, με εμπλουτιστικό Buffered Peptone Water και κομμάτια κοτόπουλου, ομογενοποιημένα, προς επώαση.....	51
EIKONA 21: Παρουσία των τυπικών αποικιών του παθογόνου <i>St.aureus</i>, από την επιμόλυνση του κοτόπουλου.....	52

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα κινητά τηλέφωνα έχουν γίνει ένα από τα πιο απαραίτητα αξεσουάρ επαγγελματικής και κοινωνικής ζωής. Η χρήση κινητών συσκευών για επαγγελματικούς, επιχειρηματικούς, εκπαιδευτικούς, προσωπικούς και κοινωνικούς σκοπούς μεγάλωσε εκθετικά την τελευταία δεκαετία. Ο αριθμός τους, παγκοσμίως, αυξήθηκε από 1.000.000 σε 6.000.000.000 από το 2000 μέχρι και το 2012. Το 66% των χρηστών, χρησιμοποιούν smartphone, ενώ το υπόλοιπο 34%, έχουν συσκευές τηλεφώνου χωρίς πρόσβαση στο Διαδίκτυο. Έχουν θιγεί ανησυχίες σχετικά με την ασφάλεια όσον αφορά την παρεμβολή στον εξοπλισμό και τις απειλές κατά της ιδιωτικής ζωής, αλλά έχει δοθεί λιγότερη πολιτική προσοχή στους κινδύνους της μόλυνσης.

Η χρήση αυτού του είδους τεχνολογίας με σκοπό την επικοινωνία, λόγω της αύξησής της στην υγειονομική περίθαλψη και την τριτοβάθμια εκπαίδευση, έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον των επιστημόνων. Ο ρόλος της τηλεφωνικής συσκευής, ως πηγή μόλυνσης παθογόνων βακτηρίων σε τρόφιμα και σε ανθρώπους, έχει προκαλέσει την ανάπτυξη όλο και περισσότερης έρευνας με το πέρασμα των χρόνων. Με τα επιτεύγματα και τα οφέλη που προσφέρουν, είναι εύκολο να γίνει παράβλεψη του κινδύνου, σχετικά με την υγεία των χρηστών του. Η θερμότητα που παράγεται από τα κινητά τηλέφωνα συμβάλλει στη συγκράτηση βακτηρίων σε μια συσκευή σε ανησυχητικά επίπεδα. Πολλές έρευνες σε νοσοκομεία απέδειξαν την παρουσία των παθογόνων *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli O157* και *Salmonella* spp. σε κινητά τηλέφωνα του ιατρικού προσωπικού, των ασθενών και των μαθητών. Οι πληθυσμοί των μικροβιακών ομάδων, πιθανόν να διαφέρουν, ανάλογα τη χρήση των συσκευών σε διαφορετικές συνθήκες και περιβάλλοντα.

Τα κινητά τηλέφωνα των προπτυχιακών φοιτητών, χρησιμοποιούνται στην επικοινωνία για κοινωνικούς ή ακαδημαϊκούς σκοπούς, σύμφωνα με τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά της συσκευής και της σύνδεσης στο Διαδίκτυο. Οι σπουδαστές, οι οποίοι σχετίζονται με τις επιστήμες υγείας, χρησιμοποιούν τα κινητά τους τηλέφωνα ενώ εκτελούν τη πρακτική τους άσκηση σε νοσοκομεία ή κλινικά εργαστήρια, για να έχουν πρόσβαση σε πληροφορίες σχετικά με τον τομέα της εμπειρογνομοσύνης τους, να απαντούν σε κλήσεις, να στέλνουν μηνύματα κειμένου ή για να τραβάνε φωτογραφίες κατά τη διάρκεια των πρακτικών τους. Η συχνή χρήση των κινητών τηλεφώνων σε ποικιλία τοποθεσιών αναπτύσσει την ευκαιρία για διασταυρούμενη μόλυνση. Εάν υπάρχουν παθογόνα στην επιφάνεια ενός κινητού τηλεφώνου, μπορούν να μεταφερθούν στο δέρμα του χρήστη, σε άλλες επιφάνειες ή τρόφιμα, με δυνατή την επιβίωση και ανάπτυξή τους. Δύο εστίες ασθενειών συνδέονταν με την έκθεση των σπουδαστών και των εργαζομένων, ύστερα από χειραγώγηση της *Salmonella Typhimurium* σε διδακτικά εργαστήρια μικροβιολογίας στις Ηνωμένες Πολιτείες. Στην παρούσα μελέτη, οι εργαστηριακοί καθηγητές, συμβούλευαν τη συμμόρφωση με τις οδηγίες για τη βιοασφάλεια που απαγορεύουν τα τρόφιμα, ποτά ή προσωπικά αντικείμενα όπως συσκευές αναπαραγωγής μουσικής, κλειδιά αυτοκινήτων και κινητά τηλέφωνα κατά την εργασία στο εργαστήριο, καθώς και τη τοποθέτησή τους σε εργαστηριακές επιφάνειες.

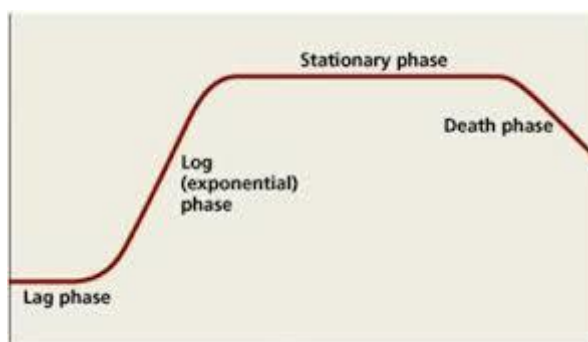
Σε αντίθεση με τα χέρια μας, τα οποία απολυμαίνονται εύκολα, τα κινητά τηλέφωνα είναι δύσκολα στον καθαρισμό. Ακόμα πιο σπάνια πραγματοποιείται προσπάθεια από τους χρήστες να τα απολυμάνουν. Ως αποτέλεσμα, αυτές οι συσκευές έχουν τη δυνατότητα μόλυνσης με διάφορους βακτηριακούς παράγοντες. Αυτοί οι οργανισμοί όντας παθογόνοι μπορούν να γίνουν επιβλαβείς για την υγεία των χρηστών, ειδικά των ευαίσθητων ομάδων και αν οι μεταβιβαζόμενοι οργανισμοί τυχαίνει να είναι ανθεκτικοί στα φάρμακα. η κατάσταση γίνεται ακόμη πιο σοβαρή καθώς καθίσταται δύσκολη η θεραπεία εξαιτίας των διαθέσιμων περιορισμένων επιλογών φαρμάκων. Στα νοσοκομεία των ΗΠΑ προκαλούνται 1,7 εκατομμύρια μολύνσεις ετησίως και συνδέονται με περίπου 100.000 θανάτους. Εκτιμάται ότι το ένα τρίτο αυτών των λοιμώξεων θα μπορούσε να αποφευχθεί με την τήρηση των τυποποιημένων κατευθυντήριων γραμμών για τον έλεγχο της μόλυνσης και την τήρηση των κανόνων υγιεινής.

Η παρούσα μελέτη, διεξήχθη για να διερευνήσει τη βακτηριακή μόλυνση των κινητών τηλεφώνων από τους μικροοργανισμούς *St.aureus*, *E.coli O157* και *Samlonella spp.* σε πανεπιστημιακό περιβάλλον, με σκοπό την απόδειξη ανάγκης για την ύπαρξη απολυμαντικών και μέσω καθαρισμού και την σαφή τήρηση των σωστών κανόνων υγιεινής.

1.1.Μικροβιακή ανάπτυξη

Η μικροβιακή ανάπτυξη, είναι μια αυτοκαταλυτική διαδικασία, που απαιτεί την παρουσία, τουλάχιστον ενός ζωντανού κυττάρου για να πραγματοποιηθεί. Σε περίπτωση που το μέσο ανάπτυξης είναι πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά, και δεν υπάρχουν περιοριστικοί παράγοντες, οι μικροοργανισμοί αυξάνονται σε αριθμό και ο ρυθμός ανάπτυξης αυξάνει όσο η βιομάζα.

1.1.1.Τυπική σιγμοειδής καμπύλη ανάπτυξης μικροοργανισμού



- 1) Φάση προσαρμογής (lag phase): δεν παρατηρείται εμφανής ανάπτυξη. Ο μικροοργανισμός προσαρμόζει τη φυσιολογία και τις βιοχημικές του λειτουργίες, με σκοπό να μπορέσει να ανταποκριθεί στις συνθήκες του νέου περιβάλλοντος. Στο χρόνο αυτό, «αναρρώνει», από ενδεχομένως υπάρχον

τραυματισμούς, οι οποίοι έχουν προκληθεί από παλαιότερες μεταχειρίσεις όπως κατάψυξη, θέρμανση, αφυδάτωση κ.α.

- 2) Εκθετική ή Λογαριθμική φάση (exponential phase): ακολουθεί της φάσης προσαρμογής και χαρακτηρίζεται από αύξηση του αριθμού των κυττάρων. Μπορεί να χωριστεί σε τρεις φάσεις: τη φάση επιτάχυνσης (accelerating phase), τη φάση του σταθερού ρυθμού ανάπτυξης (log phase) και τη φάση επιβράδυνσης (decelerating phase). Αυτές, περιγράφουν την δυναμική της ανάπτυξης του μικροοργανισμού. Όταν η χημική σύσταση του μέσου, έχει μεταβληθεί σε βαθμό που να μην ευνοεί πλέον την ανάπτυξη, λόγω της μεταβολικής δραστηριότητας του μικροοργανισμού, που οδηγεί σε μείωση θρεπτικών συστατικών και συσσώρευση μεταβολιτών, η εκθετική φάση φτάνει στο τέλος της και ο μικροοργανισμός, μπαίνει στην στατική φάση ανάπτυξης (stationary phase).
- 3) Φάση θανάτου (death phase): με τη συσσώρευση τοξικών μεταβολιτών, τα κύτταρα μπορεί να οδηγηθούν στο θάνατο.

1.2.Θεωρία των εμποδίων (Hurdle Technology)

Η ανάγκη των καταναλωτών για φυσικά και φρέσκα τρόφιμα, οδηγεί καθημερινά τους παραγωγούς τροφίμων, στην αναζήτηση και χρήση νέων ή βελτιωμένων ήπιων τεχνικών συντήρησης πχ. αποθήκευση σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες, ψύξη κ.α., οι οποίες να επιτρέπουν τη παραγωγή φρέσκων, αλλά και μικροβιολογικά σταθερών και ασφαλή τροφίμων. Η τεχνολογία εμποδίων, καλύπτει την παραπάνω προσέγγιση.

Συγκεκριμένα, η θεωρία των εμποδίων, όπως παρουσιάστηκε από τον Leistner και τους συνεργάτες του, υποστηρίζει τον προσεκτικό συνδυασμό υφιστάμενων ή καινοτόμων μεθόδων συντήρησης, στοχεύοντας, στο καθορισμό μιας σειράς παραγόντων συντήρησης, γνωστών και ως «εμπόδια», τα οποία κανένας μικροοργανισμός δεν θα είναι σε θέση να υπερνικήσει.

Η μέθοδος αυτή, χρησιμοποιήθηκε αρχικά, στη βιομηχανία κρέατος όπου βρέθηκε να είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική στη παραγωγή σταθερών λουκάνικων. Στη πορεία, εφαρμόστηκε σε μεγάλο εύρος τροφίμων, όπως τα φρούτα, τα λαχανικά, προϊόντα ψαριών, γάλακτος και άρτου.

Πλέον, η θεωρία των εμποδίων, χρησιμοποιείται όχι μόνο για τη βελτίωση της μικροβιολογικής ασφάλειας και σταθερότητας, αλλά και για την βελτίωση των διαθρεπτικών, οικονομικών και οργανοληπτικών ιδιοτήτων ενός τρόφιμου.

1.2.1.Παράγοντες που επηρεάζουν τη μικροβιακή ανάπτυξη (Hurdles)

Ολοένα και περισσότερο, γίνονται μελέτες που αφορούν παράγοντες, οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν, με σκοπό να αποκλείσουν ή να εμποδίσουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Ιδιαίτερη σημασία δίνεται, σε εκείνους που έχουν τη δυνατότητα ή το δυναμικό να προκαλέσουν αλλοιώσεις ή προβλήματα όπως τροφικές δηλητηριάσεις και λοιμώξεις. Υπάρχουν τέσσερις κατηγορίες παραγόντων, οι οποίοι επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών στα τρόφιμα:

- 1) Οι ενδογενείς ή εσωτερικοί παράγοντες, οι οποίοι περιγράφουν τις φυσικοχημικές ιδιότητες των τροφίμων και είναι: το pH και η ρυθμιστική ικανότητα του τρόφιμου, η ενεργότητα νερού (a_w), το δυναμικό οξειδοαναγωγής (Eh), τα θρεπτικά συστατικά, τα αντιμικροβιακά συστατικά και οι βιολογικές δομές.
- 2) Οι εξωγενής ή εξωτερικοί ή περιβαλλοντικοί παράγοντες, οι οποίοι περιγράφουν τις εξωτερικές συνθήκες συντήρησης και αποθήκευσης των τροφίμων και είναι: η σχετική υγρασία, η θερμοκρασία, η παρουσία και η συγκέντρωση αερίων στο περιβάλλον.
- 3) Οι συνδυαστικοί παράγοντες, οι οποίοι έχουν σχέση με τις ιδιότητες των μικροοργανισμών και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις, που σχετίζονται με το περιβάλλον μέσα στο οποίο αναπτύσσονται.
- 4) Οι παράγοντες της παραγωγικής διαδικασίας ενός τρόφιμου, οι οποίοι επηρεάζουν είτε τις ενδογενείς είτε τις εξωγενείς ιδιότητές του και είναι: ο τεμαχισμός, το πλύσιμο, η συσκευασία, η ακτινοβολήση και η παστερίωση.

Καθένα από τα παραπάνω εμπόδια, απαιτεί συγκεκριμένη προσπάθεια από τον εκάστοτε μικροοργανισμό, προκειμένου να τα υπερνικήσει. Όσο μεγαλύτερο είναι το εμπόδιο, τόσο μεγαλύτερη θα πρέπει να είναι και η προσπάθεια και ο αριθμός των οργανισμών που θα χρειαστούν για να το ξεπεράσουν. Άλλα εμπόδια, προκαλούν σημαντική επίδραση σε μεγάλο αριθμό διαφορετικών τύπων μικροοργανισμών. Παράδειγμα τέτοιου τύπου εμποδίου, αποτελεί η παστερίωση. Ορισμένα εμπόδια, όπως η αλατότητα, έχουν μικρότερη ή περιορισμένη σε εύρος επίδραση των τύπων των μικροοργανισμών που θα επηρεάσουν.

Η τεχνολογία των εμποδίων, δρα συνδυαστικά ή συνεργιστικά. Έτσι μπορούν να εφαρμοστούν εμπόδια σε χαμηλότερη ένταση, διαφορετική για κάθε ένα από αυτά (κύρια και δευτερεύοντα εμπόδια), από αυτή που θα απαιτούταν για ένα μόνο εμπόδιο που θα χρησιμοποιούταν σαν παράγοντας συντήρησης. Εάν ο αριθμός των μικροοργανισμών σε ένα τρόφιμο είναι μικρός, τότε απαιτείται η ύπαρξη λιγότερων σε αριθμό και με μικρότερη ένταση, εμποδίων, που μπορούν να προκαλέσουν μικροβιολογική σταθερότητα. Εάν ο αριθμός των μικροοργανισμών είναι μεγάλος λόγω κακής υγιεινής, απαιτούνται περισσότερα σε αριθμό και μεγαλύτερης έντασης εμπόδια, για να παρεμποδιστεί η αλλοίωση ή τροφική δηλητηρίαση και να διασφαλιστεί η σταθερότητα του προϊόντος. Παρόλα αυτά, σε περίπτωση που η ένταση του εμποδίου είναι επιβλαβής για την ποιότητα του τρόφιμου, τότε αυτό θα ελαττωθεί. Τα εμπόδια αυτά, είναι συγκεκριμένα για το εκάστοτε τρόφιμο, όσον αφορά τη φύση και την

ένταση της επίδρασής τους. Όλα μαζί τα εμπόδια τα οποία είναι παρόντα σε ένα τρόφιμο, δεν μπορούν να υπερνικηθούν, για το λόγο αυτό, είναι σε θέση να κρατήσουν τους αλλοιογόνους και παθογόνους μικροοργανισμούς υπό έλεγχο.

1.2.1.1. Το pH ως χημικό εμπόδιο (Chemical Hurdle)- Οργανικά οξέα

Στα αντιμικροβιακά συστήματα που χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση των τροφίμων, ανήκουν τα διάφορα οργανικά οξέα. Τα οξέα αυτά, παράγονται κατά τη μεταβολική τους δραστηριότητα από τους ίδιους τους μικροοργανισμούς, πάνω σε κάποιο υπόστρωμα. Στη συνέχεια, απομονώνονται και λαμβάνονται, με σκοπό να χρησιμοποιηθούν, στις ποσότητες που απαιτείται στα τρόφιμα, στα οποία και ασκούν αντιμικροβιακή δράση.

Η συγκεκριμένη τεχνική συντήρησης, στηρίζεται στην πτώση του pH. Αυτή, προκύπτει, από την προσθήκη των παραπάνω οργανικών οξέων, στο έσω- και έξω-κυτταρικό περιβάλλον του μικροοργανισμού. Κάθε μικροοργανισμός, παρουσιάζει διαφορετική ευαισθησία στην οξύτητα και συνεπώς για τη πτώση του pH, παρεμβάλλεται διαφορετική μικροχλωρίδα, με αποτέλεσμα το τρόφιμο να μην αλλοιώνεται γρήγορα, και να διατηρείται για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Για τα υδατικά διαλύματα το pH 7 αντιστοιχεί σε ουδέτερο περιβάλλον ενώ οι τιμές pH μικρότερες ή μεγαλύτερες του 7 αντιστοιχούν σε όξινο και αλκαλικό περιβάλλον, αντίστοιχα. Τα περισσότερα νωπά τρόφιμα, έχουν pH μεταξύ 5.6 και 6.6., ενώ το ασπράδι του αυγού έχει πάνω από 7. Η ανάπτυξη και ο μεταβολισμός των μικροοργανισμών συνδέεται άμεσα με την οξύτητα ή την αλκαλικότητα του περιβάλλοντος, μέσα στο οποίο αναπτύσσονται, καθώς από αυτό εξαρτάται η σταθερότητα και η δραστηριότητα των μακρομορίων, όπως τα ένζυμα και οι πρωτεΐνες. Για πολλά χρόνια, η ελάττωση του pH ή η αύξηση της οξύτητας, χρησιμοποιούταν για την πρόκληση της μικροβιολογικής σταθερότητας των τροφίμων. Αυτό γινόταν είτε με φυσικό τρόπο όπως η ζύμωση, είτε με τεχνητά μέσα, όπως η προσθήκη μέσων οξίνισης κυρίως με τη χρήση ασθενών οργανικών οξέων. Τα βακτήρια, αναπτύσσονται πιο γρήγορα σε εύρος pH 6.0-8.0. Εξαίρεση αποτελούν, τα οξικά βακτήρια και οι γαλακτοβάκιλλοι, που παρουσιάζουν άριστη ανάπτυξη μεταξύ pH 5.0 και 6.0. Η ανάπτυξη των μικροοργανισμών σε διαφορετικά pH, εξαρτάται και από άλλους παράγοντες, όπως την ενεργότητα νερού, τη θερμοκρασία, τη συγκέντρωση άλατος, το είδος του οξέος κ.α.

Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί, δεν αναπτύσσονται κάτω από ένα ελάχιστο pH και το πιο γνωστό όριο είναι το 4.6 για το *Clostridium botulinum*. Όταν το pH σε ένα τρόφιμο, πέφτει χαμηλότερα από το κατώτερο όριο ανάπτυξης ενός μικροοργανισμού, τα κύτταρα σταματούν να αυξάνονται και χάνουν τη βιωσιμότητά τους, με ρυθμό ο οποίος εξαρτάται από την έκταση της μείωσης του pH.

Σε ελάχιστες περιπτώσεις, υπάρχει η δυνατότητα να συνδυαστεί μια αποδεκτή ποιότητα τρόφιμου, με τη χρήση ως εμποδίου, μόνο το πολύ χαμηλό pH, τόσο ώστε να μην επιτρέπει την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Για το παραπάνω λόγο, το pH συνήθως συνδυάζεται, με κατάλληλη συσκευασία, προσθήκη NaCl, οργανικών οξέων και ψύξη ή θέρμανση.

1.2.1.1.1. Η γημειωσμοτική θεωρία του Mitchel

Η αντιμικροβιακή δράση των ασθενών οργανικών οξέων, δεν σχετίζεται τόσο με την ικανότητά τους, να δημιουργούν υψηλή εξωκυτταρική συγκέντρωση ιόντων H^+ , κάτι που επιτυγχάνεται πιο εύκολα με τα ισχυρά οξέα, όσο με την ικανότητα των αδιάστατων μορίων τους, να διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη των μικροοργανισμών. Δεδομένου, ότι η κυτταρική μεμβράνη, δεν είναι διαπερατή από ενώσεις στην ιοντική μορφή τους, τα οργανικά οξέα είναι περισσότερο δραστικά, από τα ισχυρά οργανικά οξέα, διότι διαπερνούν ευκολότερα τις κυτταρικές μεμβράνες και αυξάνουν περισσότερο τη διαπερατότητά τους. Βάζοντας λοιπόν ασθενές οργανικό οξύ, το οποίο δεν δίστανται πλήρως, και κάνοντας παθητική διάχυση, περνάνε ελεύθερα, μέσω της κυτταρικής μεμβράνης, σε αδιάστατη μορφή μέσα στο κυτταρόπλασμα, όπου και δίστανται πάλι. Με αυτό τον τρόπο, μετακινούνται από το εξωτερικό περιβάλλον, στο οποίο κυριαρχεί χαμηλό pH, στο υψηλό pH του κυτταροπλάσματος, το οποίο κυμαίνεται σχεδόν σε όλα τα βακτηριακά κύτταρα από 6.5 έως 8.0. Σε αυτό, το οξύ τελικά δίσταται απελευθερώνοντας ιόντα H^+ , τα οποία έχουν τη τάση να οξινίζουν το κυτταρόπλασμα και να διαταράσσουν την πρωτονιοενεργητική δύναμη, η οποία παρέχει ενέργεια στο κύτταρο, με την οποία καλύπτει πολλές από τις κυτταρικές του λειτουργίες. Αυτό αποτελεί κίνητρο, το κύτταρο να προσπαθεί να διατηρήσει το εσωτερικό του pH εξουδετερώνοντας ή αποβάλλοντας τα ιόντα H^+ από το εσωτερικό του, με αποτέλεσμα να αντλεί ενέργεια από λειτουργίες που σχετίζονται με την ανάπτυξή του και να μειώνει την αύξησή του. Έτσι, αλλάζει η ομοιοστάση του οργανισμού. Αυξανομένης της λιποφιλικότητας ενός ασθενούς οξέος, αυξάνεται και η αντιμικροβιακή του δράση. Σε περίπτωση, που το εξωτερικό pH είναι πολύ χαμηλό και η εξωκυτταρική συγκέντρωση του οξέος υψηλή, το κυτταροπλασματικό pH μειώνεται σε μεγάλο επίπεδο, όπου η ανάπτυξη δεν καθίσταται πλέον δυνατή και το κύτταρο πεθαίνει.

Με την αύξηση της συγκέντρωσης του ασθενούς οξέος, ο μικροοργανισμός οδηγείται στην αύξηση της φάσης προσαρμογής του (lag phase). Αυτό γίνεται, διότι είναι αναγκασμένος να καταναλώσει πιο πολλά πρωτόνια έξω από το κύτταρο για να είναι ικανός να διατηρήσει το εσωτερικό του pH σταθερό. Το χρονικό διάστημα που απαιτείται, για να αντλήσει αυτά τα πρωτόνια, αντανακλά στην αύξηση της φάσης προσαρμογής.

1.3. Η επιφάνεια προσάρτησης των μικροοργανισμών στη συσκευή κινητού τηλεφώνου και οι περιβαλλοντικές παράμετροι

Μια συσκευή κινητού τηλεφώνου περιέχει από 500 έως 1,000 διαφορετικά συστατικά. Λαμβάνοντας υπ' όψιν τις τρέχουσες τάσεις, προσδοκάτε ότι νέα υλικά θα εφευρεθούν για να αντικαταστήσουν αυτά τα οποία χρησιμοποιούνται σήμερα. Μια τυπική συσκευή κινητού τηλεφώνου – εξαιρουμένων της μπαταρίας και των αξεσουάρ που συνήθως το συνοδεύουν – περιέχει πλαστικό (43%), γυαλί (14%), χαλκό (13%), σίδηρο (7%), αλουμίνιο (5%), μαγνήσιο (3%), και ασήμι (0,35%), νικέλιο, κασσίτερο και μόλυβδο (1%) και χρυσό (0,04%). Επιπρόσθετα, τα κινητά τηλέφωνα περιέχουν τα ακόλουθα τέσσερα μέταλλα: αντιμόνιο (0,1%), παλλάδιο (0,02%), βηρύλλιο (0,01%) και λευκόχρυσο (0,01%). Τα φυσικά χαρακτηριστικά των στερεών επιφανειών είναι πολύ σημαντικά, επειδή επηρεάζουν την αρχική προσκόλληση των κυττάρων. Τα υλικά με τα οποία ο χρήστης έρχεται σε άμεση και συχνή επαφή, είναι το πλαστικό και το γυαλί. Οι Bryers (1987), έδειξαν ότι η βακτηριακή σύνδεση εξαρτάται από την κρίσιμη επιφανειακή τάση της στερεάς επιφάνειας. Η υψηλή ελεύθερη ενέργεια και οι υγρές επιφάνειες προάγουν τη βακτηριακή προσκόλληση (Boulangue-Petermann, Baroux and Bellon-Fontaine, 1993). Τα περισσότερα κύτταρα συνδέονται με υδρόφιλες επιφάνειες (ανοξειδωτος χάλυβας, γυαλί). Πρόσθετες μελέτες από τους Jones, Adams, Zhdan and Chamberlain (1999), έδειξαν επίσης ότι οι επιφανειακές ατέλειες, δηλαδή τραχιές, διαπερατές επιφάνειες, όπως εκείνες που είναι γρατζουνισμένες, κοίλες, διαβρωμένες ή ραγισμένες, συσχετίστηκαν με μια σημαντική αύξηση της προσκόλλησης των βακτηρίων (Howell and Behrends, 2006, Scardino et al., 2006). Η ικανότητα στήριξης ενός μικροοργανισμού σε οποιοδήποτε υλικό εξαρτάται και από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, το pH και η παρουσία άλλων βακτηριδίων. Πολύ πιθανόν είναι, να αναπτυχθούν νέες τεχνολογίες που θα χρησιμοποιούν διαφορετικά υλικά. Εν τούτοις, προβλέψεις σχετικά με τη ζήτηση για νέες συσκευές καθώς και νέες εφαρμογές υλικών θεωρούνται υπερβολικά αδύναμες δεδομένης της ταχύτητας των αλλαγών που επιτελούνται τα τελευταία χρόνια.

1.4.Επιμόλυνση

Ως επιμόλυνση ορίζεται, η μεταφορά κινδύνου από μία μολυσμένη πηγή, στο τρόφιμο. Υπάρχουν δύο τρόποι επιμόλυνσης των τροφίμων: άμεσα (πχ όταν οι πρώτες ύλες αγγίζουν τα έτοιμα προϊόντα) και έμμεσα, με διασταυρούμενη επιμόλυνση (πχ με τη χρήση ενδιάμεσου φορέα, με κοπή νωπού και ψημένου κοτόπουλου με το ίδιο μαχαίρι κ.α.)

1.4.1.Διασταυρούμενη επιμόλυνση

Ως διασταυρούμενη επιμόλυνση, ορίζεται, η μεταφορά επικίνδυνων παραγόντων (μικροβιολογικής, χημικής ή φυσικής προέλευσης) από μια μολυσμένη πηγή, σε ένα μη μολυσμένο τρόφιμο, με ποικιλία μέσων, όπως τα χέρια, οι επιφάνειες εξοπλισμού, διάφορα σκεύη ή κατευθείαν από μια πρώτη ύλη σε ένα έτοιμο προς κατανάλωση προϊόν.

Μεγάλο ποσοστό των τροφιμογενών λοιμώξεων και τοξινώσεων, που οφείλονται σε παθογόνα, θα μπορούσε να προληφθεί, σε περίπτωση που ακολουθούνταν πιστά οι αρχές ασφάλειας των τροφίμων από την παραγωγή έως και την κατανάλωσή τους. Οι αρχές αυτές, βρίσκονται στον Κώδικα τροφίμων (Codex alimentarius), ο οποίος δημοσιεύτηκε από τον FAO-WHO το 2003, με στόχο να εξασφαλιστεί η ασφάλεια των τροφίμων.

Τα τρόφιμα προτού φτάσουν στα χέρια του καταναλωτή, διέρχονται μέσα από ένα δίκτυο διακίνησης και επεξεργασίας. Αυτό περιλαμβάνει, την παραγωγή των πρώτων υλών, την μεταφορά τους στον τόπο επεξεργασίας, την επεξεργασία τους, την μεταφορά τους στους τόπους διανομής, με τελικό προορισμό την κουζίνα του καταναλωτή. Από αυτό συμπεραίνουμε, ότι η ασφάλεια των τροφίμων είναι ευθύνη των παραγωγών, των επιχειρήσεων, των ελεγκτικών αρχών και του τελικού καταναλωτή, ταυτόχρονα. Πρόσφατες έρευνες, έχουν δείξει πως το οικιακό περιβάλλον είναι μια σημαντική πηγή τροφιμογενών λοιμώξεων (Neal et al., 2012), μιας και το ποσοστό των τροφιμογενών λοιμώξεων που οφείλονται σε αυτό, υπολογίζεται 50-87 % (Redmond & Griffith, 2003). Αυτό οφείλεται σε σημαντικό βαθμό, στην έλλειψη γνώσης, των καταναλωτών, των βασικών αρχών χειρισμού κατά την προετοιμασία και κατανάλωση των τροφίμων (Nesbitt et al., 2009). Οι μη ασφαλείς πρακτικές σχετίζονται, με τον έλεγχο του χρόνου και της θερμοκρασίας, την προσωπική υγιεινή και τη διασταυρούμενη επιμόλυνση.

1.4.1.1. Διασταυρούμενη επιμόλυνση σε οικιακό επίπεδο

Η διασταυρούμενη επιμόλυνση είναι ένας σημαντικός παράγοντας, που σχετίζεται με τις τροφολοιμώξεις σε οικιακό επίπεδο και επομένως πρέπει να συμπεριλαμβάνεται στη διαχείριση μικροβιολογικής επικινδυνότητας. Όταν το τρόφιμο φτάνει πλέον στο καταναλωτή, οι συνθήκες συνήθως δεν είναι ικανοποιητικές. Το ανεπαρκές μαγείρεμα, η μη κατάλληλη αποθήκευση, η ελλιπής προσωπική υγιεινή και η διασταυρούμενη επιμόλυνση αποτελούν κύριους παράγοντες για την ασφάλεια των τροφίμων (Medeiros, 2001). Οι Haysom & Sharp (2005), μελέτησαν τις μεταβολές της βακτηριακής επιμόλυνσης, σε πέντε διαφορετικά σημεία, σε 10 οικιακές κουζίνες, για διάστημα 24 ωρών. Τα αποτελέσματα έδειξαν, ότι τα επίπεδα επιμόλυνσης κυμαίνονταν μες τη διάρκεια της ημέρας, με το μέγιστο να καταγράφεται μετά την προετοιμασία του γεύματος, ενώ υπήρχε τάση για μείωση κατά τη διάρκεια της νύχτας. Παρατηρήθηκε, έμμεσα διασταυρούμενη επιμόλυνση από τα χέρια σε άλλες επιφάνειες. Επίσης, τα χερούλια του ψυγείου, η λαβή του βραστήρα και οι βρύσες, που έρχονται σε επαφή μόνο με τα χέρια, έδειξαν υψηλότερα επίπεδα επιμόλυνσης.

1.4.1.2. Διασταυρούμενη επιμόλυνση σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης

Διάφορες μελέτες, έχουν αποδείξει, επίπεδα βακτηριακής μεταφοράς από ωμό κοτόπουλο σε χέρια (Chen et al., 2001, Montville et al., 2001), από κοτόπουλο σε

πάγκους κοπής (Chen et al., 2001, Kusumaningrum et al., 2004, Van Asselt et al., 2008) και από επιμολυσμένα χέρια σε έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα (Chen et al., 2001, Montville et al., 2001). Τα βακτήρια, μεταφέρονται μεταξύ επιφανειών στο περιβάλλον επεξεργασίας τροφίμων (Chen et al., 2001, Cogan et al., 1999, Cogan et al., 2002, Kusumaningrum et al., 2004, Lubber et al., 2006, Montville et al., 2001) και μπορούν να επιβιώνουν στο περιβάλλον, στα χέρια (Chen et al., 2001) και στους πάγκους κοπής (Cliver, 2006, Cogan et al., 1999). Διασταυρούμενη επιμόλυνση των οικιακών επιφανειών επίσης έχει βρεθεί και από πουλερικά (DeWit et al., 1979, De Boer & Hahne 1990). Οι De Boer & Hahne (1990), απέδειξαν ότι η *Salmonella* spp. και το *Campylobacter*, μεταφέρονται από κοτόπουλο σε επιφάνειες τροφίμων, μαγειρικά σκεύη, στα χέρια και σε άλλα τρόφιμα. Μεγάλα ποσοστά των παθογόνων μικροοργανισμών *Salmonellas* spp., *Campylobacter*, *E.coli*, και *St.aureus*, ανιχνεύτηκαν λόγω διασταυρούμενης επιμόλυνσης σε 25 οικιακές κουζίνες, κατά τη διάρκεια προετοιμασίας γεύματος με κοτόπουλο (Gorman et al., 2002).

1.4.1.3.Ο ρόλος της διασταυρούμενης επιμόλυνσης στη μετάδοση τροφιμογενών λοιμώξεων

Ο Roberts (1990), ύστερα από έρευνα, συμπέρανε ότι παρόλο που οι περισσότερες επιδημίες οφείλονται σε λάθος έλεγχο της θερμοκρασίας συντήρησης των ωμών ή των μαγειρεμένων τροφίμων, πολλές από αυτές, προκύπτουν άμεσα ή έμμεσα από διασταυρούμενη επιμόλυνση. Για το 6 % των τροφιμογενών λοιμώξεων, υπεύθυνη είναι η διασταυρούμενη επιμόλυνση και για το 4 %, η ανεπαρκής υγιεινή των χεριών. Η πιθανότητα πρόκλησης λοίμωξης, μέσα από την άμεση επαφή με επιμολυσμένες επιφάνειες υποστηρίζεται από το γεγονός, ότι μικρός αριθμός παθογόνων μικροοργανισμών, μπορεί να προκαλέσει λοίμωξη (Bloomfield & Scott, 1997). Από μελέτες σε υγιείς ενήλικες, φάνηκε ότι η μολυσματική δόση της *Salmonella* spp. και *E.coli*, εξαρτάται από το στέλεχος και κυμαίνεται από 10² -10³ CFU έως 10⁶ -10⁷ CFU (Ferguson & June, 1952, Lipson, 1976, McCullough & Eisele, 1951). Οι μολυσματικές δόσεις του *Campylobacter* και *E.coli* O157, είναι στα 100-300 CFU και 500 CFU αντίστοιχα (Anonymous, 1994).

1.4.1.4.Μεταφορά επιμόλυνσης σε οικιακό περιβάλλον

Η επικινδυνότητα της περιβαλλοντικής επιμόλυνσης, σχετίζεται όχι μόνο από το κατά πόσο ο χώρος είναι επιμολυσμένος, αλλά και από την πιθανότητα που υπάρχει να γίνει μεταφορά στα τρόφιμα, σε άλλες επιφάνειες ή άμεσα από τα χέρια στο στόμα. Τα χέρια και οι επιφάνειες, λόγω της φύσης της χρήσης τους, αυξάνουν τη πιθανότητα διασταυρούμενης επιμόλυνσης. Πολλές εργαστηριακές μελέτες έδειξαν, ότι τα δάκτυλα και τα εργαλεία κουζίνας, τα οποία έρχονται σε επαφή με στεγνή επιφάνεια μεταφέρουν σημαντικό αριθμό βακτηρίων σε αυτή (Scott & Bloomfield, 1990a).

1.4.1.5.Παράγοντες που επηρεάζουν τη διασταυρούμενη επιμόλυνση

Οι παράγοντες που σχετίζονται με τη μεταφορά των μικροοργανισμών από τη μια επιφάνεια στην άλλη, χωρίζονται σε εξωγενείς, που σχετίζονται με τις ιδιότητες των επιφανειών και τις συνθήκες του περιβάλλοντος και σε ενδογενείς, που σχετίζονται με τα χαρακτηριστικά του μικροοργανισμού (Pérez-Rodríguez et al., 2008).

1.4.1.5.1.Εξωγενείς παράγοντες

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες και τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας δότη (επιμολυσμένη) και της επιφάνειας δέκτη έχουν αποδειχτεί ως σημαντικοί για τη διασταυρούμενη επιμόλυνση (Dawson et al., 2007, Kusumaningrum et al., 2003). Κύριοι παράγοντες είναι: η διαβρεκτικότητα της επιφάνειας (υδροφοβικότητα, υδροφιλικότητα), η παρουσία οργανικού υλικού, το επίπεδο υγρασίας, η τραχύτητα της επιφάνειας και ο χρόνος επαφής (Dawson et al., 2007, Verran & Whitehead, 2005, Vorst et al., 2006). Οι Knobben et al. (2006) απέδειξαν ότι ο *St.aureus*, που έχει υδρόφιλη επιφάνεια, μεταφέρεται πιο εύκολα σε υδρόφιλες επιφάνειες όπως το γυαλί, αλλά μεταφέρεται σε μικρό ποσοστό από εκεί σε άλλες επιφάνειες εξαιτίας της ισχυρής προσκόλλησης στην αρχική επιφάνεια.

Η τραχύτητα επιδρά επίσης στη μεταφορά στην επιφάνεια δέκτη, αλλά σε μικρότερο ποσοστό. Ο ρόλος της τραχύτητας βασίζεται στο ότι τα βακτήρια αποικίζουν και στη συνέχεια παγιδεύονται σε σημεία με ρωγμές, συνεπώς δεν μπορούν να μεταφερθούν (Dawson et al., 2007). Η διάβρωση και οι αμυχές στις επιφάνειες, επίσης οδηγούν σε χαμηλά επίπεδα μεταφοράς. Οι Dickson & Daniels (1991), έδειξαν, ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος επαφής δύο επιφανειών τόσο αυξάνεται ο αριθμός ενώσεων και αλληλεπιδράσεων που μπορεί να συμβούν με την επιφάνεια δέκτη. Το αποτέλεσμα που προκύπτει, είναι μεγαλύτερο επίπεδο μεταφοράς. Το επίπεδο υγρασίας παίζει ιδιαίτερο ρόλο στη μικροβιακή μεταφορά και τη διασταυρούμενη επιμόλυνση μεταξύ των επιφανειών. Οι Patrick et al. (1997) έδειξαν, ότι η υγρασία στα χέρια αύξησε τα επίπεδα των βακτηρίων που μεταφέρονταν στην επιδερμίδα, στα τρόφιμα και στις επιφάνειες επεξεργασίας, συγκριτικά με τον αριθμό των βακτηρίων που μεταφέρονται όταν εφαρμοζόταν σκούπισμα με πετσέτα στα χέρια, μετά το πλύσιμο.

1.4.1.5.2.Ενδογενείς παράγοντες

Οι ενδογενείς παράγοντες χαρακτηρίζουν το είδος ή το στέλεχος του βακτηρίου. Είναι εξίσου σημαντικοί για τη μεταφορά των προσκολλημένων βακτηρίων. Διάφορες μελέτες αναφέρουν, πως η δυνατότητα μεταφοράς, εξαρτάται από το στέλεχος των βακτηρίων και επηρεάζεται από τις διαφορές στα χαρακτηριστικά προσκόλλησης τους (Knobben et al., 2006). Οι Kusumaningrum et al., (2003) ανέφεραν, διαφορετικά επίπεδα μεταφοράς των *S.enteritidis*, *St.aureus* και *C.jejuni*, από σπόγγους κουζίνας σε επιφάνειες ανοξείδωτου χάλυβα και από εκεί σε επιφάνειες αγγουριού. Οι μελετητές Montville & Schaffner, (2003), απέδειξαν, ότι το μέγεθος του αρχικού ενοφθαλμισμού

έχει ιδιαίτερη επίδραση στην ικανότητα μεταφοράς. Ορισμένοι εξωγενείς παράγοντες, εξαρτώνται από κάποιους ενδογενείς, οι οποίοι είναι ειδικοί για το κάθε στέλεχος. Παράδειγμα αποτελεί, ο αυξημένος χρόνος επαφής, που αυξάνει την πιθανότητα να εντείνονται οι διαφορές μεταξύ των ειδών των βακτηρίων, εξαιτίας των διαφορών στη διαδικασία προσκόλλησης και την ικανότητα παραγωγής εξωπολυσακχαριτών ή την παρουσία εξωκυτταρικών δομών (Dickson & Daniels, 1991, Midelet et al., 2006). Σε αντίθεση, τα μεγάλα επίπεδα υγρασίας ελαττώνουν τις διαφορές ως προς την μεταφορά μεταξύ των ειδών, διότι η προσκόλληση μειώνεται παρουσία υγρασίας (Knobben et al., 2006, Midelet et al., 2006).

1.4.1.6. Πρόληψη διασταυρούμενης επιμόλυνσης

Με το πέρασμα των χρόνων, η αύξηση των κρουσμάτων τροφιμογενών λοιμώξεων, αύξησαν και την ανάγκη για υγιεινή. Η καθαριότητα είναι σημαντική, όμως η γνώση για τη πρόληψη της διασταυρούμενης επιμόλυνσης είναι επίσης ουσιαστική. Τα απαραίτητα μέτρα που πρέπει να παίρνονται, συμπεριλαμβάνουν την καθαριότητα των επιφανειών κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας των τροφίμων, καθώς επίσης και την προσωπική υγιεινή. Το στέγνωμα των επιφανειών και χρήση αντιβακτηριακών προϊόντων, προκαλεί την μείωση ή και θανάτωση των μικροοργανισμών από το οικιακό περιβάλλον και τον άνθρωπο. Παρόλα αυτά, το στέγνωμα των επιφανειών από μόνο του, δεν μπορεί να εγγυηθεί την απενεργοποίηση της μεταφοράς παθογόνων μικροοργανισμών και η μείωση των βακτηρίων με τη χρήση απορρυπαντικών είναι παροδική αν οι επιφάνειες διατηρούν την υγρασία τους (Scott & Bloomfield, 1990a). Η θέρμανση είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος απολύμανσης (Beumer et al., 1999). Η χρήση χημικών απολυμαντικών μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απολύμανση επιφανειών σε περίπτωση που οι προηγούμενες μέθοδοι δεν είναι εφαρμόσιμες ή είναι ανεπαρκείς.

Η αποτελεσματική υγιεινή είναι αδιαμφισβήτητα απαραίτητη. Το 2000, οδηγίες σχετικά με την υγιεινή θεσπίστηκαν για να ανταποκριθούν στην ανάγκη για βελτίωση των γνώσεων και των πρακτικών υγιεινής των καταναλωτών (IFH, 2004). Οι οδηγίες αυτές στηρίζονται στην αρχή της διαχείρισης της επικινδυνότητας και στη πρόληψη του μικροβιολογικού κινδύνου. Παρόλα αυτά, η αποτελεσματικότητα των μέτρων πρόληψης της διασταυρούμενης επιμόλυνσης θα πρέπει να είναι αμφισβητήσιμη και συνεπώς οι οδηγοί υγιεινής να ανανεώνονται συνεχώς, με σκοπό να επιτυγχάνεται η πρόληψη της έκθεσης των καταναλωτών σε τροφιμογενή παθογόνα.

1.5. Κατηγορίες κινδύνων

Οι κατηγορίες των κινδύνων είναι τρεις: βιολογικοί, χημικοί και φυσικοί. Στους βιολογικούς κινδύνους, ανήκουν τα βακτήρια, οι ιοί και τα παράσιτα, μικροοργανισμοί που προσβάλλουν τα τρόφιμα. Με βάση το πρόγραμμα HACCP, τρεις είναι οι στόχοι που πρέπει να επιτευχθούν ως προς τους βιολογικούς κινδύνους: η μείωση ή εξαφάνιση του κινδύνου, η μηδένιση των πιθανοτήτων επαναμόλυνσης του τροφίμου και η αναστολή παραγωγής τοξινών. Οι κύριες πηγές παθογόνων μικροοργανισμών στα

τρόφιμα είναι: ο αέρας, οι ακατέργαστες ζωικές πρώτες ύλες, το νερό, η σκόνη, τα ακάθαρτα μηχανήματα επεξεργασίας, το έδαφος, οι επιφάνειες εργασίας, η πιθανή παρουσία εντόμων ή τρωκτικών στο χώρο του εργοστασίου και το προσωπικό παραγωγής. Η καταστροφή των μικροοργανισμών προέρχεται από θερμική κατεργασία, ξήρανση ή ψύξη. Εάν η ολοκληρωτική εξαφάνιση του παθογόνου δεν είναι εφικτή, τότε δημιουργούνται συνθήκες, ικανές να προκαλέσουν αναστολή της μικροβιακής αύξησης και της παραγωγής τοξινών.

1.6.Τροφιμογενείς λοιμώξεις και παθογόνοι μικροοργανισμοί

1.6.1.Τροφιμογενείς λοιμώξεις

Τα τροφιμογενή νοσήματα αποτελούν σημαντικά αίτια νοσηρότητας και θνησιμότητας. Αναγνωρίζονται, από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization, WHO) ως νοσήματα που έχουν προκληθεί από την κατανάλωση κάποιου τροφίμου ή νερού κι αποτελούν ένα σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας. Το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των Η.Π.Α. (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), αναφέρει, ότι τρία από τα παθογόνα που είναι υπεύθυνα για την πλειοψηφία των τροφιμογενών νοσημάτων που συμβαίνουν σε οικιακό περιβάλλον, οδηγούν σε νοσοκομειακή περίθαλψη και χαρακτηρίζονται από υψηλή θνησιμότητα είναι, η *Salmonella* spp., ο *St.aureus* και η *E.coli* (CDC, 2011). Το 2012, έγιναν δύο μεγάλες μελέτες στις Η.Π.Α., σχετικά με το οικονομικό κόστος που έχουν οι τροφιμογενείς νόσοι στις δομές της δημόσιας υγείας (Scharff, 2012, Hoffmann et al., 2012). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το κόστος από την εκδήλωση των τριών παθογόνων φθάνει το 70 % του συνολικού κόστους που προέρχεται από ασθένειες τροφιμογενών παθογόνων.

Στην Ευρώπη, 5.196 τροφιμογενείς και υδατογενείς επιδημίες καταγράφηκαν σύμφωνα με δεδομένα που συλλέχθηκαν από 32 Ευρωπαϊκές χώρες το 2013 (EFSA & ECDC, 2015). Η *Salmonella* αποτέλεσε τον πιο κοινό αιτιολογικό παράγοντα. Ο αριθμός των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων σε ανθρώπους από *E. coli* έφτασε τα 6.043 κρούσματα το 2015, παρουσιάζοντας αύξηση 5,9 % σε σχέση με το 2012. Το 2013, καταγράφηκαν 386 επιδημίες (3.203 κρούσματα) που προκλήθηκαν από σταφυλοκοκκικές τοξίνες από 12 κράτη μέλη της Ε.Ε., παρουσιάζοντας 12% αύξηση σε σχέση με το 2012.

Στην Ελλάδα σύμφωνα με το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕΕΛΠΝΟ) ο αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων σαλμονέλλωσης το 2013 ήταν 417 περιστατικά, με συχνότερα απομονωμένους ορότυπους την *S.enteritidis* και την *S. typhimurium* (ΚΕΕΛΠΝΟ, 2014). Η σταφυλοκοκκική τροφική τοξίνωση είναι από τις πιο συνήθεις τροφικές διαταραχές σε πολλές χώρες. Παρόλα αυτά, η καταγραφή των κρουσμάτων δεν είναι συστηματική στην Ελλάδα, συνεπώς δεν υπάρχουν επιδημιολογικά στοιχεία. Το ποσοστό αντίληψης των ανθεκτικών στην μεθικιλίνη απομονώσεων του *St.aureus* (Methicillin-Resistant *St.aureus*, MRSA), κυμαινόταν από 25 έως 50 % στην Ελλάδα το 2014, σύμφωνα με την αναφορά του ECDC που αφορούσε νοσοκομειακές λοιμώξεις και αντιμικροβιακή αντοχή (ECDC, 2015).

1.6.2.Τροφιμογενή παθογόνα

Λαμβάνοντας υπόψιν τα παραπάνω ποσοστά κρουσμάτων των ανωτέρω παθογόνων, επιλέχθηκαν να μελετηθούν στην παρούσα μελέτη οι παθογόνοι μικροοργανισμοί *Salmonella* spp., *E.coli* O157 και *St.aureus*, Παρακάτω, περιγράφονται ξεχωριστά για το κάθε παθογόνο, τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είδους, οι κλινικές εκδηλώσεις των νοσημάτων που προκαλεί, η επιδημιολογία και ο συσχετισμός του με τρόφιμα.

1.6.2.1.SALMONELLA SPP.

Επιστημονική ταξινόμηση

«Χώρος» (Domain)	Bacteria
Φύλο (Phylum)	Proteobacteria
Ομοταξία (Class)	Gamma proteobacteria
Τάξη (Order)	Enterobacteriales
Οικογένεια (Family)	Enterobacteriaceae
Γένος (Genus)	<i>Salmonella</i>

Πίνακας 1.1: Επιστημονική ταξινόμηση του βακτηρίου *Salmonella* spp.

1.6.2.1.1.Χαρακτηριστικά

Το βακτήριο *Salmonella*, είναι ένα γένος με ράβδο-αρνητικά κινητικά βακτηρίδια, προαιρετικά αναερόβια, χωρίς σχηματισμό σπορίων, της οικογένειας Enterobacteriaceae (βακίλου) (εξαιρέσεις τα μη κινητά *Salmonella Gallinarum* και *Salmonella Pullorum*). Το γένος *Salmonella* περιέχει δύο είδη, τα *Salmonella enterica* και *Salmonella bongori*. Είναι ενδοκυτταρικά παθογόνα και βρίσκονται παγκοσμίως σε όλα τα θερμόαιμα ζώα και στο περιβάλλον. Το *S.bongori* περιορίζεται στα ψυχρόαιμα ζώα, ιδιαίτερα στα ερπετά. Όταν η *Salmonella* απομονώνεται από τα τρόφιμα ή τους ανθρώπους, αναγνωρίζεται πάντα ως ένας παθογόνος μικροοργανισμός.

1.6.2.1.2.Ταξινόμηση

Η ταξινόμηση του γένους *Salmonella*, είναι σύνθετη και βασίζεται σε βιοχημικά, γενετικά και ορολογικά χαρακτηριστικά. Το είδος *S.enterica*, διακρίνεται σε πέντε υποείδη, και φιλοξενεί τους περισσότερους παράγοντες που προκαλούν ασθένεια στον άνθρωπο. Αποτελείται από περισσότερους από 2443 διαφορετικούς ορότυπους, με βάση τις ορολογικές τους ιδιότητες. Το είδος *S.bongori* διαθέτει 20 ορότυπους. Τα ιδιαίτερα ορολογικά τους χαρακτηριστικά είναι το πρωτεϊνικό αντιγόνο (H) της φλαγγέλλας, το πολυσακχαριδικό αντιγόνο (O) των κυτταρικών τοιχωμάτων και το πολυσακχαριδικό αντιγόνο (Vi) της κάψουλας. Τα τελευταία (Vi) συναντώνται μόνο στους ορότυπους *Typhi*, *Paratyphi C* και *Dublin*. Άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό για

την κατάταξή τους είναι η ευαισθησία τους σε συγκεκριμένους βακτηριοφάγους (PT: provisional phage type. DT: definitive phage type).

1.6.2.1.3.Κλινικές εκδηλώσεις

Η *Salmonella* προκαλεί σαλμονέλωση, η οποία είναι μια ασθένεια που τα συμπτώματά της ποικίλουν, από βακτηριακή διάρροια έως και σηψαιμία. Η σαλμονέλωση που προκαλεί διάρροια, προέρχεται από τροφιμογενή αίτια. Πιο συγκεκριμένα φτάνει στον άνθρωπο από κατανάλωση επιμολυσμένων αυγών και ακατάλληλα μαγειρεμένων πουλερικών. Η *S.typhi* και *S.paratyphi*, προκαλούν τον τυφοειδή πυρετό. Η *S.typhi* διαφέρει από τα πιο πολλά είδη *Salmonella*, διότι φιλοξενείται στον άνθρωπο και όχι στα ζώα, και διασπείρεται μέσω της στοματικής και εντερικής οδού.

Εκτός από την αιτία του εντερικού (τυφοειδούς) πυρετού, μιας σημαντικής μολυσματικής νόσου, η σαλμονέλα είναι ίσως περισσότερο γνωστή ως αιτία βακτηριακής δηλητηρίασης τροφής. Παρόλο που ο τυφοειδής πυρετός έχει εξαλειφθεί σε μεγάλο βαθμό στον ανεπτυγμένο κόσμο, η δηλητηρίαση των τροφίμων από τη σαλμονέλα υπήρξε εδώ και πολύ καιρό και είναι ένα σημαντικό παγκόσμιο πρόβλημα δημόσιας υγείας. Αποτελεί βασική αιτία ανησυχίας για τη βιομηχανία τροφίμων, όπου ο έλεγχός της είναι ζωτικής σημασίας για προϊόντα που κυμαίνονται, από μαγειρεμένα κρέατα έως σοκολάτα, και από φρέσκα προϊόντα μέχρι φιστικέλαιο.

Η μόλυνση από μη τυφοειδή σαλμονέλα είναι πολύ πιο συχνή και συνήθως προκαλεί γαστρεντερίτιδα, με συμπτώματα όπως διάρροια, κοιλιακό άλγος, ναυτία και έμετο που διαρκούν 1-7 ημέρες. Οι υγιείς ενήλικες σπάνια υποφέρουν από άλλα συμπτώματα και το ποσοστό θνησιμότητας είναι <1%, αλλά τα παιδιά, οι ηλικιωμένοι και οι ανοσοκατεσταλμένοι μπορούν να αναπτύξουν πολύ πιο σοβαρές λοιμώξεις, όπως η σηψαιμία. Η μολυσματική δόση μπορεί να είναι αρκετά χαμηλή (10-100 κύτταρα) σε ευάλωτα άτομα ή όταν καταναλώνονται μολυσμένα τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, όπως σοκολάτα ή τυρί.

Οι ευαίσθητες ομάδες ατόμων, όπως νεογνά, παιδιά, ηλικιωμένοι και ανοσοκατεσταλμένοι μπορούν να εκδηλώσουν πολύ βαρύτερα συμπτώματα. Η δόση του παθογόνου που είναι αναγκαία για την εκδήλωση μιας ασθένειας ποικίλλει ανάλογα με το στέλεχος, τον ασθενή, και το τρόφιμο-φορέα. Για έναν υγιή ενήλικα χρειάζεται η κατανάλωση περισσότερων από 10.000 κυττάρων. Πολλές φορές όμως, με πολύ λιγότερα κύτταρα μπορεί να προκληθεί ασθένεια (<100 κύτταρα του παθογόνου). Κοινό στοιχείο σε αυτές τις περιπτώσεις είναι η υψηλή περιεκτικότητα σε λίπη των τροφών που μεταφέρουν το παθογόνο και αυξάνουν την πιθανότητα επιβίωσης του παθογόνου στο χαμηλό pH του στομάχου (Montville & Matthews,

2010). Οι άνθρωποι που προσβάλλονται από σαλμονέλα ενδεχομένως να εμφανίσουν στη πορεία και άλλες επιπλοκές όπως περικαρδίτιδα, μηνιγγίτιδα, οστεομυελίτιδα, πνευμονία, χολοκυστίτιδα, ενδοκαρδίτιδα, σηπτική αρθρίτιδα κ.α.

1.6.2.1.4.Επιδημιολογία

Κάθε χρόνο 90 εκατομμύρια άνθρωποι προσβάλλονται από σαλμονέλωση. Το κόστος για τα συστήματα Δημόσιας Υγείας στην Ευρωπαϊκή Ένωση, ανέρχεται σε 3 δις € και στις Η.Π.Α. σε 2,7 δις δολάρια (Mather et al., 2013). Στις Η.Π.Α. αναφέρεται από το CDC ότι προσβάλλονται περίπου 1,2 εκατομμύρια άνθρωποι ετησίως. Από αυτούς, οι 23.000 νοσηλεύονται σε νοσοκομεία, ενώ περίπου 450 πεθαίνουν. Οι Majowicz et al. (2010) υπολογίζουν ότι, σε παγκόσμιο επίπεδο, προσβάλλονται περίπου 93,8 εκατομμύρια άνθρωποι από σαλμονέλωση ετησίως και οι 155.000 πεθαίνουν.

1.6.2.1.5.Συσχετισμός με τρόφιμα

Η σαλμονέλα είναι ένα πολύ κοινό συστατικό της μικροχλωρίδας του εντέρου των ζώων, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων, των άλλων θηλαστικών, των πτηνών, των ερπετών και των αμφιβίων και έτσι βρίσκεται στα κόπρανα τους. Η ρύπανση από τα κοπάδια είναι ο κύριος δρόμος με τον οποίο τα τρόφιμα και τα ύδατα μολύνονται και αντιπροσωπεύουν σε μεγάλο βαθμό την πανταχού παρούσα κατάσταση της σαλμονέλας στην αλυσίδα εφοδιασμού των τροφίμων. Τα ζώα, ιδιαίτερα τα πουλερικά και οι χοίροι, μπορούν επίσης να μολυνθούν και να λειτουργήσουν ως δεξαμενές της σαλμονέλας.

Τα τρόφιμα που έχουν ενοχοποιηθεί περισσότερο είναι το κρέας των πουλερικών, τα αβγά και τα υποπροϊόντα τους. Τα αβγά, μάλιστα, περιέχουν το βακτήριο *S.enterica*, στον κρόκο τους, το οποίο καθιστά ιδιαίτερα επικίνδυνη την κατανάλωσή του, όταν αυτό είναι ωμό. Το *S.enterica* δεν εμπεριέχεται μόνο στα αβγά, αλλά και σε άλλα τρόφιμα. Τα προϊόντα ζωικής προέλευσης (γάλα, τυρί) έχουν επίσης ενοχοποιηθεί κατά καιρούς ως φορείς σαλμονέλας. Με το πέρασμα των χρόνων, όλο και πιο συχνά παρατηρούνται επιδημίες κρουσμάτων σαλμονελώσεων από κατανάλωση φρέσκων λαχανικών και φρούτων (CDC, 2002, Cummings et al., 2001, Hedburg et al., 1999). Συμπληρωματικά, εστίες σαλμονέλωσης αποτελούν η σοκολάτα, ο καπνιστός σολομός, η βρεφική συνταγή, το φυστικοβούτυρο, τα βότανα και τα μπαχαρικά, τα ζαχαρωτά, τα δημητριακά, το παγωτό, το αλεύρι, τα βατραχοπόδαρα, οι καρύδες, οι σάλτσες, το κακάο, η ζύμη, τα θαλασσινά (ψάρια, γαρίδες), η ξηρή ζελατίνη, το βοδινό κρέας. Η προσβολή ενός φαγώσιμου από σαλμονέλα δεν επιφέρει αλλαγές στην όψη και τη μυρωδιά του.

1.6.2.1.6.Τρόποι πρόληψης

Η αποφυγή κατανάλωσης ωμών τροφίμων, (κρέας, κοτόπουλο, γάλα, λαχανικά, αβγά), το πλύσιμο των χεριών μετά το μαγείρεμα, η χρήση του μπάνιου μετά από επαφή με οποιοδήποτε ζώο (κυρίως με χελώνες ή κάποιο ερπετό), το καλό βράσιμο ή ψήσιμο της τροφής πριν την κατανάλωσή της, το τακτικό πλύσιμο των μαγειρικών σκευών και του

πάγκου, η αποφυγή επαφής μαγειρεμένων τροφίμων με ακατέργαστα προϊόντα και η σωστή συντήρηση των τροφών, είναι βασικοί κανόνες για την αποφυγή της προσβολής από τη σαλμονέλωση, αλλά και άλλων ασθενειών. Επίσης, το κρέας δεν πρέπει να είναι ροζ, ή κόκκινο στο κέντρο του, το γάλα πρέπει να παστεριώνεται, ενώ τα αβγά δεν πρέπει να είναι υγρά, πριν την κατανάλωσή τους. Το βακτήριο της σαλμονέλας εξουδετερώνεται, όταν εκτεθεί σε θερμοκρασία 70°C.

Τα κατοικίδια ζώα, τα οποία είναι δυνατό να προσβληθούν επίσης από σαλμονελώσεις, μπορούν να προστατευθούν με την τήρηση των κανόνων της βιοασφάλειας, την κατανάλωση ζωοτροφών, απαλλαγμένων από σαλμονέλα, τον εμβολιασμό τους και τον κτηνιατρικό έλεγχο.

Οι σαλμονέλες δεν είναι ανθεκτικές στη θερμότητα και δεν αναπτύσσονται σε χαμηλές θερμοκρασίες, αλλά είναι εκπληκτικά σκληρές και δεν θανατώνονται με κατάψυξη. Μπορούν επίσης να επιβιώσουν καλά σε όξινα τρόφιμα και να αντισταθούν στην αφυδάτωση. Αυτό σημαίνει ότι, αν και δεν είναι σε θέση να πολλαπλασιαστεί σε πολλές επεξεργασμένες τροφές, εάν υπάρχει μόλυνση, μπορεί να είναι δύσκολο να εξαλειφθεί. Για παράδειγμα, τα λιπαρά τρόφιμα μπορούν να προστατεύσουν τα κύτταρα από πολύ σοβαρές θερμικές επεξεργασίες καθιστώντας την παστερίωση αναποτελεσματική.

1.6.2.1.7. Μέθοδος απομόνωσης και ταυτοποίησης της *Salmonella* spp.

Για να καταδειχθεί ο αποτελεσματικός έλεγχος αυτού του παθογόνου παράγοντα, οι επιχειρήσεις τροφίμων αναλύουν τα προϊόντα για την παρουσία σαλμονέλας. Η σημερινή ευρωπαϊκή αναγνωρισμένη μέθοδος ανίχνευσης της *Salmonella* spp. είναι η ISO 6759: 1 2017. Η μέθοδος για την απομόνωση και ταυτοποίηση της *Salmonella*, συνοψίζεται σε τέσσερα βήματα, σύμφωνα με το International Standard ISO 6579:1993 και είναι τα παρακάτω:

1. Πρεοεμπλουτισμός: μη επιλεκτικός εμπλουτισμός για την αναζωογόνηση της τραυματισμένης σαλμονέλας.
2. Εμπλουτισμός σε υγρά επιλεκτικά θρεπτικά υποστρώματα: επιλεκτικός εμπλουτισμός για την αναστολή της χλωρίδας.
3. Επίστρωση σε επιλεκτικά θρεπτικά υποστρώματα και αναγνώριση: υποκαλλιέργεια του επιλεκτικού εμπλουτισμού σε επιλεκτικά διαφορικά άγαρ για να επιτρέψει την ανάπτυξη της σαλμονέλας και να τη διακρίνει από άλλους μικροοργανισμούς.
4. Επιβεβαίωση της ταυτότητας των μικροοργανισμών μέσω φυσικοχημικών και ορολογικών δοκιμών: επιβεβαίωση των υποθετικών θετικών αποικιών της σαλμονέλας. Η επιβεβαίωση περιλαμβάνει βιοχημικές δοκιμές και ανίχνευση δομών ειδικών για τη σαλμονέλα, χρησιμοποιώντας αντισώματα. Η μέθοδος

ISO δίνει θετικό αποτέλεσμα σε τρεις ημέρες και επιβεβαιώνει αποτελέσματα σε πέντε ημέρες.

Σημαντικό, είναι ότι η *Salmonella* συνήθως απαντάται σε μικρό αριθμό, όμως συχνά ακολουθείται από μεγάλο αριθμό άλλων μελών της οικογένειας Enterobacteriaceae ή και άλλως οικογενειών. Εξαιτίας αυτού, είναι απαραίτητος ο επιλεκτικός εμπλουτισμός, με σκοπό να είναι εφικτός ο διαχωρισμός και η ταυτοποίησής της. Συμπληρωματικά, ο προ-εμπλουτισμός κρίνεται απαραίτητος προκειμένου να ανανήψουν και στη συνέχεια να ανιχνευτούν τα πιθανόν τραυματισμένα κύτταρα της *Salmonella*. Ένας σημαντικός αριθμός μεθόδων, τόσο παραδοσιακών όσο και γρήγορων, αναπτύχθηκε με την πάροδο των ετών για την ανίχνευση και ταυτοποίηση της σαλμονέλας.

1.6.2.1.7.Νομοθεσία

Υπάρχει μια τρέχουσα ISO οριζόντια μέθοδος, ISO 6579: 2002, για την ανίχνευση της *Salmonella* spp. στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές. Η μέθοδος τροποποιήθηκε το 2007 ώστε να συμπεριλάβει τη δοκιμή ζωικών περιττωμάτων και περιβαλλοντικών δειγμάτων από την πρωτογενή παραγωγή. Παρόμοιες πρότυπες μέθοδοι έχουν δημοσιευθεί αλλού από άλλα σώματα, κυρίως στο Bacteriological Analytical Manual (BAM) USFDA.

1.6.2.2.ESCHERICHIA COLI

Επιστημονική ταξινόμηση

«Χώρος» (Domain)	Bacteria
Φύλο (Phylum)	Proteobacteria
Ομοταξία (Class)	Gamma proteobacteria
Τάξη (Order)	Enterobacteriales
Οικογένεια (Family)	Enterobacteriaceae
Γένος (Genus)	Escherichia
Είδος (Species)	<i>E.coli</i>

Πίνακας 1.2: Επιστημονική ταξινόμηση του βακτηρίου *Escherichia coli*.

1.6.2.2.1.Χαρακτηριστικά

Είναι ένα Gram αρνητικό, ραβδοειδούς σχήματος, κολοβακτήριο που ανήκει στην οικογένεια Enterobacteriaceae. Δεν σχηματίζει ενδοσπόρια, ενώ συνήθως έχει αυτόνομη κίνηση (περίτριχα μαστίγια). Υπάρχει φυσιολογικά στην εντερική μικροχλωρίδα του ανθρώπου και των ζώων, σε ποσοστό μικρότερο από 1 % του συνόλου των μικροοργανισμών και αριθμεί σχεδόν 10⁸ κύτταρα ανά γραμμάριο

εντερικού περιεχομένου των ενηλίκων. Μεταφέρεται από τη μητέρα στο νεογνό κατά τον τοκετό και είναι από τα πρώτα είδη που αποικίζουν στο έντερο.

Τα περισσότερα στελέχη του, είναι αβλαβή, αλλά το O157:H7 παράγει σε μεγάλο βαθμό, την τοξίνη verotoxin (VT) και καταστρέφει το έντερο. Αυτή η τοξίνη είναι εφάμιλλη των παραγώγων του *Shigella dysenteriae* και προκαλεί αιμορραγική κολίτιδα στο ξενιστή. Επίσης, όταν βρεθεί σε διπλανά όργανα όπως την ουροδόχο κύστη μπορεί να προκαλέσει ουρολοίμωξη. Ο τρόπος δράσης σε κυτταρικό επίπεδο του ορότυπου O157:H7, είναι ο εξής: προσκολλάται στο εντερικό επιθήλιο δημιουργώντας αλλοιώσεις που καταστρέφουν τις μικρολάχνες τοπικά και στη πορεία εισέρχεται στα κύτταρα, στα οποία παράγει τοξίνες, οι οποίες διαφεύγουν από τον εντερικό αυλό και προκαλούν γενικευμένες βλάβες. Πιστεύεται ότι οι τοξίνες αυτές καταστρέφουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα και ιδιαίτερα αυτά των νεφρών. Σε αυτή την υποκατηγορία ανήκουν και τα εντεροαιμορραγικά στελέχη (Enterohemorrhagic-EHEC), που προκαλούν περιστατικά αιμορραγικής διάρροιας μετά από κατανάλωση μολυσμένου τροφίμου ή πόσιμου νερού. Οι πιο γνωστοί ορότυποι των στελεχών αυτών, είναι οι O26, O111 και ο O157, αλλά υπάρχουν και άλλοι. Κάποια στελέχη, έχουν συνδεθεί με παθογένεια και συγκεκριμένα με εκδήλωση διάρροιας. Οι κατηγορίες αυτών των παθογόνων στελεχών *E.coli* είναι οι εξής: Εντερο-παθογόνα (Enteropathogenic-EPEC), Εντερο-τοξινογόνα (Enterotoxigenic-ETEC), Εντερο-διδεισδυτικά (Enteroinvasive-EIEC), Shiga-τοξινογόνα, Βέρο-τοξινογόνα (Shiga toxin/verotoxin- STEC/VTEC) και Εντερο-συσσωρευτικά (Enterocoagulative-EAEC).

1.6.2.2.2. Ταξινόμηση

Για την ταυτοποίηση των στελεχών, είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός του ορότυπου. Έχουν αναγνωριστεί περίπου 170 διαφορετικά σωματικά αντιγόνα στο κυτταρικό τοίχωμα (O), περίπου 50 βλεφαριδικά αντιγόνα (H) και πάνω από 70 αντιγόνα κάψας (K).

1.6.2.2.3. Κλινικές εκδηλώσεις

Ο χρόνος που χρειάζεται για την επώαση της ασθένειας είναι 3-9 ημέρες. Η διάρκεια των συμπτωμάτων είναι 2-9 ημέρες. Τα συμπτώματα ξεκινούν με υδαρή διάρροια, η οποία καταλήγει σε αιμορραγική κολίτιδα (έντονος κοιλιακός πόνος, αιμορραγική διάρροια, εμετός, απουσία πυρετού). Σε ποσοστό 5-10 % των ασθενών εκδηλώνεται θρόμβωση σε μικρά αγγεία που μπορεί να καταλήξει σε αιμολυτικό-ουραιμικό σύνδρομο. Το σύνδρομο αυτό καταλήγει σε οξεία θρομβοκυτταροπενία και ιδιαίτερα στα παιδιά σε οξεία νεφρική ανεπάρκεια. Εκτός από τους νεφρούς, μπορεί να επηρεαστούν και άλλα όργανα. Η θνησιμότητα μπορεί να φθάσει στο 3%. Η μολυσματική δόση αναφέρεται σε λιγότερα από 100 κύτταρα του παθογόνου (Montiville & Matthews, 2010).

1.6.2.2.4. Επιδημιολογία

Η *E.coli* O157:H7, προκαλεί κάθε χρόνο στις Η.Π.Α. περίπου 73.500 περιστατικά. Κατά την περίοδο 1982-2002 αναφέρθηκαν από το CDC, 350 επιδημίες σε 49 πολιτείες, με αποτέλεσμα να ασθενήσουν 8.598 άνθρωποι, εκ των οποίων οι 1493

νοσηλεύτηκαν, 354 παιδιά έπαθαν αιμολυτικό – ουραιμικό σύνδρομο και 40 απεβίωσαν (Rangel et al., 2005). Κύρια πηγή λοίμωξης του ανθρώπου αποτελεί η κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων.

1.6.2.2.5.Συσχετισμός με τρόφιμα

Τα τρόφιμα που μεταδίδουν το παθογόνο, διαφέρουν από χώρα σε χώρα και σχετίζονται με τις διατροφολογικές συνήθειες των κατοίκων. Στην Ιαπωνία (Sakai), το υπεύθυνο τρόφιμο για την επιδημία εντεροαιμορραγικής κολίτιδας που οφείλεται στην *E.coli O157:H7*, είναι η φύτρα από άσπρο ραπανάκι. Στις Η.Π.Α. και σε άλλες δυτικές χώρες, η πιο συνηθισμένη πηγή μόλυνσης του ανθρώπου είναι το μοσχαρίσιο κρέας. Τέλος, ανιχνεύεται συχνά σε γαλακτοκομικά προϊόντα, φρούτα, λαχανικά και χυμό μήλου (Pennington, 2010).

1.6.2.2.6.Γρόποι πρόληψης

Το βακτήριο δεν αντέχει σε υψηλές θερμοκρασίες και πεθαίνει όταν ζεσταίνεται στους 70 °C για αρκετό χρονικό διάστημα, ενώ μπορεί να επιβιώσει στο ψυγείο για αρκετές μέρες υπό κάποιες συνθήκες.

1.6.2.3.STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Επιστημονική ταξινόμηση

«Χώρος» (Domain)	Bacteria
Φύλο (Phylum)	Firmicutes
Ομοταξία (Class)	Bacilli
Τάξη (Order)	Bacillales
Οικογένεια (Family)	Staphylococcaceae
Γένος (Genus)	Staphylococcus
Είδος (Species)	<i>St.aureus</i>

Πίνακας 1.3: Επιστημονική ταξινόμηση του βακτηρίου *Staphylococcus aureus*.

1.6.2.3.1.Χαρακτηριστικά

Ο *St.aureus* (Σταφυλόκοκκος ο χρυσίζων) , είναι ένα Gram θετικό-βακτήριο, με κοκκώδες σχήμα, που ανήκει στο γένος *Staphylococcus spp*, και υποδιαιρείται σε 32 είδη και υποείδη. Διατάσσεται σε σταφυλοειδείς σχηματισμούς, σε τετράδες άτακτα, και για αυτό το λόγο στο μικροσκόπιο εμφανίζει συστάδες που μοιάζουν με σταφύλια. Είναι ακίνητος, προαιρετικά αναερόβιος και χωρίς έλυτρο. Δεν σχηματίζει σπόρια και δεν είναι πάντοτε παθογόνος, αλλά μπορεί να βρεθεί και σαν συνηθισμένος. Ο Σταφυλόκοκκος είναι διαδεδομένος στο περιβάλλον. Κύρια πηγή του είναι η επιδερμίδα και η ρινοφαρυγγική κοιλότητα των ανθρώπων και των ζώων. Πολλές φορές επιμολύνει διάφορα τρόφιμα, μέσω των ατόμων που τον χειρίζεται, από το δέρμα των ζώων και από ελλιπή καθαρισμένες επιφάνειες επεξεργασίας τροφίμων. Παράγει

τοξίνες, πρωτεϊνικής φύσης, τις σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες (staphylococcal enterotoxins), που είναι υπεύθυνες για τροφιμογενείς τοξινώσεις (FDA, 2012, Montville & Matthews, 2008) και εξαιτίας αυτών, αποτελεί μια κοινή αιτία τροφικών δηλητηριάσεων.

1.6.2.3.2. Ταξινόμηση

Το είδος *St.aureus*, διαχωρίζεται από τα υπόλοιπα είδη, λόγο της ικανότητάς του να μεταβολίζει ένα σάκχαρο, την μαννιτόλη, και εξαιτίας της δυνατότητας που έχουν τα περισσότερα στελέχη να παράγουν το ένζυμο κουαγκουλάση (coagulase). Μερικά από τα στελέχη του παθογόνου αυτού, μπορούν να παράγουν εντεροτοξίνες (staphylococcal enterotoxins, SEs), κατά το διάστημα ανάπτυξής τους σε τρόφιμα.

1.6.2.3.3. Κλινικές εκδηλώσεις

Οι συνθήκες του τροφίμου (aw, pH, σύσταση) και οι επεξεργασίες του, που είναι ιδανικές για την ελάττωση ή εξαφάνιση του υπεύθυνου για την παραγωγή τοξίνης πληθυσμού *St.aureus*, δεν επιδρούν στις εντεροτοξίνες. Για τον λόγο αυτό, είναι συχνό να συμβεί κρούσμα σταφυλοκοκκικής τροφολοξίνωσης, από τρόφιμο στο οποίο δεν ανιχνεύονται σταφυλόκοκκοι. Τα κύρια συμπτώματα της τροφολοξίνωσης, εμφανίζονται 1-6 ώρες μετά την κατανάλωση του τροφίμου και περιλαμβάνουν εμετό, διάρροια, ναυτία και γαστρικό άλγος. Σε σοβαρά περιστατικά παρατηρούνται μυϊκές συσπάσεις, παροδικές μεταβολές στη πίεση του αίματος και στον καρδιακό ρυθμό και πονοκέφαλος. Ακολουθεί ανάρρωση που διαρκεί από 1 έως και 3 μέρες (Stewart 2003; FDA 2012). Η θνησιμότητα είναι σπάνια (0.03% για το γενικό πληθυσμό). Σε ευαίσθητες ομάδες όπως παιδιά, αναφέρεται υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας (4.4%) (Montville & Matthews, 2008).

Η σταφυλοκοκκική τοξίνωση προκύπτει, από κατανάλωση τροφής η οποία περιέχει προσχηματισμένη εντεροτοξίνη (Argudin et al., 2010). Η εντεροτοξίνη A είναι η πιο κοινή που σχετίζεται με τροφολοξίνωσεις. Επίσης, οι εντεροτοξίνες D, E, H, και σε μικρότερη συχνότητα οι B, G, I, συσχετίζονται με τη τροφολοξίνωση (Pinchuk et al., 2010, Seo & Bohach, 2007). Η παραγόμενη ποσότητα εντεροτοξινών, εξαρτάται από το στέλεχος. Δόσεις εντεροτοξίνης που είναι ικανές να προκαλέσουν τοξίνωση, αντιστοιχούν σε πληθυσμούς 10⁵ – 10⁸ CFU/g του *St.aureus* (Montville & Matthews, 2008, Seo & Bohach, 2007). Ο *St.aureus*, παράγει εντεροτοξίνη σε εύρος θερμοκρασίας 10–48 °C, με βέλτιστο τους 40–45 °C. Όταν η θερμοκρασία μειώνεται, ελαττώνεται και το επίπεδο παραγωγής της εντεροτοξίνης. Η εντεροτοξίνη, μένει σταθερή σε συνθήκες κατάψυξης και είναι ανθεκτική στη θέρμανση. Η παραγωγή της πραγματοποιείται σε εύρος pH 4,5–9,6, με βέλτιστο το 7–8. Η παραγωγή εντεροτοξίνης γίνεται τόσο σε αερόβιες όσο και σε αναερόβιες συνθήκες. Ιδανικές θεωρούνται οι αερόβιες (ICMSF, 1996, Stewart, 2003). Δόση 20–25 μg εντεροτοξίνης B είναι ικανή να προκαλέσει σταφυλοκοκκική λοίμωξη (Raj & Bergdoll 1969). Έχει αναφερθεί πως δόση της τάξης 1.0 μg εντεροτοξίνης προκαλεί τροφολοίμωξη (FDA 2012). Σε ευαίσθητες ομάδες, η κατανάλωση 200 ng εντεροτοξίνης A μπορεί να προκαλέσει νόσο (Asao et al., 2003, Evenson et al., 1988).

1.6.2.3.4. Επιδημιολογία

Η σταφυλοκοκκική τοξίνωση προκύπτει από τη κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν εντεροτοξίνη την οποία παράγει ο *St.aureus*. Τα άτομα που διαχειρίζονται τα τρόφιμα και είναι φορείς εντεροτοξινογόνου *St.aureus* (στη μύτη και στα χέρια τους), αποτελούν τη πηγή μόλυνσης των τροφίμων λόγω της άμεσης επαφής ή μέσω των εκκρίσεων τους (Argudin et al., 2010). Στην Ε.Ε. καταγράφηκαν 0,13 περιστατικά τροφολοξίνωσης, ανά 100.000 πληθυσμού το 2013 (EFSA & ECDC, 2015). Στις Η.Π.Α. ο *St.aureus*, προκάλεσε 0,04 περιστατικά τροφολοξίνωσης ανά 100.000 πληθυσμού το 2010 και 0,03 το 2009 (CDC, 2012). Η τροφολοξίνωση που προκαλείται από τον *St.aureus*, αντιστοιχεί σε ποσοστό 2,6 % των συνολικών τροφολοιμώξεων στις Η.Π.Α. (Scallan et al., 2011). Μια επιδημία από ανθεκτικό στη μεθικιλίνη σταφυλόκοκκο (MRSA) που παράγει εντεροτοξίνη καταγράφηκε το 2002 λόγω κατανάλωσης χοιρινού σε εστιατόριο (Jones et al., 2002).

Ο άνθρωπος αποτελεί τη κύρια πηγή ύπαρξης του *St.aureus* (Montville & Matthews, 2008). Ο συνολικός αριθμός κρουσμάτων του εντεροτοξινογόνου *St.aureus* σε χειριστές τροφίμων ποικίλει, ανάλογα τη χώρα και τη βιομηχανία, από 2 % σε χειριστές τροφίμων στην Ιταλία (n = 545) (Talarico et al., 1997), 12 % σε φροντιστές πτήσεων στη Φινλανδία (n = 136) (Hatakka et al., 2000), 19 % σε εργαζόμενους εστιατορίων στη Χιλή (n = 102) (Figuerola et al., 2002) και 62 % σε εργαζόμενους στην επεξεργασία ιχθύων στην Ινδία (n = 87) (Simon & Sanjeev, 2007). Πηγές ύπαρξης του *St.aureus*, είναι και τα ζώα. Οι μαστοί και οι θηλές των αγελάδων αποτελούν γνωστές πηγές μόλυνσης, που δικαιολογεί την ύπαρξη του βακτηρίου στο μη παστεριωμένο γάλα και στο τυρί. Οι αμυγδαλές και το δέρμα των χοίρων, όπως και το πτέρωμα των πτηνών είναι επίσης πιθανές πηγές επιμόλυνσης από *St.aureus* (Stewart, 2003).

1.6.2.3.5.Συσχετισμός με τρόφιμα

Τα τρόφιμα που συνδέονται με τη σταφυλοκοκκική τροφική δηλητηρίαση, είναι έτοιμα προς κατανάλωση κρέατα, προϊόντα κρέατος, σαλάτες με ζαμπόν, πουλερικά, προϊόντα αυγών, γάλα, γαλακτοκομικά, σάντουιτς, πατάτα, γλυκά κρέμας και τρόφιμα που διατηρούνται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για μεγάλες χρονικές περιόδους (Argudin et al., 2010, FDA, 2012). Δεδομένου ότι ο *St.aureus*, αναπτύσσεται ελάχιστα παρουσία άλλων μικροοργανισμών στα τρόφιμα, πιο σύνηθες είναι να εμφανιστεί σε τρόφιμα που έχουν μαγειρευτεί ή επεξεργαστεί, με ενεργότητα ύδατος (aw) χαμηλότερη από 0,85. Μπορεί να αναπτυχθεί σε τρόφιμα με μειωμένη ενεργότητα ύδατος και αυξημένη ποσότητα άλατος, μέσω της οποίας είναι δυνατόν να εμποδιστεί η ανάπτυξη των περισσότερων παθογόνων μικροοργανισμών. Σε αντίθεση με τα αλλοιογόνα βακτήρια, τα παθογόνα απαιτούν συνήθως χαμηλό πληθυσμό για να προκαλέσουν τροφολοίμωξη, υπογραμμίζοντας την αναγκαιότητα για καλές πρακτικές υγιεινής κατά τη διάρκεια χειρισμού των τροφίμων (Bell & Kyriades, 2002, Kathariou, 2002, Nataro & Kaper, 1998, Pui et al., 2011).

Η σταφυλοκοκκική δηλητηρίαση, είναι μία εποχιακή νόσος, η οποία αυξάνεται το καλοκαίρι εξαιτίας της αυξημένης θερμοκρασίας και της ακατάλληλης αποθήκευσης των τροφίμων (Montville & Matthews, 2008). Συμπερασματικά, τα προαναφερθέντα βακτήρια που σχετίζονται με τροφιμογενείς λοιμώξεις και τοξινώσεις, βρίσκονται σε βιοτικές ή αβιοτικές επιφάνειες, με πηγή δεξαμενής τον άνθρωπο ή τα ζώα.

1.6.2.3.6.Συνθήκες ανάπτυξης και προληπτικά μέτρα

Η ανάπτυξη και η επιβίωση του *St.aureus* εξαρτάται από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως είναι η θερμοκρασία, η ενεργότητα νερού (aw), το pH, η παρουσία οξυγόνου και η σύσταση του τροφίμου. Τα όρια ανάπτυξης του *St.aureus* διαφέρουν ανάλογα με το στέλεχος *St.aureus* (Stewart 2003). Η θερμοκρασία στην οποία αναπτύσσεται κυμαίνεται από 7–48 °C, με βέλτιστη τους 37 °C. Ο *St.aureus* θανατώνεται με παστερίωση ή μαγείρεμα των τροφών. Η ανάπτυξή του είναι εφικτή σε εύρος pH 4–10, με βέλτιστο 6–7 (ICMSF, 1996, Stewart, 2003). Τα περισσότερα στελέχη του, αναπτύσσονται σε εύρος aw από 0,83 έως >0,99 (FDA, 2012). Ο *St.aureus* είναι προαιρετικά αναερόβιος. Παρόλα αυτά, ο ρυθμός ανάπτυξής του περιορίζεται σε αναερόβιες συνθήκες (Stewart, 2003). Ο *St.aureus* θεωρείται σχετικά θερμοανθεκτικός, όντας ένα μη-σπορογόνο μεσόφιλο βακτήριο, (Stewart,2003).

Ένα σύνηθες προληπτικό μέτρο είναι σε αποθηκευμένα τρόφιμα για περισσότερο από 2 ώρες, να διατηρούνται τα τρόφιμα πάνω από 140 ° C ή κάτω από τους 40 ° F. Για να παραχθεί τοξίνη, σε ικανοποιητική ποσότητα και να προκληθούν συμπτώματα, πρέπει ο αριθμός των σταφυλόκοκκων ανά gr τροφίμου, να είναι μεγαλύτερος από 10⁶ CFU/g. Συνηθέστερα είναι υπαρκτός μικρότερος αριθμός από 10³ CFU/g κυττάρων στα τρόφιμα.

Ο *St.aureus*, δεν αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες ψύξης και αποτελεί αδύναμο ανταγωνιστή της ενδογενούς μικροχλωρίδας των τροφίμων. Ο πιο σύνηθες λόγος ανάπτυξής του, είναι η παραμονή του τροφίμου σε κακή θερμοκρασιακή ζώνη μεταξύ 4,4 έως και 60 βαθμούς Κελσίου, για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι διαδεδομένοι στο περιβάλλον επεξεργασίας τροφίμων. Είναι ικανοί να επιβιώνουν και να αναπτύσσονται κάτω από δυσμενείς συνθήκες περιβάλλοντος, προκαλώντας πολυπλοκότητα στην πρόληψη και στον έλεγχό τους στα τρόφιμα.

1.6.2.3.6.Μέθοδοι ανίχνευσης και επιβεβαίωσης του *Staphylococcus aureus*

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός, ότι η εντεροτοξίνη, είναι πιο σταθερή και ανθεκτική στη θέρμανση από ότι είναι τα κύτταρα του *St.aureus*. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, η παρουσία μικρού αριθμού βακτηριακών κυττάρων, να μην μπορεί να επιβεβαιώσει ότι το τρόφιμο είναι απαλλαγμένο από εντεροτοξίνη. Η καλύτερη επεξήγηση είναι ότι υπήρξε αρχικά μεγάλος πληθυσμός, ο οποίος μπορούσε να παράξει τοξίνη και στη πορεία μετά από επεξεργασία, μειώθηκε ο ανιχνεύσιμος βακτηριακός πληθυσμός, όχι όμως και η βιολογική δραστηριότητα της εντεροτοξίνης. Για τον λόγο αυτό, έχουν αναπτυχθεί ανοσολογικές δοκιμές με τη χρήση των οποίων, γίνεται άμεση ανίχνευση της εντεροτοξίνης ή άλλων μεταβολιτών, όπως η σταφυλοκοκκική θερμονουκλεάση, οι οποίες χρησιμοποιούνται σαν δείκτες εκτίμησης του αρχικού πληθυσμού του *St.aureus* στο τρόφιμο.

Οι τυπικές αποικίες του *St.aureus* σε θρεπτικό υπόστρωμα Baird Parker Agar, σχηματίζουν μαύρες γυαλιστερές αποικίες διαμέτρου 1-5 mm, που περιβάλλονται από διαυγή ζώνη (άλω), πλάτους 2 - 5 mm. Μετά την καλλιέργεια Baird Parker agar + egg

yolk, για επιβεβαίωση των ύποπτων αποικιών γίνονται είτε διάφορες βιοχημικές δοκιμές είτε ανοσολογικό τεστ οροσυγκόλλησης (latex test). Στη δεύτερη περίπτωση η ύποπτη αποικία μεταφέρεται σε έναν αποστειρωμένο χάρτινο δίσκο, ομογενοποιείται με φυσιολογικό ορό, και σε αυτό προστίθεται διάλυμα με αντίσωμα του *St.aureus*, το οποίο όταν ενωθεί με αντιγόνο του *St.aureus* (που υπάρχει σε όλα τα κύτταρα του *St.aureus*) δημιουργεί πήγμα οροσυγκόλλησης και είναι εμφανές εντός 2 λεπτών. Ένας άλλος τρόπος επιβεβαίωσης των ύποπτων αποικιών είναι η καλλιέργεια του *St.aureus* σε Baird-Parker agar στο οποίο αντί για egg yolk προστίθεται Rabbit plasma fibrinogen (RPF supplement). Σε αυτή την περίπτωση, ο προστιθέμενος ορός αίματος, δημιουργεί αποικίες με χαρακτηριστική διάφανη ζώνη, που είναι αποτέλεσμα της δράσης του ενζύμου κοαγκουλάσης, η οποία προκαλεί πήξη του ορού γύρω από τις αποικίες. Η ανάπτυξη σε αυτό το υπόστρωμα δεν απαιτεί επιβεβαιωτικές δοκιμές και προτιμάται σε πολλές περιπτώσεις λόγω της οικονομίας χρόνου.

1.6.2.3.7.Νομοθεσία

Το βακτήριο αυτό, κατατάσσεται στην κατηγορία Μέτριας Επικινδυνότητας Και Σοβαρότητας, με περιορισμένη εξάπλωση. Με βάση τον ορισμό της ICMSF (1986), ως μικροβιολογικός κίνδυνος Μέτριας Επικινδυνότητας Και Σοβαρότητας (moderate hazard), ορίζεται ο κίνδυνος, η παρουσία του οποίου σε ένα τρόφιμο και η κατανάλωση αυτού οδηγούν σε παροδικές και με μη σοβαρά συμπτώματα ασθένειες σε υγιή άτομα. Απαρτίζεται από κινδύνους με εκτεταμένη πιθανότητα εξάπλωσης και από κινδύνους με περιορισμένη εξάπλωση, δηλαδή πρέπει να υπάρχει μεγάλος αριθμός μικροοργανισμών στο μολυσμένο τρόφιμο για να προκληθεί ασθένεια, ενώ ταυτόχρονα η ασθένεια θα περιοριστεί στο άτομο που θα καταναλώσει το συγκεκριμένο τρόφιμο, χωρίς το φόβο εξάπλωσης.

1.7.ΚΡΕΑΣ

Σύμφωνα με το Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, ως «κρέας», χαρακτηρίζονται αυτοτελή σώματα ή τμήματα σωμάτων, θερμόαιμων ζώων ή πτηνών, κατάλληλα προς διατροφή του ανθρώπου και διατιθέμενα στην κατανάλωση ως έχουν, χωρίς καμία επεξεργασία εκτός της ψύξης. Χημικά, αποτελείται από τέσσερα κύρια συστατικά: νερό, πρωτεΐνες, λιπίδια και υδατάνθρακες. Συμπληρωματικά, αποτελείται και από διάφορα δευτερεύοντα συστατικά, όπως: βιταμίνες, ένζυμα, χρωστικές και αρωματικές ουσίες. Το κρέας, είναι ένα τρόφιμο, μεγάλης βιολογικής και οικονομικής σημασίας, καθώς επίσης είναι και ιδιαίτερα ευπαθές και ευάλωτο.

Το εσωτερικό του κρέατος, το οποίο προέρχεται από υγιή ζώα και κατάλληλες συνθήκες σφαγής, είναι σχεδόν στείρο. Η επιφάνειά του όμως, μπορεί να μολυνθεί, ύστερα από χειρισμούς με διάφορους μικροοργανισμούς (βακτήρια, ζύμες, μύκητες) είτε αλλοιογόνους, είτε παθογόνους. Στα βακτήρια με σημασία προς τη δημόσια υγεία, περιλαμβάνονται τα γένη *Salmonella* spp., *St.aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *E.coli*, *Clostridium botulinum*, *Campylobacter*, *Aeromonas hydrophila* και *Listeria monocytogenes*.

Τα πουλερικά είναι το τέταρτο πιο κοινό εμπόρευμα που συνδέεται με την τροφική ασθένεια και το νούμερο ένα εμπόρευμα που σχετίζεται με θανάτους από τροφικές ασθένειες. Μπορεί να προκληθεί τροφική ασθένεια που συνδέεται με το κοτόπουλο μέσω της διασταυρούμενης μόλυνσης από τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση (RTE) ή το περιβάλλον.

Ο ρόλος της μικροβιακής χλωρίδας, είναι θεμελιώδης σημασίας για το κρέας. Τα προϊόντα μικροβιακού μεταβολισμού, προκαλούν οργανοληπτικές μεταβολές και αλλοίωση του κρέατος, με αποτέλεσμα την απόρριψη του προϊόντος. Στο κρέας μετατρέπεται βαθμιαία το άρωμά του, το χρώμα, η υφή και η οσμή του, τα οποία γίνονται αντιληπτά, όταν ο μικροβιακός πληθυσμός έχει φτάσει 10^7 cfu/gr.

1.8.Σκοπός της μελέτης

Η καθημερινή χρήση των κινητών τηλεφώνων, στις ημέρες μας, αποτελεί αναγκαία ρουτίνα. Δυστυχώς όμως ο προβληματισμός για τους μικροοργανισμούς που μεταφέρουν και το τι θα μπορούσαν να προκαλέσουν στην υγεία μας αν έρθουν σε επαφή με τα τρόφιμα που καταναλώνουμε ημερησίως, είναι μικρός. Έρευνες έχουν δείξει ότι οι γνώσεις για το σωστό πλύσιμο χεριών και κινητών, είναι ελλιπής. Ο εξοπλισμός πλύσης και απολύμανσης είναι πολλές φορές ανεπαρκής. Και οι γρήγοροι ρυθμοί ζωής, δεν προσφέρουν στο σύγχρονο άνθρωπο, το χρόνο, για σωστή καθαριότητα. Με τη συγκεκριμένη μελέτη, στόχος, είναι να αποδειχθεί η παρουσία των παθογόνων μικροοργανισμών *Salmonella* spp., *St.aureus* και *E.coli* O157, στα κινητά τηλέφωνα και να παρατηρηθεί, η διασταυρούμενη μόλυνση μεταξύ του *St.aureus* και κομματιών ψημένου κοτόπουλου, ώστε να προκληθεί προβληματισμός και κινητοποίηση για την ανάπτυξη δράσης, σχετικά με τους κανόνες υγιεινής που πρέπει να ακολουθούνται.

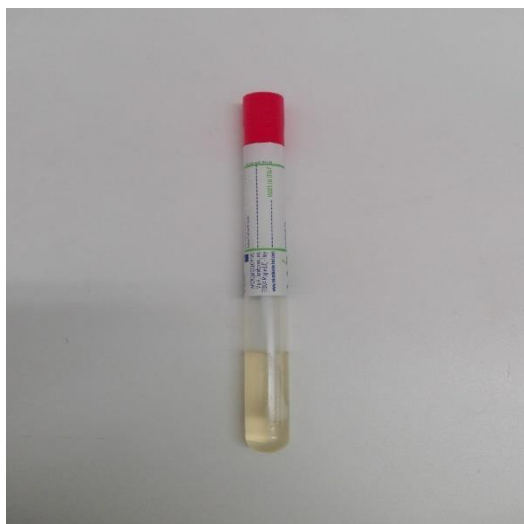
2.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1.Δειγματοληψία

Τα δείγματα ελήφθησαν από κινητά τηλέφωνα, τυχαίων συμμετεχόντων, φοιτητών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, χρησιμοποιώντας αποστειρωμένα βαμβακερά επιχρίσματα. Πριν από τη συλλογή του δείγματος, τα μάκτρα υγράθηκαν σε αποστειρωμένο νερό και περιστράφηκαν πάνω από την μπροστινή οθόνη, την πλάτη των κινητών τηλεφώνων, καθώς και τις παλάμες των ατόμων, με αποτέλεσμα τη προσκόλληση των μικροοργανισμών της κάθε επιφάνειας επάνω τους. Όλα τα επιχρίσματα ενοφθαλμίστηκαν αμέσως σε μέσα μεταφοράς Amies (Amies, Corsham, Wiltshire, U.K) και υποβλήθηκαν σε επεξεργασία εντός 1 ώρας. Τα επιχρίσματα κατόπιν ενοφθαλμίστηκαν σε νέο ζυμό.

Τα δείγματα λαμβάνονταν με τη βοήθεια αποστειρωμένων swabs, της εταιρείας Micro Biotech, και περιείχαν 5 ml από ημι-στερεό μέσο κατάλληλο για συντήρηση των

πληθυσμών που λήφθηκαν, με σκοπό την αποφυγή της μείωσης ή αύξησής τους, μη θρεπτικό ανόργανο ρυθμιστικό διάλυμα, το οποίο περιορίζει την υπερανάπτυξη, και ζελέ που μειώνει τη διάχυση του οξυγόνου (EIKONA 1). Τα swabs είχαν μακρά διάρκεια ζωής και μπορούσαν να αποθηκευτούν σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος. Έτσι ήταν κατάλληλα προς χρήση τόσο για μακρινές όσο και για κοντινές πρακτικές. Συμπερασματικά εξακολουθούσαν να αντιπροσωπεύουν μια ακριβή και αξιόπιστη ένδειξη της κατάστασης των πληθυσμών που λαμβάνονταν προς ανάπτυξη.



EIKONA 1: Αποστειρωμένο swab, της εταιρείας Micro Biotech.

Σε κάθε κινητό, αντιστοιχούσαν 3 swabs. Ένα με το οποίο λαμβανόταν δείγμα από την επιφάνεια του κινητού, ένα με το οποίο λαμβανόταν δείγμα από το πίσω μέρος του ή της θήκης που το κάλυπτε και ένα με το οποίο λαμβανόταν δείγμα από το χέρι του ατόμου στο οποίο ανήκε το κινητό.

Μετά τη λήψη του εκάστοτε δείγματος, τοποθετούνταν στα swabs 5 ml Buffered Peptone Water (BPW) (Biolife Italiana S.r.l.), με στόχο την ανάνηψη καταπονημένων κυττάρων που ενδεχομένως υπήρχαν, ώστε να τους δοθεί η δυνατότητα στο επόμενο στάδιο να αναπτυχθούν και να καλλιεργηθούν (EIKONA 2). Στη συνέχεια ακολουθούσε, διάλυση του περιεχομένου του swab σε συσκευή vortex, και επώαση των δειγμάτων στους 37 °C για 20h (EIKONA 3).

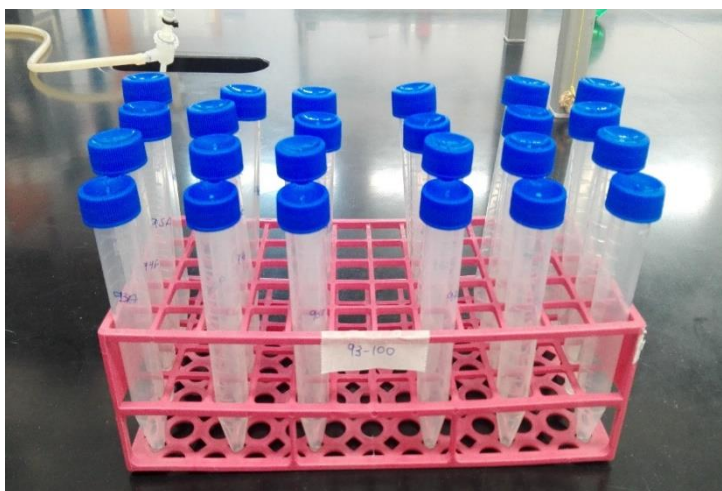


EIKONA 2: Swabs με Buffered Peptone Water (BPW) (Biolife Italiana S.r.I.).



EIKONA 3: Διάλυση του περιεχομένου του swab σε συσκευή vortex.

Με το πέρας της επώασης, γινόταν μεταφορά του δείγματος σε αποστειρωμένα φάλκον (EIKONA 4), και ανάδευση σε συσκευή vortex, ώστε τα πιθανά παθογόνα κύτταρα που ενδεχομένως να είχαν κατακαθίσει, έρχονταν στην επιφάνεια με αποτέλεσμα την λήψη τους.



ΕΙΚΟΝΑ 4: Δείγματα σε αποστειρωμένα φάλκον.

2.2.Απουσία/Παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών

2.2.1.Τεχνική απομόνωσης αποικιών

Η τεχνική της γραμμωτής ράβδωσης μίας αποικίας (Streaking), σε ένα στερεό εκλεκτικό ή μη θρεπτικό υπόστρωμα, γίνεται με σκοπό την απομόνωση βακτηρίων. Αποτελεί μία από της πιο σημαντικές μικροβιολογικές τεχνικές, και χρησιμοποιείται για την απομόνωση μίας μόνο αποικίας. Οι συνεχόμενες διαδικασίες streaking έχουν ως αποτέλεσμα τον καθαρισμό μιας καλλιέργειας (pure culture). Συμπερασματικά η τεχνική αυτή, μπορεί να θεωρηθεί ως μία διαδικασία αραίωσης κυττάρων σε ένα στερεό θρεπτικό υλικό, στοχεύοντας με το πέρας της επώασης, να σχηματιστούν μεμονωμένες και ευκρινείς αποικίες.

2.2.2.Ανίχνευση του παθογόνου μικροοργανισμού *Salmonella* spp. με εμπλουτισμό

Κατά την αναζήτηση σαλμονέλας, μετά τη διαδικασία δειγματοληψίας, λάμβανε χώρα εκλεκτικός εμπλουτισμός με τη χρήση εκλεκτικού υποστρώματος Rappaport-Vassiliadis Soya (RVS) broth (Biolife Italiana S.r.l.), όπου μεταφερόταν από το διάλυμα του δείγματος 0,1 ml σε σωληνάκι με 10ml RVS broth. Στη συνέχεια, γινόταν ανάδευση αυτών και επώαση στους 41,5 °C για 24h. Με το πέρας της επώασης, με χρήση αποστειρωμένου μικροβιολογικού κρίκου, μικρή ποσότητα εναιωρήματος, επιστρωνόταν με τη μέθοδο της διασποράς (streaking), σε εκλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα XLD agar. Τα ενοφθαλμισμένα τρυβλία επωάζονταν στους 37 °C για 24h. Τέλος γινόταν παρατήρηση απουσίας ή παρουσίας των τυπικών αποικιών *Salmonella* spp.

2.2.3.Ανίχνευση του παθογόνου μικροοργανισμού

Staphylococcus aureus

Ομοίως με παραπάνω, ύστερα από τη διαδικασία της δειγματοληψίας, λαμβανόταν μικρή ποσότητα εναιωρήματος με αποστειρωμένο μικροβιολογικό κρίκο, η οποία επιστρωνόταν με τη μέθοδο της διασποράς (streaking) σε εκλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα Baird Parker Agar + egg yolk tellurite emulsion (BPA, Lab M Limited). Τα ενοφθαλισμένα τρυβλία επωάζονταν στους 37 °C για 48h. Τέλος γινόταν παρατήρηση απουσίας ή παρουσίας των τυπικών αποικιών *St.aureus*.

2.2.4.Ανίχνευση του παθογόνου μικροοργανισμού

Escherichia coli O157

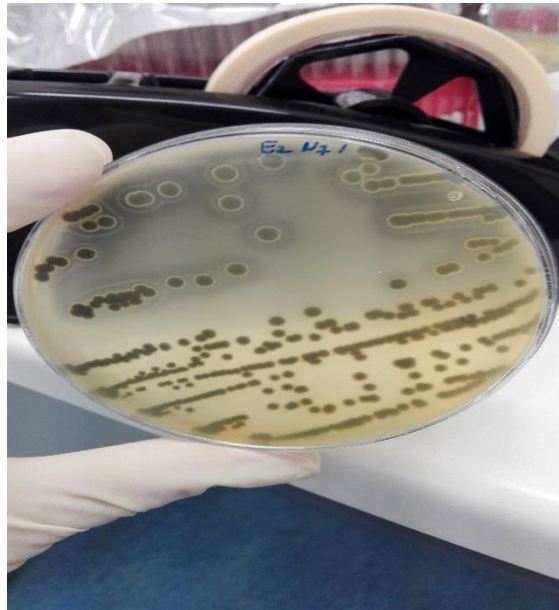
Από το σύνολο των 100 αναλυθέντων δειγμάτων, 71 εξ' αυτών εξετάστηκαν για την παρουσία του παθογόνου *E.coli O157*. Τη διαδικασία δειγματοληψίας, ακολούθησε η δημιουργία ενοφθαλισμένων τρυβλίων Harlequin (TBX, Lab M Limited), λαμβάνοντας μικρή ποσότητα εναιωρήματος με αποστειρωμένο μικροβιολογικό κρίκο και επιστρώνοντάς την με τη μέθοδο της διασποράς (streaking), στο εκλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα. Ακολούθησε επώαση αυτών στους 30 °C για 4h και στη συνέχεια στους 44 °C για 18h. Τέλος γινόταν παρατήρηση απουσίας ή παρουσίας των τυπικών αποικιών *E.coli O157*.

2.2.5. Ταχεία δοκιμή συγκόλλησης ορού σε τυπικές αποικίες

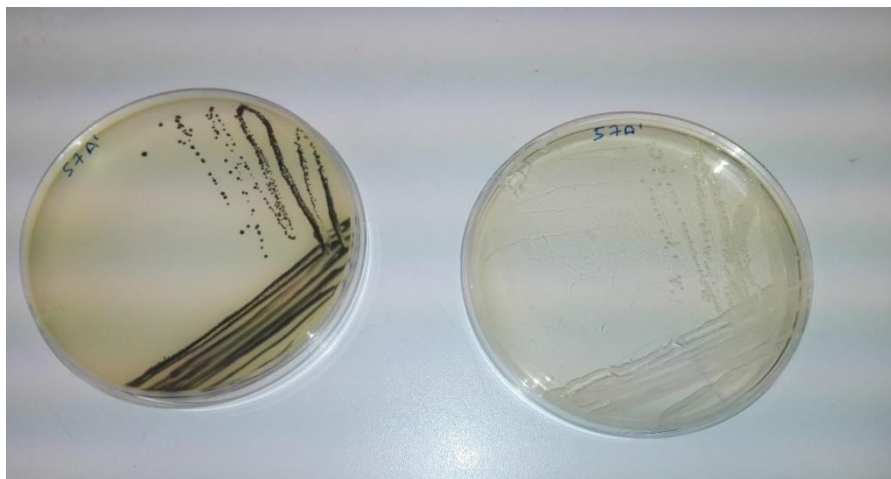
Staphylococcus aureus

Πιθανές αποικίες του παθογόνου *St.aureus*, δηλαδή αποικίες με τυπική εμφάνιση αυτών του παθογόνου (EIKONA 5) επιστρώθηκαν με τη μέθοδο της διασποράς (streaking) σε μη εκλεκτικό υπόστρωμα Tryptone Soya Agar (TSA) (EIKONA 6) και επώαστηκαν για 24 h στους 37 °C. Στη συνέχεια εξετάστηκαν με τη δοκιμή Microscreen Staph (rapid latex test, M43, Microgen Bioproducts Ltd, Camberley, UK) (EIKONA 7). Συγκεκριμένα, λαμβανόταν μεγάλη ποσότητα της κάθε αποικίας που επιλέχθηκε να ελεγχθεί από το εκάστοτε τρυβλίο, με τη βοήθεια αποστειρωμένου πλαστικού ραβδίου, η οποία προστιθόταν μέσα σε μία σταγόνα αραιωτικού μέσου, που ήταν τοποθετημένη σε ειδική θέση δοκιμής, κάνοντας κυκλικές κινήσεις, με σκοπό τη διάλυσή της. Στη πορεία, αναμιγνυόταν το αντιδραστήριο της βιοχημικής δοκιμής, με τη βοήθεια του πλαστικού ραβδίου. Αν η αποικία ήταν θετική στην κοαγκουλάση/πρωτεΐνη A, μετά από δύο λεπτά, δημιουργούνται συσσωματώματα και η αποικία επιβεβαιωνόταν σαν αποικία *St.aureus* (EIKONA 8). Αν η αποικία ήταν αρνητική στην κοαγκουλάση/πρωτεΐνη A, δεν δημιουργούνται ορατά συσσωματώματα, η επιλεγμένη

δοκιμασθείσα αποικία σταμάταγε να θεωρείται πιθανή αποικία του συγκεκριμένου παθογόνου και αποσυρόταν.



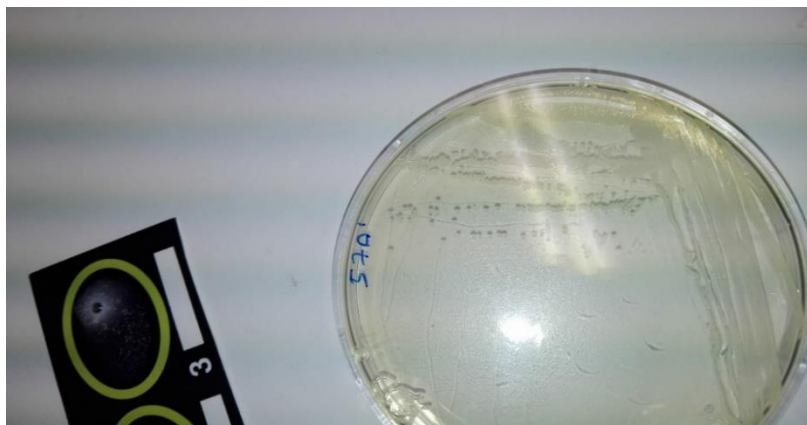
ΕΙΚΟΝΑ 5: Τυπικές αποικίες του παθογόνου *St.aureus*.



ΕΙΚΟΝΑ 6: Τυπική αποικία του παθογόνου *St.aureus*, σε εκλεκτικό υπόστρωμα BPA και μη εκλεκτικό υπόστρωμα TSA.



EIKONA 7: Microgen Staph rapid latex test.



EIKONA 8: Θετική αποικία *St.aureus* στην κοαγκουλάση/ πρωτεΐνη Α, στη δοκιμή Microscreen Staph.

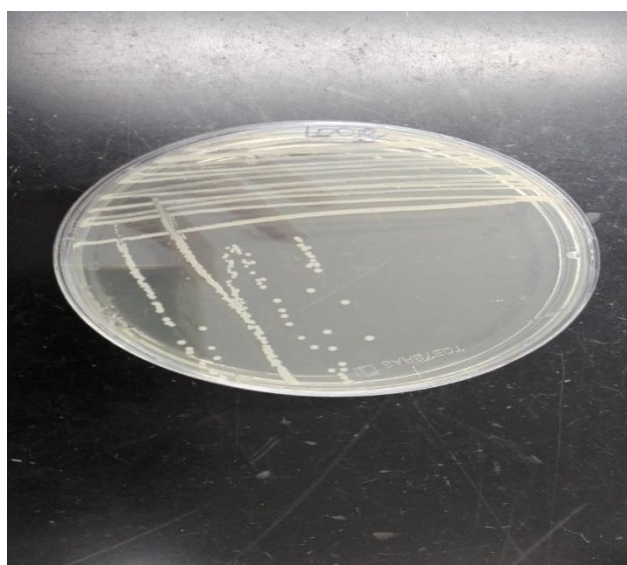
Το φαινόμενο της συσσωμάτωσης, οφείλεται στο περιεχόμενο του αντιδραστηρίου. Τα σωματίδια latex, είναι επικαλυμμένα, με μία υδατοδιαλυτή γλυκοπρωτεΐνη πλάσματος (fibrinogen), που σε αυτήν δεσμεύεται η κοαγκουλάση και με την ανοσογλοβουλίνη-IgG, που ενώνεται με την πρωτεΐνη Α. Όταν ο ορός αυτός, αναμιχθεί με το εναιώρημα του *St.aureus*, συγκολλούνται και δημιουργούν ορατή σχηματιζόμενη συμπαγή μάζα. Το φαινόμενο αυτό, ονομάζεται κροκίδωση. Σε περίπτωση απουσίας κοαγκουλάσης/πρωτεΐνης Α-θετικών σταφυλόκοκκων, το φαινόμενο αυτό δεν παρατηρείται (φαινόμενο μη-κροκίδωσης).

2.2.6. Ταχεία δοκιμή συγκόλλησης ορού σε τυπικές αποικίες *Salmonella* spp.

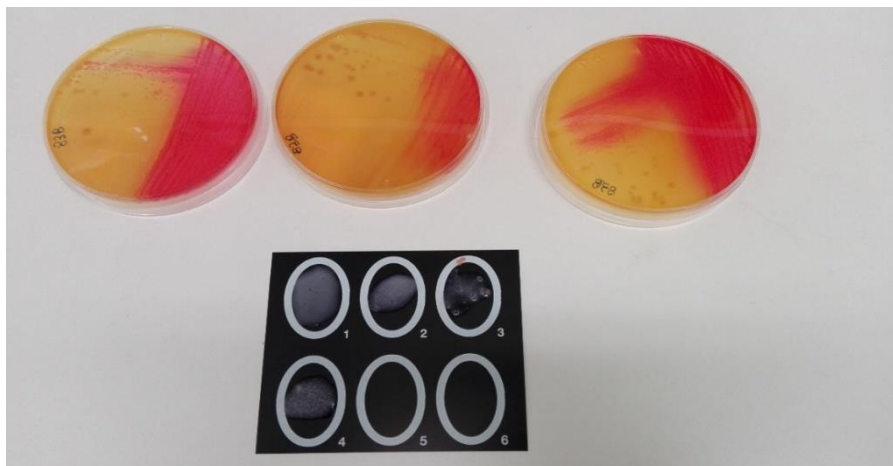
Πιθανές αποικίες του παθογόνου *Salmonella* spp., δηλαδή αποικίες με τυπική εμφάνιση αυτών του παθογόνου (ΕΙΚΟΝΑ 9), επιστρώθηκαν με τη μέθοδο της διασποράς (streaking) σε μη εκλεκτικό υπόστρωμα TSA (ΕΙΚΟΝΑ 10) και επωάστηκαν για 24 h στους 37 °C. Στη συνέχεια εξετάστηκαν με τη δοκιμή Microscreen Salm. (rapid latex test, F42, Microgen Bioproducts Ltd, Camberley, UK). Κατά επανάληψη, λαμβανόταν μεγάλη ποσότητα της κάθε αποικίας που επιλέχθηκε να ελεγχθεί από το εκάστοτε τρυβλίο, με τη βοήθεια αποστειρωμένου πλαστικού ραβδίου, η οποία προστιθόταν μέσα σε μία σταγόνα αραιωτικού μέσου, που ήταν τοποθετημένη σε ειδική θέση δοκιμής, κάνοντας κυκλικές κινήσεις, με σκοπό τη διάλυσή της. Στη πορεία, αναμιγνυόταν το αντιδραστήριο της βιοχημικής δοκιμής, με τη βοήθεια του πλαστικού ραβδίου. Το latex, περιέχει αντι-ορό, εναντίων των αντιγόνων της *Salmonella* spp. Σε περίπτωση που η αποικία ήταν θετική, μετά από δύο λεπτά, δημιουργούνταν κροκίδωση (ΕΙΚΟΝΑ 11). Αν η αποικία ήταν αρνητική, δεν δημιουργούνταν ορατά συσσωματώματα και η επιλεγμένη δοκιμασθείσα αποικία, δε θεωρούνταν πιθανή αποικία του συγκεκριμένου παθογόνου και αποσυρόταν (ΕΙΚΟΝΑ 11).



ΕΙΚΟΝΑ 9: Τυπικές αποικίες του παθογόνου *Salmonella* spp.



ΕΙΚΟΝΑ 10: Τυπική αποικία του παθογόνου *Salmonella* spp., σε μη εκλεκτικό υπόστρωμα TSA.



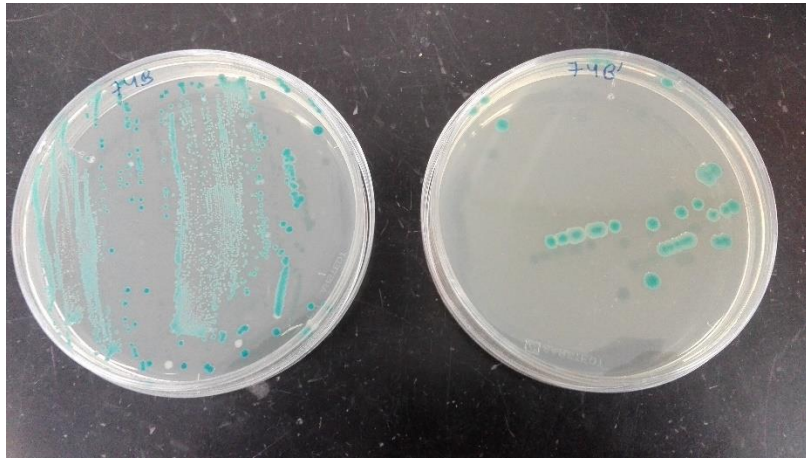
ΕΙΚΟΝΑ 11: Θετική και αρνητική αποικία του παθογόνου *Salmonella* spp., στη δοκιμή Microscreen Salm.

2.2.7. Ταχεία δοκιμή συγκόλλησης ορού σε τυπικές αποικίες *Escherichia coli* O157

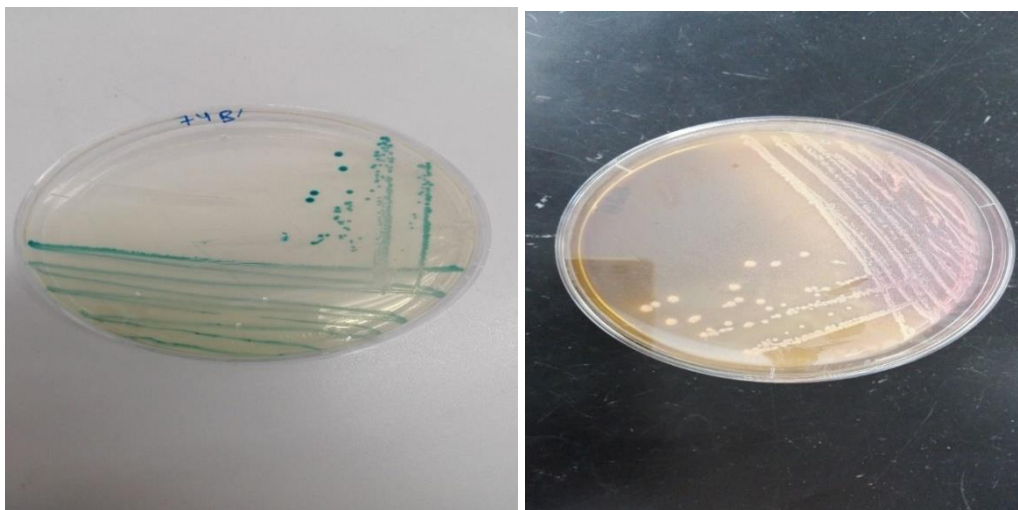
Πιθανές αποικίες του παθογόνου *E.coli* O157, δηλαδή αποικίες με τυπική εμφάνιση αυτών του παθογόνου (ΕΙΚΟΝΑ 12), επιστρώθηκαν με τη μέθοδο της διασποράς (streaking) σε μη εκλεκτικό υπόστρωμα TSA (ΕΙΚΟΝΑ 13) και επώστηκαν για 24 h στους 37 °C. Στη συνέχεια εξετάστηκαν με τη δοκιμή Microscreen *E.coli* O157 (rapid latex test, M44, Microgen Bioproducts Ltd, Camberley, UK) (ΕΙΚΟΝΑ 14). Συγκεκριμένα, λαμβανόταν μεγάλη ποσότητα της κάθε αποικίας που επιλέχθηκε να ελεγχθεί από το εκάστοτε τρυβλίο, με τη βοήθεια αποστειρωμένου πλαστικού ραβδίου, η οποία προστιγόταν μέσα σε μία σταγόνα αραιωτικού μέσου, που ήταν τοποθετημένη σε ειδική θέση δοκιμής, κάνοντας κυκλικές κινήσεις, με σκοπό τη διάλυσή της. Στη πορεία, αναμιγνυόταν το αντιδραστήριο της βιοχημικής δοκιμής, με τη βοήθεια του πλαστικού ραβδίου. Αν η αποικία ήταν θετική, μετά από δύο λεπτά, δημιουργούνταν συσσωματώματα και η αποικία επιβεβαιωνόταν σαν αποικία *E.coli* O157 (ΕΙΚΟΝΑ 15). Αν η αποικία ήταν αρνητική, δεν δημιουργούνταν ορατά συσσωματώματα και η επιλεγμένη δοκιμασθείσα αποικία του συγκεκριμένου παθογόνου αποσυρόταν.

Το φαινόμενο της συσσωμάτωσης, οφείλεται στο περιεχόμενο του αντιδραστηρίου, το οποίο χρησιμοποιεί ειδικό αντίσωμα. Τα σωματίδια latex, είναι επικαλυμμένα, με αντισώματα από κουνέλι έναντι της *E.coli* O157. Όταν ο ορός αυτός, αναμιχθεί με το εναιώρημα του παθογόνου *E.coli* O157, συγκολλούνται και δημιουργούν ορατή

σχηματιζόμενη συμπαγή μάζα, δηλαδή κροκίδωση. Σε περίπτωση απουσίας *E.coli* O157, το φαινόμενο αυτό δεν παρατηρείται.



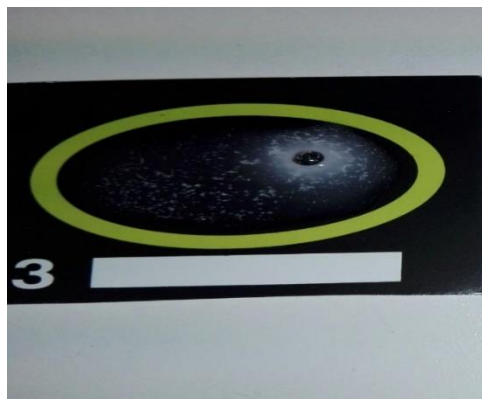
ΕΙΚΟΝΑ 12: Αποικίες με τυπική εμφάνιση αυτών του παθογόνου *E.coli* O157.



ΕΙΚΟΝΑ 13: Τυπική αποικία του παθογόνου *E.coli* O157, σε εκλεκτικό υπόστρωμα TBX και σε μη εκλεκτικό υπόστρωμα TSA.



ΕΙΚΟΝΑ 14: Microgen *E. coli* O157 rapid latex test.



ΕΙΚΟΝΑ 15: Θετική αποικία του παθογόνου *E. coli* O157, στη δοκιμή Microscreen *E. coli* O157.

2.3.Επιμόλυνση κοτόπουλου

2.3.1.Δημιουργία εμβολίων

Στην παρούσα μελέτη, επιλέχθηκαν δειγματοληπτικά, αποικίες του παθογόνου *St. aureus*, και πάρθηκαν από τα τρυβλία ανάπτυξής του. Οι αποικίες αυτές, είχαν επιβεβαιωθεί ως θετικές, νωρίτερα από τη δοκιμή Microscreen Staph. Τα κύτταρα, τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό ζωμό Tryptone Soy Broth (TSB, Lab M Limited) για 24 h στους 37 °C.

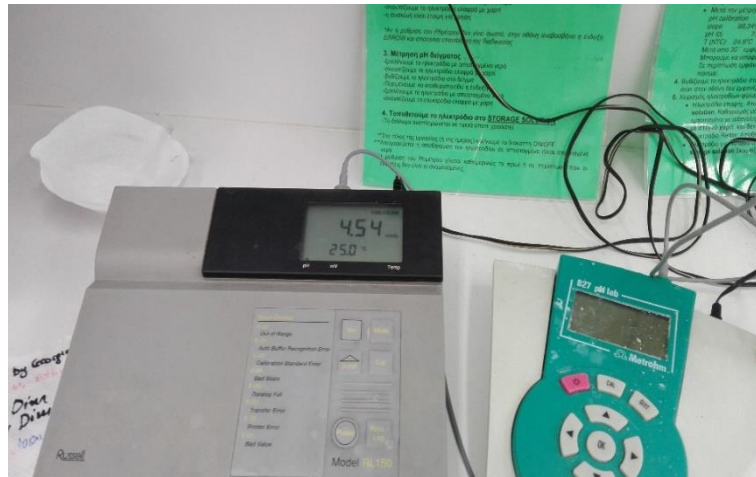
Δημιουργήθηκαν δύο εμβόλια, από δύο χρονικές επαναλήψεις το κάθε ένα, με μεσοδιάστημα 15 ημερών, των οποίων η διαφορά βρισκόταν στη τιμή pH του θρεπτικού ζωμού. Στη πρώτη περίπτωση το pH του TSB παρέμενε στο 7,14. Στη δεύτερη περίπτωση, το pH ρυθμιζόταν σε 4,5. Ο λόγος της διαδικασίας αυτής, ήταν να γίνει έλεγχος της θεωρίας των εμποδίων, σχετικά με το χαμηλό pH. Σε pH 4.5 δεν

μπορεί να αναπτυχθεί ο μικροοργανισμός. Ο *St.aureus* στην αρχή σοκαρίζεται και πολύ μικροοργανισμοί αυτού πεθαίνουν. Όμως όσο περνάει η ώρα συνηθίζουν τις νέες συνθήκες και αρχίζουν να επιβιώνουν. Σκοπός, ήταν να φανεί αν θα παρουσιαζόταν ή όχι παθογόνος *St.aureus* στα αποτελέσματα του επιμολυσμένου επιλεγμένου τροφίμου, το οποίο ήταν κομμάτια κοτόπουλου, και σε πόσα από αυτά διαδοχικά θα μεταφερόταν, συγκριτικά με αυτά του εμβολίου με το pH 7,14. Αν αποκαλυπτόταν *St.aureus* σε λιγότερα κομμάτια από ότι στη πρώτη διαδικασία ή δεν εμφανιζόταν καθόλου, αυτό θα σήμαινε πως η αρχική συγκέντρωσή του, θα είχε επηρεαστεί από το εμπόδιο και θα είχε μειωθεί.

Οι μεμονωμένες αποικίες του *St.aureus*, ενεργοποιούνταν με μεταφορά μέσω αποστειρωμένου μικροβιολογικού κρίκου, από τρυβλία TSA σε σωληνάκια TSB των 9 ml, και επώζονταν στους 37 °C για 24 h. Η δεύτερη ανανέωση, γινόταν με μεταφορά 0,1 ml των καλλιέργειών αυτών, σε νέα σωληνάκια TSB των 9 ml, και επώασή τους στους 37 °C για 18h. Στη συνέχεια, ακολουθούσε η δημιουργία των εμβολίων. Συγκεκριμένα, η καλλιέργεια τοποθετούταν σε σωλήνα φυγοκέντρωσης (falcon) των 50 ml και ακολουθούσε φυγοκέντρωση για 10 min, με 5000 * g, στους 4 °C. Στη πορεία, αφαιρούνταν το υπερκείμενο και τοποθετούνταν στον ίδιο σωλήνα 9 ml Ringer. Ακολουθούσε ανάδευση για 10 min. Στο ίδιο σωληνάκι, αφαιρούνταν για δεύτερη φορά το υπερκείμενο, τοποθετούνταν 9 ml Ringer και γινόταν ανάδευση για 10 min. Τελικά, αφαιρούνταν το υπερκείμενο, τοποθετούνταν 9 ml Ringer, και αυτό αποτελούσε το εμβόλιο με το οποίο γινόταν και ο εμβολιασμός της επιφάνειας του κινητού τηλεφώνου προς επιμόλυνση των κομματιών του κοτόπουλου.

2.3.1.1. Μετατροπή του pH του TSB από 7,14 σε 4,5

Σε 1000 ml κρύου απιονισμένου νερού, διαλύθηκαν 30 gr σκόνης Tryptone Soy Broth (TSB, Lab M Limited). Θερμάνθηκαν μέχρι η σκόνη να διαλυθεί εντελώς. Τοποθετήθηκαν στο πεχάμετρο (EIKONA 16). Ξεπλύθηκε το ηλεκτρόδιο με απεσταγμένο νερό. Σκουπίστηκε ελαφρά με χαρτί. Βυθίστηκε το ηλεκτρόδιο στο δείγμα (EIKONA 17). Σταθεροποιήθηκε η ένδειξη του pH στο 7,14. Τοποθετήθηκαν σταδιακά σταγόνες 6N πυκνού HCL. Όταν η ένδειξη έδειξε pH 4,5, αφαιρέθηκε το ηλεκτρόδιο. Ξεπλύθηκε με απεσταγμένο νερό και σκουπίστηκε ελαφρά με χαρτί. Το δείγμα ισομοιράστηκε σε σωληνάκια των 9ml και αποστειρώθηκε στο αυτόκαυστο στους 121 °C για 15 min.



ΕΙΚΟΝΑ 16: Το πεχάμετρο.



ΕΙΚΟΝΑ 17: Διαδικασία μετατροπής του pH του θρεπτικού ζωμού TSB.

2.3.1.2. Μέτρηση του πληθυσμού των εμβολίων

Οι συγκεντρώσεις των εμβολίων που δημιουργούνται, προσδιορίζονται ύστερα από κατάλληλες δεκαδικές αραιώσεις. Ακολουθούσε επιφανειακή επίστρωση τρυβλίων με γενικό υπόστρωμα TSA, από δύο τεχνικές επαναλήψεις, τα οποία επωάζονταν στους 37 °C για 24h. Στη συνέχεια, γινόταν καταμέτρηση και υπολογισμός με τη βοήθεια του τύπου $N = \frac{C1 + C2}{n1 + (n2/10)} * 1/V * 1/d1$, όπου C1 = το συνολικό άθροισμα των αποικιών στα n1 τρυβλία της αραιώσης, C2= το συνολικό άθροισμα των αποικιών στα n2 τρυβλία της επόμενης αραιώσης, n1, n2= ο αριθμός των επαναλήψεων, V= ο όγκος του δείγματος που επιστρώθηκε στο τρυβλίο και d1= η δεκαδική αραιώση. Στη συγκεκριμένη μελέτη φάνηκε, πως με τη χρήση θρεπτικού ζωμού με pH 7,14 το εμβόλιο που δημιουργήθηκε είχε συγκέντρωση μικροβιακού πληθυσμού 10^9 , ενώ με pH 4,5 το εμβόλιο που δημιουργήθηκε είχε πληθυσμό 10^7 . Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα της επιμόλυνσης του κοτόπουλου δεν έδειξαν να διαφέρουν, πέρα από

την «ένταση» εμφάνιση του παθογόνου *St.aureus*. Συνεπώς, απαιτούνται 2-3 εμπόδια για να ελέγξουμε τους μικροοργανισμούς.

2.3.2. Εμβολιασμός επιφάνειας κινητού τηλεφώνου

Για την πραγματοποίηση του εμβολιασμού, χρησιμοποιήθηκε η συσκευή κινητού τηλεφώνου Galaxy S3 Mini, με διαστάσεις 6,3cm*0,9cm*12,2cm. Στην επιφάνεια του κινητού τοποθετήθηκε προστατευτική μεμβράνη, η οποία αντικαθίσταται ανά πειραματική διαδικασία (ΕΙΚΟΝΑ 18). Από το εμβόλιο, μεταφέρθηκαν 0,1 ml στην επιφάνεια της μεμβράνης και επιστρώθηκαν με αποστειρωμένο μικροβιολογικό τριγωνάκι. Η παραπάνω διαδικασία, πραγματοποιήθηκε τέσσερις φορές, δύο χρονικές επαναλήψεις για κάθε είδος εμβολίου, με μεσοδιάστημα 15 ημερών για κάθε χρονική επανάληψη.



ΕΙΚΟΝΑ 18: Κινητό τηλέφωνο Galaxy S3 Mini, με προστατευτική μεμβράνη.

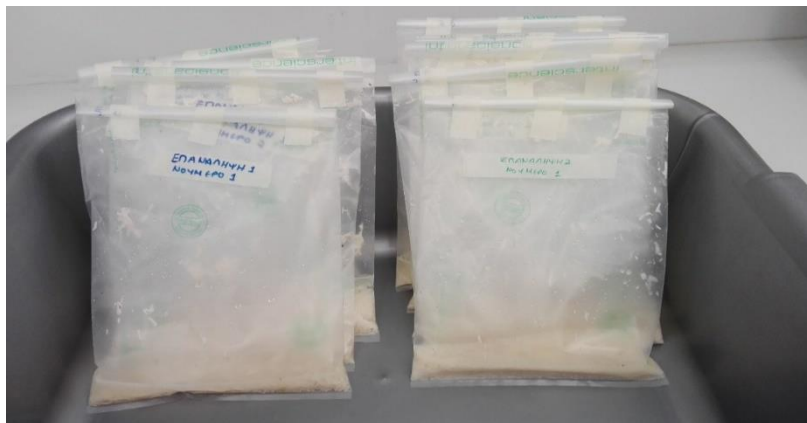
2.3.3. Επιμόλυνση κοτόπουλου

Για τη δημιουργία της διαδικασίας επιμόλυνσης του τρόφιμου, χρησιμοποιήθηκαν 8 κομμάτια ψητού κοτόπουλου, χωρίς αλάτι και λεμόνι, αγορασμένα από την αλυσίδα σουβλατζίδικων Μπαρμπαδήμος (ΕΙΚΟΝΑ 19). Για κάθε επιμόλυνση, ακολούθησαν 2 χρονικές και 2 τεχνικές επαναλήψεις, με μεσοδιάστημα 15 ημερών. Συγκεκριμένα, με τη χρήση ειδικών γαντιών, μεταφερόταν ποσότητα εμβολίου, από την επιφάνεια του εμβολιασμένου κινητού, μέσω του αντίχειρα δακτύλου, σε κάθε κομμάτι κοτόπουλο διαδοχικά, με απλό άγγιγμα. Στη πορεία, κάθε κομμάτι κοτόπουλο τοποθετούταν σε σακούλα Stomacher, με 50 ml εμπλουτιστικό Buffered Peptone Water (BPW), για την ανάνηψη και ανάπτυξη των καταπονημένων κυττάρων. Ύστερα από ομογενοποίηση σε συσκευή Stomacher, η σακούλα, τοποθετούταν σε κλίβανο των 37 °C για 20 h (ΕΙΚΟΝΑ 20). Μετά το πέρας του χρονικού αυτού διαστήματος, λαμβανόταν μικρή

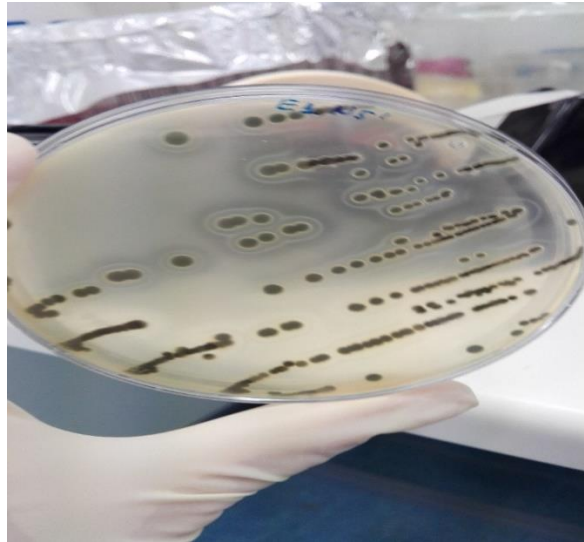
ποσότητα εναιωρήματος, με αποστειρωμένο μικροβιολογικό κρίκο, η οποία επιστρωνόταν με τη μέθοδο της διασποράς (streaking) σε εκλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα Baird Parker Agar + egg yolk tellurite emulsion (BPA, Lab M Limited). Τα ενοφθαλμισμένα τρυβλία επωάζονταν στους 37 °C για 48h. Τέλος γινόταν παρατήρηση απουσίας ή παρουσίας των τυπικών αποικιών του παθογόνου *St.aureus* (ΕΙΚΟΝΑ 21).



ΕΙΚΟΝΑ 19: Κομμάτια ψητού κοτόπουλου, προς επιμόλυνση, δύο τεχνικών επαναλήψεων.



ΕΙΚΟΝΑ 20: Σακούλες Stomacher, με εμπλουτιστικό Buffered Peptone Water και κομμάτια κοτόπουλου, ομογενοποιημένα, προς επώαση.

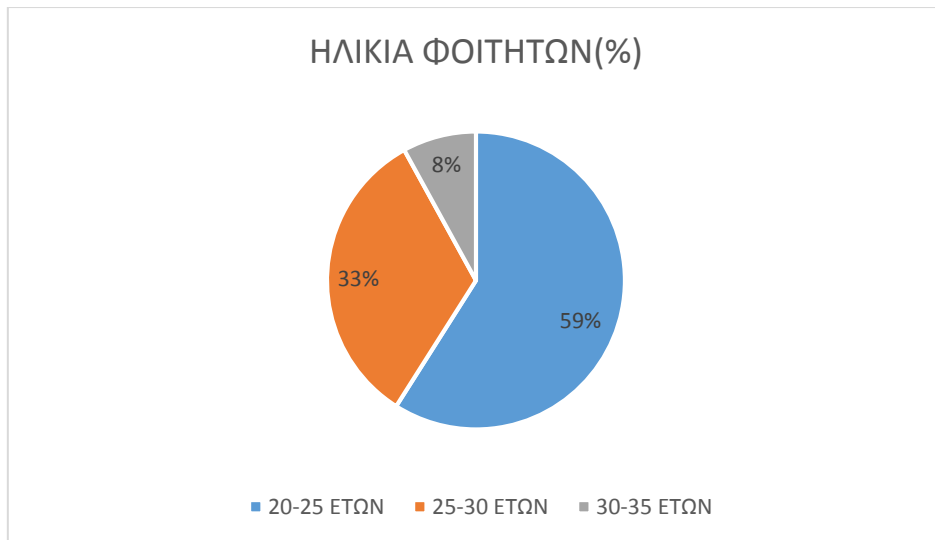


ΕΙΚΟΝΑ 21: Παρουσία των τυπικών αποικιών του παθογόνου *St.aureus*, από την επιμόλυνση του κοτόπουλου.

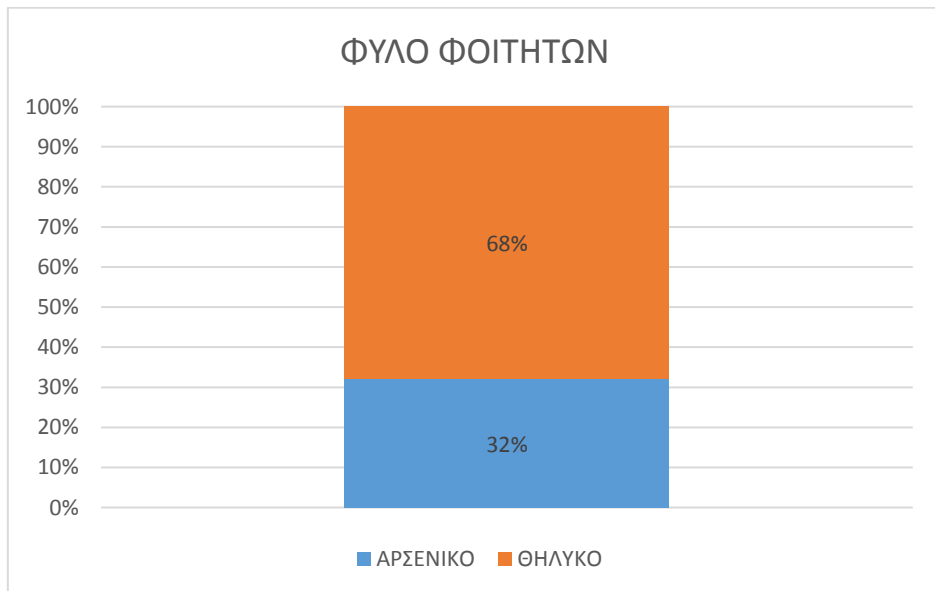
3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1.ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ

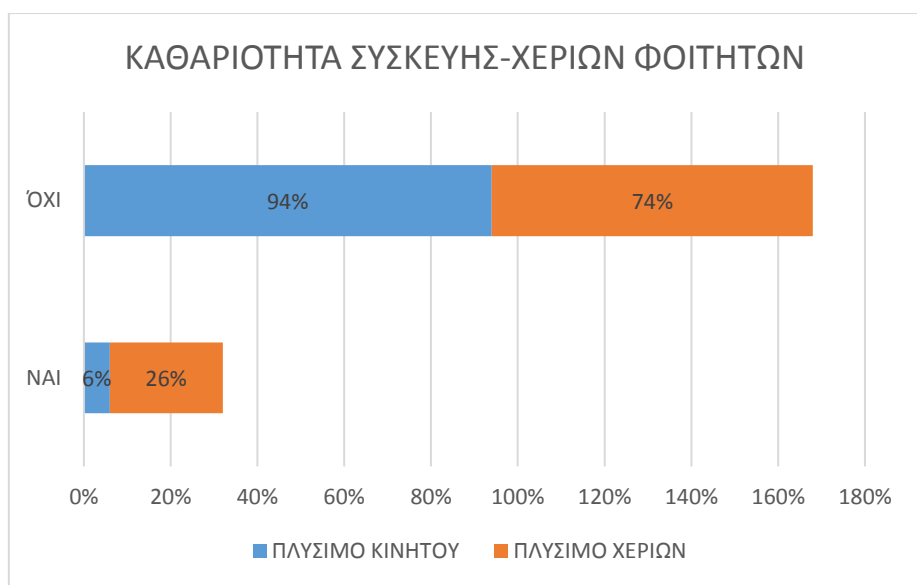
Στην παρούσα μελέτη, πραγματοποιήθηκε ερωτηματολόγιο, το οποίο κλήθηκαν να συμπληρώσουν οι φοιτητές που έλαβαν μέρος στην έρευνα, με σκοπό τη συλλογή δεδομένων. Αυτό περιελάμβανε την ηλικία, το φύλο τους και απαντήσεις σχετικά με το αν καθαρίζουν ή όχι, τα χέρια και τη συσκευή κινητού τηλεφώνου τους. Με βάση τα ληφθέντα αποτελέσματα, το 59% των φοιτητών ανήκαν στην ηλικία των 20-25 ετών, το 33% στην ηλικία των 25-30 ετών και το 8% στην ηλικία των 30-35 ετών (Πίνακας 3.1). Το 68% αυτών ήταν θηλυκού γένους, ενώ το 32% αρσενικού γένους (Πίνακας 3.2). Σχετικά με το πλύσιμο των χεριών, μόνο το 26% ήταν θετικό, ενώ το 74% δεν το είχε ως δραστηριότητα στις καθημερινές του συνήθειες. Τέλος, μόλις το 6% των φοιτητών θεωρούσε απαραίτητη την διαδικασία καθαριότητας της συσκευής του κινητού τηλεφώνου, ενώ το 94% δεν τη πραγματοποιούσε (Πίνακας 3.3).



Πίνακας 3.1: Ηλικία φοιτητών



Πίνακας 3.2: Φύλο φοιτητών



Πίνακας 3.3: Πλύσιμο χεριών και καθαριότητα συσκευής κινητού τηλεφώνου φοιτητών σε καθημερινή βάση

3.2.Ανίχνευση παθογόνων μικροοργανισμών με εμπλουτισμό

3.2.1.Salmonella spp.

Η ανίχνευση του μικροοργανισμού *Salmonella* spp., πραγματοποιήθηκε με εμπλουτισμό, με βάση το ISO 6579: 1993, όπως αναλύθηκε στην προηγούμενη ενότητα. Με βάση τα αποτελέσματα, 17 από τα 100 εξεταζόμενα κινητά και χέρια, σημείωσαν παρουσίαση *Salmonella* spp. Συγκεκριμένα, θετικά βρέθηκαν, 3% χέρια και συσκευές κινητού του ίδιου χρήστη, 5% μόνο χέρια φοιτητών και 9% μόνο συσκευές κινητών (Πίνακας 3.4)

Πίνακας 3.4: Αποτελέσματα εμπλουτισμού για την ανίχνευση του μικροοργανισμού *Salmonella* spp.

Εμπλουτισμός <i>Salmonella</i> spp. [Παρουσία (+) ή Απουσία (-)]			
A/A	ΜΠΡΟΣΤΙΝΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ-ΓΥΑΛΙ	ΠΙΣΩ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ-ΠΛΑΣΤΙΚΟ	ΠΑΛΑΜΗ ΧΕΡΙΟΥ
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-

11	-	-	-
12	-	-	-
13	-	-	-
14	-	-	-
15	-	-	-
16	-	-	-
17	-	-	-
18	-	-	-
19	-	-	-
20	-	-	-
21	-	-	-
22	-	-	-
23	-	-	-
24	-	-	-
25	-	-	-
26	-	-	-
27	-	-	-
28	-	-	-
29	-	-	-
30	-	-	-
31	-	-	-
32	-	-	-
33	-	-	-
34	-	-	-
35	-	-	-
36	-	-	-
37	-	-	-
38	-	-	-
39	-	-	-
40	+	-	-
41	-	-	-
42	-	-	-
43	-	-	-
44	-	-	-
45	-	-	-
46	-	-	-
47	-	-	-
48	-	-	-
49	-	-	-
50	-	-	-
51	-	-	-
52	-	-	-
53	-	-	-
54	-	-	-
55	-	-	-
56	-	-	-
57	-	-	-
58	-	-	-
59	-	-	-
60	-	-	-
61	-	-	-
62	-	-	+
63	-	-	-

64	-	-	-
65	-	-	-
66	-	-	-
67	-	-	-
68	-	-	-
69	-	-	+
70	-	-	+
71	-	-	-
72	-	-	-
73	-	-	-
74	+	+	-
75	-	-	-
76	-	-	+
77	-	-	+
78	-	-	-
79	-	-	-
80	+	-	-
81	-	-	-
82	-	-	-
83	-	+	+
84	+	-	-
85	-	+	-
86	-	-	-
87	-	-	-
88	-	+	-
89	-	-	-
90	+	+	+
91	+	-	-
92	+	+	-
93	-	-	-
94	-	-	-
95	-	+	+
96	-	-	-
97	-	-	-
98	-	-	-
99	-	-	-
100	-	+	-

3.2.2. *Escherichia coli* O157

Η ανίχνευση της *E.coli* O157, πραγματοποιήθηκε με εμπλουτισμό, με βάση το ISO 6579: 1993, όπως αναλύθηκε στην προηγούμενη ενότητα. Με βάση τα αποτελέσματα, σε 14 από τα 71 εξεταζόμενα κινητά και χέρια, σημειώθηκε παρουσίαση του μικροοργανισμού *E.coli*. Συγκεκριμένα, θετικά βρέθηκαν, 3% χέρια και συσκευές κινητού του ίδιου χρήστη, 4% μόνο χέρια φοιτητών και 7% μόνο συσκευές κινητών (Πίνακας 3.5)

Πίνακας 3.5: Αποτελέσματα εμπλουτισμού για την ανίχνευση της *E.coli O157*.

Εμπλουτισμός <i>E.coli O157</i> [Παρουσία (+) ή Απουσία (-)]			
A/A	ΜΠΡΟΣΤΙΝΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ-ΓΥΑΛΙ	ΠΙΣΩ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ- ΠΛΑΣΤΙΚΟ	ΠΑΛΑΜΗ ΧΕΡΙΟΥ
29	-	-	-
30	-	-	-
31	-	-	-
32	-	-	-
33	-	-	-
34	-	-	-
35	-	-	-
36	-	-	-
37	-	-	-
38	-	-	-
39	-	-	-
40	-	-	-
41	-	-	-
42	-	-	-
43	-	-	-
44	-	-	-
45	-	-	-
46	-	-	-
47	-	-	-
48	-	-	-
49	-	-	-
50	-	-	-
51	-	-	-
52	-	-	-
53	-	-	-
54	-	-	-
55	-	-	-
56	-	-	-
57	-	-	-
58	-	-	-
59	-	-	-
60	-	-	-
61	-	-	-
62	-	-	-
63	-	-	-
64	-	-	-
65	-	-	-
66	-	-	-
67	-	-	-
68	-	-	-
69	-	-	-
70	-	-	-
71	-	-	-

72	-	-	-
73	-	-	-
74	+	+	-
75	-	-	-
76	-	-	-
77	-	-	-
78	-	-	-
79	+	-	-
80	-	-	+
81	-	-	-
82	-	-	-
83	-	-	-
84	-	-	-
85	-	-	-
86	-	-	-
87	-	-	-
88	-	-	-
89	-	-	-
90	-	-	-
91	-	-	-
92	-	-	-
93	+	+	+
94	+	-	-
95	-	-	-
96	-	-	+
97	-	+	+
98	+	+	-
99	-	-	+
100	+	+	-

3.2.3. *Staphylococcus aureus*

Η ανίχνευση του μικροοργανισμού *Staphylococcus aureus*, πραγματοποιήθηκε με εμπλουτισμό, με βάση το ISO 6579: 1993, όπως αναλύθηκε στην προηγούμενη ενότητα. Με βάση τα αποτελέσματα, 83 από τα 100 εξεταζόμενα κινητά και χέρια σημείωσαν παρουσίαση του *Staphylococcus aureus*. Συγκεκριμένα, θετικά βρέθηκαν, 34% χέρια και συσκευές κινητού του ίδιου χρήστη, 11% μόνο χέρια φοιτητών και 38% μόνο συσκευές κινητών (Πίνακας 3.6)

Πίνακας 3.6: Αποτελέσματα εμπλουτισμού για την ανίχνευση του *Staphylococcus aureus*.

Εμπλουτισμός <i>Staphylococcus aureus</i> [Παρουσία (+) ή Απουσία (-)]			
A/A	ΜΠΡΟΣΤΙΝΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ-ΓΥΑΛΙ	ΠΙΣΩ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ- ΠΛΑΣΤΙΚΟ	ΠΑΛΑΜΗ ΧΕΡΙΟΥ
1	+	+	+
2	+	+	-

3	-	-	-
4	-	-	+
5	-	-	+
6	-	+	-
7	+	+	+
8	-	-	-
9	-	+	+
10	+	+	+
11	+	-	+
12	-	+	+
13	+	+	+
14	-	+	+
15	+	+	-
16	-	+	+
17	+	+	-
18	+	+	-
19	+	+	+
20	+	+	+
21	-	+	+
22	+	+	+
23	-	+	+
24	-	-	+
25	+	+	+
26	-	+	+
27	+	+	-
28	+	+	+
29	-	+	-
30	+	+	+
31	-	-	-
32	-	-	+
33	+	-	-
34	-	+	-
35	-	+	-
36	-	+	+
37	+	+	+
38	-	+	+
39	-	-	+
40	-	-	-
41	+	+	+
42	-	-	+
43	+	+	-
44	-	+	+
45	-	+	+
46	+	+	-
47	+	+	+
48	+	+	+
49	+	+	+
50	-	-	+
51	-	-	-
52	-	-	-
53	-	-	-
54	+	+	+
55	-	-	-

56	-	-	+
57	+	-	+
58	+	+	+
59	-	-	-
60	-	-	+
61	+	-	-
62	-	-	-
63	+	-	+
64	-	-	-
65	+	-	+
66	-	-	-
67	-	-	-
68	+	-	-
69	-	-	-
70	-	+	-
71	+	+	+
72	-	-	-
73	+	-	+
74	-	-	-
75	+	+	+
76	-	+	+
77	-	+	-
78	+	+	+
79	+	-	-
80	+	+	+
81	+	-	+
82	-	-	-
83	-	-	+
84	+	+	+
85	-	-	+
86	+	+	+
87	-	+	+
88	+	+	+
89	+	-	+
90	-	+	-
91	+	+	+
92	+	-	+
93	-	+	+
94	-	+	-
95	+	-	+
96	+	-	-
97	+	+	+
98	+	+	-
99	-	+	+
100	-	-	+

3.3.Αποτελέσματα οροσυγκολλητικών τεστ

3.3.1.Ταχεία δοκιμή συγκόλλησης ορού σε τυπικές αποικίες *Salmonella* spp.

Σε συνέχεια του εμπλουτισμού για αναζήτηση του παθογόνου μικροοργανισμού *Salmonella* spp., οι απομονώσεις από τις επιφάνειες στις οποίες ανιχνεύθηκε παρουσία τυπικών αποικιών *Salmonella* spp., εξετάστηκαν μέσω επιβεβαιωτικής δοκιμής αντι-ορού - αντιγόνου της *Salmonella* spp. Με βάση τα αποτελέσματα, (Πίνακας 3.7) από τις 17 απομονώσεις κινητών και χεριών που ήταν θετικά στον εμπλουτισμό για την ανίχνευση της *Salmonella* spp., μόνο η απομόνωση που αντιστοιχούσε στην πίσω πλαστική επιφάνεια συσκευής κινητού τηλεφώνου (το 83), είχε θετική αντίδραση, στη συγκεκριμένη βιοχημική δοκιμή, και θα μπορούσε να θεωρηθεί ως απομόνωση του παθογόνου μικροοργανισμού *Salmonella* spp.

Πίνακας 3.7: Αποτελέσματα δοκιμής συγκόλλησης ορού για τις απομονώσεις από επιφάνειες συσκευών κινητού και χεριών, στα οποία ανιχνεύθηκε η παρουσία τυπικών αποικιών *Salmonella* spp.

Δοκιμή αντι-ορού - αντιγόνου της <i>Salmonella</i> spp. [Θετική (+) ή Αρνητική(-)]			
A/A	ΜΠΡΟΣΤΙΝΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ-ΓΥΑΛΙ	ΠΙΣΩ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ- ΠΛΑΣΤΙΚΟ	ΠΑΛΑΜΗ ΧΕΡΙΟΥ
40	-		
62			-
69			-
70			-
74	-	-	
76			-
77			-
80	-		
83		+	-
84	-		
85		-	
88		-	
90	-	-	-
91	-		
92	-	-	
95		-	-
100		-	

3.3.2.Ταχεία δοκιμή συγκόλλησης ορού σε τυπικές αποικίες *Escherichia coli* O157.

Σε συνέχεια του εμπλουτισμού για ανίχνευση της *E.coli* O157, οι απομονώσεις από τις επιφάνειες στις οποίες ανιχνεύθηκε, παρουσία τυπικών αποικιών *E.coli* O157,

εξετάστηκαν μέσω επιβεβαιωτικής δοκιμής με αντισώματα από κουνέλι έναντι της *E.coli O157*. Με βάση τα αποτελέσματα, (Πίνακας 3.8) από τις 14 απομονώσεις κινητών και χεριών που ήταν θετικά στον εμπλουτισμό για την ανίχνευση της *E.coli O157*, μόνο η απομόνωση που αντιστοιχούσε στην επιφάνεια της παλάμης ενός φοιτητή (το 97), είχε θετική αντίδραση, στη συγκεκριμένη βιοχημική δοκιμή, και θα μπορούσε να θεωρηθεί ως απομόνωση του παθογόνου μικροοργανισμού *E.coli O157*.

Πίνακας 3.8: Αποτελέσματα δοκιμής συγκόλλησης ορού για τις απομονώσεις από επιφάνειες συσκευών κινητού και χεριών, στα οποία ανιχνεύθηκε η παρουσία τυπικών αποικιών *E.coli O157*.

Δοκιμή με αντισώματα από κουνέλι έναντι της <i>E.coli O157</i> [Θετική (+) ή Αρνητική(-)]			
A/A	ΜΠΡΟΣΤΙΝΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ-ΓΥΑΛΙ	ΠΙΣΩ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ- ΠΛΑΣΤΙΚΟ	ΠΑΛΑΜΗ ΧΕΡΙΟΥ
74	-	-	
79	-		
80			-
93	-	-	-
94	-		
96			-
97		-	+
98	-	-	
99			-
100	-	-	

3.3.3.Ταχεία δοκιμή συγκόλλησης ορού σε τυπικές αποικίες *Staphylococcus aureus*.

Σε συνέχεια του εμπλουτισμού για ανίχνευση του *St.aureus*., οι απομονώσεις από τις επιφάνειες στις οποίες ανιχνεύθηκε, παρουσία τυπικών αποικιών *St.aureus*, εξετάστηκαν μέσω επιβεβαιωτικής δοκιμής πηκτάσης - πρωτεΐνης Α. Με βάση τα αποτελέσματα, (Πίνακας 3.9) από τις 83 απομονώσεις κινητών και χεριών που ήταν θετικά στον εμπλουτισμό για την ανίχνευση του *St.aureus*, μόνο οι απομονώσεις που αντιστοιχούσαν σε 5 επιφάνειες, δύο γυάλινες επιφάνειες συσκευών κινητού (το 57 και το 71), μία πλαστική επιφάνεια συσκευής κινητού (το 6) και δύο επιφάνειες παλάμης χεριών φοιτητών (το 21 και το 28), είχαν θετική αντίδραση, στη συγκεκριμένη βιοχημική δοκιμή, και θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως απομονώσεις του παθογόνου μικροοργανισμού *St.aureus*.

Πίνακας 3.9: Αποτελέσματα δοκιμής συγκόλλησης ορού για τις απομονώσεις από επιφάνειες συσκευών κινητού και χεριών, στα οποία ανιχνεύθηκε η παρουσία τυπικών αποικιών *St.aureus*.

Δοκιμή πηκτάσης - πρωτεΐνης Α [Θετική (+) ή Αρνητική(-)]			
A/A	ΜΠΡΟΣΤΙΝΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ-ΓΥΑΛΙ	ΠΙΣΩ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ- ΠΛΑΣΤΙΚΟ	ΠΑΛΑΜΗ ΧΕΡΙΟΥ
1	-	-	-
2	-	-	-
4			-
5			-
6		+	
7	-	-	-
9		-	-
10	-	-	-
11	-		-
12		-	-
13	-	-	-
14		-	-
15	-	-	
16		-	-
17	-	-	
18	-	-	
19	-	-	-
20	-	-	-
21		-	+
22	-	-	-
23		-	-
24			-
25	-	-	-
26		-	-
27	-	-	
28	-	-	+
29		-	
30	-	-	-
32			-
33	-		
34		-	
35		-	
36		-	-
37	-	-	-
38		-	-
39			-
41	-	-	-
42			-
43	-	-	
44		-	-
45		-	-
46	-	-	

47	-	-	-
48	-	-	-
49	-	-	-
50			-
54	-	-	-
55			
56			-
57	+		-
58	-	-	-
60			-
61	-		
63	-		-
65	-		-
68	-		
70		-	
71	+	-	-
72			
73	-		-
75	-	-	-
76		-	-
77		-	
78	-	-	-
79	-		
80	-	-	-
81	-		-
83			-
84	-	-	-
85			-
86	-	-	-
87		-	-
88	-	-	-
89	-		-
90		-	
91	-	-	-
92	-		-
93		-	-
94		-	
95	-		-
96	-		
97	-	-	-
98	-	-	
99		-	-
100			-

3.4.Επιμόλυνση κύβων κοτόπουλου

Ύστερα από την επιλογή, μέσω της δοκιμής Microscreen Staph, θετικών αποικιών του παθογόνου *St.aureus*, και τη δημιουργία δύο εμβολίων, των οποίων η διαφορά βρισκόταν στη τιμή pH του θρεπτικού ζωμού (7 και 4,5), χρησιμοποιήθηκαν 8 κομμάτια ψητού κοτόπουλου, χωρίς αλάτι και λεμόνι, αγορασμένα από την αλυσίδα σουβλατζίδικων Μπαρμπαδήμος, με σκοπό την επιμόλυνσή τους, διαδοχικά, από δύο

χρονικές και τεχνικές επαναλήψεις το κάθε ένα, με μεσοδιάστημα 15 ημερών. Τα ληφθέντα αποτελέσματα υπέδειξαν, ότι η διαφοροποίηση του pH ως εμπόδιο στην ανάπτυξη του παθογόνου *St.aureus* δεν ήταν επαρκής, διότι τα αποτελέσματα της επιμόλυνσης του κοτόπουλου για pH 7 (Πίνακας 3.10) και pH 4,5 (Πίνακας 3.11), δεν διέφεραν μεταξύ τους, πέρα από την «ένταση» εμφάνισης του παθογόνου, που ήταν μειούμενη σε αυτά που αντιστοιχούσαν στο εμβόλιο με pH 4,5. Συμπερασματικά, επιβεβαιώθηκε ότι απαιτούνται 2-3 εμπόδια για να ελέγξουμε τους μικροοργανισμούς.

Πίνακας 3.10: Αποτελέσματα επιμολυσμένων κομματιών κοτόπουλου, από εμβόλιο με pH 7, ως προς το παθογόνο μικροοργανισμό *St.aureus*.

Εμβόλιο με pH 7 - <i>St.aureus</i> [Παρουσία (+) ή Απουσία (-)]				
A/A	1 ^η χρονική επανάληψη		2 ^η χρονική επανάληψη	
	1 ^η τεχνική επανάληψη	2 ^η τεχνική επανάληψη	1 ^η τεχνική επανάληψη	2 ^η τεχνική επανάληψη
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	+	+
7	+	+	+	+
8	+	+	+	+

Πίνακας 3.11: Αποτελέσματα επιμολυσμένων κομματιών κοτόπουλου, από εμβόλιο με pH 4,5, ως προς το παθογόνο μικροοργανισμό *St.aureus*.

Εμβόλιο με pH 4,5 - <i>St.aureus</i> [Παρουσία (+) ή Απουσία (-)]				
A/A	1 ^η χρονική επανάληψη		2 ^η χρονική επανάληψη	
	1 ^η τεχνική επανάληψη	2 ^η τεχνική επανάληψη	1 ^η τεχνική επανάληψη	2 ^η τεχνική επανάληψη
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	+	+
7	+	+	+	+
8	+	+	+	+

Το ανεπαρκές μαγείρεμα, η μη κατάλληλη αποθήκευση, η ελλιπής προσωπική υγιεινή και η διασταυρούμενη επιμόλυνση, αποτελούν κύριους παράγοντες για την ασφάλεια των τροφίμων (Medeiros, 2001). Είναι ωστόσο σε μεγάλο βαθμό άγνωστο πως αυτοί οι παράγοντες επηρεάζουν το τελικό επίπεδο των βακτηρίων τη στιγμή της κατανάλωσης του τροφίμου.

Με βάση τη βιβλιογραφία, ο Shadi Zakai και οι συνεργάτες του, σε έρευνα που κάνανε σχετικά με τη βακτηριακή μόλυνση κινητών τηλεφώνων σπουδαστών ιατρικής στο

πανεπιστήμιο King Abdulaziz, στην Σαουδική Αραβία, προσδιόρισαν, δεκαεπτά (16,2%) κινητά τηλέφωνα που βρέθηκαν να φιλοξενούν *St.aureus*. Τα ευρήματά τους, έδειξαν, ότι οι συσκευές κινητών τηλεφώνων, μπορούν να λειτουργήσουν ως δεξαμενές παθογόνων και μη παθογόνων οργανισμών. Στη μελέτη του Amin Dorost και των συνεργατών του, σχετικά με τα στοιχεία της μικροβιακής μόλυνσης του πληκτρολογίου και της οθόνης αφής των κινητών τηλεφώνων μεταξύ νοσοκομειακού και μη νοσοκομειακού προσωπικού, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το ποσοστό της βακτηριακής μόλυνσης στα δοκιμασμένα κινητά τηλέφωνα ήταν 96,2%, από τα οποία, τα πλέον άφθονα στελέχη ήταν αρνητικοί σε κοαγκουλάση σταφυλόκοκκοι, που αντιπροσώπευαν μεγαλύτερο ποσοστό του 68% των συνολικών δειγμάτων. Τα δύο τρίτα των κινητών τηλεφώνων που εξετάστηκαν στη μελέτη αυτή, δεν είχαν απολυμανθεί ποτέ. Τέλος, σε έρευνα που έγινε σε περιβάλλον υγειονομικής περίθαλψης στην Αλεξάνδρεια της Αιγύπτου, σχετικά με τη μικροβιακή μόλυνση κινητών τηλεφώνων από τους Heba Sayed Selim και Amani Farouk Abaza, τα ληφθέντα αποτελέσματα έδειξαν, πως το 100% των κινητών τηλεφώνων που δοκιμάστηκαν μολύνθηκαν με απλούς ή μικτούς βακτηριακούς παράγοντες. Οι πιο διαδεδομένες βακτηριακές μολυσματικές ουσίες ήταν ανθεκτικοί στη μεθικιλίνη *St.aureus* και αρνητικοί στη κοαγκουλάση σταφυλόκοκκοι που αντιπροσώπευαν το 53% και το 50%, αντίστοιχα.

4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα κινητά τηλέφωνα χρησιμοποιούνται συνήθως σχεδόν παντού, στην κοινότητα και στα περιβάλλοντα υγειονομικής περίθαλψης. Όλα τα βιβλιογραφικά ευρήματα όμως, δείχνουν ότι αυτά τα τηλέφωνα, μπορούν να λειτουργήσουν ως μέσα μεταφοράς τόσο για τους παθογόνους όσο και για τους μη παθογόνους οργανισμούς.

Τα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας, επιβεβαίωσαν, την παρουσία των μικροοργανισμών *Staphylococcus*, *E.coli* και *Salmonella*, σε ποσοστό 83%, 14% και 17%, αντίστοιχα, του εύρους των ληφθέντων δειγμάτων, καθώς και των παθογόνων μικροοργανισμών *St.aureus*, *E.coli* O157 και *Salmonella* spp., σε ποσοστό 5%, 1% και 1%, αντίστοιχα. Ακόμα, απέδειξαν τη μεταφορά ενός παθογόνου μικροοργανισμού από μια επιφάνεια προς ένα τρόφιμο, μέσω χεριών. Συγκεκριμένα ο *St.aureus*, είχε τη δυνατότητα να επιμολύνει και τους 8 κύβους κοτόπουλου διαδοχικά, με μόνη διαφορά την «ένταση» εμφάνισής του, σε αυτούς που μολύνθηκαν από εμβόλιο του οποίου το pH, ήταν ρυθμισμένο από 7 σε 4,5, γεγονός που αποδεικνύει πως το εμπόδιο επηρέασε το αποτέλεσμα αλλά δεν το διαφοροποίησε. Συνεπώς χρειάζονται 2-3 εμπόδια, σε συνεργατική δράση, για την αντιμετώπιση ενός παθογόνου μικροοργανισμού. Οι παραπάνω αναφορές, είναι ανησυχητικές, διότι σε ευνοϊκές συνθήκες, ο *St.aureus*, μπορεί να αναπτυχθεί και να παράγει εντεροτοξίνη, η οποία είναι θερμοανθεκτική, προκαλώντας τροφολοξίνωση, που μπορεί να προκαλέσει κακές επιπτώσεις στην υγεία των ανθρώπων και ιδιαίτερα αυτών που ανήκουν στις ευαίσθητες ομάδες. Η χρήση κινητών τηλεφώνων ενέχει τον κίνδυνο μετάδοσης ποικιλίας βακτηριακών

παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων παθογόνων που είναι ανθεκτικοί σε πολλαπλά φάρμακα, όπως ο *St.aureus* στη μεθικιλίνη.

Συμπερασματικά, θα ήταν σωστό να συνεχιστούν οι έρευνες, με στόχο να εξεταστεί η ικανότητα των παθογόνων να επιβιώνουν στην επιφάνεια των κινητών τηλεφώνων, ο χρόνος επιβίωσης και ο κίνδυνος μετάδοσης αυτών των παθογόνων. Ταυτόχρονα, προτείνεται να προσφέρονται σε πρώιμα στάδια στα πανεπιστήμια, προγράμματα κατάρτισης, σχετικά με τις οδηγίες που αφορούν, τον περιορισμό της χρήσης κινητών τηλεφώνων σε διάφορα περιβάλλοντα και ιδιαίτερα κλινικά και την αύξηση της ευαισθητοποίησης σχετικά με την υγιεινή των χεριών και την συχνή απολύμανση των κινητών συσκευών για τη μείωση του κινδύνου διασταυρούμενης μόλυνσης. Μια από τις πιο συνιστώμενες μεθόδους απολύμανσης είναι ο καθαρισμός του κινητού τηλεφώνου με 70% αλκοόλ, που έδειξε σε διάφορες μελέτες, σημαντική μείωση στον αριθμό των βακτηριακών μολυσματικών παραγόντων. Επιπλέον, απαιτούνται περισσότερες μελέτες για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των παραπάνω στρατηγικών στη μείωση της βακτηριακής μόλυνσης και τον περιορισμό της μετάδοσης της μόλυνσης που προκαλείται από τη χρήση κινητών τηλεφώνων. Οι συνεχείς οπτικές υπενθυμίσεις, όπως τα φυλλάδια και οι αφίσες, σχετικά με τους περιορισμούς των κυττάρων και την υγιεινή των χεριών, μπορούν να συμπεριληφθούν στις καλές πρακτικές ελέγχου των λοιμώξεων. Παρόλο που η υγιεινή των χεριών είναι ένα από τα πιο βασικά μέτρα ελέγχου των λοιμώξεων, πολλοί συγγραφείς συνιστούν έντονα να επικεντρωθούν σε αυτό το ζήτημα, παρέχοντας περισσότερα στοιχεία σχετικά με τη σημασία της σε αυτό το πλαίσιο.

Εν κατακλείδι, τα ευρήματα αυτής της μελέτης, θα μπορούσαν να αποτελέσουν την βάση για περαιτέρω έρευνα, εφόσον υπάρχουν ακόμα πολλές ανεξερεύνητες πτυχές που χρήζουν έρευνας και αποσαφήνισης, μιας και η μόλυνση των τροφίμων, μέσω χεριών από κινητά τηλέφωνα επιμολυσμένα με διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς, που μπορούν να προκαλέσουν μέσω της κατανάλωσής τους, πρόβλημα στην υγεία του ανθρώπου, είναι ένα παγκόσμιο πρόβλημα και χρήζει μεγίστης προσοχής.

5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

5.1.ΕΛΛΗΝΙΚΗ

Νυχάς Γ-Ι: Εργαστηριακές σημειώσεις του μαθήματος « Μικροβιολογία Τροφίμων», Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Νυχάς Γ-Ι: Εργαστηριακές σημειώσεις των μαθημάτων «Ποσοτική Μικροβιολογία Τροφίμων» και «Μικροβιολογία Τροφίμων ΙΙ», Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Νυχάς Γ-Ι: Σημειώσεις στη Μικροβιολογία Τροφίμων Ι, Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

5.2.ΞΕΝΗ

Anonymous (1994). Foodborne Pathogens. Council for Agricultural Science and Technology. Task force report 122:11–12. Ames, IA.

Argudin, M. A., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010). Food poisoning *and Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2:1751–1773.

Asao, T., Kumeda, Y., Kawai, T., Shibata, T., Oda, H., Haruki, K., Nakazawa, H., Kozaki, & S. (2003). An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: Estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiology and Infection*, 130:33–40.

Bacteriological analytical manual, FDA AOAC, Gaithersburg, MD, 1995 <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>

Bell, C., & Kyriakides, A. (2002). *Salmonella* In Foodborne pathogens. Hazards, risk analysis and control. Ed. Blackburn C. & McClure P., Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.

Bloomfield, S. F., & Scott, E. (1997). Cross-contamination and infection in the domestic environment and the role of chemical disinfectants. *Journal of Applied Microbiology*, 83:1–9.

Brady R, Hunt C, Visvanathan A, Rodrigues M, Graham C, Rae C, Kalima P, Paterson H, Gibb A: Mobile phone technology and hospitalized patients: a cross-sectional surveillance study of bacterial colonization, and patient opinions and behaviours. *ClinMicrob Infect* 2011(17):830-835.

Brady R, Verran J, Damani N, Gibb A: Review of mobile communication devices as potential reservoirs of nosocomial pathogens. *J Hosp Infect* 2009, 71(4):295-300.

Brown L-G, Khargonekar S, Bushnell L : Frequency of Inadequate Chicken Cross-Contamination, Prevention and Cooking Practices in Restaurants. *Journal of Food Protection*, 76:12:2141–2145.

Centers for Disease Control and Prevention. CDC (2002). Outbreak of *Salmonella* Javiana Infections. [http: www.cdc.gov](http://www.cdc.gov). Accessed on April, 2016.

Centers for Disease Control and Prevention. CDC (2012). Summary of notifiable diseases - United States, 2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 59:1–111.

Chen, Y., Jackson, K. M., Chea, F. P., & Schaffner, D. W. (2001). Quantification and variability analysis of bacterial cross-contamination rates in common food service tasks. *Journal of Food Protection*, 64:72-80.

Cliver, D. O. (2006) Cutting boards in *Salmonella* cross-contamination. *J. AOAC Intl.* 89:538-542.

Cogan, T. A., Slader, J., Bloomfield, S. F., & Humphrey, T. J. (2002) Achieving hygiene in the domestic kitchen: The effectiveness of commonly used cleaning procedures. *Journal of Applied Microbiology*, 92:885-892.

Cogan, T., Bloomfield, S. F. & Humphrey, T. J. (1999) The effectiveness of hygiene procedures for prevention of cross-contamination from chicken carcasses in the domestic kitchen. *Letters in Applied Microbiology*, 29:354-358.

Cummings, K., E. Barrett, J.C. Mohle-Boetani, J.T. Brooks, J. Farrar, T. Hunt, A. Fiore, K. Komatsu, B. Werner and L. Slutsker. (2001). A multi-state outbreak of *Salmonella enterica* serotype baillon associated with domestic raw tomatoes. *Emerging Infectious Diseases*, 7:1046-1048.

Dawson, P., Han, I., Cox, M., Black, C., & Simmons, L. (2007). Residence time and food contact time effects on transfer of *Salmonella Typhimurium* from tile, wood and carpet: testing the five-second rule. *Journal of Applied Microbiology*, 102:945-953.

De Boer, E. & Hahne, M. (1990). Cross contamination with *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* spp. From raw chicken products during food preparation. *Journal of Food Protection* 53, 1067-1068.

DeWitt, J.C., Broekhuizer, G. & Kamplmacher, E.H. (1979) Cross-contamination during preparation of frozen chicken in the kitchen. *Journal of Hygiene, Cambridge*, 83:27–32.

Dickson, J. S., & Daniels, E. K. (1991). Attachment of *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* to glass as affected by surface film thickness, cell density, and bacterial motility, 8:281–283.

Dorost A, Safari Y, Akhlaghi M, Soleimani M, Yoosefpoor N (2018): Microbial contamination data of keypad and touch screen of cell phones among hospital and non-hospital staffs – A case study: Iran. *Elsevier*, 20:80-84.

EFSA & ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control) (2015). The European Union Summary Report on Trends and

Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2013. EFSA Journal 13(1):3991.

Evangelopoulou G. D., Burriel A., Spyrou V. : A concise history of *Salmonella* spp. Nomenclature. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society 2010,61(4): 323-329.

Evenson, M.L., Hinds, M.W., Berstein, R.S., Bergdoll, M.S. (1988). Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. International Journal of Food Microbiology, 7:311–316.

FDA (2012) Bad bug book: Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook, 2nd ed. US Food and Drug Administration, Silver Spring, p. 87–92. <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/ucm2006773.htm>. Accessed 27 March 2013.

Ferguson, W.W. & June, R.C. (1952) Experiments on feeding adult volunteers with *Escherichia coli* 111, B4, a coliform organism associated with infant diarrhoea. American Journal of Hygiene, 55:155-169.

Figuroa, G., Navarrete, P., Caro, M., Troncoso, M., & Faundez, G. (2002) Carriage of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food handlers. Revista Medica De Chile, 130:859- 864.

Gkana E.N, Doulgeraki A.I, Nychas G-J.E: Survival and transfer efficacy of mixed strain *Salmonella enterica* ser. *Typhimurium* from beef burgers to abiotic surfaces and determination of individual strain contribution. Meat Science 130 (2017) 58-63.

Gkana E, Nychas G-J.E (2017): Consumer food safety perceptions and self-reported practices in Greece. International IJC 42(1).

Gorman, R., S. Bloomfield, & C. Adley. (2002). A study of cross- contamination of foodborne pathogens in the domestic kitchen in the Republic of Ireland. International Journal of Food Microbiology, 76:143–150.

Hatakka M., Bjorkroth K.J., Asplund, K., Maki-Petays, N., Korkeala, H.J. (2000) Genotypes and enterotoxicity of *Staphylococcus aureus* isolated from the hands and nasal cavities of flightcatering employees. Journal of Food Protection ,63:1487-1491.

Haysom, I.W. & Sharp, A.K. (2005) Bacterial contamination of domestic kitchens over a 24-hour period. British Food Journal, 107:453-466.

Hedburg, C.W., Angulo, F.J., White, K.E., Langkop, C.W., Schell, W.L., Stobierski, M.G., Schutat, A., Besser, J.M., Dietrich, S., Helsel, L., Griffin, P.M., McFarland, J.W., Osterholm M.T. & the Investigation Team. (1999). Outbreaks of salmonellosis associated with eating uncooked tomatoes: Implications for public health. Epidemiology and Infection, 122:135-393.

Hoffmann, S., Batz, M., & Morris, J.G. (2012). Annual Cost of Illness and QualityAdjusted Life Year Losses in the United States Due to 14 Foodborne Pathogens. Journal of FoodProtection 75(7): 1291-1302.

ICMSF (1996) *Staphylococcus aureus*. Ch 17 In: Microorganisms in food 5: Microbiological specifications of food pathogens. Blackie Academic and Professional, London, p. 299-333.

IFH. 2004. Recommendations for suitable hygiene procedures for use in the domestic environment. Intramed Communications, Milan, Italy.

ISO 6579:1993, International Standard: Microbiology-General guidance on methods for the detection of *Escherichia coli*

ISO 6579:1993, International Standard: Microbiology-General guidance on methods for the detection of *Salmonella*

ISO 6579:1993, International Standard: Microbiology-General guidance on methods for the detection of *Staphylococcus aureus*

Knobben, B.A.S., van der Mei, H.C., van Horn, J.R., Busscher, H.J. (2006). Transfer of bacteria between biomaterials surfaces in the operating room - an experimental study. *Journal of Biomedical Materials Research*, 80:790-799.

Kusumaningrum, H. (2003). Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and crosscontamination to foods. *International Journal of Food Microbiology*, 85:227-236.

Kusumaningrum, H.D., van Asselt, E.D., Beumer, R.R., & Zwietering, M.H. (2004). A quantitative analysis of cross-contamination of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. via domestic kitchen surfaces. *Journal of Food Protection*, 67:1892-1903.

Lazo-Porras M, Corante M, Cruz-Saldana T, Bohorquez I, Ricaldi J, Malaga G: Barriers and a mHealth intervention to promote hand-washing and cell phone cleaning in medical residents of a public hospital in Peru.

Leistner L: Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of Food Microbiology* 55 (2000) 181-186.

Lipson, A. (1976) Infection dose of *Salmonella*. *Lancet*, 969.

Luber, P., Brynestad, S., Topsch, D., Scherer, K., & Bartelt, E. (2006). Quantification of *Campylobacter* Species Cross-Contamination during Handling of Contaminated Fresh Chicken Parts in Kitchens. *Society*, 72:66-70.

Majowicz, S.E., Musto, J., Scallan, E., et al. (2010) The Global Burden of Nontyphoidal *Salmonella Gastroenteritis*. *Clinical Infectious Diseases*, 50:882-889.

Mather, A.E., et al. (2013). Distinguishable epidemics within different hosts of the multidrug resistant zoonotic pathogen *Salmonella Typhimurium* DT 104. *Science*, 341:1514-1517.

McCullough, N.B. & Eisele, C.W. (1951). Experimental human salmonellosis. *Journal of Infectious Diseases*, 88:278-279.

Medeiros, L.C., Kendall, P., Hillers, V., Chen, G., & Dimascola, S. (2001). Identification and classification of consumer food- handling behaviors for food safety education. *Journal of the American Dietetic Association*, 101, 1326-1339.

- Mernelius S, Lofgren S, Lindgren P-E, Matussek A: The role of broth enrichment in *Staphylococcus aureus* cultivation and transmission from the throat to newborn infants: results from the Swedish hygiene intervention and transmission of the *S.aureus* study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2013) 32:1593-1598.
- Montville, R., Chen, Y., & Schaffner, D.W. (2001). Glove barriers to bacterial crosscontamination between hands to food. *Journal of Food Protection*, 64:845–849.
- Montville, R., & Schaffner, D.W. (2003). Inoculum Size Influences Bacterial Cross Contamination between Surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*, 69:7188-7193.
- Montville, T.J., & Matthews, K.R. (2010). *Μικροβιολογία Τροφίμων* Εκδ. Ιων, Αθήνα.
- Montville, T.J., & Matthews, K.R. (2008). *Food microbiology: An introduction*. 2nd ed, ASM Press, Washington D.C.
- Nataro, J.P., & Kaper, J.B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, 11:142–201.
- Neal, J. A., Binkley, M., & Henroid, D. (2012). Assessing factors contributing to food safety culture in retail food establishments. *Food Protection Trends*, 32:468–476.
- Nesbitt, A., Majowics, S., Finley, R., Marshall, B., Pollari, F., Sargeant, J., Ribbel, C., Wilson, J., & Sittler, N. (2009). High-Risk food consumption and food safety practices in a Canadian community. *Journal of Food Protection*, 72:2575-2586.
- Orogy JO, Ehiwario NJ, Adebisi OO (2017): Microbiological assessment of cutleries. *MOJ Bioequivalence & Bioavailability*, 3(6)
- Otter J, Yezli S, French G: The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. *Infect Control HospEpidemiol* 2011, 32(7):687-699.
- Pal S, Juyal D, Adekhandi S, Sharma M, Prakash R, Sharma N, Rana A, Parihar A: Mobile phones: Reservoirs for the transmission of nosocomial pathogens. *Advanced biomedical research* 2015, 4.
- Patrick, D.R., Findon, G. & Miller, T.E. (1997). Residual moisture determines the level of touch-associated bacterial transfer following hand washing. *Epidemiology and Infection*, 119:319- 325.
- Perez-Rodriguez, F., Valero, A., Carrasco, E., Garcia, R.M., & Zurera, G. (2008). Understanding and modeling bacterial transfer to foods: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 19:131-144.
- Pui, C.F., Wong, W.C., Chai, L.-C., Tunung, R., Jeyaletchumi, P., Noor, Hidayah, M.S., Ubong, A., Farinazleen, M.G., Cheah, Y.K., & Son, R. (2011). Review Article *Salmonella*: A foodborne pathogen. *International Food Research Journal*, 18:465-473.
- Redmond, E.C., & Griffith, C.J. (2003). Consumer food handling in the home: a review of food safety studies. *Journal of Food Protection*, 66:130-161.
- Pennington, H. (2010). *Escherichia coli O157*. *Lancet*, 376: 1428-1435.

- Pinchuk, I.V., Beswick, E.J., & Reyes, V.E. (2010). Staphylococcal enterotoxins. *Toxins* 2:2177–2197.
- Raj, H.D., & Bergdoll, M.S. (1969) Effect of enterotoxin B on human volunteers. *Journal of Bacteriology*, 98:833–834.
- Roberts, D. (1990). Foodborne illness; sources of infection: food. *Lancet* 336, i, 859–861.
- Rangel, J., Sparling, P., Crowe, C., Griffin, P., & Swerdlow, D. (2005). Epidemiology of *E. coli* O157:H7 Outbreaks United States 1982-2002. *Emerging Infectious Diseases*, 11.
- Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M., Roy, S.L., Jones, J.L., Griffin, P.M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States - Major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17:7–11.
- Scharff, R. (2012). Economic Burden from Health Losses Due to Foodborne Illness in the United States. *Journal of Food Protection* 75: 123-31...
- Schnall R, Iribarren S: Review and analysis of existing mobile phone applications for health care-associated infection prevention. *Am J Infect Control* 2015, 43(6):572-576.
- Scott, E.A., & Bloomfield, S.F. (1990a). Survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. *Journal of Applied Bacteriology*, 68:271–278.
- Selim H-S, Abaza A-F (2015): Microbial contamination of mobile phones in a health care setting in Alexandria, Egypt. *GMS Hyg Infect Control*;10:3
- Seo, K.S., & Bohach, G.A. (2007). *Staphylococcus aureus*. Ch 22 In: Doyle MP, Beuchat LR (eds) *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*. 3rd ed, ASM Press, Washington D.C., p. 493–518.
- Simon, S.S., & Sanjeev, S. (2007). Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. *Food Control*, 18:1565–1568.
- Stewart, C.M. (2003). *Staphylococcus aureus* and *staphylococcal enterotoxins*. Ch 12 In: Hocking AD (ed) *Foodborne microorganisms of public health significance*. 6th ed, Australian Institute of Food Science and Technology (NSW Branch), Sydney, 359–380.
- Talarico, F., Rocchia, E., & Nero, I.D. (1997). Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus* in food-handlers in the province of Catanzaro (Italy). *Igiene Moderna* 107:137–142.
- van Asselt, E.D., de Jong, A.E., de Jonge, R., & Nauta, M.J. (2008). Cross-contamination in the kitchen: Estimation of transfer rates for cutting boards, hands and knives. *Journal of Applied Microbiology*, 105:1392–1401.
- Verran, J, & Whitehead, K. (2005). Factors affecting microbial adhesion to stainless steel and other materials used in medical devices. *International Journal of Artificial Organs*, 28:1138–1145.

Vodopivec-Jamsek V, Jongh Td, Gurol-Urganci I, Atun R, Car J: Mobile phone messaging for preventive health care. *Cochrane Database Syst Rev* 2012, 12:CD007457.

Weber D, Rutala W, Miller M, Huslage K, Sickbert-Bennett E: Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens: norovirus, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. *Am J Infect Control* 2010, 38(5 Suppl 1): S25-33.

Zakai S, Mashat A, Abumohssin A, Samarkandi A, Almaghrabi B, Barradah H, Jiman-Fatani A: Bacterial contamination of cell phones of medical students at King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 2016, 4:3:143-146.