



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Παραδοτέο Π3.1 Έκθεση αναφοράς για την επίδραση της ΓΔ στο μικροβιακό φορτίο των διαφόρων προϊόντων σε εργαστηριακές συνθήκες και πραγματικές συνθήκες εφαρμογής

Τύπος: Έκθεση

Υπο-παραδοτέο Π3.1.2 «Σχεδιασμός και υλοποίηση των βέλτιστων πρωτοκόλλων δειγματοληψίας για την αξιολόγηση της επίδρασης της γης διατόμων σε μετασυλλεκτικές προσβολές από παθογόνα των αποθηκευμένων προϊόντων του συνεταιρισμού»



DiatomiteThem

DiatomiteThem

Τίτλος Έργου:

Προστασία των αποθηκευμένων δημητριακών με τη χρήση γης διατόμων

«Το έργο αυτό υλοποιείται στο πλαίσιο της Δράσης ΕΡΕΥΝΩ-ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ-ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ και συγχρηματοδοτήθηκε από το Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης (ΕΤΠΑ) της Ευρωπαϊκής Ένωσης και εθνικούς πόρους μέσω του Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα & Καινοτομία (ΕΠΑνΕΚ) (κωδικός έργου: Τ2ΕΔΚ-03532)»



ΕΠΑνΕΚ 2014-2020
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Εισαγωγικά στοιχεία	3
2. Δειγματοληψία	4
3. Έλεγχοι διατήρησης ποιότητας	6
3.1. Ολική Αρίθμηση Αερόβιων Μεσόφιλων (Ομχ), Θερμόφιλων, Ψυχρόφιλων και Ψυχρότροφων Βακτηρίων	6
3.2. Καταμέτρηση Βακτηρίων Εντερικής Προέλευσης, Κολοβακτηρίδιων και <i>Escherichia coli</i>	7
3.3. Αρίθμηση ζυμών και μυκήτων	7
3.4. Προσδιορισμός και Καταμέτρηση Αναερόβιων Βακτηρίων	8
3.5. Ανίχνευση και ταυτοποίηση <i>Salmonella</i> spp.	9
4. Βιβλιογραφία	10



1. Εισαγωγικά στοιχεία

Από το χωράφι μέχρι και το πιάτο μας, τα τρόφιμα φέρουν ένα φορτίο μικροβίων, από τα οποία άλλα είναι παθογόνα, δηλαδή προκαλούν λοιμώξεις όταν καταναλωθούν, και άλλα είναι σαπρόφυτα, προκαλώντας αλλοιώσεις στα τρόφιμα-ξενιστές. Με βάση το μικροβιακό φορτίο ορίζεται και η ποιότητα του τροφίμου, με την άριστη ποιότητα να θεωρείται ότι δεν περιέχονται παθογόνα μικρόβια, δεν υπάρχουν μεταβολές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου από τη δράση των μικροβίων και υπάρχει η δυνατότητα αποθήκευσης για μεγάλο χρονικό διάστημα. Συνεπώς, διάφοροι έλεγχοι λαμβάνονται κατά την διάρκεια της επεξεργασίας των προϊόντων προς κατανάλωση είτε του ανθρώπου είτε των ζώων με σκοπό την εκτίμηση του μικροβιακού φορτίου, της ανίχνευσης δηλαδή όλων των μικροοργανισμών και των παραγόμενων από αυτούς τοξινών που βρίσκονται στα προϊόντα, και την εξέταση της χημικής κατάστασης του τροφίμου (αερόβια μεσόφιλη χλωρίδα, συγκεκριμένα είδη βακτηρίων, μεταβολίτες κ.α.). Με βάση τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών αναλύσεων, η ποιότητα του τροφίμου αξιολογείται με βάση όρια τιμών των γνωρισμάτων των τροφίμων, για παράδειγμα το μέγιστο αποδεκτό αριθμό μικροβίων που μπορεί ένα τρόφιμο να φέρει ως να είναι αποδεκτό από τους καταναλωτές και την εκάστοτε πολιτεία (Merck, 2000).

Κατά γενικό κανόνα, οι μύκητες που προκαλούν σημαντικές προσβολές στα σιτηρά και όσπρια στον αγρό δεν επιμολύνουν τους αντίστοιχους σπόρους κατά την μετασυλλεκτική τους μεταχείριση. Όπως έχει αναφερθεί (βλέπε Π3.1.1), οι μύκητες στους αποθηκευμένους σπόρους αναπτύσσονται όταν η υγρασία του σπόρου ανέβει πάνω από το 14,5 %. Εκτός από την ποσοτική απώλεια, οι μυκητολογικές προσβολές επιφέρουν και ποιοτικές απώλειες, είτε λόγω μείωσης της βλαστικής ικανότητας του σπόρου και αλλοίωσης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του, αλλά κυρίως λόγω της ανάπτυξης μυκοτοξινών, δευτερογενών μεταβολιτών των γενών μυκήτων *Aspergillus*, *Fusarius* και *Penicillium* που είναι ισχυρά καρκινογόνες ουσίες για τον άνθρωπο (Krska et al., 2008). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η παρουσία μυκοτοξινών είναι το βασικότερο και πιο σοβαρό πρόβλημα που προκαλούν οι μύκητες στα αποθηκευμένα σιτηρά και όσπρια, αφού στις περιπτώσεις όπου οι σπόροι αποθηκεύονται σε υγρασία πάνω 18%, τα μέγιστα επιτρεπόμενα όρια της παρουσίας τους στα προϊόντα όπως έχουν οριστεί από την Ε.Ε., μπορούν να ξεπεραστούν σε δύο μόνο εβδομάδες (Αγγελούσης και Ευμορφόπουλος, 2009).



2. Δειγματοληψία

Προφανώς, μικροβιολογικές αναλύσεις δεν μπορούν να πραγματοποιηθούν σε όλα τα προϊόντα παρά μόνο σε κάποιο ποσοστό αυτών. Ωστόσο για την επισήμανση ορθών αποτελεσμάτων με την διενέργεια δειγματοληψιών, θα πρέπει η συλλογή των δειγμάτων να γίνεται με τέτοιο τρόπο ώστε αυτό να είναι αντιπροσωπευτικό της συνολικής εικόνας του τροφίμου.

Το δείγμα που συλλέγεται πρέπει να απεικονίζει το ακριβές μικροβιολογικό φορτίο του προϊόντος. Συνεπώς, ειδικά μέτρα προστασίας και ασηψίας θα πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψιν τόσο κατά τη συλλογή όσο και κατά την μεταφορά και την ανάλυσή του, ώστε να αποκλειστούν πιθανές επιμολύνσεις του δείγματος από εξωτερικούς παράγοντες. Για την επίτευξη της ασηπτικής δειγματοληψίας θα πρέπει πάντα να χρησιμοποιούνται αποστειρωμένα εργαλεία και σκεύη, η δειγματοληψία να πραγματοποιείται κοντά σε λύχνο Bunsen, να τοποθετούμε τα δείγματα σε ανάλογα σκεύη και τέλος το προσωπικό που διαχειρίζεται τόσο την συλλογή όσο και την μεταφορά και εξέταση των δειγμάτων να τηρούν όλα τα απαραίτητα μέτρα για την αποφυγή της μόλυνσης του δείγματος από αυτά (Καραγκούνη-Κύρτσου, 2012).

Από την άλλη πλευρά, η συχνότητα και η τοποθεσία από όπου λαμβάνονται τα δείγματα είναι επίσης σημαντικοί παράγοντες που καθορίζουν την ποιότητα των αποτελεσμάτων. Η συχνότητα λήψης δειγμάτων για ανάλυση των παθογόνων καθορίζεται κυρίως από τον κίνδυνο που ενέχει το τρόφιμο να περικλείει παθογόνα μικρόβια. Παράλληλα, η συλλογή δειγμάτων δεν θα πρέπει να αφορά συγκεκριμένες φάσεις κατά την επεξεργασία του προϊόντος, αλλά θα πρέπει να γίνεται από τις πρώτες ύλες έως και το τελικό προϊόν, στα διάφορα στάδια της καλλιέργειας, της αποθήκευσης, της διακίνησης, της επεξεργασίας και της διατήρησης στους χώρους καταναλώσεως του προϊόντος. Μόνο με αυτό τον τρόπο μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα σχετικά με τον προσδιορισμό του σημείου επιμόλυνσης ώστε να ληφθούν εγκαίρως τα απαραίτητα μέτρα. Σε περίπτωση που βρεθεί μολυσμένο προϊόν, θα πρέπει να γίνει αναγνώριση των παθογόνων, να διαχωριστούν οι μολυσμένες παρτίδες, να γίνει αποστείρωση ανάλογα με την περίπτωση και μετά από έγκριση, να προβλεφθεί η διάθεση των προϊόντων, να αξιολογηθούν, τεκμηριωθούν και αναλυθούν τα βαθύτερα αίτια της ύπαρξης μολυσμένων προϊόντων, να σχεδιαστούν και να



ακολουθηθούν διορθωτικά μέτρα, να καταγραφούν εσωτερικά τα αποτελέσματα και οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν όπως επίσης και να ακολουθείται τεκμηριωμένη διαδικασία για την άμεση απόσυρση ή ανάκληση του τροφίμου (Merck, 2000).

Ακόμα και από το στάδιο των πρώτων υλών είναι σημαντικό να πραγματοποιούνται έλεγχοι, παρόλο που πολλές φορές κάτι τέτοιο δεν γίνεται, αφού η μετέπειτα αξιοποίηση επιμολυσμένων υλικών μπορεί να καταστεί επικίνδυνη, επιμολύνοντας τον εξοπλισμό της βιομηχανίας και εμμέσως όλα τα προϊόντα που παράγονται. Συνεπώς, οι εκσυγχρονισμένες βιομηχανίες είναι απαραίτητο να πραγματοποιούν τακτικά μικροβιολογικούς ελέγχους στις πρώτες ύλες και να απορρίπτονται άμεσα όταν είναι αναγκαίο. Όσον αφορά την αποστολή των δειγμάτων για εργαστηριακούς ελέγχους, αυτό θα πρέπει να πραγματοποιείται το ταχύτερο δυνατόν, ώστε να εξετάζονται αμέσως χωρίς να χρειάζεται να συντηρηθούν, κινδυνεύοντας να μεταβληθεί ο αριθμός των μικροβίων που τυχόν βρίσκονται στα δείγματα (Johnson and Case, 1998).

Ο απώτερος σκοπός της αρίθμησης των μικροβίων στα δείγματα αφορά τόσο την εκτίμηση του συνολικού μικροβιακού φορτίου, ανεξαρτήτως των ειδών παθογόνων, όσο και την ανίχνευση των τοξινογόνων μικροβίων για τον άνθρωπο, τα οποία υπάρχουν στο τρόφιμο αλλά δεν μπορούν να πολλαπλασιαστούν και να προξενήσουν σ' αυτό αλλοιώσεις (Forsythe, 2000). Για την ανίχνευση συγκεκριμένων μικροβίων χρησιμοποιούνται ειδικά σχεδιασμένα θρεπτικά υποστρώματα (εκλεκτικά) και εφαρμόζονται εξειδικευμένες τεχνικές (Harrigan, 1998).

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι το εκτιμώμενο μικροβιακό φορτίο που υπολογίζεται σε κάθε δείγμα, αναφέρεται αποκλειστικά σε μια δεδομένη χρονική στιγμή της επεξεργασίας του προϊόντος, καθώς υπόκειται σε συνεχείς μεταβολές. Υπάρχουν ειδικοί κανονισμοί που αναφέρονται στα επίσημα όρια μικροβιακής ανοχής με βάση το προϊόν ή την μέθοδο ανίχνευσης των παθογόνων. Με βάση το ολικό μικροβιακό φορτίο υπολογίζεται η περίοδος συντήρησης του τροφίμου, γίνονται φανερές οι συνθήκες επεξεργασίας και διακίνησης του τροφίμου και εντοπίζονται πηγές μόλυνσης σε κάποιο σημείο της γραμμής επεξεργασίας (Αγγελής, 2007).



3. Έλεγχοι διατήρησης ποιότητας

Ο έλεγχος για μυκητολογικές προσβολές κατά την αποθήκευση μπορεί να γίνει με διάφορες τεχνικές σε σχέση με την απλή ποιοτική δειγματοληψία. Για παράδειγμα, εκτός από την μέτρηση του συνολικού μικροβιακού φορτίου, χωρίς να αξιολογούνται τα διαφορετικά είδη μικροοργανισμών που υπάρχουν στο προϊόν, μπορεί να γίνει και αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, μέτρηση της θερμοκρασίας και του διοξειδίου του άνθρακα, μέτρηση της φυτρωτικής ικανότητας, της οξύτητας και της παρουσίας εξειδικευμένων ενζύμων (Pomeranze, 1992). Τα αποθηκευμένα σιτηρά και όσπρια ελέγχονται για να εξακριβωθεί εάν υπάρχει κάποια αλλοίωση ή παρουσία μυκοτοξινών, ενώ οι δειγματοληψίες κρίνονται αναγκαίες κατά την μετασυλλεκτική περίοδο των σιτηρών εξαιτίας διαφόρων παραγόντων (Merck, 2000).

3.1. Ολική Αρίθμηση Αερόβιων Μεσόφιλων (Ομχ), Θερμόφιλων, Ψυχρόφιλων και Ψυχρότροφων Βακτηρίων

Εδώ λαμβάνει χώρα η μέτρηση των βακτηρίων μέσα σε μάζα στερεού θρεπτικού υλικού σε τρυβλία. Το στέρεο θρεπτικό υλικό αναφέρεται στο PCA (Plate Count Agar) όπου δημιουργείται από πεπτόνη προερχόμενη από μίξη καζεΐνης, μαγιάς, γλυκόζης, άγαρ και αποσταγμένου νερού, με pH 7 ± 0.2 . Ο εμβολιασμός ενός εναιωρήματος με βακτηριακό φορτίο στο στέρεο θρεπτικό υλικό PCA γίνεται είτε με την **τεχνική της ενσωμάτωσης**, δηλαδή την εξάπλωση γνωστού όγκου εναιωρήματος στο PCA, όπου μετράει τον αριθμό αποικιών, που αναπτύχθηκαν σε ορισμένο χρόνο και θερμοκρασία, από συγκεκριμένη ποσότητα προϊόντος (cfu / g ή ml - colony forming units), και χρησιμοποιείται για τα αερόβια, μικροαερόφιλα και προαιρετικά αναερόβια βακτήρια είτε με την **τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης**, όπου μετράμε τα θερμόφιλα, ψυχρότροφα ή ψυχρόφιλα βακτήρια με την επώασή τους να γίνεται στην ίδιο μη εκλεκτικό υπόστρωμα PCA μετρώντας όλες τις αποικίες αυτών (Bradshaw, 1992).

3.2. Καταμέτρηση Βακτηρίων Εντερικής Προέλευσης, Κολοβακτηρίδιων και *Escherichia coli*



Η οικογένεια Enterobacteriaceae περιλαμβάνει πολύ σημαντικά γένη αλλοιογόνων και παθογόνων βακτηρίων, όπως τα *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* και *Yersinia*. Τα συγκεκριμένα γένη και είδη αξιολογούνται ως δείκτες υγιεινής των τροφίμων και του νερού. Τα κολοβακτηριοειδή είναι προαιρετικά αναερόβια βακτήρια και μπορούν να μετουσιώνουν τη λακτόζη σε οξέα και διοξείδιο του άνθρακα, με αποτέλεσμα να προκαλούν αλλοιώσεις, όπως οξίνιση λαχανικών, διόγκωση συσκευασμένων τροφίμων, σκάσιμο τυριών, κλπ. (Collins et al., 1995)

Διάφορες μέθοδοι και συνδυασμοί θρεπτικών υποστρωμάτων έχουν αναπτυχθεί για την καταμέτρηση των εντεροβακτηριδίων, κολοβακτηριοειδών και της *E. coli*. Ένας από τους πιο διαδεδομένους τρόπους καταμέτρησης είναι η ανάλυση έπειτα από εμβολιασμό σε τρυβλία, με διάφορα υποστρώματα όπως τα Violet Red Bile Glucose agar, Violet Red Bile Lactose agar, και TBX agar. Στην περίπτωση που οι πληθυσμοί των κολοβακτηριδίων προβλέπεται να είναι χαμηλοί, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και η μέθοδος MPN. Σε αυτή την περίπτωση χρησιμοποιείται υγρό θρεπτικό υπόστρωμα Minerals Modified Glutamate broth, MacConkey broth, EC broth, ή Brilliant Green Lactose Bile Broth, μαζί με αντεστραμμένους σωλήνες Durham όπου συσσωρεύεται τυχόν παραγόμενο αέριο (Jachson, 1998).

3.3. Αρίθμηση ζυμών και μυκήτων

Οι ζύμες και οι μύκητες αποτελούν δείκτη των συνθηκών επεξεργασίας και συντήρησης των όξινων και ξηρών προϊόντων. Η παρουσία τέτοιων μικροοργανισμών αποτελεί ένδειξη της πιθανότητας ανάπτυξης βακτηρίων στο τρόφιμο. Η κοινή ικανότητα των ζυμών και των μυκήτων να αναπτύσσονται σε τιμές pH από 3.0 έως 4.0 και η ανοχή τους σε χαμηλές τιμές ενεργότητας νερού βοηθά στην καταμέτρησή τους στα θρεπτικά υποστρώματα. Δυο μέθοδοι χρησιμοποιούνται για την αρίθμησή τους, η μέθοδος της ενσωμάτωσης και η μέθοδος της επιφανειακής εξάπλωσης. Χρησιμοποιούνται διάφορα υποστρώματα, με τα κυριότερα από αυτά να είναι το Sabourand Dextrose agar και το Potato Dextrose Agar. Στο υπόστρωμα εμφανίζονται οι μυκηλιακές υφές, μακριές, λεπτές, κυλινδρικές κατασκευές μυκήτων που φέρουν παράλληλα τοιχώματα, στρόγγυλα ή τετράγωνα άκρα και ευδιάκριτες διακλαδώσεις, ενώ οι αποικίες των ζυμών μοιάζουν με τις αποικίες των βακτηρίων. Για να υπολογιστεί η πυκνότητα των μυκήτων ή των ζυμών, πολλαπλασιάζεται ο μέσος όρος των



αποικιών τους ανά τρυβλίο, με τον αντίστοιχο συντελεστή αραίωσης (Cappuccino and Sherman, 1996).

3.4. Προσδιορισμός και Καταμέτρηση Αναερόβιων Βακτηρίων

Από τα πιο συνήθη αναερόβια βακτήρια των τροφίμων είναι τα γένη *Clostridium* και *Desulfotomaculum*. Πρόκειται για υποχρεωτικά αναερόβια, θερμοάντοχα σπορογόνα βακτήρια που βρίσκονται στο έδαφος, στην σκόνη, στην άμμο, στα κόπρανα ανθρώπων και ζώων. Η μόλυνση από αυτά τα βακτήρια προκαλεί αλλοιώσεις σε προϊόντα κονσερβοποιίας και οι παραγόμενες από τα βακτήρια τοξίνες μπορούν να οδηγήσουν μέχρι και σε θάνατο λόγω νευρομυϊκής παράλυσης εντός λίγων ωρών, ασθένεια που ονομάζεται βουτυλισμός ή αλλαντίαση. Παράλληλα, οι βουτυλικές τοξίνες είναι άκρως επικίνδυνες ουσίες για τροφικές δηλητηριάσεις και μπορούν να επιφέρουν μέχρι και τον θάνατο μετά από κατάποση, εισπνοή ή διείσδυση δια οφθαλμού ή δέρματος. Η δυσκολία της αντιμετώπισης αυτών των βακτηρίων έγκειται στο ότι δεν καταστρέφονται με παστερίωση αλλά μόνο σε συνθήκες αποστείρωσης, καθώς κάποια από τα είδη θεωρούνται ως τα πλέον θερμοάντοχα παθογόνα βακτήρια.

Οι μέθοδοι για την επίτευξη της αναερόβιας επώασης τέτοιων βακτηρίων είναι με χρήση αναερόβιων συστημάτων μιας χρήσης τύπου Gaspack (αεροστεγή δοχεία τοποθέτησης των τρυβλίων μαζί με συστήματα δέσμευσης οξυγόνου και παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα), με αναερόβιους θαλάμους διοξειδίου του άνθρακα (επωαστικοί θάλαμοι με παροχή διοξειδίου του άνθρακα για την εξασφάλιση αναερόβιων συνθηκών επώασης), με αναερόβιους δοκιμαστικούς σωλήνες (οι αναερόβιες συνθήκες επώασης επιτυγχάνονται όταν πάνω από την μάζα του θρεπτικού υποστρώματος προστίθεται αποστειρωμένη παραφίνη ή άγαρ για την αποτροπή της εισόδου οξυγόνου στο υπόστρωμα), καθώς και η χρήση στερεού υποστρώματος που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των βακτηρίων του γένους *Clostridium* σε τρόφιμα, όπου εμβολιάζουμε το δείγμα σε στέρεο θρεπτικό υπόστρωμα, επωάζουμε σε αναερόβιο περιβάλλον και καταμετράμε τις νεοσχηματισμένες σκουρόχρωμες αποικίες (Jachson, 1998).



3.5. Ανίχνευση και ταυτοποίηση *Salmonella spp.*

Πρόκειται για τροφοπαθογόνα είδη, προκαλώντας περισσότερα κρούσματα τροφικών ασθενειών σε σχέση με τα υπόλοιπα τροφοπαθογόνα βακτήρια, εξαιτίας της μικρής μολυσματικής δόσης που απαιτείται για την πρόκληση τροφικής δηλητηρίασης, της ευρείας εξάπλωσής τους στο περιβάλλον και της πιθανότητας ότι η ύπαρξη του βακτηρίου στο τρόφιμο δεν επιφέρει πάντοτε εμφανείς αλλοιώσεις. Οι σαλμονέλες είναι από τις πρώτες αιτίες θανάτων λόγω τροφικής δηλητηρίασης, προσβάλλοντας πολλούς καταναλωτές (Vanderzant and Splittstoesser, 1992).

Για την ανίχνευση του βακτηρίου στα τρόφιμα ακολουθούνται διάφορες διαδικασίες όπως παρατίθενται παρακάτω. Στην μέθοδο του προ-εμπλουτισμού πραγματοποιείται επαναδραστηριοποίηση των τραυματισμένων κυττάρων σαλμονέλας σε μη εκλεκτικό υγρό θρεπτικό υπόστρωμα με σκοπό την ανάπτυξη των ζώντων αλλά μη καλλιεργήσιμων κυττάρων, όχι μόνο για να ανιχνευθούν και να αναγνωριστούν αλλά και για αποκλειστεί η παρουσία τους στο τρόφιμο καθώς μπορεί να ανανήψουν μέσα στο ανθρώπινο έντερο προκαλώντας δηλητηρίαση. Η μέθοδος του εμπλουτισμού, αποσκοπεί στην εκλεκτική αύξηση του αριθμού των σαλμονελών εναντίων άλλων μικροοργανισμών που δρουν ανταγωνιστικά, με χρήση εκλεκτικών υποστρωμάτων και ανασταλτικών ουσιών ώστε να αποκλειστεί η ανάπτυξη των ανεπιθύμητων μικροοργανισμών. Όταν η λήψη των κυττάρων γίνεται με αποστειρωμένο κρίκο από τις καλλιέργειες εμπλουτισμού, τα κύτταρα των πιθανών αποικιών επιστρώνονται με τη μέθοδο streak σε δύο διαφορετικά εκλεκτικά υποστρώματα σε τρυβλία. Ακολουθεί επώαση και συχνός έλεγχος για την παρουσία αποικιών. Σε κάθε περίπτωση ύπαρξης ή μη αποικιών σαλμονέλας ή άλλων μικροοργανισμών, τα υποστρώματα ή/και οι αποικίες θα πάρουν συγκεκριμένο χρωματισμό ανά γένος παθογόνου (Jachson, 1998).

Τέλος, πραγματοποιούνται οι απαραίτητες μέθοδοι επιβεβαίωσης και ταυτοποίησης με βιοχημικές και ορολογικές δοκιμές στις απομονωμένες πλέον ύποπτες αποικίες σαλμονέλας. Οι δοκιμές αφορούν την παραγωγή οξέος, παραγωγή αερίου, αποικοδόμηση υδροθείου, λακτόζης και σακχαρόζης, την διάσπαση τη ουρίας, την αποκαρβοξυλίωση της λυσίνης, την αντίδραση β-γαλακτοξιδάσης, την δοκιμή Voges-Proskauer και την παραγωγή ινδόλης (Jachson, 1998).



4. Βιβλιογραφία

Αγγελούσης Γ., Ευμορφόπουλος Ε. (2009). Οδηγός Ορθής Πρακτικής των Αλευρομύλων. ΕΦΕΤ 91/18.02.2009.

Αγγελής Γ. (2007). Μικροβιολογία και Μικροβιακή Τεχνολογία, Εκδόσεις Σταμούλης.

Καραγκούνη-Κύρτσου Α. (2012), Γενική Μικροβιολογία, Εκδόσεις Σταμούλη.

Bradshaw L.J. (1992). Laboratory Microbiology, Saunders College Publishing, USA

Cappuccino J.G., Sherman N. (1996). Microbiology A Laboratory Manual, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc, USA.

Collins C.H., Lyne P.M., Grange J.M (1995). Microbiological Methods, Butterworth-Heinemann Ltd, U.K.

Forsythe S.J. (2000). The Microbiology Of Safe Foods, Blackwell Science, U.K

Harrigan W.F. (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology, Academic Press, USA

Jachson G.J. (1998). Bacteriological Analytical Manual (BAM), BAM Coordinator, A.O.A.C. International USA.

Johnson T.R., Case L.C. (1998). Laboratory Experiments in Microbiology, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc, USA.

Kriska R., Schubert-Ullrich P., Molinelli A., Sulyok M., McDonald S., Crews C. (2008). Mycotoxin analysis: An update. Food Additives Contaminants Part A, 25: 152-163.

Merck M., (2000), Microbiology Manual, Germany

Vanderzant C., Splittstoesser F. (1992) Compendium of methods for the microbiological examination of foods, American Public Health, USA