



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ
«ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΥΔΑΤΩΝ & ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ»

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΟΥ STAPHYLOCOCCUS AUREUS
ΣΕ ΑΜΥΓΔΑΛΕΣ ΣΦΑΓΙΩΝ ΧΟΙΡΩΝ ΑΠΟ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑ
ΣΦΑΓΕΙΑ ΤΗΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΗΣ ΕΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΡΔΙΤΣΑΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΕΛΕΝΗ ΚΩΝ.ΚΟΥΚΟΥΡΙΚΗ
ΠΤΥΧΙΟΥΧΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΛΑΡΙΣΑ
2016



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ
«ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΥΔΑΤΩΝ & ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ»

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΟΥ STAPHYLOCOCCUS AUREUS
ΣΕ ΑΜΥΓΔΑΛΕΣ ΣΦΑΓΙΩΝ ΧΟΙΡΩΝ ΑΠΟ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑ
ΣΦΑΓΕΙΑ ΤΗΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΗΣ ΕΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΡΔΙΤΣΑΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΕΛΕΝΗ ΚΩΝ. ΚΟΥΚΟΥΡΙΚΗ
ΠΤΥΧΙΟΥΧΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΛΑΡΙΣΑ
2016

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΣΟΛΩΜΑΚΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ
(ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΘ)

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΓΚΟΒΑΡΗΣ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ (ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΘ)

ΠΕΞΑΡΑ ΑΝΔΡΕΑΝΑ (ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΘ)

ΣΟΛΩΜΑΚΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ (ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΘ)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΟΥ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΣΕ ΑΜΥΓΔΑΛΕΣ ΣΦΑΓΙΩΝ ΧΟΙΡΩΝ ΑΠΟ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑ ΣΦΑΓΕΙΑ ΤΗΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΗΣ ΕΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΡΔΙΤΣΑΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της παρουσίας του *Staphylococcus aureus* σε αμυγδαλές σφάγιων χοίρων από βιομηχανικά σφαγεία της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας. Το χρονικό διάστημα από το Νοέμβριο έως το Δεκέμβριο του 2015, συλλέχθηκαν 77 δείγματα αμυγδαλών από σφάγια χοίρων που η διαδικασία σφαγής έγινε σε βιομηχανικά σφαγεία και εξετάστηκαν για την παρουσία του παθογόνου μικροοργανισμού. Τα αποτελέσματα της μικροβιολογικής εξέτασης των δειγμάτων έδειξαν, ότι σε 12 δείγματα αμυγδαλών από τα 77 δείγματα (15,58%) απομονώθηκε *S. aureus*, σε 7 δείγματα (9,09%) απομονώθηκε *S. epidermidis*, σε 4 δείγματα (5,19%) απομονώθηκε *S. haemolyticus*, σε 4 δείγματα (5,19%) απομονώθηκε *S. saprophyticus*, σε 3 δείγματα (3,9%) απομονώθηκε *S. hyicus*, σε 2 δείγματα (2,6%) απομονώθηκε *S. lugdunensis*, σε 1 δείγμα (1,3%) απομονώθηκε *S. capitis* και σε 1 δείγμα (1,3%) απομονώθηκε *S. pasteurii*. Η απομόνωση του *S. aureus* σε ποσοστό 35,3% από τις αμυγδαλές σφάγιων χοίρων είναι ιδιαίτερης σημασίας για τη δημόσια υγεία. Στην παρούσα μελέτη απομονώθηκαν οι coagulase negative σταφυλοκόκκοι (CoNS) *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* και *S. saprophyticus* σε ποσοστά 20,59%, 11,76% και 11,76%, αντίστοιχα. Το γεγονός αυτό είναι ιδιαίτερης σημασίας αφού τα συγκεκριμένα στελέχη ενοχοποιούνται ολοένα και συχνότερα ως αίτιο νοσοκομειακών λοιμώξεων στους ανθρώπους.

Κουκουρική Ελένη, Ιανουάριος 2016

Λέξεις κλειδιά: Αμυγδαλές, σφάγια χοίρων, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

OCCURRENCE OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN THE TONSILS OF PIGS FROM SLAUGHTERHOUSES IN THE REGIONAL UNIT OF KARDITSA

Aim of this work was to study the occurrence of *Staphylococcus aureus* in the tonsils of pigs from slaughterhouses in the regional unit of Karditsa. A total of 77 pig tonsils from sows and fattening pigs were examined for the pathogen from November to December 2015. The results showed that from 12 samples (15.58%) were isolated *S. aureus*, from 7 samples (9.09%) *S. epidermidis*, from 4 samples (5.19%) *S. haemolyticus*, from 4 samples (5.19%) *S. saprophyticus*, from 3 samples (3.9%) *S. hyicus*, from 2 samples (2,6%) *S. lugdunensis*, from 1 sample (1.3%) *S. capitis* and from 1 sample (1.3%) *S. pasteurii*. The occurrence of *S. aureus* in the tonsils of pigs could indicate a potential source of contamination of carcasses, of slaughterhouse environment and subsequent processing steps. In the present study, coagulase negative staphylococci (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus* και *S. saprophyticus*) were also isolated. Although coagulase-negative staphylococci are not classical food poisoning bacteria, its presence in food could be of public health significance due to the possible spread of antibiotic resistance.

Koukouriki Eleni, January 2016

Keywords: pig carcasses, tonsils, *Staphylococcus aureus*

| | |
|---|-----|
| ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ | |
| ΑΦΙΕΡΩΣΕΙΣ | i |
| ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ | ii |
| ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΙΝΑΚΩΝ..... | iii |
| ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ..... | 0 |
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ | 1 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ^ο | 3 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 3 |
| 1.1 Ιστορική αναδρομή..... | 3 |
| 1.2. Γενικά Χαρακτηριστικά..... | 4 |
| 1.2.1. Ταξινόμηση | 4 |
| 1.2.2. Ανάπτυξη | 5 |
| 1.2.3. Επιβίωση | 6 |
| 1.2.4. Ένζυμα και τοξίνες | 6 |
| 1.2.5. Σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες | 8 |
| 1.2.6. Παρουσία του <i>S. aureus</i> στα τρόφιμα..... | 10 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ^ο | 13 |
| Ο <i>S. aureus</i> στον άνθρωπο..... | 13 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ^ο | 17 |
| Ο <i>S. aureus</i> στα ζώα | 17 |
| 3.1 Ο <i>S. aureus</i> στα διάφορα είδη ζώων..... | 17 |
| 3.2. Ο <i>S. aureus</i> στους χοίρους | 19 |
| 3.2.1. Ο <i>S. aureus</i> στις αμυγδαλές χοίρων..... | 21 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ^ο | 24 |
| Ο <i>S. aureus</i> στο χοιρινό κρέας..... | 24 |
| 4.1. Ο <i>S. aureus</i> κατά την παραγωγή χοιρινού κρέατος..... | 24 |
| 4.2. Ο <i>S. aureus</i> στα σφάγια χοίρου | 25 |
| 4.3. Ο <i>S. aureus</i> στο χοιρινό κρέας | 30 |
| ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 32 |
| 1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ..... | 33 |
| 1.1. Συλλογή δειγμάτων | 33 |
| 1.2. Μικροβιολογική ανάλυση..... | 33 |
| 2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ | 33 |
| 3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ | 35 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 36 |

Στους γονείς μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πρώτα απ' όλα, θέλω να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της διπλωματικής εργασίας μου, κ. Σολωμάκο Νικόλαο (Επίκουρο Καθηγητή ΠΘ), για την παρότρυνση στην επιλογή του συγκεκριμένου θέματος, την πολύτιμη βοήθεια και συνεχή καθοδήγηση του, καθώς και για το χρόνο που μου αφιέρωσε κατά την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Επίσης, είμαι ευγνώμων στα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής της διπλωματικής εργασίας μου, κ. Γκόβαρη Αλέξανδρο (Καθηγητής ΠΘ) και κα Πεξάρá Ανδρεάνα (Επίκουρη Καθηγήτρια) για τις ουσιαστικές συμβουλές και για τις πολύτιμες υποδείξεις τους κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, την συνεχή καθοδήγηση και ενθάρρυνσή για την επίτευξη του βέλτιστου δυνατού αποτελέσματος, καθώς και για το χρόνο που μου αφιέρωσαν.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους δικούς μου ανθρώπους, την μητέρα μου Βάσω, τον πατέρα μου Κώστα, τα αδέρφια μου Χριστιάνα και Σωτήρη, τον σύζυγό μου Παναγιώτη αλλά και την γιαγιά μου Ανατολή για την ηθική και οικονομική υποστήριξη αλλά και για την αγάπη και υπομονή που είχαν απέναντι μου όλο αυτό το διάστημα.

ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΙΝΑΚΩΝ

| | |
|---|---------------|
| Πίνακας I. Συνθήκες ανάπτυξης του βακτηρίου <i>S.aureus</i> | Σελ. 6 |
| Πίνακας II. Συνθήκες παραγωγής εντεροτοξινών του βακτηρίου <i>S.aureus</i> | Σελ. 9 |
| Πίνακας III. Δημοσιευμένες εξάρσεις κρουσμάτων σταφυλοκοκκικής τοξίνωσης | Σελ.12 |
| Πίνακας IV. Βακτηριακά στελέχη που απομονώθηκαν από τις αμυγδαλές των χοίρων(τροποποιημένο από Loewe et al., 2001) | Σελ.23 |

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι ζωνοόσοι και οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που μεταδίδονται από τα ζώα στον άνθρωπο, αποτελούν ένα σημαντικό πρόβλημα της παγκόσμιας υγείας (Erstein & Price, 2009). Έχει αναφερθεί ότι πάνω από το 61% όλων των παθογόνων μικροοργανισμών μπορούν να μεταδοθούν από τα ζώα στον άνθρωπο (Taylor et al., 2001). Κάποια από τα παθογόνα τα οποία έχουν σαν κύριο ξενιστή τα ζώα μπορούν να μεταδοθούν στον άνθρωπο, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις παθογόνοι μικροοργανισμοί που μολύνουν συνήθως τον άνθρωπο μπορεί να μεταδοθούν στα ζώα (Hubalek, 2003).

Το βακτήριο *Staphylococcus aureus* είναι ένας δυνητικά παθογόνος που μπορεί να προσβάλλει πολλά είδη, μεταξύ αυτών και ο άνθρωπος. Το βακτήριο αυτό έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας και του κοινού καθώς τα τελευταία χρόνια η συχνότητα εμφάνισης τροφιμογενών νοσημάτων που οφείλονται στο βακτήριο αυτό παραμένει υψηλή (Diederer & Kluytmans, 2006). Επιπλέον, η ανάπτυξη των μεθόδων μοριακής ανάλυσης έχουν οδηγήσει στην ταυτοποίηση διάφορων τύπων του βακτηρίου αυτού σε ποικίλα περιβάλλοντα (Struelens et al., 2009). Ο *S. aureus* αν και είναι δυνητικά παθογόνος για τον άνθρωπο και τα ζώα και προκαλεί μια μεγάλη ποικιλία ασθενειών, από απλή λοίμωξη του δέρματος έως σοβαρές παθολογικές καταστάσεις, όπως η πνευμονία και η σηψαιμία (Lowy, 1998), είναι ευρύτατα διαδεδομένος στο περιβάλλον. Ανευρίσκεται κυρίως στο βλεννογόνο του ρινοφάρυγγα και στο δέρμα του ανθρώπου και των ζώων. Στον άνθρωπο ανευρίσκεται κυρίως μύτη, η οποία αποικίζεται τις πρώτες ημέρες της ζωής του. Βρίσκεται επίσης στο δέρμα και τους βλεννογόνους των γαλακτοπαραγωγικών ζώων που αποτελούν τη δεξαμενή του βακτηρίου στο περιβάλλον (Jablonsky & Bohach, 1997). Η παρουσία του *S. aureus* σε άτομα που ασχολούνται με την κτηνοτροφία και την γεωργία έχει μελετηθεί καθώς τις περισσότερες φορές τα ζώα θεωρούνται ως πηγή μόλυνσης του ανθρώπου (Morgan, 2008). Πρόσφατα, η μετάδοση σε ανθρώπους και οι λοιμώξεις ενός συγκεκριμένου στελέχους *S. aureus* που είναι ανθεκτικό στην μεθικιλίνη (methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA) έχουν αυξηθεί ειδικά στις φάρμες με χοίρους σε πολλές χώρες (Huijsdens et al., 2006; Lewis et al., 2008; Smith et al., 2008) γεγονός που προκαλεί ανησυχία παγκοσμίως.

Ο *S. aureus* είναι από τα πιο σημαντικά τροφιμογενή παθογόνα βακτήρια, ειδικά για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Η σταφυλοκοκκική τοξίνωση είναι ένα από τα πιο συχνά αίτια τροφιμογενούς νόσου. Τις τελευταίες δεκαετίες αναφέρεται ως τρίτη αιτία μεταξύ των ασθενειών τροφιμογενούς αιτιολογίας παγκοσμίως (Boerema et al., 2006). Το 2009 293 τροφιμογενείς επιδημίες στην ΕΕ αποδόθηκαν σε *Staphylococcus* spp. όπου 2.671 άνθρωποι νόσησαν, 303 νοσηλεύτηκαν ενώ καταγράφηκαν και 3 θάνατοι. Το 30 % των επιδημιών αυτών επαληθεύτηκαν (EFSA, 2011).

Η σταφυλοκοκκική τοξίνωση προκαλείται από την πρόσληψη με τα τρόφιμα μίας ή περισσότερων προσχηματισμένων σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών (Bergdoll, 1989). Οι σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες είναι πρωτεΐνες που παράγονται από ορισμένα είδη σταφυλόκοκκων τόσο στο περιβάλλον όσο και στα τρόφιμα. Αν και διάφορα είδη σταφυλόκοκκου μπορούν να προκαλέσουν τροφιμογενείς τοξινώσεις, σχεδόν όλα τα περιστατικά αποδίδονται στο *S. aureus* (Pexara et al., 2010). Παρόλο που τα τρόφιμα που εμπλέκονται συχνότερα στην πρόκληση σταφυλοκοκκικών τοξινώσεων ποικίλουν μεταξύ των διαφορετικών χωρών, λόγω κυρίως των διαφορετικών διατροφικών συνηθειών (Le Loir et al., 2003), το κρέας και τα προϊόντα του, ιδιαίτερα αυτά που έχουν υποστεί κάποιο χειρισμό μετά την θερμική επεξεργασία, είναι μεταξύ των τροφίμων που αρκετά συχνά ενοχοποιούνται.

Στο νωπό κρέας, όπως γενικότερα στα νωπά τρόφιμα, η μόλυνση προέρχεται κυρίως από τα ζώα, ενώ στο κρέας που έχει υποστεί κάποια επεξεργασία, η κύρια πηγή μόλυνσης είναι ο άνθρωπος (Le Loir et al., 2003). Η διαδικασία σφαγής των χοίρων αποτελεί μια διαδικασία που το σφάγιο μπορεί να επιμολυνθεί από παθογόνους μικροοργανισμούς (Borch et al., 1996). Η στοματική κοιλότητα και ιδιαίτερα οι αμυγδαλές διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του οργανισμού (Beltz & Heath 1996). Όμως, οι αμυγδαλές των χοίρων μπορεί να αποτελέσουν δεξαμενή σημαντικών παθογόνων μικροοργανισμών, μεταξύ αυτών και του *S. aureus* (Lowe et al., 2011).

Το 2008 στο 9,6% των τροφιμογενών επιδημιών και στο 13,9% των μεμονωμένων κρουσμάτων που καταγράφηκαν στην ΕΕ από την κατανάλωση χοιρινού κρέατος και των προϊόντων του το αίτιο ήταν *Staphylococcus* (EFSA 2010). Το 2009 οι σταφυλόκοκκοι προκάλεσαν το 5,7% των επιβεβαιωμένων τροφιμογενών επιδημιών που καταγράφηκαν από την κατανάλωση χοιρινού κρέατος και των προϊόντων του (EFSA 2011). Διάφορες εργασίες παγκοσμίως έχουν επιβεβαιώσει την παρουσία του *S. aureus* σε διάφορα ποσοστά στο χοιρινό κρέας (Atanassova et al., 2001; Pu et al. 2009; Normanno et al. 2007). Για την διερεύνηση της πηγής της μόλυνσης έχουν πραγματοποιηθεί διάφορες μελέτες για την αξιολόγηση του ποσοστού του *S. aureus* που φθάνει στα σφαγεία μέσω των αποικισμένων χοίρων. Ωστόσο τα στοιχεία για την παρουσία στις αμυγδαλές χοίρου είναι περιορισμένα (Lowe et al., 2011).

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της παρουσίας του *S. aureus* σε αμυγδαλές σφάγιων χοίρων από σφαγεία της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

Staphylococcus aureus

1.1 Ιστορική αναδρομή

Το βακτήριο *S.aureus* αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1880 στο Αμπερντίν της Σκωτίας από τον χειρουργό Sir Alexander Ogston καθώς μελετούσε ανθρώπινο απόστημα. Κατά τη μελέτη στο μικροσκόπιο παρατήρησε ένα σύμπλεγμα βακτηρίων που σχημάτιζαν αποικίες σε σχήμα σταφυλιού, το οποίο και ονόμασε σταφυλόκοκκο από την αντίστοιχη ελληνική λέξη "σταφύλι" (Ogston A., 1882). Στη συνέχεια το 1884, ο Rosenbach μπόρεσε να απομονώσει και να καλλιεργήσει το βακτήριο αυτό από αποστήματα και του έδωσε την ονομασία *S. aureus* λόγω του κίτρινου ή "χρυσού" χρωματισμού των αποικιών του (*aureus* στα λατινικά σημαίνει "χρυσό"). Επιπλέον, ο Rosenbach κατηγοριοποίησε τους σταφυλόκοκκους σε παθογόνους και μη παθογόνους (Rosenbach, 1884). Το 1902 από τους Kolle και Otto προτάθηκε η ορολογική ταξινόμηση για τη διάκριση των παθογόνων και μη παθογόνων στελεχών. Αργότερα, οι Menkin και Walston (1935), ανέφεραν ότι οι οργανικές βλάβες που παρατηρούνταν κατά την λοίμωξη από σταφυλόκοκκο οφείλονταν στην δράση παραγόμενων από το βακτήριο τοξινών, ενώ το 1954 ο Duthie (1954) δημοσίευσε την ύπαρξη δύο μορφών σταφυλοκοκκικής πηκτάσης (Crossley & Archer, 1997).

Μια ομάδα επιστημόνων (Knight, et al., 1956), παρατήρησαν ότι τα ποσοστά των φορέων του *S. aureus* ήταν μεγαλύτερα στους νοσηλεύομενους ασθενείς από ότι στο γενικό πληθυσμό, γεγονός που οδηγούσε στην μεγαλύτερη παραμονή τους στο νοσοκομείο. Αν και μπορεί να μολύνει πολλαπλά σημεία του σώματος του ανθρώπου, ο βλεννογόνος της ρινικής κοιλότητας είναι το σημείο που παρατηρείται πιο συχνά ο *S. aureus*. Η συσχέτιση μεταξύ της μετάδοσης του *S. aureus* μέσω της ρινικής κοιλότητας και της λοίμωξης από σταφυλόκοκκο αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον Danbolt το 1931, ο οποίος μελετούσε τη δοθιήνωση (*furunculosis*) (Solberg, 1965).

Τα πρώτα αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν έναντι του σταφυλόκοκκου ήταν οι σουλφοναμίδες. Αργότερα, το 1941 ανακαλύφθηκε και χρησιμοποιήθηκε η πενικιλίνη όμως μόλις δύο χρόνια μετά απομονώθηκαν τα πρώτα στελέχη σταφυλόκοκκου ανθεκτικά στο αντιβιοτικό αυτό (Crossley & Archer, 1997). Το 1960 ξεκίνησε η ευρεία χρήση νέων ημισυνθετικών πενικιλινών σε λοιμώξεις από *S. aureus*. Στην συνέχεια απομονώθηκαν και πρώτα στελέχη *S. aureus* τα οποία παρουσίαζαν ανθεκτικότητα στη μεθικιλίνη (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, MRSA) (Jevons, 1961) τα οποία μελετήθηκαν σε διάφορες χώρες της Ευρώπης αλλά και της Ασίας, Αμερικής και Αυστραλίας με τα ποσοστά αυτών να ποικίλουν στις χώρες αυτές (Fluit & Schmitz, 2003). Αν και κατά τη δεκαετία του 1970 παρατηρήθηκε μείωση των τροφιμογενών τοξινώσεων από στελέχη του *S. aureus*, το γεγονός αυτό δεν διήρκεσε πολύ καθώς μετά από μερικά χρόνια και μέχρι και σήμερα έχει παρατηρηθεί σημαντική αύξηση των κρουσμάτων που οφείλονται στον μικροοργανισμό αυτό. Το κυριότερο πρόβλημα που υπάρχει με τα νέα στελέχη του *S. aureus* είναι ότι τα περισσότερα είναι ανθεκτικά σε ένα ευρύ φάσμα αντιβιοτικών κάνοντας δύσκολη την αντιμετώπισή τους (Sanyal et al., 1991). Όπως

αναφέρθηκε και παραπάνω, τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αύξηση των σταφυλοκοκκικών τοξινώσεων και κυρίως αυτών που οφείλονται στα MRSA στελέχη, γεγονός που είναι ιδιαίτερα ανησυχητικό καθώς υπάρχει δυσκολία στην αντιμετώπιση των συγκεκριμένων στελεχών του *S. aureus* (Fluit & Schmitz, 2003).

1.2. Γενικά Χαρακτηριστικά

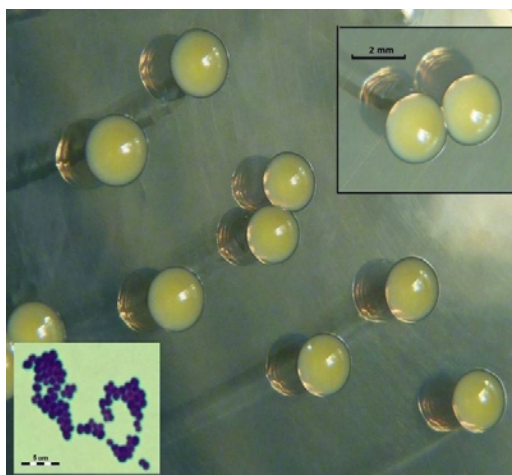
1.2.1. Ταξινόμηση

Το βακτήριο *S. aureus* ανήκει στο γένος των σταφυλόκοκκων. Είναι ένα μη-κινητικό, Gram⁺ βακτήριο, μεγέθους 0.5 - 1.5 μm και ανήκει στην οικογένεια *Micrococcaceae*. Τα γένη των οικογενειών *Micrococcaceae* και *Streptococcaceae* διαχωρίζονται με τη δοκιμασία παραγωγής της καταλάσης, καθώς το συγκεκριμένο ένζυμο παρατηρείται στα βακτήρια που διαθέτουν κυτόχρωμα, όπως τα γένη της οικογένειας *Micrococcaceae*. (Δημητρακόπουλος, 1987). Στην οικογένεια *Micrococcaceae* περιλαμβάνονται τα γένη *Staphylococcus*, *Planococcus*, *Rothia* και *Micrococcus*. Ο διαχωρισμός του γένους *Staphylococcus* από το γένος *Micrococcus*, βασίζεται στο γεγονός ότι οι σταφυλόκοκκοι διασπούν τη γλυκόζη αεροβίως και αναερόβιως ενώ οι μικρόκοκκοι διασπούν τη γλυκόζη μόνο αεροβίως (Δημητρακόπουλος, 1987). Πρόκειται για ένα προαιρετικά αναερόβιο οργανισμό, καθώς δεν είναι απαραίτητη η παρουσία οξυγόνου για την ανάπτυξή του αλλά ο ρυθμός ανάπτυξής του είναι μικρότερος σε αυτές τις συνθήκες (Pexara et al., 2012).

Η ταξινόμηση των σταφυλόκοκκων πραγματοποιείται βάσει των κριτηρίων των Kloos και Schleifer (1975) και στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται 38 είδη, που εμφανίζουν διαφορετικές βιοχημικές ιδιότητες. Ο πιο συχνά εμφανιζόμενος σταφυλόκοκκος είναι ο *S. aureus*, με το *S. epidermidis* να ακολουθεί. Η παραγωγή πηκτάσης είναι η βασική διαχωριστική ιδιότητα του *S. aureus* ενώ όλα τα άλλα είδη χαρακτηρίζονται ως πηκτάση-αρνητικοί σταφυλόκοκκοι (Coagulase Negative Staphylococci, CNS).

Σε ότι αφορά το περιβάλλον που μπορεί να βρεθεί αυτό μπορεί να είναι είτε το φυσικό περιβάλλον (αέρας, έδαφος) είτε σε διάφορους οργανισμούς όπως είναι ο άνθρωπος και διάφορα είδη ζώων (Noble & Pitcher, 1978). Μερικά είδη σταφυλόκοκκου παρατηρούνται μόνο σε ζώα ενώ κάποια άλλα έχουν απομονωθεί από συγκεκριμένες ανατομικές περιοχές στον άνθρωπο. Ο *S. aureus* αποικίζει κυρίως τις ρινικές κοιλότητες και το δέρμα (Weinstein, 1959).

Πολλά στελέχη κατά την καλλιέργειά τους παράγουν αποικίες που έχουν κίτρινο χρώμα, γι' αυτό και ονομάστηκε έτσι το συγκεκριμένο βακτήριο (*S. aureus*, σταφυλόκοκκος ο χρυσίζων (Huong et al., 2010) (Εικόνα I).



Εικόνα Ι. Μορφολογία του *S. aureus* σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (κάτω αριστερά) και σε θρεπτικό υλικό τρυπτικό άγαρ σόγιας (tryptic soy agar) (<http://phil.cdc.gov>).

1.2.2. Ανάπτυξη

Σε σχέση με την θερμοκρασία ανάπτυξης του μικροοργανισμού, αν και οι σταφυλόκοκκοι είναι γενικά μεσόφιλοι, ορισμένα στελέχη του *S. aureus* μπορούν και αναπτύσσονται και σε χαμηλές θερμοκρασίες μέχρι και $6,7^{\circ}\text{C}$ (Angelotti et al., 1961). Γενικά ανάπτυξη παρατηρείται σε εύρος θερμοκρασιών που κυμαίνονται από $7-47,8^{\circ}\text{C}$ (Smith et al., 1983) με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 37°C . Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ελάχιστη και μέγιστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι ποικίλοι και σε αυτούς περιλαμβάνονται το pH, η παρουσία ή απουσία οξυγόνου, η ενεργότητα νερού (a_w) και η συγκέντρωση NaCl. Αναλυτικότερα, το βακτήριο αυτό αναπτύσσεται σε εύρος pH 4,2-9,3, με βέλτιστη ανάπτυξη σε 7-7,5. Η ανάπτυξη του βακτηρίου μπορεί να ανασταλεί παρουσία 0,1% οξικού οξέος (pH 5,1). Αναφορικά με την ατμόσφαιρα, ο *S. aureus* αναπτύσσεται καλύτερα παρουσία οξυγόνου, αλλά μπορεί να αναπτυχθεί και αναερόβια. Ακόμα, έχει παρατηρηθεί επιβράδυνση της ανάπτυξης του μικροοργανισμού με 80% CO_2 συγκριτικά με την ανάπτυξη σε παρουσία μόνο οξυγόνου. Όπως προαναφέρθηκε ο *S. aureus* είναι ένα αλόφιλο βακτήριο οπότε και αναπτύσσεται καλά σε συγκέντρωση NaCl 7-10% ενώ σε ορισμένα στελέχη έχει παρατηρηθεί ανάπτυξη μέχρι και σε συγκέντρωση 20%. Αναφορικά με την ενεργότητα νερού, το βακτήριο αναπτύσσεται μέχρι και σε τιμή 0,83 αν και η τιμή a_w 0,86 αναγνωρίζεται ως ελάχιστη (FDA 2012). (Πίνακας Ι).

Επιπροσθέτως, έχει παρατηρηθεί ότι η ελάχιστη τιμή pH στην οποία μπορεί να αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης NaCl καθώς η προσθήκη 4% NaCl φάνηκε να αυξάνει την τιμή αυτή. Παρόλα αυτά, το βακτήριο δεν αναπτύχθηκε σε τιμή pH 4,3, a_w 0,85 και θερμοκρασία 8°C αλλά ούτε και σε συνδυασμό $\text{pH}<5,5$, a_w 0,90 ή 0,93 και θερμοκρασία 12°C καθώς και $\text{pH}<4,9$, a_w 0,96 και θερμοκρασία 12°C , γεγονός που υποδηλώνει κάποια συσχέτιση μεταξύ των παραγόντων αυτών (Notermans & Heuvelman, 1983).

Ο *S. aureus* μπορεί να μολύνει τα τρόφιμα κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας και επεξεργασίας τους και λόγω των χαρακτηριστικών του μπορεί να αναπτυχθεί σε μία ευρεία ποικιλία τροφίμων. Έχει παρατηρηθεί ότι είναι σχετικά ευαίσθητος στον μικροβιακό ανταγωνισμό με κύριους ανταγωνιστές διάφορα είδη βακτηρίων

συμπεριλαμβανομένων των *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *S. epidermidis*, των εντεροβακτηριδίων, των λακτοβακτηρίων και των εντερόκοκκων (Mossel, 1975). Παρόλα αυτά, λόγω της ικανότητάς του να αναπτύσσεται κάτω από συνθήκες οσμωτικού και pH στρες μπορεί και αναπτύσσεται σε ποικιλία τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων και των αλλαντικών στα οποία δεν αναπτύσσονται άλλα παθογόνα τροφίμων. Επιπλέον, τα παραπάνω συμβάλλουν στην ικανότητα επιβίωσής του στον αέρα, στην σκόνη και στο έδαφος από όπου και απομονώνεται συχνά (Montville & Matthews, 2008).

Πίνακας Ι. Συνθήκες ανάπτυξης του βακτηρίου *S.aureus* .

| | Ανάπτυξη βακτηρίου | |
|---------------------------|--------------------|------------|
| | Βέλτιστο | Εύρος |
| Θερμοκρασία (°C) | 37 | 7–48 |
| pH | 7–7,5 | 4,2–9,3 |
| Ενεργότητα νερού(a_w) | 0,98 | 0,86–>0,99 |

1.2.3. Επιβίωση

Ο *S. aureus* καταστρέφεται κατά τη διαδικασία της παστερίωσης ή κατά το μαγείρεμα. Αναφορικά με τις τιμές D στους 60°C, αυτές ποικίλουν από 2 έως 50 min, ανάλογα με το είδος του τροφίμου. Τα κύτταρα του μικροοργανισμού είναι ευαίσθητα σε pH 7,2 με τιμή $D_{140°F} = 0,11$ min ενώ εμφανίζουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα σε γάλα με pH 6,9 με τιμή $D_{140°F} = 10,0$ min. Σε αλλαντικά τύπου Φρανκφούρτης θερμική επεξεργασία στους 71,1°C φαίνεται να καταστρέφει την πλειοψηφία των στελεχών του *S. aureus* (Palumbo et al., 1977). Ακόμα ο μικροοργανισμός παρουσιάζει ανθεκτικότητα στην ιονίζουσα αλλά όχι στην UV ακτινοβολία συγκριτικά με τα μη σπορογόνα βακτήρια όπως η *Salmonella* και το *E. coli* με τις τιμές D να υπολογίζονται στα 0,45 kGy.

1.2.4. Ένζυμα και τοξίνες

Ο *S. aureus* παράγει μια ποικιλία τοξινών και ενζύμων. Κάποιες από αυτές τις ουσίες που παράγει συνδέονται άμεσα με την παθογόνο δράση του μικροοργανισμού ενώ άλλες χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση του. Αναλυτικότερα, ένζυμα όπως είναι η πηκτάση και η καταλάση χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση του.

Το ένζυμο πηκτάση παρατηρείται εκτός του κυττάρου και προκαλεί την πήξη του αίματος τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα ενώ η παραγωγή του πραγματοποιείται μόνο από στελέχη του βακτηρίου *S. aureus*. Επίσης τα εν λόγω βακτήρια παράγουν την σταφυλοκινάση που λύει το ινώδες και την υαλουρονιδάση που βοηθά στην εξάπλωση

του βακτηρίου στον ξενιστή. Σε κάποια στελέχη παρατηρείται παραγωγή λιπασών (Δημητρακόπουλος, 1987).

Ένα από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά του *S. aureus* είναι η παραγωγή β-λακταμασών. Πρόκειται για εξωκυττάρια ένζυμα, τα οποία έχουν την ιδιότητα να αδρανοποιούν την πενικιλίνη καθώς και άλλα αντιβιοτικά με παρόμοια δομή και ως εκ τούτου ευθύνονται για την ανθεκτικότητα του βακτηρίου σε μεγάλο εύρος αντιβιοτικών. Ένα άλλο χαρακτηριστικό του *S. aureus* αλλά και των σταφυλόκοκκων γενικότερα αποτελεί η παραγωγή μεγάλου αριθμού τοξινών. Αυτές μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις μεγάλες ομάδες: Συγκεκριμένα, διακρίνονται στις κυτταροτοξίνες, αποφολιδωτικές τοξίνες (exfoliatins) και τα υπερ-αντιγόνα της πυρετογόνου τοξίνης. Στην τελευταία κατηγορία ανήκουν οι εντεροτοξίνες και η τοξίνη τοξικής καταπληξίας (TSST τοξίνη, toxic shock syndrome toxin) (Δημητρακόπουλος, 1987).

Στις κυτταροτοξίνες ανήκουν η λευκοκτονίνη και οι αιμολυσίνες. Η λευκοκτονίνη είναι μια από τις πιο επικίνδυνες τοξίνες καθώς προκαλεί την ελευθέρωση ενζύμων από τα λυσοσώματα των λευκών αιμοσφαιρίων, με σκοπό την καταστροφή διαφόρων συστατικών των κυττάρων. Η τοξική από τις λευκοκτονίνες είναι η Panton-Valentine λευκοκτονίνη (PVL). Μόνο το 2-3% των στελεχών του *S. aureus* παράγει την συγκεκριμένη τοξίνη (Δημητρακόπουλος, 1987).

Σε ότι αφορά τις αιμολυσίνες αυτές διακρίνονται με βάση τις ξεχωριστές τους ιδιότητες. Συγκεκριμένα, η α- αιμολυσίνη προκαλεί την λύση των πολυμορφοπύρηνων στον άνθρωπο και των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε κάποια είδη ζώων. Ακόμα προκαλεί νέκρωση του δέρματος και μπορεί να δράσει και ως νευροτοξίνη. Η β-αιμολυσίνη έχει δράση σφιγγομυελίνης και παρουσιάζει μεγάλη συγγένεια για την σφιγγομυελίνη. Δρα εναντίον πολλών κυττάρων συμπεριλαμβανομένων των ερυθροκυττάρων, λευκοκυττάρων, ινοβλαστών και μακροφάγων. Η γ-αιμολυσίνη λύει επίσης τα ερυθρά αιμοσφαίρια κι δρα ως τοξίνη. Τέλος η δ-αιμολυσίνη είναι μια επιφανειοδραστική ουσία που καταστρέφει τις κυτταρικές μεμβράνες κατά παρόμοιο τρόπο με αυτό τον απορρυπαντικών. Παρουσιάζει μεγάλο εύρος κυτταρολυτικής δράσης καθώς επηρεάζει τα ερυθροκύτταρα και άλλα κύτταρα θηλαστικών, καθώς επίσης και ορισμένα υποκυτταρικά οργανίδια όπως είναι οι πρωτοπλάστες, οι σφαιροπλάστες και τα λυσοσώματα (Dinges et al., 2000).

Οι αποφολιδωτικές τοξίνες (exfoliatins) ή επιδερμολυτικές τοξίνες είναι πρωτεάσες που δρουν διασπώντας τους πεπτιδικούς δεσμούς πρωτεϊνών που βρίσκονται στα επιθηλιακά κύτταρα. Αυτές οι τοξίνες προκαλούν απόπτωση της επιδερμίδας και συγκεκριμένα είναι το αίτιο του συνδρόμου σταφυλοκοκκικής τοξικής επιδερμικής νεκρόλυσης (staphylococcal scalded skin syndrome) που συνήθως παρατηρείται σε παιδιά (Gammell, 1995).

Τα υπερ-αντιγόνα της πυρετογόνου τοξίνης είναι εξωκυττάρια πρωτεΐνες με την ικανότητα να προκαλούν εκτεταμένο πολλαπλασιασμό T-λεμφοκυττάρων και απελευθέρωση κυτταροκινών. Αυτές οι εξωκυττάρια πρωτεΐνες που παράγονται από τον σταφυλόκοκκο και έχουν υπερ-αντιγονικές ιδιότητες περιλαμβάνουν τις εντεροτοξίνες και την τοξίνη τοξικής καταπληξίας (TSST). Η τοξίνη τοξικής καταπληξίας προκαλεί το σύνδρομο της τοξικής καταπληξίας και δημιουργεί πονοκέφαλο, αποπροσανατολισμό, και εξανθήματα και είναι η πρώτη τοξίνη που βρέθηκε να εμπλέκεται στο τοξικό σύνδρομο του ανθρώπου και των ζώων. Η TSST-1 κάποτε αναφέρθηκε ως εντεροτοξίνη

F (Bergdoll et al., 1991). Αν και η τοξίνη αυτή έχει πολλές κοινές βιολογικές δραστηριότητες με τις σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες, δεν προκαλεί έμετο και δεν είναι εντεροτοξίνη.

1.2.5. Σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες

Οι σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες είναι εξωπρωτεΐνες μοριακού βάρους 26,000 - 29,600 Da και ανήκουν στην μεγάλη οικογένεια των πυρογενών τοξινών, γνωστές και ως υπεραντιγόνα (Normanno et al., 2005). Στις σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες συμπεριλαμβάνονται οι ακόλουθοι 5 τύποι: SEA, SEB, SEC, SED και SEE. Στην περίπτωση των SEC έχουν ταυτοποιηθεί άλλοι τρεις υπότυποι (SEC1, SEC2 και SEC3) (Balaban & Rasooly 2000). Αργότερα ανακαλύφθηκαν άλλοι τέσσερις τύποι σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών (SEG, SEH, SEI και SEJ), χωρίς όμως να έχει αποσαφηνιστεί ο ρόλος που διαδραματίζουν αυτοί (Vernozy-Rozand et al., 2004; Boerema et al., 2006). Πιο πρόσφατα στοιχεία οδήγησαν στον προσδιορισμό επιπλέον «νέων» γονιδίων για την παραγωγή σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών. Οι νέες αυτές σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες αναφέρονται ως σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες του τύπου ΣΕ “staphylococcal enterotoxins-like” (SEI) και ο ρόλος τους στην πρόκληση τροφιμογενούς νόσου δεν έχει ακόμη πλήρως διευκρινιστεί (Pexara et al., 2010).

Οι κλασικές σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες (SEA-SEE) εμπλέκονται αποδεδειγμένα στην πρόκληση τροφιμογενούς νόσου και ευθύνονται για το 95% των περιστατικών σταφυλοκοκκικής τοξίνωσης. Παρόλο που ο ρόλος των περισσότερων από τις νέες τοξίνες δεν έχει ακόμη πλήρως διευκρινιστεί, το υπόλοιπο 5% των περιπτώσεων φαίνεται να σχετίζεται με αυτές (Bergdoll & Lee Wong, 2006).

Γενικά, αν και κάθε σταφυλοκοκκική εντεροτοξίνη παρουσιάζει ξεχωριστές φυσικοχημικές ιδιότητες, παρόλα αυτά διαθέτουν και πολλά κοινά χαρακτηριστικά. Αναλυτικότερα, οι εντεροτοξίνες παρουσιάζουν σημαντική θερμοανθεκτικότητα γεγονός που επιτρέπει την παρουσία τους σε διάφορα τρόφιμα ακόμα και απουσία του ίδιου του μικροοργανισμού (Jorgensen et al., 2005; Jablonski & Bohach, 1997). Η σταθερότητα στη θερμότητα εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων όπως είναι το θρεπτικό υλικό ανάπτυξης ή τα τρόφιμα, τον τύπο της τοξίνης, το pH, την αλατότητα και άλλους περιβαλλοντολογικούς παράγοντες που σχετίζονται με τα επίπεδα μετουσίωσης των τοξινών. Οι σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες έχουν τιμές D_{121} από 3 min μέχρι 8 min (Asperger & Zangerl, 2003). Έχει, επίσης, αναφερθεί η ανθεκτικότητα των σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών στην δράση πρωτεολυτικών ενζύμων, όπως είναι η θρυψίνη, η χυμοθρυψίνη, η ρεννίνη και η παπαΐνη (Bergdoll, 1967) και η ικανότητα να δρουν ακόμα και στις συνθήκες χαμηλού pH που παρατηρείται στο γαστρεντερικό σύστημα (le Loir et al., 2003).

Όπως προαναφέρθηκε, η ανάπτυξη των σταφυλόκοκκων δεν συνεπάγεται απαραίτητα και την παραγωγή εντεροτοξινών, καθώς έχει παρατηρηθεί ανάπτυξη του μικροοργανισμού χωρίς παραγωγή των σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών. Ο αριθμός των κυττάρων *S. aureus* που απαιτούνται για την ελάχιστη τοξική δόση των σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών στον άνθρωπο, εξαρτάται από το τρόφιμο και τον τύπο της εντεροτοξίνης. Συγκεκριμένα, η SEA μπορεί να ανιχνευθεί σε μικρό πληθυσμό του βακτηρίου (10^4 cfu/g)

σε εργαστηριακό θρεπτικό υλικό ανάπτυξης (Hirooka et al., 1987), ή σε μεγαλύτερο πληθυσμό (10^7 cfu/g) στα προϊόντα κρέατος (Notermans et al., 1983). Γενικά, θεωρείται ότι οι σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες παράγονται σε τρόφιμα σε τοξικές δόσεις για τον άνθρωπο, όταν η συγκέντρωση *S. aureus* ξεπερνά 10^5 cfu/g (Le Loir et al., 2003; Tranter, 1996). Αναφορικά με την παραγωγή των εντεροτοξινών, οι σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες μπορούν να παραχθούν σε εύρος θερμοκρασιών από 10 μέχρι 46°C, με βέλτιστη θερμοκρασία στους 40-45°C. Παράλληλα, η παραγωγή των εντεροτοξινών στα προϊόντα κρέατος πραγματοποιείται κάτω από αναερόβιες συνθήκες κατά τη διάρκεια της συντήρησης στους 10°C για πολλές εβδομάδες (Genigeorgis et al., 1969; Tatini, 1973) ενώ σε μη παστεριωμένο γάλα στους 10°C, η παραγωγή των σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών παρατηρήθηκε μετά από τρεις εβδομάδες (Schmitt et al., 1990). Η παραγωγή των τοξινών αυτών παρατηρείται κατά κύριο λόγο σε τρόφιμα που διατηρούνται στους 14 με 15°C για αρκετές ημέρες ή σε θερμοκρασία δωματίου για αρκετές ώρες (Schmitt et al., 1990). Ακόμα, η παραγωγή των σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών πραγματοποιείται σε pH που κυμαίνεται από 4,8 με 9,0 με βέλτιστο 5,3-7,0, ενεργότητα νερού (a_w) 0,86-0,99 με βέλτιστο 0,90 (Smith et al., 1983). (Πίνακας II). Παραγωγή των σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών έχει παρατηρηθεί και σε θρεπτικά υλικά με 10% NaCl και pH 5,45 ή υψηλότερο ενώ παραγωγή δεν παρατηρήθηκε σε θρεπτικά υλικά με 12% NaCl (Genigeorgis et al., 1971). Επίσης, ο μικροβιακός ανταγωνισμός φαίνεται να επηρεάζει την παραγωγή των εντεροτοξινών. Η ανάπτυξη κάποιων λακτοβάκιλλων (lactic acid bacteria, LAB) έχει σαν αποτέλεσμα την μείωση της παραγωγής της SEA λόγω των διάφορων ενζύμων και μεταβολιτών που παράγονται από τα βακτήρια αυτά (Chordash & Potter, 1976).

Πίνακας II. Συνθήκες παραγωγής εντεροτοξινών του βακτηρίου *S.aureus* .

| | Παραγωγή εντεροτοξίνης | |
|-------------------------|------------------------|------------|
| | Βέλτιστο | Εύρος |
| Θερμοκρασία (°C) | 40-45 | 10-46 |
| pH | 5,3-7,0 | 4,8-9 |
| Ενεργότητα νερού | 0,90 | 0,86->0,99 |

Οι σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες έχουν συσχετιστεί με τροφιμογενείς ασθένειες, αρκετές αλλεργικές και αυτοάνοσες ασθένειες καθώς και σύνδρομο τοξικής καταπληξίας. Οι σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες αποτελούν δυνητικές γαστρεντερικές τοξίνες, αλλά και υπεραντιγόνα καθώς ενεργοποιούν τον πολλαπλασιασμό των μη ειδικών T-λεμφοκυττάρων (Harris et al., 1993). Γενικά, η δράση των σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών σαν υπεραντιγόνα είναι πολύ καλά μελετημένα και έχει βρεθεί ότι τα επιθηλιακά κύτταρα της εντερικής οδού συνεισφέρουν στην μεταφορά των σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών στον οργανισμό του ατόμου (Shupp et al., 2002). Η ικανότητα των σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών να προκαλούν έμεση, οφείλεται στη δράση του επιθηλίου του εντέρου ή στην ενεργοποίηση του κέντρου έμεσης μέσω του πνευμονογαστρικού νεύρου (Le Loir et al., 2003). Παράλληλα, διάφορες μελέτες καταδεικνύουν ότι οι εντεροτοξίνες SEA και SEB επάγουν την παραγωγή των κυτταροκινών, οι οποίες είναι σημαντικές για την έναρξη της φλεγμονώδους αντίδρασης αλλά και της διάρροιας (Pinchuk et al., 2007).

1.2.6. Παρουσία του *S. aureus* στα τρόφιμα

Σε κάθε περίπτωση σταφυλοκοκκικής τοξίνωσης, τα τρόφιμα που καταναλώθηκαν είχαν μολυνθεί από κάποιο στέλεχος του *S. aureus* που παράγει εντεροτοξίνες. Η τοξίνωση αυτή είναι μία από τις πιο συχνές αιτίες τροφιμογενών νοσημάτων παγκοσμίως. Τελευταία δεδομένα έδειξαν ότι στις ΗΠΑ ο *S. aureus*, μαζί με το *Escherichia coli* που παράγει την τοξίνη Shiga, είναι το τρίτο πιο συχνό παθογόνο βακτήριο (9,8%) και ακολουθούν η *Salmonella* (39,7%) και το *Clostridium perfringens* (11,5%) (Centers for Disease Control and Prevention, 2009). Η αναφορά από την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (European Food Safety Authority, EFSA) που περιείχε δεδομένα από 17 κράτη μέλη, έδειξε ότι ο *S. aureus* ήταν ο τέταρτος κοινός παράγοντας δημοσιευμένων τροφιμογενών κρουσμάτων το 2008 με την σαλμονέλα, τους τροφιμογενείς ιούς και το *Campylobacter* να ακολουθούν (EFSA, 2010). Ο *S. aureus* έχει προκαλέσει 291 τροφιμογενή κρούσματα τα οποία συνιστούν το 5,5% των συνολικών κρουσμάτων στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Παρόλα αυτά, θα πρέπει να σημειωθεί ότι ενδεχομένως οι αναφορές αυτές είναι μεροληπτικές καθώς η Γαλλία και η Γερμανία ήδη αντιπροσωπεύουν πάνω από το 40% όλων των κρουσμάτων στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Στην Αγγλία και την Ουαλία, ο *S. aureus* αποτελεί μόνο το 1,5% όλων των κρουσμάτων από το 1992 έως 2009 και βρίσκεται στην έκτη θέση των πιο συχνών βακτηρίων για την ίδια χρονική περίοδο (Health Protection Agency, UK 2010).

Στην Ιαπωνία, έχουν καταγραφεί στο παρελθόν πολλά κρούσματα σταφυλοκοκκικής τοξίνωσης. Το 2000, μία έξαρση κρουσμάτων έλαβε χώρα στο Κανσάι επηρεάζοντας 13,420 άτομα (Asao et al., 2003). Μετά από διερεύνηση των κρουσμάτων αποδείχθηκε ότι το τρόφιμο που ήταν υπεύθυνο ήταν γαλακτοκομικά προϊόντα που παρασκευάστηκαν σε εργοστάσιο που αντιμετώπισε προβλήματα με την ηλεκτροδότηση κατά τη διαδικασία παρασκευής. Σύμφωνα με τα στατιστικά δεδομένα του Υπουργείου Υγείας της Ιαπωνίας, 536 κρούσματα τροφιμογενών νοσημάτων καταγράφηκαν το 2009 και το 7,6% των περιστατικών αυτών προκλήθηκαν από το *S. aureus*, επηρεάζοντας 690 άτομα (Food Safety Division, the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan).

Εκτός από το κρούσμα στην Ιαπωνία, κρούσματα μεγάλης κλίμακας έχουν αναφερθεί και σε άλλες χώρες τις τελευταίες δεκαετίες. Στη Βραζιλία, ένα μαζικό περιστατικό σταφυλοκοκκικής τοξίνωσης που επηρέασε 4,000 άτομα αναφέρθηκε το 2004 (Do Carmo et al., 2004). Σε αυτή την περίπτωση τα τρόφιμα είχαν μολυνθεί από τα άτομα που τα διαχειρίζονταν και οι οποίοι βρέθηκαν να είναι θετικοί για την ύπαρξη του *S. aureus*. Σε ένα άλλο κρούσμα γαστρεντερίτιδας που αναφέρθηκε στις ΗΠΑ το 1988, πάνω από 850 εμφάνισαν συμπτώματα της νόσου. Διερεύνηση της πηγής του κρούσματος έδειξε ότι οφειλόταν σε σοκολατούχο γάλα που περιείχε σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες (Evenson et al., 1988).

Τα τρόφιμα τα οποία ενοχοποιούνται στις περισσότερες σταφυλοκοκκικές τοξινώσεις περιλαμβάνουν κρέας και προϊόντα κρέατος, προϊόντα πουλερικών και αυγών, σαλάτες, γλυκά με κρέμα, σάντουιτς καθώς και γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα (The Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, USA) (Πίνακας III). Παρόλα αυτά, τα τρόφιμα που εμπλέκονται στα διάφορα κρούσματα διαφέρουν σημαντικά από χώρα σε χώρα λόγω της ποικιλότητας που παρατηρείται στην

κατανάλωση τροφίμων και στις διατροφικές συνήθειες. Παραδείγματος χάριν, στην Αγγλία και στην Ουαλία, το 60% των κρουσμάτων σταφυλοκοκκικών τοξινώσεων που αναφέρθηκαν μεταξύ των ετών 1992 και 2009 οφειλόταν στην κατανάλωση κρέατος πουλερικών και κόκκινου κρέατος (Health Protection Agency, UK). Αντιθέτως, στην Ιαπωνία το 36% των κρουσμάτων ΣΤ από το 1995 μέχρι το 1999 οφειλόταν στην κατανάλωση δημητριακών όπως είναι το ρύζι και σύνθετες έτοιμες προς κατανάλωση τροφές, το 5,6% των περιστατικών αυτών οφειλόταν στην κατανάλωση ψαριών και οστρακοειδών και λιγότερο από το 1% οφειλόταν σε προϊόντα γάλακτος (Infectious Disease Surveillance Center, Japan, 2001). Στο Ηνωμένο Βασίλειο το 53% των περιστατικών ΣΤ που αναφέρθηκαν μεταξύ 1969 και 1990 συνδέθηκαν με τη κατανάλωση προϊόντων κρέατος, γεύματα με βάση το κρέας και ιδιαίτερα αυτά που περιείχαν χοιρομήριο (ham), 22% αυτών των περιστατικών οφειλόταν σε κρέας πουλερικών (Wieneke et al., 1993).

Παρά το γεγονός ότι ο *S. aureus* αποικίζει ένα μεγάλο εύρος ζώων, συνήθως οι άνθρωποι είναι υπεύθυνοι για την μόλυνση των τροφίμων από το εν λόγω βακτήριο (Montville & Matthews, 2008). Στα νοπιά τρόφιμα η μόλυνση προέρχεται κυρίως από τα ζώα, ενώ στο κρέας που έχει υποστεί κάποια επεξεργασία, η κύρια πηγή μόλυνσης είναι ο άνθρωπος. Ο επιπολασμός των στελεχών *S. aureus* που παράγουν εντεροτοξίνες σε άτομα που διαχειρίζονται τρόφιμα διαφέρει ανάλογα τον τύπο βιομηχανίας αλλά και την χώρα. Τα ποσοστά επιπολασμού διαφόρων μικρών μελετών ποικίλλουν από 2% στα άτομα που διαχειρίζονται τρόφιμα στην Ιταλία (Talarico et al., 1997), 12% στην Φιλανδία (Hatakka et al., 2000), 19% στη Χιλή (Figueroa et al., 2002) μέχρι και 62% στην Ινδία (Simon & Sanjeev, 2007).

Οι μαστοί και οι θηλές των αγελάδων είναι γνωστές πηγές ανάπτυξης του *S. aureus*, και η εμφάνιση του στο μη παστεριωμένο γάλα και τυρί είναι συχνή. Οι αμυγδαλές και το δέρμα των χοίρων, των κοτόπουλων και των γαλοπουλών συχνά φέρουν αποικίες του βακτηρίου και ως εκ τούτου αποτελούν πηγές μετάδοσής του (Stewart, 2003).

Μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Τουρκία παρατήρησε την παρουσία του *S. aureus* σε ποσοστό 11,3% στο κρέας, 10,2% στο μη παστεριωμένο γάλα, 8,0% σε γαλακτοκομικά προϊόντα, 3,5% σε προϊόντα αρτοποιίας και 2,3% σε έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα (Aydin et al., 2011). Μια ιταλική μελέτη έδειξε ότι το 9,2% των γαλακτοκομικών προϊόντων και το 5,0% των προϊόντων κρέατος ήταν θετικά ως προς την ύπαρξη *S. aureus* (Normanno et al., 2007) ενώ στην Ιαπωνία έρευνα που πραγματοποιήθηκε έδειξε ότι το 17,6% του ωμού κρέατος κοτόπουλου παρουσίαζε το βακτήριο (Kitai et al., 2005).

Πίνακας III. Δημοσιευμένες εξάρσεις κρουσμάτων σταφυλοκοκκικής τοξίνωσης.

| Έτος | Άτομα που νόσησαν (θνησιμότητα) | Τρόφιμο | Χώρα | Σχόλια | Βιβλιογραφία |
|---------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------|---|------------------------|
| 2007 | 400 (1) | UHT γάλα | Παραγουάη | Μόλυνση μετά την παστερίωση από τον χειρίστη της γραμμής παραγωγής | (Weiler et al. 2011) |
| 2006 | 113 | Κοτόπουλο και ρύζι | Αυστρία | Άτομο που εργαζόταν στην κουζίνα ήταν θετικός για το <i>S. aureus</i> | (Schmid et al. 2007) |
| 2000 | 13,420 | Αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη | Ιαπωνία | Η παραγωγή του γάλακτος σταμάτησε και καθυστέρησε για 9 ώρες λόγω διακοπής ρεύματος, γεγονός που επέτρεψε την ανάπτυξη του <i>S. aureus</i> και την παραγωγή εντεροτοξινών. Οι εντεροτοξίνες δεν καταστράφηκαν κατά την παστερίωση όπως το <i>S. aureus</i> | (Asao et al. 2003) |
| 1998 | 4000 (16) | Κοτόπουλο, μοσχάρι, ρύζι, φασόλια | Βραζιλία | Η προετοιμασία του φαγητού ξεκίνησε 48 ώρες πριν την κατανάλωσή του, το οποίο αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για μια μέρα. Όλα τα άτομα που ασχολήθηκαν με την προετοιμασία ήταν θετικά για το <i>S. aureus</i> | (Do Carmo et al. 2004) |
| 1990 | 100 | Ζαμπόν (χοιρομήριο) | ΗΠΑ | Το άτομο που διαχειρίστηκε το τρόφιμο ήταν θετικό για το <i>S. aureus</i> και δεν χρησιμοποίησε γάντια. Μη σωστή ψύξη. | (Richards et al. 1993) |
| 1989 | 99 | Κονσερβοποιημένα Μανιτάρια | ΗΠΑ | Τα μανιτάρια επιλέχθηκαν και τακτοποιήθηκαν με το χέρι. Τα μανιτάρια αποθηκεύτηκαν χωρίς ψύξη σε πλαστικές σακούλες, γεγονός που επέτρεψε την ανάπτυξη του <i>S. aureus</i> και την παραγωγή εντεροτοξινών. Έλλειψη συνθηκών υγιεινής. Εισαγόμενο προϊόν | (Levine et al. 1996) |
| Μέσα δεκαετίας 1980 | >850 | Σοκολατούχο γάλα | ΗΠΑ | Τα γάλα αποθηκεύτηκε για αρκετές ώρες σε μη σωστή θερμοκρασία πριν την παστερίωση, γεγονός που επέτρεψε την ανάπτυξη του <i>S. aureus</i> και την παραγωγή εντεροτοξινών. | (Evenson et al. 1988) |

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

Ο *S. aureus* στον άνθρωπο

Ο *S. aureus* είναι ένας από τους κύριους παθογόνους μικροοργανισμούς ικανός να προκαλέσει ποικιλία λοιμώξεων, από απλές μολύνσεις του δέρματος, όπως θυλακίτιδα, μέχρι και καταστάσεις που μπορεί να θεωρηθούν απειλητικές για την ζωή του ατόμου, όπως σήψη, πνευμονία, οστεομυελίτιδα και λοιμώδη ενδοκαρδίτιδα (Lowy, 1998; Moreillon et al., 2005) (Εικόνα II). Στον άνθρωπο, συναντάμε συνήθως τα *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* και *S. saprophyticus*, με τον *S. aureus* να θεωρείται το πιο επικίνδυνο είδος από όλα. Σε αντίθεση με τα περισσότερα είδη του γένους *Staphylococcus*, ο *S. aureus* μπορεί να είναι παθογόνο απουσία προδιαθεσιακών παραγόντων, όπως είναι η ανοσοκαταστολή (Moreillon et al., 2005). Γενικά έχει παρατηρηθεί ότι καθώς ο παθογόνος μικροοργανισμός *S. aureus* έχει την ικανότητα να προσαρμόζεται σε διαφορετικά περιβάλλοντα, αυτό του δίνει την δυνατότητα να μπορεί να αποικίσει στο ανθρώπινο δέρμα, στα νύχια, στη ρινική κοιλότητα δημιουργώντας λοιμώξεις ενώ επιπλέον μπορεί να μεταδοθεί μεταξύ των διάφορων ξενιστών του μέσω της φυσικής επαφής και των αερολυμάτων (Lowy, 1998). Συνήθως οι λοιμώξεις που προκαλούνται από τον *S. aureus* κυρίως αφορούν την επιδερμίδα, μαλακούς ιστούς, την αναπνευστική οδό, τα οστά, τους συνδέσμους και το ενδοθήλιο των αγγείων. Επιπλέον, εμφανίζει μεγάλη ανθεκτικότητα σε ποικιλία αντιβιοτικών με αποτέλεσμα να μην μπορεί να αντιμετωπιστεί εύκολα και ως εκ τούτου να δημιουργεί σημαντικότερες λοιμώξεις.

Τα στάδια παθογένειας της λοίμωξης από τον *S. aureus* είναι τα ακόλουθα: (1) αποικισμός, (2) τοπική μόλυνση, (3) συστηματική διασπορά ή/και σήψη, (4) μεταστατική λοίμωξη και (5) τοξίνωση. Περίπου το 30% των υγιών ατόμων έχουν αποικίες του συγκεκριμένου μικροοργανισμού, συνήθως στη ρινική κοιλότητα αλλά και στον κόλπο και την περιπρωκτική περιοχή (Gordon, 1998). Ο μικροοργανισμός μπορεί να υπάρχει στο οργανισμό χωρίς να δίνει συμπτώματα για εβδομάδες ή μήνες. Ο αποικισμός συνήθως προηγείται της λοίμωξης. Οι δερματικές αλλοιώσεις είναι αποτέλεσμα της επώασης του μικροοργανισμού στο δέρμα από το σημείο μεταφοράς του. Η λοίμωξη μπορεί να εξαπλωθεί τοπικά ή ακόμα και να εισέρθει στην κυκλοφορία του αίματος. Μόλις εισέλθει ο μικροοργανισμός στην κυκλοφορία του αίματος διασπείρεται εκτενώς σε όργανα και μπορεί να προκαλέσει σηπτικό σοκ καθώς και άλλες πολύ σοβαρές ασθένειες (ενδοκαρδίτιδα, οστεομυελίτιδα κλπ.). Χωρίς θεραπεία, το ποσοστό θνησιμότητας λόγω διασποράς της λοίμωξης είναι αυξημένο. Παρόλα αυτά, ακόμα και αν ο μικροοργανισμός δεν εισέλθει στην κυκλοφορία του αίματος, αρκετά σύνδρομα μπορεί να δημιουργηθούν λόγω της τοπικής ή συστηματικής δράσης συγκεκριμένων τοξινών του μικροοργανισμού (Gordon, 1998).

Κάθε χρόνο χιλιάδες ασθενείς παγκοσμίως οδηγούνται στο νοσοκομείο λόγω μιας σταφυλοκοκκικής λοίμωξης (Engemann et al., 2003). Οι λοιμώξεις από σταφυλόκοκκο στον άνθρωπο είναι αρκετά συχνές. Παρόλα αυτά, στις περισσότερες περιπτώσεις η λοίμωξη παραμένει εντοπισμένη στην περιοχή εισόδου της λόγω των φυσικών μηχανισμών άμυνας του ξενιστή. Ο μικροοργανισμός συνήθως εισέρχεται από κάποια ασυνέχεια του δέρματος, μικρής ή μεγάλης, όπως συνήθως συμβαίνει με τα τραύματα που οφείλονται σε εγκαύματα (Chiller et al., 2004).

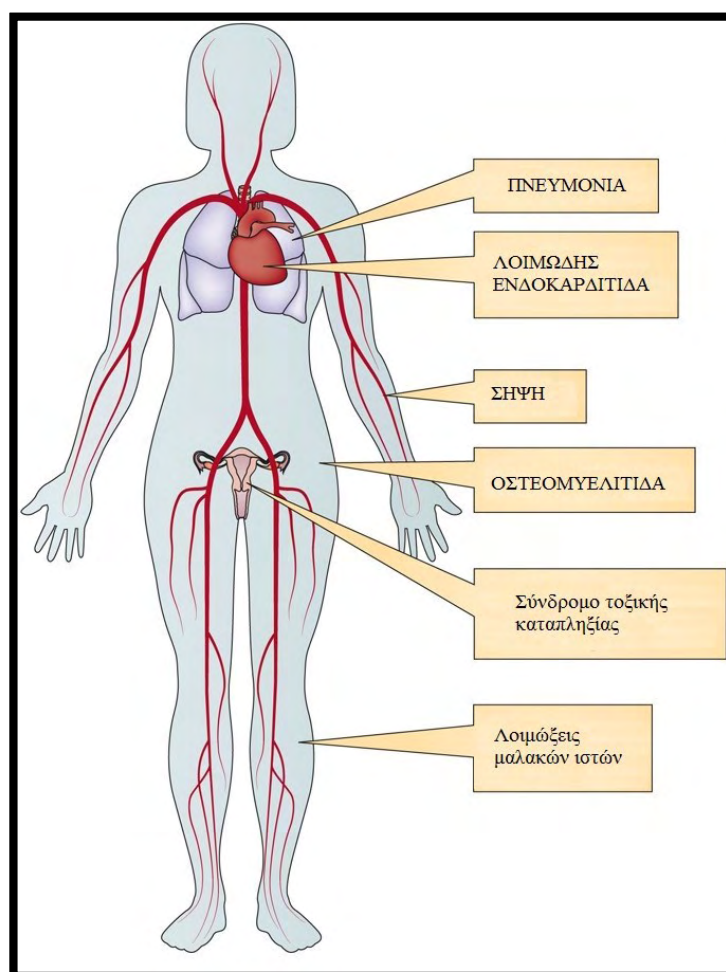
Μια άλλη πολύ σημαντική πύλη εισόδου του μικροοργανισμού στον ανθρώπινο οργανισμό είναι η αναπνευστική οδός. Η πνευμονία που οφείλεται στον *S. aureus* αποτελεί μια πολύ συχνή επιπλοκή της μόλυνσης από τον ιό της γρίπης. Σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρείται ακόμα και αιμορραγική νέκρωση του πνεύμονα και σχηματισμός αποστήματος ενώ παρουσιάζει θνησιμότητα σε ποσοστό 5-40%.

Η απάντηση του οργανισμού ξενιστή στην σταφυλοκοκκική μόλυνση είναι η φλεγμονώδης αντίδραση που χαρακτηρίζεται από αύξηση της θερμοκρασίας στο σημείο της φλεγμονής. Το οίδημα, η συσώρευση πύον και η νέκρωση του ιστού μπορεί να οφείλεται στην δράση των λευκοκυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Επίσης, ένα ινώδες πλέγμα μπορεί να σχηματιστεί γύρω από την περιοχή της φλεγμονής προκειμένου να σταματήσει η είσοδος επιπλέον βακτηρίων. Σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να λάβουν χώρα και πιο σοβαρές λοιμώξεις στο δέρμα, όπως είναι η δοθιήνωση ή το μολυσματικό κηρίο.

Εκτός όμως από αυτές τις επιφανειακές λοιμώξεις, σοβαρές λοιμώξεις μπορεί να συμβούν αν οι εν λόγω μικροοργανισμοί εισέλθουν σε όργανα ή ιστούς. Ο *S. aureus* μπορεί να προκαλέσει λοιμώξεις στους νεφρούς που ενδέχεται να οδηγήσουν ακόμα και σε νεφρική ανεπάρκεια ενώ αν μολύνει την καρδιά προκαλεί ενδοκαρδίτιδα. Το 25-35 % των περιπτώσεων ενδοκαρδίτιδας μικροβιακής φύσης οφείλεται στον *S. aureus* (Sanabria et al., 1990). Παρατηρείται συχνότερα σε ασθενείς που κάνουν χρήση ενδοφλέβιων ναρκωτικών, σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας, σε ασθενείς με προσθετικές ή φυσικές βαλβίδες αλλά και σε άλλους νοσηλεύμενους ασθενείς. Το βακτήριο αυτό μπορεί επίσης να προκαλέσει μηνιγγίτιδα (Lowy, 1998). Η οστεομυελίτιδα μπορεί να συμβεί σε περίπτωση που έχουμε λοίμωξη εντοπισμένη στα οστά και το 70% των περιπτώσεων οστεομυελίτιδας οφείλεται σε λοίμωξη από *S. aureus*. Μια ακόμα πολύ σοβαρή επίπτωση της παθογένειας σταφυλόκοκκου είναι η σηψαιμία, κατά την οποία τα βακτήρια εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος, γεγονός που μπορεί να αποβεί μοιραίο για τον οργανισμό. Η βακτηριαιμία είναι ένα πολύ σοβαρό νόσημα το οποίο μπορεί να οδηγήσει ακόμα και σε θάνατο, με το ποσοστό θνησιμότητας να κυμαίνεται στο 11-43% (Mylotte et al., 1987). Συνήθως πρόκειται για άτομα μεγαλύτερης ηλικίας με σοβαρά καρδιακά προβλήματα είτε νευρολογικές και αναπνευστικές λοιμώξεις (Ing et al., 1997). Κατά τη βακτηριαιμία παρατηρείται η δημιουργία εσωτερικών αποστημάτων. Έχει παρατηρηθεί ότι η βακτηριαιμία σχετίζεται άμεσα με τη χρήση καθετήρα (Raad et al., 1992).

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, ο *S. aureus* παράγει ποικίλες τοξίνες, κάθε μία από τις οποίες μπορεί να οδηγήσει σε διαφορετική νόσο. Στα παιδιά, η λοίμωξη από *S. aureus* μπορεί να προκαλέσει σύνδρομο τοξικής επιδερμικής νεκρόλυσης από σταφυλόκοκκο (SSSS) μέσω της ET τοξίνης (Lowy FD, 1998). Κάποια στελέχη του *S. aureus*, που εκκρίνουν την εξωτοξίνη TSST-1 στην κυκλοφορία του αίματος, είναι οι κύριοι παράγοντες που προκαλούν το σύνδρομο τοξικής καταπληξίας (TSS) (Dinges et al., 2000). Το σύνδρομο αυτό έχει συσχετιστεί και με την χρήση ταμπόν από τις γυναίκες και η TSST-1 είναι υπεύθυνη για το 75% των περιπτώσεων αυτών (Schlievert et al., 1995). Η TSST-1 παράγεται σχεδόν από όλα τα στελέχη *S. aureus* που υπάρχουν στον κόλπο κατά τη διάρκεια της έμμηνου ρύσης και σχετίζονται με το σύνδρομο τοξικής καταπληξίας. Ακόμα η TSST-1 παράγεται από το 50% των στελεχών *S. aureus* που αποικίζουν άλλα σημεία του σώματος.

Επιπλέον ο *S. aureus* μπορεί να προκαλέσει σταφυλοκοκκική τοξίνωση με την απελευθέρωση εντεροτοξινών στα τρόφιμα. Στα συμπτώματα συμπεριλαμβάνονται η ναυτία, ο έμετος, πόνος στην κοιλιακή χώρα και διάρροια (Jones et al., 2000). Σε κάποιες σοβαρές περιπτώσεις μπορεί να υπάρξουν και κεφαλαλγία, κράμπες ή αλλαγές στην πίεση του αίματος. Η γαστρεντερίτιδα τις περισσότερες περιπτώσεις είναι περιορισμένη και τα συμπτώματα υποχωρούν μέσα σε 24-48 ώρες. Παρόλα αυτά, έχουν αναφερθεί περιστατικά θανάτου κυρίως σε ηλικιωμένους και μωρά. Αν η εντεροτοξίνη απελευθερώνεται με συστηματικό τρόπο στο σώμα, μπορεί επίσης να προκαλέσει σύνδρομο τοξικής καταπληξίας.



Εικόνα II. Ασθένειες που προκαλούνται από τον *S. aureus* (τροποποίηση από Salgado-Pabón & Schlievert 2014).

Οι λοιμώξεις από τον *S. aureus* που παρουσιάζει ανθεκτικότητα στην μεθικιλίνη έχουν τα δικά τους μοναδικά χαρακτηριστικά. Αφού εμφανίσουν τα τυπικά αρχικά συμπτώματα η λοίμωξη από MRSA εξελίσσεται ραγδαία μέσα στις επόμενες 24 με 48 ώρες. Μετά από 72 ώρες, ο MRSA μπορεί να εισέλθει σε βαθύτερους ιστούς του οργανισμού και να μην μπορεί να θεραπευτεί εύκολα. Τα αρχικά συμπτώματα της λοίμωξης από MRSA παρουσιάζουν μικρές διογκώσεις που μοιάζουν με τσίμπημα αράχνης ενώ παράλληλα το άτομο μπορεί να εμφανίσει πυρετό ή σπανίως ακόμα και εξανθήματα (Porovich et al.,

2006). Εντός λίγων ημερών, γίνονται πιο επώδυνα και τελικά δημιουργούν ανοιχτές πληγές με πύον (Domínguez TJ, 2004; Pagac BB et al 2006). Το συγκεκριμένο στέλεχος σταφυλόκοκκου μπορεί να είναι πολύ δύσκολο να αντιμετωπιστεί λόγω της ικανότητάς να παρουσιάζει ανθεκτικότητα σε έναν η περισσότερους αντιμικροβιακούς παράγοντες. Η περίοδος επώασης του MRSA για τα υγιή άτομα ποικίλλει από μερικές εβδομάδες μέχρι ακόμα και χρόνια, χωρίς το άτομο να παρουσιάσει κάποιο σύμπτωμα λοίμωξης (Hidron et al., 2005). Οι ασθενείς που έχουν εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα παρουσιάζουν μεγαλύτερο κίνδυνο να νοσήσουν και πάλι από τον μικροοργανισμό αυτό (Noskin et al., 2005).

Στην πλειοψηφία των ασθενειών που προκαλούνται από τον *S. aureus*, η παθογένεια είναι πολυπαραγοντική και γενικά είναι δύσκολο να καθοριστεί ο ακριβής ρόλος οποιουδήποτε μολυσματικού παράγοντα στην ανάπτυξη των ασθενειών αυτών (Cunningham et al., 1996). Παρόλα αυτά, τα στοιχεία δείχνουν ότι η έκφραση συγκεκριμένων μολυσματικών παραγόντων συσχετίζονται με τα στελέχη που απομονώνονται από συγκεκριμένες ασθένειες, γεγονός που μπορεί να υποδηλώνει τον ακριβή τους ρόλο στις ασθένειες αυτές. Επιπλέον, η εφαρμογή διαφόρων μεθόδων μοριακής βιολογίας έχει οδηγήσει στην ανακάλυψη της παθογένειας των ασθενειών που οφείλονται στον σταφυλόκοκκο. Γονίδια που κωδικοποιούν πιθανούς μολυσματικούς παράγοντες έχουν αλληλουχηθεί και κλωνοποιηθεί, πολλές τοξίνες έχουν ταυτοποιηθεί και απομονωθεί. Στην περίπτωση κάποιων σταφυλοκοκκικών τοξινών, τα συμπτώματα των ασθενειών του ανθρώπου έχουν αναπαραχθεί σε μοντέλα ζώων με τις τοξίνες αυτές, γεγονός που οδηγεί στην καλύτερη κατανόηση του μηχανισμού δράσης τους (Marrack et al., 1990; Miethke et al., 1992; Baba et al., 2008)

Τα ποσοστά επιπολασμού του *S. aureus* μέσω της ρινικής μεταφοράς σε διαφορετικούς πληθυσμούς ποικίλλει. Στον γενικό πληθυσμό, το μέσο ποσοστό μεταφοράς είναι 37% (Kluytmans et al., 1997) αλλά κάποιοι υποπληθυσμοί παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά μεταφοράς, π.χ. ασθενείς με ινσουλινο-εξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη, ασθενείς που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση, χρήστες ενέσιμων ναρκωτικών ουσιών, άτομα με AIDS και ασθενείς με δερματικές μολύνσεις που οφείλονται στο *S. aureus* (Hoeger et al., 1992; Monti et al., 1996; Kluytmans et al., 1997). Κατά τη σύγκριση πληθυσμών διαφορετικής ηλικίας, τα παιδιά βρέθηκαν να φέρουν πιο συχνά το βακτήριο σε σχέση με τους ενήλικες (Cunliffe, 1949; Noble et al., 1967; Armstrong-Esther, 1976; Melles et al., 2004; Wertheim et al., 2005a), ενώ σε κάποιες μελέτες παρατηρήθηκαν διαφορετικά αποτελέσματα ανάλογα με το φύλο.

Διαφορές στη παρουσία του βακτηρίου σε διαφορετικές χώρες έχουν επίσης σημειωθεί. Σε μια πρόσφατη ευρωπαϊκή μελέτη, βρέθηκαν διαφορές στα ποσοστά μεταφοράς με το χαμηλότερο να παρουσιάζεται στην Ουγγαρία (12 %) και το υψηλότερο στη Σουηδία (29 %) (den Heijer et al., 2013). Σε μια μελέτη που έλαβε χώρα στη Νορβηγία, αναφέρθηκε το ίδιο ποσοστό που παρατηρήθηκε και στη Σουηδία (29 %) (Olsen et al., 2013).

Σε μια μελέτη από τον Καναδά, τα περιστατικά μολύνσεων του *S. aureus* που αναφέρθηκαν ήταν 28.4 περιπτώσεις στα 100.000 άτομα και οι λοιμώξεις ήταν πιο συχνές σε αρσενικά άτομα άνω των 65 ετών (Laupland et al., 2003). Στις ΗΠΑ, το 0,8% όλων των νοσηλευόμενων ασθενών διαγνώστηκαν με λοίμωξη από *S. aureus* και αυτοί οι ασθενείς παρέμειναν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στο νοσοκομείο, είχαν περισσότερα έξοδα νοσηλείας και είχαν μεγαλύτερο κίνδυνο θανάτου σε σχέση με νοσηλευόμενους ασθενείς που δεν είχαν την συγκεκριμένη λοίμωξη (Noskin et al., 2005).

Στην Ευρώπη τα ποσοστά βακτηριαμίας που οφείλονται στον *S. aureus* έχουν αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια (de Kraker et al., 2012).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

Ο *S. aureus* στα ζώα

3.1 Ο *S. aureus* στα διάφορα είδη ζώων

Κάποια βακτήρια του γένους των σταφυλόκοκκων, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, αποτελεί μέρος της φυσιολογικής μικροχλωρίδας του δέρματος και των βλεννογόνων τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα (Lowy, 1998). Παρόλα αυτά, πολλά στελέχη του συγκεκριμένου γένους, όπως είναι και ο *S. aureus*, δρουν ως δυνητικά παθογόνοι μικροοργανισμοί και μπορεί να προκαλέσουν σοβαρές παθήσεις στο δέρμα καθώς και σε άλλους ιστούς και σωματικές κοιλότητες (Quin et al., 2002). Επομένως, οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορεί να εξαπλωθούν μεταξύ των ζώων μέσω της επαφής με το δέρμα μολυσμένου ζώου, αλλά επίσης και με την επαφή με εκκρίσεις του ζώου που περιέχουν τον μικροοργανισμό, όπως είναι η σίελος. Επιπλέον, ο μικροοργανισμός μπορεί να μεταδοθεί και μέσω ζωικών προϊόντων, όπως είναι το μη παστεριωμένο γάλα (Werckenthin et al., 2001).

Για πολλά χρόνια τέσσερα κύρια στελέχη του γένους *Staphylococcus* έχουν αναγνωρισθεί ως παθογόνα, με ένα από αυτά να είναι ο *S. aureus*. Ο συγκεκριμένος μικροοργανισμός αποτελεί κύριο παθογόνο μικροοργανισμό του ανθρώπου παρόλα αυτά έχουν αναφερθεί λοιμώξεις και σε ζώα που οφείλονται στο *S. aureus*. Μέχρι σήμερα έχουν αναφερθεί λοιμώξεις που οφείλονται στο συγκεκριμένο βακτήριο σε μεγάλο εύρος ζώων που περιλαμβάνει σκύλο, γάτες, πρόβατα, κοτόπουλα, άλογα, λαγούς, πτηνά, χελώνες, γουρούνια κτλ.

Ο *S. aureus* προκαλεί ασθένειες όπως είναι η σηψαιμία και οι λοιμώξεις των μαλακών ιστών στα κοτόπουλα. Επίσης, προκαλεί μία από τις πιο συχνές μορφές του χρόνιας μαστίτιδας στα βοοειδή. Αν και κάποια ζώα μπορεί να εμφανίζουν κλινική μαστίτιδα συνήθως η λοίμωξη δεν είναι πολύ σοβαρή και δεν αλλοιώνει την ποιότητα του γάλακτος των ζώων αυτών. Το βακτήριο αυτό μπορεί να προκαλέσει πληθώρα ασθενειών που περιλαμβάνουν λοιμώξεις του δέρματος και των μαλακών ιστών, βακτηριαμία, σηπτική αρθρίτιδα, οστεομυελίτιδα, λοιμώξεις που σχετίζονται με κάποιο εμφύτευμα, μητρίτιδα, ομφαλίτιδα, και πνευμονία. (Jordan & Pattison, 1996).

Ο *S. aureus* αποικίζει τον βλεννογόνο του ανώτερης αναπνευστικής και γαστρεντερικής οδού όλων των θηλαστικών, του φυσικού πληθυσμού των πτηνών (Hajek et al., 1988), των πουλερικών (Witte et al., 1977) ακόμα και των φιδιών (Devriese & Hajek, 1980). Βάσει διαφόρων μοριακών μελετών DNA, ανακαλύφθηκε ότι ο *S. aureus* που έχει απομονωθεί από τα θηλαστικά, είναι υπεύθυνο για τις περισσότερες λοιμώξεις που εμφανίζονται σε διάφορα είδη (Musser et al., 1990). Επίσης βρέθηκε ότι πολλά από τα στελέχη του *S. aureus* που μολύνουν τον άνθρωπο προέρχονται εξελικτικά από στελέχη

του μικροοργανισμού που έχουν βρεθεί στις βοοειδή (Aires-de-Sousa et al., 2007). Στο παρελθόν, έχουν αναφερθεί λοιμώξεις στον ανθρώπινο οργανισμό που προέρχονται από ζώα. Μερικές πρόσφατες μελέτες έχουν αναφέρει αποικισμό του ανθρώπινου οργανισμού από στελέχη του *S. aureus* που προέρχονται από βοοειδή και πρόβατα (Takamatsu et al., 2008).

Επιπλέον, έχει δημοσιευτεί η απομόνωση ενός στελέχους του *S. aureus* που παρουσιάζει ανθεκτικότητα στη μεθικιλίνη (MRSA) από τη ρινική κοιλότητα ενός σκυλιού (Manian, 2003). Σε μια μελέτη, το 29% των θηλυκών προβάτων που εξετάστηκαν ήταν θετικά για το *S. aureus* (De Santis et al., 2005). Έχει προταθεί η ύπαρξη γενετικής σχέσης μεταξύ των στελεχών *S. aureus* ζωικής προέλευσης και αυτών που απομονώνονται από τον άνθρωπο (Lee, 2003). Ενώ επίσης, τα στελέχη του *S. aureus* που απομονώνονται από τα κατοικίδια ζώα θεωρούνται πηγή μόλυνσης των ανθρώπων αλλά και των ζώων (Van Duijkeren et al., 2005). Κάποιες μελέτες πιστεύουν ότι ο άνθρωπος θα μπορούσε να μεταδίδει τον εν λόγω μικροοργανισμό στα βοοειδή (Matos et al., 1991).

Ο *S. aureus* λόγω της ικανότητάς του να μολύνει ζώα προκαλεί σημαντικά οικονομικά προβλήματα καθώς και προβλήματα υγείας στα ζώα που χρησιμοποιούνται στη γαλακτοκομία. Ο μικροοργανισμός προκαλεί μαστίτιδα στα βοοειδή. Η σταφυλοκοκκική μαστίτιδα είναι σημαντικό πρόβλημα της γαλακτοκομίας καθώς επηρεάζει τόσο την υγεία του ζώου και δημιουργεί και σοβαρές οικονομικές απώλειες ανά ζώο κάθε χρόνο. Ο *S. aureus* μπορεί να προκαλέσει μαστίτιδα στα βοοειδή και γενικότερα στα ζώα γαλακτοπαραγωγής(πρόβατα-αίγες) (Grinberg et al., 2004). Το πρώτο περιστατικό μαστίτιδας που οφειλόταν σε σταφυλόκοκκο αναφέρθηκε τη δεκαετία του 1960 και εκ τότε έχουν πραγματοποιηθεί εκτεταμένες μελέτες πάνω στο θέμα αυτό.

Στα άλογα η λοίμωξη από *S. aureus* μπορεί να προκαλέσει μεγάλο εύρος ασθενειών, όπως είναι η σηψαιμία, η μαστίτιδα και η οστεομυελίτιδα. Η πρώτη αναφορά μόλυνσης αλόγου από το βακτήριο αυτό ήταν το 1997 (Hartmann et al., 1997) και στη συνέχεια παρατηρήθηκε και σε άλλες χώρες συμπεριλαμβανομένων του Ηνωμένου Βασιλείου, Ιαπωνίας, Αυστρίας και Ιρλανδίας (Anzai et al., 1996, Baptiste et al., 2005, Cuny et al., 2006). Στην αρχή θεωρήθηκε ότι τα άλογα μολύνθηκαν μέσω της επαφής τους με τον άνθρωπο αν και αργότερα διάφορες μελέτες το διέψευσαν (Hartmann et al., 1997; Seguin et al., 1999; Weese, 2005a).

Μολύνσεις πουλερικών με *S. aureus* έχουν επίσης αναφερθεί αν και οι μελέτες αυτές είναι σχετικά λίγες (Nemati et al., 2008). Σε μια συγκεκριμένη μελέτη στέλεχος του *S. aureus* απομονώθηκε με επιτυχία από μερικά κοτόπουλα (Lee, 2006). Οι λοιμώξεις που προκαλεί ο συγκεκριμένος μικροοργανισμός στα πουλερικά περιλαμβάνουν λοιμώξεις των μαλακών ιστών και σηπτική αρθρίτιδα (Lee, 2003). Επίσης, έχει αναφερθεί η απομόνωση στελέχους του *S. aureus* με ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικό από τη ρινική κοιλότητα υγιών πουλερικών (Nemati et al., 2008). Στα κοτόπουλα έχουν περιγραφεί διάφορες ασθένειες όπως είναι η βακτηριακή χονδρονέκρωση και η σηψαιμία. Οι ασθένειες αυτές επηρεάζουν μεγάλο μέρος των ζώων που υπάρχουν στην φάρμα.

Επιπλέον, ο *S. aureus* έχει βρεθεί και σε αρκετά κατοικίδια ζώα, όπως είναι σκύλος, γάτα κλπ. Αυτό είναι λογικό αν σκεφτεί κανείς πως τα τελευταία χρόνια τα ποσοστά λοιμώξεων του συγκεκριμένου μικροοργανισμού στον άνθρωπο, και κυρίως των στελεχών του που είναι ανθεκτικά σε αντιβιοτικά, έχουν αυξηθεί σημαντικά. Το γεγονός αυτό έχει σαν

αποτέλεσμα να αυξάνονται οι πιθανότητες έκθεσης των κατοικίδιων στον σταφυλόκοκκο λόγω της στενής επαφής που έχουν τα συγκεκριμένα ζώα με τον άνθρωπο. Βέβαια, ο αποικισμός του *S. aureus* στα κατοικίδια δεν φαίνεται να τους δημιουργεί σημαντικά προβλήματα υγείας καθώς τα κατοικίδια αυτά δεν παρουσιάζουν κλινικά συμπτώματα. Παρόλα αυτά, έχουν αναφερθεί διάφορες λοιμώξεις στα κατοικίδια που οφείλονται στο *S. aureus* όπως είναι πυόδερμα, λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος και ωτίτιδα (Baptiste et al., 2005; Leonard et al., 2006; Morris et al., 2006; Weese et al., 2006; Vitale et al., 2006, Griffeth et al., 2008). Η ηλικία, το φύλο και η ράτσα δεν φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην λοίμωξη από σταφυλόκοκκο ενώ η συχνή χρήση αντιβιοτικών φαίνεται να αυξάνει τον κίνδυνο λοίμωξης από σταφυλόκοκκο που παρουσιάζει ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά σε γάτες και σκύλους (Faires, 2009).

Η αναφορά για τον πρώτο σκύλο που μολύνθηκε από στέλεχος του *S. aureus* προήλθε από το Ηνωμένο Βασίλειο (Rich et al., 2005) ενώ αργότερα αναφέρθηκε μόλυνση από το βακτήριο και σε σκυλιά στη Γερμανία (Strommenger et al., 2006). Λίγες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με τον αποικισμό του *S. aureus* στις γάτες (Kottler et al., 2008). Αν και τα κύρια σημεία αποικισμού του μικροοργανισμού στις γάτες και τους σκύλους δεν είναι ακόμη γνωστά παρόλα αυτά σε μελέτες έχουν χρησιμοποιηθεί δείγματα από τη ρινική κοιλότητα, το ορθό και το περίνεο.

Υπάρχουν πολλά στοιχεία που υποστηρίζουν ότι η ύπαρξη *S. aureus* στα κατοικίδια οφείλεται στην αλληλεπίδραση των ζώων αυτών με τον άνθρωπο. Πολλές μελέτες έχουν αναφέρει την ύπαρξη παρόμοιων στελεχών σε κατοικίδια και άτομα που μένουν στην ίδια περιοχή (Baptiste et al., 2005, Leonard et al., 2006, Moodley et al., 2006; Malik et al., 2006; Weese et al., 2006b; Strommenger et al., 2006, Grinberg et al., 2008) γεγονός που υποδηλώνει ότι ο άνθρωπος είναι όντως η πηγή του μικροοργανισμού στις περισσότερες περιπτώσεις στα κατοικίδια.

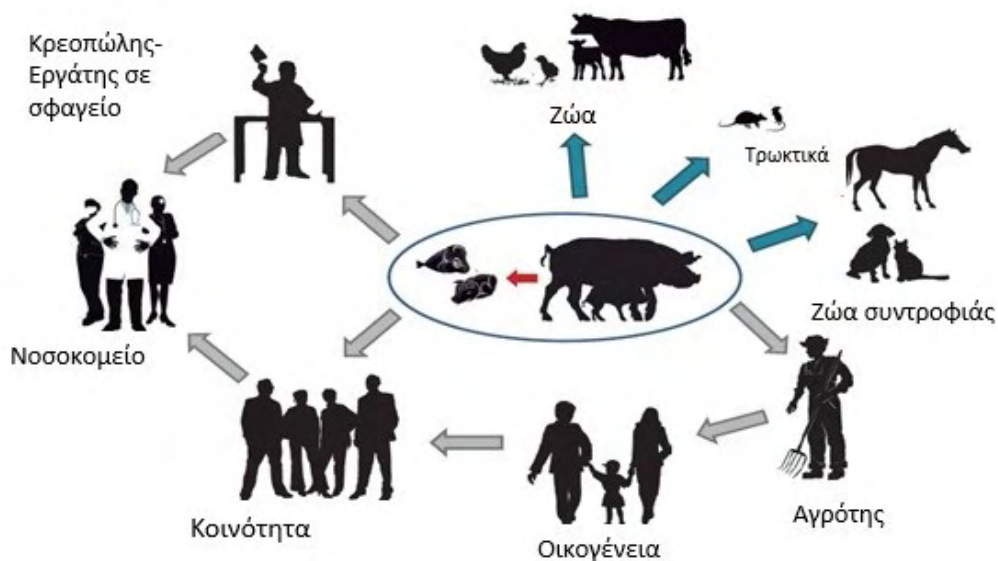
3.2. Ο *S. aureus* στους χοίρους

Από την πρώτη αναφορά για την παρουσία του *S. aureus* σε χοίρους εκτροφής, η ευαισθητοποίηση για την παρουσία του βακτηρίου στα παραγωγικά ζώα έχει αυξηθεί σημαντικά με πολλές μελέτες να επικεντρώνονται στον επιπολασμό του βακτηρίου στην πρωτογενή παραγωγή και κυρίως των στελεχών του που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά (Atanassova et al., 2002; Voss et al., 2005).

Στελέχη του *S. aureus* έχουν βρεθεί ότι αποικίζουν τη ρινική κοιλότητα των χοίρων σε πολλές χώρες όπου είναι διαδεδομένη η παραγωγή τους. Αν και αποικίζει τα συγκεκριμένα ζώα σπάνια προκαλεί λοιμώξεις σε αυτά. Οι λοιμώξεις που μπορεί να προκαλέσει στα ζώα αυτά ο μικροοργανισμός περιλαμβάνουν λοιμώξεις του δέρματος, του ουροποιητικού καθώς και μαστίτιδα (Quin et al., 2002). Υπάρχουν κάποιες μελέτες που σχετίζουν τις λοιμώξεις που εμφανίζονται στους χοίρους με τον αποικισμό του ζώου από τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό (Guardabassi et al., 2007; Meemken et al., 2008) ενώ μερικές μελέτες που εξετάζουν τη σχέση του βακτηρίου με εξιδρωματική επιδερμίτιδα σε ζώα (van Duijkeren et al., 2008). Επίσης, έχει αναφερθεί υψηλό ποσοστό αποικισμού των γουρουνιών με το *S. aureus*. Το ποσοστό αυτό είναι αρκετά υψηλότερο από το αντίστοιχο που συναντάται στον γενικό πληθυσμό (Voss et al., 2005).

Μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2008 από το την EFSA (EFSA 2009) έδειξε την ύπαρξη του σταφυλόκοκκου σε φάρμες χοίρων και κυρίως του *S. aureus* που είναι ανθεκτικός σε αντιβιοτικά, σε 12 από τις 26 ευρωπαϊκές χώρες. Η παρουσία του *S. aureus* σε φάρμες χοίρων στην Ευρωπαϊκή Ένωση ήταν 14% (εύρος, από 0 μέχρι 46%) σε φάρμες αναπαραγωγής ζώων και 26,9% (εύρος, από 0 μέχρι 51%) σε φάρμες εκτροφής ζώων. Επιπλέον, πολλές ευρωπαϊκές χώρες έχουν διεξάγει διάφορες μελέτες για τον επιπολασμό του *S. aureus* σε φάρμες χοίρων. Στην Γερμανία, βρέθηκε ότι ο επιπολασμός στελεχών του βακτηρίου σε φάρμες πρωτογενούς παραγωγής χοίρων ήταν 45-70% (De Lima et al., 2004; Kock et al., 2009; Alt et al., 2013). Τα αποτελέσματα αυτά είναι σίγουρα υψηλότερα από τα αντίστοιχα που παρατηρήθηκαν στην Ευρωπαϊκή Ένωση (43,5% σε φάρμες αναπαραγωγής και 41,3% σε φάρμες εκτροφής). Οι διαφορές αυτές μπορεί να οφείλονται στην επιλογή του τύπου της φάρμας καθώς στην Γερμανία συγκεκριμένα είδη εκτροφών είναι πιο πιθανό να είναι θετικά στην παρουσία του βακτηρίου από ότι άλλες, γεγονός το οποίο σχετίζεται με την ποσότητα των ζώων που υπάρχουν στην συγκεκριμένη περιοχή. Στην Δανία, ο επιπολασμός του *S. aureus* σε φάρμες χοίρων ήταν 23% με 71% (van Duijkeren et al., 2008; EFSA, 2009; van den Broek et al., 2009; Broens et al., 2011). Μεταξύ των ετών 2007 και 2008, στην Δανία παρατηρήθηκε αύξηση στελέχους του *S. aureus* σε φάρμες χοίρων. Η αύξηση αυτή αρχικά αποδόθηκε στην ευκολία μετάδοσης του μικροοργανισμού μεταξύ των χοίρων (Broens et al., 2011). Αργότερα, παρατηρήθηκε το βακτήριο και σε φάρμες χοίρων στο Βέλγιο (Crombe et al., 2012), στην Κροατία (Habrun et al., 2011), στην Δανία (Lewis et al., 2008), και την Πορτογαλία (Pomba et al., 2009) με ποσοστά επιπολασμού από 16,7% μέχρι 100%. Εκτός Ευρώπης, η παρουσία του μικροοργανισμού σε χοίρους πρωτογενούς παραγωγής βρέθηκε στον Καναδά (Khanna et al., 2008; Weese et al., 2011), στις ΗΠΑ (Schraft et al., 1992; Molla et al., 2011), στο Περού (Arriola et al., 2011) καθώς και σε διάφορες ασιατικές χώρες (Wagenaar et al., 2009; Cui et al., 2009; Khalid et al., 2009; Baba et al., 2010; Anukool et al., 2011; Larsen et al., 2012; Lim et al., 2012; Tsai et al., 2012).

Σε ότι αφορά τα αποτελέσματα της μοριακής ανάλυσης των στελεχών του *S. aureus* που απομονώθηκαν από κάθε περιοχή, αυτά φαίνεται να καταδεικνύουν την ύπαρξη διαφορετικών υποτύπων του βακτηρίου σε κάθε χώρα. Αναλυτικότερα, στην Ευρώπη, τον Καναδά, τις ΗΠΑ και το Περού η πλειοψηφία των απομονωμένων στελεχών αφορούσαν συγκεκριμένο υπότυπο (CC398) με ποσοστά επιπολασμού που άγγιζαν και το 80% (EFSA, 2009). Παράλληλα παρατηρήθηκαν και σποραδικά περιστατικά εμφάνισης και άλλων υποτύπων σε φάρμες χοίρων με χαμηλότερα ποσοστά επιπολασμού (Battisti et al., 2010; EFSA, 2009). Βέβαια, θα πρέπει να σημειωθεί ότι στην πλειοψηφία τους οι μελέτες αυτές παρουσιάζουν μειονεκτήματα καθώς οι ερευνητές δεν πήραν αρκετά μεγάλο αριθμό δειγμάτων από τα ζώα προκειμένου να πραγματοποιήσουν στατιστικά σημαντικά συμπεράσματα για τον επιπολασμό και την ποικιλομορφία του σταφυλόκοκκου σε ολόκληρο τον πληθυσμό των χοίρων της εκάστοτε χώρας. Παρόλα αυτά, το σύνολο των αποτελεσμάτων των διαφορετικών μελετών καταδεικνύουν την συνολική αύξηση της παρουσίας του *S. aureus* και κυρίως του στελέχους που παρουσιάζει ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά στον πληθυσμό των χοίρων παγκοσμίως, γεγονός που δημιουργεί τεράστιες ανησυχίες παγκοσμίως (Εικόνα III).



Εικόνα III. Ο ρόλος του χοίρου και του χοιρινού κρέατος στην μετάδοση του *S. aureus*. (τροποποιημένο από Bannoehr et al., 2012 και Wertheim et al., 2005)

3.2.1. Ο *S.aureus* στις αμυγδαλές χοίρων.

Η στοματική κοιλότητα, ιδιαίτερα οι αμυγδαλές, παίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του οργανισμού εναντίων των παθογόνων μικροοργανισμών. Οι υπερώιες αμυγδαλές λειτουργούν σαν δευτερογενές λεμφικό όργανο στο οποίο ξεκινά και πραγματοποιείται η ανοσοβιολογική αντίδραση εναντίων των παθογόνων (Belz & Heath, 1996; Nave et al., 2001; Horter et al., 2003). Οι αμυγδαλές, επίσης, λειτουργούν ως "δεξαμενή" αποικισμού παθογόνων αλλά και μη παθογόνων βακτηρίων, κυρίως λόγω των σωληνοειδών κρυπτών που εκτείνονται σε βάθος στον ιστό των αμυγδαλών και έτσι προσφέρουν ένα χώρο στον οποίο οι μικροοργανισμοί μπορούν να αποφύγουν τους μηχανισμούς άμυνας του οργανισμού (Horter et al., 2003).

Οι αμυγδαλές των χοίρων αποτελούν "δεξαμενές" κάποιων εκ των πιο παθογόνων βακτηρίων που μπορούν να προσβάλλουν τα ζώα αυτά. Τα *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *A. suis*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma hyorhynchiae*, *Salmonella spp.* και *Streptococcus suis* συχνά αποικίζουν τις αμυγδαλές του χοίρου χωρίς να εμφανίζουν κάποιο σύμπτωμα (Arends et al., 1984; Fedorka-Cray et al., 1995; Kamp et al., 1996; Chiers et al., 2002; Horter et al., 2003; MacInnes et al., 2008; Marois et al., 2008). Για πολλά από αυτά τα παθογόνα, η ανώτερη αναπνευστική οδός των χοίρων είναι η μόνη γνωστή περιοχή που τα συναντάμε. Άλλα είδη που συχνά παρατηρούνται στις αμυγδαλές των χοίρων περιλαμβάνουν τα συμβιωτικά *Pasteurellaceae* όπως είναι τα *A. minor*, *A. porcinus*, *A. indolicus* και "*A. porcitonillarum*" (Møller & Kilian, 1990; Tonpitak et al., 2007; MacInnes et al., 2008) και κατά Gram θετικά είδη όπως είναι τα *Streptococcus dysgalactiae*, *S. porcinus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Arcanobacterium pyogenes*, και *Lactobacillus reuteri* (Devriese et al., 1994; Baele et al., 2001).

Η υφιστάμενη γνώση σχετικά με τους μικροοργανισμούς που βρίσκονται στις αμυγδαλές των χοίρων αφορά, κατά κύριο λόγο την απομόνωση συγκεκριμένων γενών και ειδών και όχι την ταυτοποίηση ευρέος φάσματος μικροοργανισμών. Οι Lowe et al. (2011) πραγματοποίησαν μια περιεκτική μελέτη σχετικά με τους μικροοργανισμούς που παρατηρούνται στις αμυγδαλές των χοίρων. Αναλυτικότερα, σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να χρησιμοποιηθούν διάφορες μέθοδοι για την ταυτοποίηση των μικροβίων των αμυγδαλών υγιών χοίρων. Αυτή η μελέτη ήταν και η πρώτη ανεξάρτητη ανάλυση της μικροβιακής χλωρίδας των αμυγδαλών του ζώου αυτού.

Τα μακροσκοπικά αποτελέσματα της μελέτης αυτής έδειξαν ότι οι αμυγδαλές του χοίρου είναι μεγάλες, επίπεδες και βρίσκονται στην κοιλιακή επιφάνεια της μαλακής υπερώας. Παρατηρείται μεγάλος αριθμός κρυπτών, οι οποίες μοιάζουν με εγκοπές, γεγονός που ταυτοποιεί τις αμυγδαλές των ζώων αυτών ως θυλακιώδεις αμυγδαλές ενώ δεν παρατηρήθηκαν μακροσκοπικές αλλοιώσεις ή αλλαγές στις αμυγδαλές που εξετάστηκαν. Κατά την μικροσκοπική ανάλυση παρατηρήθηκε ότι οι αμυγδαλές καλύπτονται από μη-κερατινοποιημένο, πλακώδες επιθήλιο που εκτείνεται μέχρι τις κρύπτες των αμυγδαλών. Τα κατώτερα και μεσαία τμήματα των κρυπτών καλύπτονται από ένα λεπτότερο στρώμα πλακώδους επιθηλίου ή λεμφοεπιθηλίου, που περιέχει κύτταρα M και λαγνοειδή κύτταρα. Κάτω από το επιφανειακό επιθήλιο υπάρχει ένα στρώμα συνδετικού ιστού που περιέχει νεύρα, αιμοφόρα αγγεία και λεμφοαγγεία. Επιπλέον, δευτερογενή λεμφικά θυλάκια περιβάλλουν τις κρύπτες των αμυγδαλών. Σε όλους τους χοίρους, πολυάριθμες κρύπτες είχαν διογκωθεί δημιουργώντας αποστήματα που περιείχαν νεκρά ουδετερόφιλα και νεκρές βακτηριακές αποικίες. Το λεμφοεπιθήλιο των κρυπτών αυτών περιείχε επίσης και κύτταρα που παίρνουν μέρος στην φλεγμονώδη αντίδραση (Lowe et al., 2011).

Οι βακτηριακές αποικίες που παρατηρήθηκαν μέσω χρώσης κατά Gram διέφεραν αρκετά τόσο μεταξύ διαφορετικών κρυπτών του ίδιου ζώου όσο και μεταξύ διαφορετικών ζώων. Κάποιες κρύπτες περιείχαν μορφολογικά όμοιες βακτηριακές αποικίες, όπως είναι τα κοκκοειδή Gram θετικά βακτήρια ή μικρά ραβδοειδή Gram αρνητικά βακτήρια. Επιπλέον, κάποιες κρύπτες περιείχαν τόσο Gram θετικά όσο και Gram αρνητικά βακτήρια, με αναλογίες που ποικίλλαν (Lowe et al., 2011).

Μια σειρά μικροοργανισμών ταυτοποιήθηκαν σε περισσότερα από τα μισά ζώα που εξετάστηκαν. Από το σύνολο των δειγμάτων που χαρακτηρίστηκαν το 27,7% ήταν στρεπτόκοκκοι ή εντερόκοκκοι, το 20,6% ήταν σταφυλόκοκκοι και περίπου το 40% ανήκαν στις οικογένειες των *Enterobacteriaceae* και *Pasteurellaceae*. Σε αυτούς συμπεριλαμβάνονταν οι *P. multocida*, *S. suis*, *S. dysgalactiae*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, και *Escherichia coli*. Επίσης, παρατηρήθηκαν και άλλοι μικροοργανισμοί με μικρότερη συχνότητα που είχαν απομονωθεί και σε παλαιότερες μελέτες από τις αμυγδαλές των χοίρων και περιελάμβαναν αρκετά είδη των *Actinobacillus*, *Streptococcus*, και *Staphylococcus*, καθώς και πολλά *Enterobacteriaceae* (Πίνακας IV) (Lowe et al., 2011).

Πίνακας IV. Βακτηριακά στελέχη που απομονώθηκαν από τις αμυγδαλές των χοίρων (Τροποποιημένο από Lowe et al., 2011).

| <i>Lactobacillales</i> | <i>Pasteurellaceae</i> |
|--|---|
| <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Actinobacillus porcinus</i> |
| <i>Streptococcus dysgalactiae</i> ^a | " <i>A. porcitonisillarum</i> " |
| <i>S. infantarius</i> | <i>A. rossii</i> |
| <i>S. mitis</i> | <i>Actinobacillus</i> spp. |
| <i>S. porcinus</i> | Bisgaard Taxon 10 |
| <i>S. suis</i> ^a | <i>Pasteurella multocida</i> ^a |
| <i>Staphylococcaceae</i> | <i>Enterobacteriaceae</i> |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ^a | <i>Citrobacter freundii</i> |
| <i>S. epidermidis</i> ^a | <i>Enterobacter aerogenes</i> |
| <i>S. haemolyticus</i> | <i>Enterobacter cloacae</i> |
| <i>S. hominis</i> | <i>Escherichia coli</i> ^a |
| <i>S. pasteurii</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| <i>S. warneri</i> | <i>Proteus mirabilis</i> |
| | <i>Proteus vulgaris</i> |
| | <i>Providencia stuartii</i> |

^a: είδη που βρέθηκαν σε ποσοστό μεγαλύτερο του 50% των χοίρων που εξετάστηκαν

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της μελέτης των Lowe et al., 2011 φαίνεται να συμφωνούν με αυτά άλλων ερευνητών, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι μικροοργανισμοί είναι περίπλοκοι και ποικίλουν (Paster et al., 2001; Leser et al., 2002; Aas et al., 2005). Τα δεδομένα της μελέτης αυτής μπορεί να χρησιμοποιηθούν τόσο για μελέτες που αφορούν τις αμυγδαλές χοίρων που νοσούν από κάποια γνωστά παθογόνα και για μελέτες που αφορούν χοίρους που δεν εμφανίζουν συμπτώματα. Το πώς η φυσιολογική μικροχλωρίδα των αμυγδαλών επηρεάζει τον αποικισμό και τη διατήρηση συγκεκριμένων παθογόνων και αντιστρόφως πως ο αποικισμός από τον παθογόνο παράγοντα επηρεάζει τη σύσταση της φυσιολογικής μικροχλωρίδας και τον επακόλουθο αποικισμό με άλλα παθογόνα δεν είναι γνωστό. Η καλύτερη κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ της φυσιολογικής χλωρίδας και των παθογόνων μικροοργανισμών στην ανώτερη αναπνευστική οδό των χοίρων που επιτρέπει την εγκατάσταση και διατήρηση των παθογόνων μικροοργανισμών καθώς και την ανάπτυξη ασθενειών, θα βοηθήσουν μακροπρόθεσμα στην βελτίωση της υγείας των χοίρων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

Ο *S. aureus* στο χοιρινό κρέας

4.1. Ο *S. aureus* κατά την παραγωγή χοιρινού κρέατος

Κατά κύριο λόγο, σε χώρες που δεν τηρούνται οι κανόνες υγιεινής κατά την επεξεργασία του κρέατος είναι πάρα πολύ εύκολη η μετάδοση ασθενειών στους ανθρώπους μέσω της κατανάλωσής του, προκαλώντας έτσι σημαντικά προβλήματα υγείας (Thi Thu et al., 2007). Οι σωστές πρακτικές κατασκευής/παρασκευής καθώς και οι ποικίλες παρεμβάσεις στις εγκαταστάσεις της σφαγής και της επεξεργασίας του κρέατος παίζουν σημαντικό ρόλο στην ενίσχυση της ασφάλειας του κρέατος και των προϊόντων του. Μία περιεκτική ανασκόπηση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας αναφορικά με την παγκόσμια παρουσία του ζωικού κεφαλαίου, που σχετίζεται με την επικράτηση του *S. aureus* σε διάφορα στάδια της αλυσίδας παραγωγής χοιρινού κρέατος, αποκάλυψε ότι η διαδικασία σφαγής διαδραματίζει αποφασιστικό ρόλο στην μετάδοση του από τον χοίρο στο χοιρινό κρέας (Lassok et al., 2012). Αρκετές μελέτες έχουν διεξαχθεί για να εκτιμηθεί ο επιπολασμός του *S. aureus*, ώστε να κατανοηθεί η δυναμική της εξάπλωσης στην παραγωγή χοιρινού κρέατος και να προσδιοριστεί η σημασία για την δημόσια υγεία. Οι μελέτες που ασχολούνται με την ταυτοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών που παρατηρούνται στα τρόφιμα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα των μεθόδων και των παρεμβάσεων αυτών (Bohaychuk et al., 2011).

Η σφαγή των χοίρων είναι μια ανοιχτή διαδικασία με πολλές ευκαιρίες μόλυνσης των σφαγίων των χοίρων με παθογόνους μικροοργανισμούς. Η διαδικασία περιλαμβάνει στάδια όπου οι βακτηριακοί κίνδυνοι μπορούν να μειωθούν αλλά δεν μπορούν να εξαλειφθούν εντελώς. Το χοιρινό κρέας αποτελεί σημαντική πηγή μικροοργανισμών που σχετίζονται με ασθένειες, οι οποίες οφείλονται σε τροφιμογενή παθογόνα, όπως είναι τα *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia* spp., *Staphylococci*, *Listeria monocytogenes* (Wang et al., 2013).

Τα κύρια σημεία μόλυνσης κατά την επεξεργασία του κρέατος μέσα σ' ένα σφαγείο χοίρων σχετίζονται με τμήματα του ίδιου του ζώου, όπως είναι το έντερο, ο φάρυγγας αλλά και με το περιβάλλον επεξεργασίας. Κατά τη μελέτη των γερμανικών μονάδων επεξεργασίας κρέατος, η Kastrup (2011) έδειξε μια συχνότητα εμφάνισης του βακτηρίου 6% κατά την περικοπή του κρέατος, 2% στα μηχανήματα επεξεργασίας, και 5% στους εργαζόμενους. Γενικά, ο *S. aureus* επιβιώνει σε επιφάνειες με ανοξειδωτο ατσάλι και ως εκ τούτου μπορεί να αποτελεί παράγοντα επαναμόλυνσης για μεγάλο χρονικό διάστημα. Σε ένα πείραμα, βρέθηκαν αυξημένα ποσοστά του *S. aureus* σε στεγνό ανοξειδωτο ατσάλι για τουλάχιστον 96 ώρες. Ακόμα και σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, ο *S. aureus* μπορούσε να απομονωθεί σε 48 ώρες (Kusumaningrum et al., 2003). Στην Ολλανδία, οι de Jonge et al. (2003) αξιολόγησαν την παρουσία στελέχους του *S. aureus* σε 3 εγκαταστάσεις επεξεργασίας κρέατος και 2 κουζίνες ινστιτούτων. Ο μικροοργανισμός δεν απομονώθηκε από τα χέρια και τη μύτη των ατόμων, αλλά 31 (33%) άτομα βρέθηκαν να τον φέρουν. Πέντε δείγματα κρέατος (14,3%) ήταν επίσης μολυσμένα με το βακτήριο.

Με την παρουσία στα σφαγεία, χοίρων θετικών σε σταφυλόκοκκο, το παθογόνο είναι σε θέση να εισέλθει στην τροφική αλυσίδα (Beneke et al., 2011).

4.2. Ο *S. aureus* στα σφάγια χοίρου

Όταν ο *S. aureus* υπάρχει στον πληθυσμό των χοίρων, η μετάδοση του από τα αποικισμένα ζώα στα σφάγια είναι αναπόφευκτη. Καθώς ο *S. aureus* είναι ένας δυνητικά παθογόνος μικροοργανισμός, μπορεί να αποικίζει το ζώο χωρίς να προκαλεί κάποια ασθένεια και ως εκ τούτου χωρίς να υπάρχουν κλινικά συμπτώματα. Χωρίς την μικροβιολογική ανάλυση δεν είναι εφικτό να πραγματοποιηθεί διάκριση ανάμεσα σε ζώα που φέρουν τον μικροοργανισμό και σε αυτά που δεν τον φέρουν προκειμένου να επιτραπεί χωριστή σφαγή.

Έχουν πραγματοποιηθεί διάφορες μελέτες για την αξιολόγηση του ποσοστού του *S. aureus* που φθάνει στα σφαγεία μέσω των αποικισμένων χοίρων. Τα διάφορα δείγματα που έχουν μελετηθεί έχουν παρθεί από χοίρους στους χώρους ενσταυλισμού του σφαγείου και μετά από αναισθητοποίηση. Ωστόσο, τα στοιχεία που συλλέχθηκαν κατά την έναρξη της διαδικασίας σφαγής, δε μπορούν να χρησιμοποιηθούν άμεσα για να εξαχθούν συμπεράσματα για τον επιπολασμό του βακτηρίου στον τομέα της πρωτογενής παραγωγής καθώς μπορεί να λάβει χώρα επιμόλυνση με τον μικροοργανισμό κατά την μεταφορά του ζώου στο σφαγείο ή στον χώρο ενσταυλισμού του σφαγείου με αποτέλεσμα να αυξάνονται τα ποσοστά ανίχνευσης του μικροοργανισμού (Lin et al., 2009).

Στην Δανία (Agerso et al., 2012), Γερμανία (Tenhagen et al., 2009 ;Beneke et al., 2011; Kastrop, 2011), Ιταλία (Normanno et al., 2005; Battisti et al., 2010), Ελβετία (Huber et al., 2010, Overesch et al., 2011), Ισπανία (Gomez-Sanz et al., 2010; Porrero et al., 2012) και στην Ολλανδία (de Neeling et al., 2009) ο επιπολασμός των χοίρων κατά την έναρξη της διαδικασίας σφαγής με στελέχη του *S. aureus* κυμαίνονταν σε ποσοστό από 1,3% μέχρι 64,7%. Αντίστοιχες μελέτες έχουν διεξαχθεί και στην Τενερίφη (Morcillo et al., 2012) και στην Ασία (Cui et al., 2009; Baba et al., 2010; Lim et al., 2012). Οι υπότυποι που παρατηρήθηκαν κατά την νάρκωση των ζώων ήταν παρόμοιοι με αυτούς που παρατηρήθηκαν στην πρωτογενή παραγωγή. Τα περισσότερα στελέχη του *S. aureus* που παρατηρήθηκαν στην Ευρώπη ανήκαν σε συγκεκριμένους υποτύπους. Στο νησί της Τενερίφης μελετήθηκε ο επιπολασμός του *S. aureus* στους χοίρους σε σφαγεία και 85% αυτών φέραν συγκεκριμένο υπότυπο του μικροοργανισμού (Morcillo et al., 2012). Τα αυξημένα ποσοστά μετάδοσης του βακτηρίου στο νησί αυτό είναι αποτέλεσμα των γεωγραφικών χαρακτηριστικών του. Λόγω του περιορισμένου γεωγραφικού χώρου η έκταση που αντιστοιχεί σε κάθε χοίρο είναι μικρότερη του κανονικού, γεγονός το οποίο μπορεί να διευκολύνει την μετάδοση του μικροοργανισμού. Η επιμόλυνση κατά τη διάρκεια της μεταφοράς καθώς και στους χώρους σταυλισμού του σφαγείου μπορεί επίσης να συνεισφέρουν στην μετάδοση του μικροοργανισμού στα ζώα.

Στην Ασία, έχει αναφερθεί η παρουσία του εν λόγω μικροοργανισμού σε σφάγια χοίρων στην Κορέα (Hee et al., 2008; Lin et al., 2009; Lim et al., 2012), την Κίνα (Cui et al., 2009) και την Ιαπωνία (Baba et al., 2010) αλλά τα ποσοστά επιπολασμού είναι αρκετά χαμηλά και κυμαίνονται από 0,9% μέχρι 7%. Η διαδικασία σφαγής και η επεξεργασία του κρέατος παίζουν σημαντικό ρόλο στην μετάδοση του *S. aureus* από το χοίρο στο χοιρινό

κρέας. Η εικόνα IV δείχνει τη διαγραμματική απεικόνιση των ουσιαστικών βημάτων της αλυσίδας παραγωγής χοιρινού κρέατος. Τα υψηλά ποσοστά του μικροοργανισμού που παρατηρούνται στα σφαγεία λόγω της εισόδου ζώων που τον φέρουν, εγείρουν ερωτήματα σχετικά με τον τρόπο αλλά και τον βαθμό εξάπλωσης του *S. aureus* κατά την διαδικασία επεξεργασίας. Έχουν πραγματοποιηθεί τρεις μελέτες που αφορούν την παρουσία στελεχών του *S. aureus* σε διάφορα στάδια της αλυσίδας παραγωγής χοιρινού κρέατος (Beneke et al., 2011, Kastrup, 2011; Molla et al., 2011). Αν και τα αποτελέσματα κάποιων μελετών παρουσιάζουν μειωμένη εγκυρότητα, λόγω των διαφορών στο σχεδιασμό της μελέτης, όλες τους ανέφεραν σημαντική μείωση του μικροοργανισμού κατά μήκος της αλυσίδας επεξεργασίας του κρέατος. Αν και το 11,3% με 64,7% των χοίρων φέρουν τον μικροοργανισμό κατά την αναισθητοποίηση, το ποσοστό αυτό μειώνεται στο 2,8% με 3,8% στο τελικό προϊόν. Οι Beneke et al. (2011) πραγματοποίησαν δειγματοληψία από διάφορα στάδια παραγωγής φρέσκου χοιρινού κρέατος σε σφαγείο στη Γερμανία και παρατήρησαν μια σταδιακή μείωση του μικροοργανισμού κατά μήκος της αλυσίδας παραγωγής. Η Kastrup (2011) μελέτησε την εξάπλωση στελέχους του *S. aureus* σε πέντε σφαγεία στη Γερμανία, όπου και παρατήρησε υψηλότερα ποσοστά του μικροοργανισμού σε αρχικά στάδια επεξεργασίας στο σφαγείο. Ο Molla et al. (2011) ανέφερε μείωση των ποσοστών επιπολασμού του μικροοργανισμού κατά μήκος της διαδικασίας παραγωγής με μια επακόλουθη αύξησή του στο τελικό προϊόν του κρέατος. Αυτές οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στην πορεία της κάθε διαδικασίας δείχνουν ότι η υγιεινή του κάθε σφαγείου επηρεάζει περισσότερο την παρουσία του *S. aureus* στο τελικό προϊόν από ότι το ποσοστό των ζώων που φέρουν τον μικροοργανισμό. Το σφαγείο με το υψηλότερο ποσοστό του βακτηρίου στο στάδιο της αναισθησίας των ζώων παρουσίασε το χαμηλότερο ποσοστό του βακτηρίου στο τελικό προϊόν κρέατος.



Εικόνα IV. Διαγραμματική απεικόνιση της αλυσίδας παραγωγής χοιρινού κρέατος (Τροποποίηση από Lassok & Tenhagen, 2013).

Οι μελέτες που ασχολούνται με την ανίχνευση του μικροοργανισμού κατά μήκος της γραμμής παραγωγής χοιρινού κρέατος είναι περιορισμένες. Ευρήματα για την επίδραση του κάθε σταδίου σφαγής στη μικροβιακή μόλυνση του σφαγείου και στην απολύμανσή του γενικότερα και στο φορτίο του *S. aureus* θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να βγάλουμε συμπεράσματα σχετικά με την συμπεριφορά του μικροοργανισμού κατά τη διάρκεια σφαγής των χοίρων.

Διάφορες μελέτες που περιλαμβάνουν την ανίχνευση του συνολικού μικροβιακού φορτίου, όπως είναι τα *Enterobacteriaceae*, ή άλλοι ενδεικτικοί μικροοργανισμοί κατά μήκος της αλυσίδας σφαγής δείχνουν ότι η διαδικασία του ζεματίσματος είναι η πρώτη επεξεργασία στο σφαγείο που έχει την ικανότητα να μειώνει το ποσοστό των βακτηρίων στα σφάγια χοίρων. Οι εναπομείναντες μικροοργανισμοί είναι αυτοί που επιβιώνουν στις θερμοκρασίες παστερίωσης (θερμοανθεκτικοί) καθώς επίσης και κατά Gram θετικοί (Snijders & Gerats, 1976; Gerats et al., 1981; Nerbrink & Borch, 1989; Gill & Bryant, 1992; Troeger, 1993; Rivas et al., 2000; Bolton et al., 2002; Pearce et al., 2004). Ο βαθμός της μείωσης των μικροβίων εξαρτάται τόσο από το χρόνο όσο και από τη θερμοκρασία καθώς και από την θερμοανθεκτικότητα του κάθε μικροοργανισμού. Η διαδικασία του ζεματίσματος συνήθως λαμβάνουν χώρα στους 60 - 62°C για 6-8 λεπτά (Snijders et al., 1984; Borch et al., 1996). Επειδή ο *S. aureus* έχει τιμή D₅₅ περίπου 66 δευτερόλεπτα (δηλαδή σε 66 δευτερόλεπτα θανατώνεται το 90% των μικροοργανισμών στους 55°C), ένα μεγάλο ποσοστό του μικροοργανισμού αναμένεται να εξουδετερωθεί κατά τη διαδικασία αυτή (Bergdoll, 1989). Οι Gill και Bryant (Gill & Bryant, 1992) βρήκαν ότι οι σταφυλόκοκκοι μπορεί να ανιχνεύονται συνεχώς σε μικρές ποσότητες κατά τη διάρκεια των σταδίων επεξεργασίας. Μια ανάλυση της επίδρασης συγκεκριμένων σταδίων παραγωγής στο ποσοστό του *S. aureus* σε σφάγια χοίρων πραγματοποιήθηκε σε δύο ελβετικά σφαγεία (Spescha et al., 2006). Μετά την αφαίμαξη, ο μικροοργανισμός απομονώθηκε από το 96% με 100% των ζώων. Το ζεμάτισμα για 5 - 8,5 λεπτά στους 59-62°C μείωσε τον αριθμό των βακτηρίων σε 18% και 20%. Αν και ένα σφαγείο μπόρεσε να διατηρήσει χαμηλό ποσοστό επιμόλυνσης της γραμμής σφαγής με τον *S. aureus*, η αναλογία των ζώων που φέραν σταφυλόκοκκο στο δεύτερο σφαγείο αυξήθηκε, με αναλογία 99% στο τελικό στάδιο. Η επαναμόλυνση μπορεί να αποδοθεί στο συνδυασμό της αφαίρεσης των τριχών του ζώου και της διαδικασίας καύσης των τριχών. Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στην επαναμόλυνση των σφάγιων αυτών τονίζουν την σπουδαιότητα των αποτελεσματικών μεθόδων υγιεινής (Spescha et al., 2006).

Γενικά, η διαδικασία απομάκρυνσης των τριχών του ζώου αποτελεί καθοριστικό στάδιο για την επιμόλυνση κατά τη διάρκεια της σφαγής του χοίρου (Nerbrink & Borch, 1989; Gill & Bryant, 1992; Gill & Bryant, 1993; Pearce et al., 2004). Η μηχανική επεξεργασία του σφαγίου με τη χρήση ειδικών μηχανημάτων οδηγεί στην αύξηση της μετάδοσης των βακτηρίων από το στόμα, τη μύτη, το δέρμα και το γαστρεντερικό σύστημα του ζώου. Κατά τη διάρκεια της αφαίρεσης των τριχών, τα ζώα που έχουν ζεματιστεί μπορεί να μολυνθούν από τα υπολείμματα που υπάρχουν στο μηχάνημα. Τα συμβατικά μηχανήματα που αφαιρούν τις τρίχες του ζώου είναι δύσκολο να καθαριστούν και όταν η εξυγίανση είναι ανεπαρκής τότε αναπτύσσεται μια επίμονη μικροβιακή χλωρίδα στο μηχάνημα (Rivas et al., 2000; Spescha et al., 2006). Ζεστό νερό θερμοκρασίας 60 με 62°C ψεκάζεται στο ζώο καθώς περνάει από το μηχάνημα απομάκρυνσης του τριχώματος μειώνοντας έτσι την μόλυνση (Snijders & Gerats, 1976; Snijders et al., 1984). Οι χαμηλές συγκεντρώσεις του *S. aureus* στο νερό που χρησιμοποιείται για το ζεμάτισμα δείχνουν το μικρό αντίκτυπο που έχει στην επιμόλυνση με το βακτήριο κατά τη διάρκεια της διαδικασίας σφαγής (Sorqvist et al., 1986; Kastrup, 2011).

Η διαδικασία του καψαλίσματος έχει αναφερθεί ότι μολύνει σημαντικά την επιφάνεια του ζώου, αλλά τα δημοσιευμένα ποσοτικά δεδομένα διαφέρουν σημαντικά. Χρησιμοποιώντας συμβατικά συστήματα καψαλίσματος με πέρασμα των 10-15 δευτερολέπτων στους 900°C μειώνει σημαντικά το μικροβιακό φορτίο (Borch et al., 1986; Nerbrink & Borch, 1989; Pearce et al., 2004). Αντιθέτως, κάποιοι επιστήμονες ανέφεραν ότι το καψάλισμα δεν επηρέασε την μικροχλωρίδα ή ακόμα και αύξησε την επιφανειακή

μόλυνση. Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε απαρχαιωμένες εγκαταστάσεις υγιεινής ή ελλείψεις (Dockerty et al., 1970; Spescha et al., 2006).

Αρκετοί ερευνητές έδειξαν ότι η μείωση του μικροβιακού φορτίου που επιτυγχάνεται κατά το καψάλισμα συχνά αντιστρέφεται από τη διαδικασία στίλβωσης. Τα συστήματα στίλβωσης δουλεύουν με εξαρτήματα που είναι δύσκολο να καθαριστούν και ως εκ τούτου συσσωρεύουν μικροοργανισμούς του ζώου (Snijders & Gerats, 1976; Nerbrink & Borch, 1989; Yu et al., 1999; Pearce et al., 2004). Ανάλογα με το σύστημα καψάλισματος που χρησιμοποιείται, συγκεκριμένα σημεία του ζώου μπορεί να μην έχουν εκτεθεί σωστά και έτσι τα βακτήρια που δεν έχουν καταστραφεί να επαναδιανεμηθούν κατά τη διάρκεια του στίλβωματος (Gill & Bryant., 1992; Borch et al., 2004). Η έκταση της επαναμόλυνσης με τον *S. aureus* κατά τη διάρκεια του στίλβωματος φαίνεται να εξαρτάται από την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας καψάλισματος.

Σε διάφορες μελέτες, μικροοργανισμοί κοπρανόδους προέλευσης ανιχνεύθηκαν στην επιφάνεια των ζώων μετά τον εκσπλαχνισμό, και η εντερική οδός ταυτοποιήθηκε ως η κύρια οδός της επιμόλυνσης αυτού του σταδίου επεξεργασίας (Yu et al., 1999; Rivas et al., 2000; Pearce et al., 2004; Spescha et al., 2006). Επειδή οι σταφυλόκοκκοι και τα ανθεκτικά τους στελέχη μπορούν να απομονωθούν από το έντερο των χοίρων (Szabo et al., 2011), η μετάδοση από το έντερο στον μυϊκό ιστό μπορεί επίσης να συμβεί. Ο ψεκασμός με νερό μετά την απεντέρωση χρησιμοποιείται προκειμένου να απομακρυνθούν οι ορατοί μολυσματικοί παράγοντες από το ζώο πριν την είσοδό τους στον θάλαμο ψύξης. Οι έρευνες έδειξαν ότι χρησιμοποιώντας νερό στους 85°C για 20 δευτερόλεπτα, μπορεί να μειωθεί ή ήδη υπάρχουσα μόλυνση του ζώου, ενώ το κρύο νερό απλά κατανέμει τα βακτήρια σε όλη την επιφάνεια του ζώου (Gill et al., 1993; Bolton et al., 2000; Loretz et al., 2011).

Αντιφατικά αποτελέσματα που αφορούν την επίδραση των διαδικασιών σφαγής στην επιφανειακή επιμόλυνση των σφαγίων με *S. aureus* πήραμε από σφάγια χοίρων σε μελέτη στην Αϊόβα. Τα ποσοστά των δειγμάτων που ήταν θετικά για τον *S. aureus* αυξήθηκαν γραμμικά από 4,4% μετά το καψάλισμα και την στίλβωση σε 12,6% 24 ώρες μετά την ψύξη του ζώου και αυτή η αύξηση αποδόθηκε στην αυξημένη συμμετοχή του ανθρώπινου παράγοντα στα τελικά στάδια στα σφάγια (Saide-Albornoz et al., 1995). Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε σφαγείο στην Βραζιλία δεν αποκάλυψαν κάποια σημαντική επίδραση των διαδικασιών σφαγής στην απομόνωση του *S. aureus*. Δείγματα από την επιφάνεια του ζώου πάρθηκαν μετά από την αφαίρεση του τριχώματος, πριν και μετά την απεντέρωση και τον τεμαχισμό, και 24 ώρες μετά την κατάψυξή του. Αν και το συγκεκριμένο σφαγείο περιλάμβανε στάδια εξυγίανσης κατά τα οποία τα ζώα ψεκάστηκαν με νερό με χλωρίνη, δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην συγκέντρωση του βακτηρίου στα σφάγια (De Lima et al., 2004).

Για να βελτιωθεί το μικροβιακό φορτίο των σφαγίων των χοίρων στα τελικά στάδια της διαδικασίας σφαγής, έχουν προταθεί επιπλέον αντιμικροβιακές παρεμβάσεις. Η εφαρμογή ζεστού νερού, ατμού, οργανικών οξέων, χλωρίνης ή διαφόρων αλάτων στα ζώα μπορεί να μειώσει σημαντικά το βακτηριακό φορτίο κατά 2 log. (Loretz & Zweifel, 2011). Σύμφωνα με το άρθρο 3(2) του κανονισμού 853/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου που παραθέτει συγκεκριμένους νόμους για την υγιεινή των τροφίμων (European Commission, 2004), η εξυγίανση του κρέατος σε σφαγεία της Ευρωπαϊκής Ένωσης περιορίζεται στην χρήση πόσιμου νερού.

Προκειμένου να εμποδιστεί ο πολλαπλασιασμός του *S. aureus* στα σφάγια των χοίρων κατά τη διαδικασία της σφαγής, η επιφανειακή θερμοκρασία πρέπει να μειώνεται το συντομότερο δυνατό. Σύμφωνα με τις οδηγίες του κανονισμού 853/2004, η θερμοκρασία ολόκληρου του σφάγιου πρέπει να είναι χαμηλότερη των 7°C πριν την περαιτέρω επεξεργασία του εκτός αν η διαδικασία του τεμαχισμού πραγματοποιείται σε ξεχωριστό χώρο (European Commission, 2004). Στην βιομηχανία χοιρινού κρέατος, οι χοίροι συνήθως ψύχονται όλη τη νύχτα είτε χρησιμοποιώντας συμβατικές μεθόδους ψύξης είτε εναλλακτικές μεθόδους (Brown & James, 1992; James, 1996). Τα στελέχη του *S. aureus* που προέρχονται από χοίρους ή από το περιβάλλον δεν αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 6°C (Bergdoll, 1989). Οι Spescha et al. (2006) παρατήρησαν μείωση της τάξης του 77% στην αναλογία των σφάγιων θετικών σε *S. aureus* και μια ποσοτική μείωση του μικροοργανισμού στην επιφάνεια των σφαγίων μέσω της ψύξης.

4.3. Ο *S. aureus* στο χοιρινό κρέας

Αφού τα σφάγια εγκαταλείψουν τα ψυκτικά συγκροτήματα του σφαγείου, ο *S. aureus* εφόσον βρίσκεται στην επιφάνεια του σφάγιου μπορεί να μεταδοθεί περαιτέρω μέσω των ανθρώπινων χεριών, των εργαλείων κοπής και οποιοδήποτε άλλων επιφανειών έχουν έρθει σε άμεση επαφή με το κρέας και να εισέλθει στην τροφική αλυσίδα. Η αύξηση του χειρωνακτικού χειρισμού κατά την επεξεργασία μπορεί επίσης να διευκολύνει την είσοδο ανθρώπινων στελεχών του *S. aureus* στις μονάδες παραγωγής. Μια ελβετική μονάδα επεξεργασίας κρέατος ανέφερε την παρουσία του *S. aureus* στο 22,7% του εισαγόμενου κατεψυγμένου χοιρινού κρέατος από 18 ευρωπαίους προμηθευτές (Schraft et al., 1992). Το μολυσμένο χοιρινό κρέας βρέθηκε ότι προερχόταν από συγκεκριμένα σφαγεία, γεγονός που επιβεβαιώνει ότι η συγκέντρωση του σταφυλόκοκκου στο χοιρινό κρέας επηρεάζεται από τη διαδικασία σφαγής.

Όταν ο σταφυλόκοκκος παρατηρείται στον πληθυσμό των χοίρων μιας χώρας, είναι σχεδόν αναμενόμενο να παρατηρηθεί και στα τελικά προϊόντα που φτάνουν στα χέρια του καταναλωτή (Koláčková et al., 2014). Στην Ευρώπη έχουν αναφερθεί θετικά σε στελέχη του *S. aureus* χοιρινό κρέας και προϊόντα χοιρινού κρέατος στη Δανία (Agerso et al., 2012), τη Γερμανία (Schilling et al., 2010; Beneke et al., 2011; Kastrup, 2011), την Ισπανία (Lozano et al., 2009), και την Ολλανδία (De Lima et al., 2004; van Loo et al., 2007), με ποσοστά επιπολασμού που κυμαίνονται από 1,8% μέχρι 15,8%. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Αμερική το ποσοστό του κρέατος που ελέγχθηκε και ήταν θετικό για *S. aureus* ήταν στο 11,7% (Kelman et al., 2011). Στην Ασία μελέτη που έγινε στη Κορέα και στο Χονγκ Κονγκ έδειξε ποσοστά επιπολασμού στο χοιρινό κρέας που κυμαίνονταν από 7,1 έως 21,5% αντίστοιχα (Lim et al., 2012). Τα ποσοστά ανίχνευσης του βακτηρίου διαφέρουν ανάλογα με το είδος του προϊόντος, π.χ. οι μερίδες χοιρινού κιμά είναι πιο πιθανό να φέρουν το βακτήριο σε σχέση με δείγματα φρέσκου χοιρινού κρέατος, ενδεχομένως λόγω της μεθόδου επεξεργασίας (Schilling et al., 2010). Επειδή ο κιμάς συνήθως φτιάχνεται από το κρέας διάφορων ζώων, η πιθανότητα εισόδου του σταφυλόκοκκου στο τελικό προϊόν αυξάνεται με την αύξηση των ζώων που χρησιμοποιούνται για το τελικό προϊόν. Ο τεμαχισμός του κρέατος σχετίζεται με αύξηση της επιφανειακής περιοχής, γεγονός που μπορεί να επιτρέψει την ανάπτυξη του *S. aureus* (Pesavento et al., 2007).

Παρόλο που η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θεσπίσει κριτήρια για τους θετικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους για ορισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα και προϊόντα βρασμένων μαλακόστρακων και μαλακίων και η παρουσία των σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών συμπεριλαμβάνεται μεταξύ των κριτηρίων για την ασφάλεια σε τυριά, γάλα σε σκόνη και σκόνη ορού γάλακτος, ανάλογα μικροβιολογικά κριτήρια δεν έχουν οριστεί για το κρέας και τα προϊόντα του (Κανονισμός 2073/2005 και τροποποίηση Κανονισμός 1441/2007).

Λόγω της ευρείας διασποράς του *S. aureus* η εφαρμογή μέτρων ελέγχου για την αποφυγή της επαναμόλυνσης του κρέατος και των προϊόντων του με το παθογόνο βακτήριο και την μείωση έτσι της πιθανότητας παραγωγής σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών είναι πολύ σημαντική για τη δημόσια υγεία. Επιπλέον η μείωση των περιστατικών σταφυλοκοκκικής τοξίνωσης έχει και οικονομική σημασία δεδομένου ότι εκτιμάται ότι έχει ως συνέπεια σημαντικές οικονομικές απώλειες και μειωμένης παραγωγικότητας γενικότερα, αλλά και πολύ σημαντικό κόστος σε βιομηχανίες τροφίμων, εταιρίες τροφοδοσίες και χώρους εστίασης (Argudin et al., 2010). Η εφαρμογή μέτρων όπως η τήρηση των αρχών της Ορθής Βιομηχανικής Πρακτικής (Good Manufacturing Practices, GMP) και του Συστήματος Ανάλυσης των Κρίσιμων Σημείων Ελέγχου (Hazard Analysis Critical Control Points System, HACCP) κατά τον χειρισμό και την επεξεργασία του κρέατος κρίνονται επιβεβλημένα για την μείωση του κινδύνου πρόκλησης ΣΤ από την κατανάλωση του κρέατος και των προϊόντων του και γενικότερα των τροφίμων.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1.1. Σύλλογή δειγμάτων

Το χρονικό διάστημα από το Νοέμβριο έως το Δεκέμβριο του 2015, συλλέχθηκαν 77 δείγματα αμυγδαλών από σφάγια χοίρων που η διαδικασία σφαγής έγινε σε βιομηχανικό σφαγείο στην περιοχή της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας της Περιφέρειας Θεσσαλίας. Το σύνολο των δειγμάτων συλλέχθηκαν σε 4 δειγματοληψίες (2 το Νοέμβριο και 2 το Δεκέμβριο), με τη μεθοδολογία που περιγράφεται από τους Van Damme et al. (2015). Συνοπτικά το πρώτο δείγμα λαμβάνονταν 5 λεπτά μετά τον εκσπλαχνισμό του πρώτου χοίρου στη γραμμή σφαγής και στη συνέχεια λαμβάνονταν δείγμα κάθε 5 λεπτά από σφάγιο μετά τον εκσπλαχνισμό του. Οι αμυγδαλές λαμβάνονταν με άσηπτο τρόπο και τοποθετούνταν σε αποστειρωμένες σακούλες stomacher. Στη συνέχεια τα δείγματα μεταφέρονταν υπό συνθήκες ψύξης στο Εργαστήριο Υγιεινής Τροφίμων του Τμήματος Κτηνιατρικής του Π.Θ. την ημέρα της δειγματοληψίας.

1.2. Μικροβιολογική ανάλυση

Από κάθε δείγμα αμυγδαλών λαμβάνονταν με άσηπτο τρόπο ποσότητα 10 g, τοποθετούνταν σε σακούλα stomacher και γίνονταν προσθήκη 90 ml πεπτονόχου ύδατος 0.1%, ώστε να επιτευχθεί μια αρχική αραίωση 1:10. Τα δείγματα ακολούθως ομογενοποιούνταν σε συσκευή stomacher για 2 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολουθούσαν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σε στείρο πεπτονόχο ύδωρ (0.1%) και στη συνέχεια γίνονταν ενοφθαλμισμός 0.1 ml στην επιφάνεια διπλών τριβλίων του εκλεκτικού υποστρώματος Baird Parker (Merck, Germany) για τον *S. aureus*. Τα τριβλία στην συνέχεια επωάζονταν στους 37 °C για 24 ώρες. Τέλος, από κάθε τριβλίο με ύποπτες αποικίες λαμβάνονταν 1 αποικία και συντηρούνταν σε TSB σε θερμοκρασία -80 °C μέχρι την επιβεβαίωση. Η επιβεβαίωση έγινε στο Εργαστήριο Επιδημιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Π.Θ. με φασματοφωτομετρία μάζας με τη μέθοδο MALDI-TOF.

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης παρουσιάζονται στους Πίνακες 1 και 2. Εξετάστηκαν συνολικά 77 δείγματα αμυγδαλών από σφάγια χοίρων από βιομηχανικό σφαγείο στην περιοχή της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας και σε 34 από αυτά (44,15 %) ανιχνεύθηκε η παρουσία *Staphylococcus* spp.

Αναλυτικά, σε 12 δείγματα αμυγδαλών από τα 77 δείγματα (15,58%) απομονώθηκε *S. aureus*, σε 7 δείγματα (9,09%) απομονώθηκε *S. epidermidis*, σε 4 δείγματα (5,19%) απομονώθηκε *S. haemolyticus*, σε 4 δείγματα (5,19%) απομονώθηκε *S. saprophyticus*, σε 3 δείγματα (3,9%) απομονώθηκε *S. hyicus*, σε 2 δείγματα (2,6%) απομονώθηκε *S. lugdunensis*, σε 1 δείγμα (1,3%) απομονώθηκε *S. capitis* και σε 1 δείγμα (1,3%) απομονώθηκε *S. pasteurii*, όπως φαίνεται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Παρουσία στελεχών *Staphylococcus* spp. σε αμυγδαλές σφάγιων χοίρων από βιομηχανικό σφαγείο στην Περιφερειακή Ενότητα Καρδίτσας

| | Αριθμός δειγμάτων θετικών στην παρουσία | (%) σε σύνολο 77 δειγμάτων |
|-----------------------------------|--|-----------------------------------|
| <i>Staphylococcus</i> spp. | 34 | 44,15% |
| <i>S. aureus</i> | 12 | 15,58% |
| <i>S. epidermidis</i> | 7 | 9,09% |
| <i>S. haemolyticus</i> | 4 | 5,19% |
| <i>S. saprophyticus</i> | 4 | 5,19% |
| <i>S. hyicus</i> | 3 | 3,9% |
| <i>S. lugdunensis</i> | 2 | 2,6% |
| <i>S. capitis</i> | 1 | 1,3% |
| <i>S. pasteurii</i> | 1 | 1,3% |

Όσον αφορά την παρουσία του *S. aureus* σε δείγματα αμυγδαλών από σφάγια χοίρων, ελάχιστες έρευνες έχουν δημοσιευτεί μέχρι σήμερα. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στις Η.Π.Α. από τους Lowe et al. (2011) αναφέρεται ότι σε αμυγδαλές από χοίρους που εξετάστηκαν *Staphylococcus* spp. αποτελούσε το 20,6% των στελεχών που απομονώθηκαν.

Άλλες εργασίες αναφέρουν την παρουσία του *S. aureus* σε πολύ υψηλότερα ποσοστά σε σχέση με την παρούσα μελέτη. Έτσι, οι Linhares et al. (2015) σε μελέτη που πραγματοποίησαν στις Η.Π.Α. εξέτασαν δείγματα από αμυγδαλές, ρινικές κοιλότητες, δέρμα και έντερο από 192 χοίρους για την παρουσία του παθογόνου. Από τα 192 δείγματα αμυγδαλών που εξετάστηκαν, *S. aureus* απομονώθηκε στο 61,7% των δειγμάτων. Επίσης, οι Baele et al. (2001) εξέτασαν τη Gram θετική χλωρίδα από τις αμυγδαλές 40 χοιριδίων στο Βέλγιο. Ο *S. aureus* απομονώθηκε σε 17 από τα 40 δείγματα (42,5%) σε ποσοστό πολύ υψηλότερο της παρούσας εργασίας.

Πίνακας 2. Απομονωθέντα στελέχη *Staphylococcus* spp. από αμυγδαλές σφάγιων χοίρων από βιομηχανικό σφαγείο στην Περιφερειακή Ενότητα Καρδίτσας

| | Αριθμός απομονωθέντων στελεχών | (%) στα απομονωθέντα στελέχη <i>Staphylococcus</i> spp. (n=34) |
|-------------------------|---------------------------------------|---|
| <i>S. aureus</i> | 12 | 35,3% |
| <i>S. epidermidis</i> | 7 | 20,59% |
| <i>S. haemolyticus</i> | 4 | 11,76% |
| <i>S. saprophyticus</i> | 4 | 11,76% |
| <i>S. hyicus</i> | 3 | 8,82% |
| <i>S. lugdunensis</i> | 2 | 5,88% |
| <i>S. capitis</i> | 1 | 2,94% |
| <i>S. pasteurii</i> | 1 | 2,94% |

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι από τα 34 στελέχη *Staphylococcus* spp. που απομονώθηκαν συνολικά από τις αμυγδαλές των σφάγιων χοίρων, με φθίνουσα σειρά συχνότητας βρέθηκαν: *S. aureus* (35,3% των στελεχών), *S. epidermidis* (20,59%),

S. haemolyticus (11,76%), *S. saprophyticus* (11,76%), *S. hyicus* (8,82%), *S. lugdunensis* (5,88%), *S. capitis* (2,94%) και *S. pasteurii* (2,94%).

Σε εργασία που πραγματοποιήθηκε στο Βέλγιο από τους Baele et al. (2001) συχνότερα απομονώθηκε ο *S. hyicus* (60 %) και στη συνέχεια ο *S. aureus* (42,5 %), ενώ δεν απομονώθηκε *S. epidermidis*.

Η απομόνωση του *S. aureus* σε ποσοστό 35,3% από τις αμυγδαλές σφάγιων χοίρων είναι ιδιαίτερης σημασίας για τη δημόσια υγεία. Το 2008 στο 9,6% των τροφιμογενών επιδημιών και στο 13,9% των μεμονωμένων κρουσμάτων που καταγράφηκαν στην ΕΕ από την κατανάλωση χοιρινού κρέατος και των προϊόντων του το αίτιο ήταν *Staphylococcus* (EFSA 2010). Επίσης, το 2009 οι σταφυλόκοκκοι προκάλεσαν το 5,7% των επιβεβαιωμένων τροφιμογενών επιδημιών που καταγράφηκαν από την κατανάλωση χοιρινού κρέατος και των προϊόντων του (EFSA 2011).

Στην παρούσα μελέτη απομονώθηκαν οι coagulase negative σταφυλοκόκκοι (CoNS) *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* και *S. saprophyticus* σε ποσοστά 20,59%, 11,76% και 11,76%, αντίστοιχα. Το γεγονός αυτό είναι ιδιαίτερης σημασίας αφού τα συγκεκριμένα στελέχη ενοχοποιούνται ολοένα και συχνότερα ως το αίτιο νοσοκομειακών λοιμώξεων στους ανθρώπους (Piette and Verschraegen 2009, Mazzariol et al. 2012).

3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν συνολικά 77 δείγματα αμυγδαλών από σφάγια χοίρων από βιομηχανικό σφαγείο στην περιοχή της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας και σε 34 από αυτά (44,15 %) ανιχνεύθηκε η παρουσία *Staphylococcus spp.*

Τα αποτελέσματα της ταυτοποίησης έδειξαν ότι σε 12 από τα 77 δείγματα (15,58%) απομονώθηκε *S. aureus*, σε 7 (9,09%) απομονώθηκε *S. epidermidis*, σε 4 (5,19%) απομονώθηκε *S. haemolyticus*, σε 4 (5,19%) απομονώθηκε *S. saprophyticus*, σε 3 (3,9%) απομονώθηκε *S. hyicus*, σε 2 (2,6%) απομονώθηκε *S. lugdunensis*, σε 1 (1,3%) απομονώθηκε *S. capitis* και σε 1 (1,3%) απομονώθηκε *S. pasteurii*.

Λόγω της ευρείας διασποράς του *S. aureus* η εφαρμογή μέτρων ελέγχου, όπως η τήρηση των αρχών της Ορθής Βιομηχανικής Πρακτικής (GMP) και του συστήματος Ανάλυσης των κρίσιμων σημείων Ελέγχου (HACCP), για την αποφυγή της επιμόλυνσης του κρέατος και των προϊόντων του με το παθογόνο βακτήριο και την μείωση έτσι της πιθανότητας παραγωγής σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών είναι πολύ σημαντική για τη δημόσια υγεία.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Aas, J.A., Paster, B.J., Stokes, L.N., Olsen, I., Dewhirst, F.E., 2005. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 43, 5721–5732.
2. Agero, Y., H. Hasman, L. M. Cavaco, K. Pedersen, and F. M. Aarestrup. 2012. Study of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Danish pigs at slaughter and in imported retail meat reveals a novel MRSA type in slaughter pigs. *Vet. Microbiol.* 157:246–250.
3. Aires-de-Sousa M, Parente CE, Vieira-da-Motta O, Bonna IC, Silva DA, de Lencastre H. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from buffalo, bovine, ovine, and caprine milk samples collected in Rio de Janeiro State, Brazil. *Applied and environmental microbiology.* 2007;73(12):3845-9.
4. Alt, K., A. Fetsch, A. Schroeter, B. Guerra, J. Hammerl, S. Hertwig, N. Senkov, A. Geinets, C. Mueller-Graf, J. Braeunig, A. Kaesbohrer, B. Appel, A. Hensel, and B. A. Tenhagen. 2011. Factors associated with the occurrence of MRSA CC398 in herds of fattening pigs in Germany. *BMC Vet. Res.* 7:69.
5. Anukool, U., C. E. O’Neill, B. Butr-Indr, P. M. Hawkey, W. H. Gaze, and E. M. H. Wellington. 2011. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs from Thailand. *Int. J. Antimicrob. Agents* 38:86–87.
6. Anzai, T., Kamada, M., Kanemaru, T., Sugita, S., Shimizu, A., & Higuchi, T. (1996). Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from mares with metritis and its zoonoepidemiology. *Journal of Equine Science*, 7(1), 7-11.
7. Archer, G. L., & Crossley, K. B. (1997). *The staphylococci in human disease*. New York: Churchill Livingstone Inc.
8. Arends, J.P., Hartwig, N., Rudolphy, M., Zanen, H.C., 1984. Carrier rate of *Streptococcus suis* capsular type 2 in palatine tonsils of slaughtered pigs. *J Clin Microbiol* 20, 945–947.
9. Argudin M. A., Mendoza M. C., and Rodicio M. R., “Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins,” *Toxins*, vol. 2, no. 7, pp. 1751–1773, 2010.
10. Armstrong-Esther CA, Smith JE. Carriage patterns of *Staphylococcus aureus* in a healthy non-hospital population of adults and children. *Ann Hum Biol* 1976; 3: 221-27.
11. Arriola, C. S., M. E. Guere, J. Larsen, R. L. Skov, R. H. Gilman, A. E. Gonzalez, and E. K. Silbergeld. 2011. Presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs in Peru. *PloS ONE* 6: e28529.
12. Asao T, Kumeda Y, Kawai T, Shibata T, Oda H, Haruki K, Nakazawa H and 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. *Epidemiol Infect.* 130: 33-40.
13. Asperger H, Zangerl P (2003) *Staphylococcus aureus*. In: Roginski H, Fuquay JW, Fox PF. (eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, vol. 4. Academic Press and Elsevier Science, Amsterdam, Boston, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo, pp 2563–2569.
14. Atanassova V, Meindl A, Ring C, 2001. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham--a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR. *Int. J. Food Microbiol.* 68(1-2):105-113.

15. Aydin, A., Sudagidan, M., & Muratoglu, K. (2011). Prevalence of staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Marmara Region of Turkey. *International journal of food microbiology*, 148(2), 99-106.
16. Baba, T., Bae, T., Schneewind, O., Takeuchi, F., & Hiramatsu, K. (2008). Genome sequence of *Staphylococcus aureus* strain Newman and comparative analysis of staphylococcal genomes: polymorphism and evolution of two major pathogenicity islands. *Journal of bacteriology*, 190(1), 300-310.
17. Baba, K., K. Ishihara, M. Ozawa, Y. Tamura, and T. Asai. 2010. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from swine in Japan. *Int. J. Antimicrob. Agents* 36:352–354.
18. Baele, M., Chiers, K., Devriese, L.A., Smith, H.E., Wisselink, H.J., Vanechoutte, M., Haesebrouck, F., 2001. The Gram-positive tonsillar and nasal flora of piglets before and after weaning. *J Appl Microbiol* 91,997–1003.
19. Balaban, N., Rasooly, A., 2000. Staphylococcal enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology* 61: 1-10.
20. Battisti, A., A. Franco, G. Merialdi, H. Hasman, M. Iurescia, R. Lorenzetti, F. Feltrin, M. Zini, and F. M. Aarestrup. 2010. Heterogeneity among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from Italian pig finishing holdings. *Vet. Microbiol.* 142:361–366.
21. Belz, G.T., Heath, T.J., 1996. Tonsils of the soft palate of young pigs: crypt structure and lymphoepithelium. *Anat Rec* 245, 102–113.
22. Beneke, B., S. Klees, B. Stuhrenberg, A. Fetsch, B. Kraushaar, and B. A. Tenhagen. 2011. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a fresh meat pork production chain. *J. Food Prot.* 74:126–129.
23. Bergdoll MS (1967) The staphylococcal enterotoxins. In: Mateles RI, Wogan GN (eds) *Biochemistry of Some Foodborne Microbial Toxins*. MA: MIT Press, Cambridge, pp 1–25.
24. Bergdoll MS, Crass, BA, Reiser RF, Robbins RN, Lee AC, Chensey PJ, Danis JP, Vergerott JM, Wand PJ (1982) An enterotoxin-like protein *Staphylococcus aureus* strains form patients with toxic shock syndrom. *Ann Inter Med* 96(2):969.
25. Bergdoll, M. S. 1989. *Staphylococcus aureus*, p. 463–524. In M. P. Doyle (ed.), *Foodborne bacterial pathogens*. Marcel Dekker, New York.
26. Bergdoll MS, Crass BA, Reiser RF, Robbins RN, Danis JP (1991) A new staphylococcal enterotoxins, enterotoxin F, associated with toxic shock syndrome *Staphylococcus aureus* isolates. *Lancett* 9:1007.
27. Bergdoll, M.S. Lee Wong, A.C, 2006 .Staphylococcal intoxications. In: Rieman, H.P, Cliver, D.O (Eds). *Foodborne Infections and Intoxications*, Academic Press Elsevier Inc, San Diego, California, pp.523-562.
28. Boerema JA, Clemens R, Brightwell G (2006) Evaluation of molecular methods to determine enterotoxigenic status and molecular genotype of bovine, ovine, human and food isolates of *Staphylococcus aureus*. *Int J Food Microbiol* 107(2):192–201.
29. Bohaychuk VM, Gensler GE, Barrios PR (2011). Microbiological baseline study of beef and pork carcasses from provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada. *Can. Vet. J.* 52(10):1095-100.
30. Bolton, D. J., R. A. Pearce, J. J. Sheridan, I. S. Blair, D. A. McDowell, and D. Harrington. 2002. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. *J. Appl. Microbiol.* 92:893 902.

31. Borch, E., T. Nesbakken, and H. Christensen. 1996. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 30:9–25.
32. Broens, E. M., E. A. M. Graat, P. J. Van der Wolf, A. W. van de Giessen, and M. C. M. de Jong. 2011. Prevalence and risk factor analysis of livestock associated MRSA-positive pig herds in The Netherlands. *Prev. Vet. Med.* 102:41–49.
33. Brown, T., and S. J. James. 1992. Process design data for pork chilling. *Int. J. Refrig.* 15:281–289.
34. Centers for Disease Control and Prevention, USA. 2009. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks – United States, 2006. *MMWR.* 58(22): 609-15. 13.
35. Chordash RA, Potter NN (1976) Stability of staphylococcal enterotoxin A to selected conditions encountered in foods. *J Food Sci* 41:906– 909.
36. Chiers, K., Donne, E., Van Overbeke, I., Ducatelle, R., Haesebrouck, F., 2002. *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in closed swine herds: infection patterns and serological profiles. *Vet Microbiol* 85, 343–352
37. Chiller, K., Selkin, B. A., & Murakawa, G. J. (2001, December). Skin microflora and bacterial infections of the skin. In *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* (Vol. 6, No. 3, pp. 170-174). Nature Publishing Group.
38. Crombe, F., G. Willems, M. Dispas, M. Hallin, O. Denis, C. Suetens, B. Gordts, M. Struelens, and P. Butaye. 2012. Prevalence and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among pigs in Belgium. *Microb. Drug Resist.* 18: 125–131.
39. Cui, S., J. Li, C. Hu, S. Jin, F. Li, Y. Guo, L. Ran, and Y. Ma. 2009. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from swine and workers in China. *J. Antimicrob. Chemother.* 64:680–683.
40. Cunliffe AC. Incidence of *Staph. aureus* in the anterior nares of healthy children. *Lancet* 1949; 2: 411-14.
41. Cunningham, R., Cockayne, A., & Humphreys, H. (1996). Clinical and molecular aspects of the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* bone and joint infections. *Journal of medical microbiology*, 44(3), 157-164.
42. Cuny, C., Kuemmerle, J., Stanek, C., Willey, B., Strommenger, B., & Witte, W. (2006). Emergence of infections in horses in a veterinary hospital: strain characterisation and comparison from humans. *Euro Surveill*, 11(1), 44-7.
43. de Jonge, R., J. E. Verdier, and A. H. Havelaar. 2010. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* amongst professional meat handlers in the Netherlands, March–July 2008. *Euro Surveill.* 15(46): pii:19712.
44. De Lima, E. D. S. C., P. S. D. A. Pinto, J. L. Dos Santos, M. C. D. Vanetti, P. D. Bevilacqua, L. P. De Almeida, M. S. Pinto, and F. S. Dias. 2004. Isolation of *Salmonella* sp and *Staphylococcus aureus* at swine slaughtering as subsidy for HACCP, the hazard analysis and critical control point system. *Pesqui. Vet. Bras.* 24:185–190.
45. De Kraker, M. E. A., Jarlier, V., Monen, J. C. M., Heuer, O. E., Van De Sande, N., & Grundmann, H. (2013). The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(9), 860-868.
46. de Neeling, A. J., M. J. van den Broek, E. C. Spalburg, M. G. van Santen-Verheuevel, W. D. Dam-Deisz, H. C. Boshuizen, A. W. van de Giessen, E. van Duijkeren, and X. W. Huijsdens. 2007. High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. *Vet. Microbiol.* 120:366–372.
47. den Heijer, C. D., van Bijnen, E. M., Paget, W. J., Pringle, M., Goossens, H., Bruggeman, C. A., ... & APRES Study Team. (2013). Prevalence and resistance of

- commensal *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *S. aureus*, in nine European countries: a cross-sectional study. *The Lancet infectious diseases*, 13(5), 409-415.
48. De Santis, E.; Mureddu, A.; Mazzette, R.; Scarano, C. and Bes, M., (2005). Detection of enterotoxins and virulence genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from sheep with subclinical mastitis. In: Hogeveen, H. (Ed.), *Mastitis in Dairy Production*. Wageningen Academic Press Publishers, The Netherlands, pp. 504–510.
 49. Devriese LA, Hajek V. Identification of pathogenic staphylococci isolated from animals and foods derived from animals. *The Journal of applied bacteriology*. 1980;49(1):1-11.
 50. Devriese, L.A., Hommez, J., Pot, B., Haesebrouck, F., 1994. Identification and composition of the streptococcal and enterococcal flora of tonsils, intestines and faeces of pigs. *J Appl Bacteriol* 77, 31–36.
 51. Diederer BM, Kluytmans JA. The emergence of infections with community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect*. 2006 Mar;52(3):157-68.
 52. Diep, B. A., Sensabaugh, G. F., Somboona, N. S., Carleton, H. A., & Perdreau-Remington, F. (2004). Widespread skin and soft-tissue infections due to two methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harboring the genes for Panton-Valentine leucocidin. *Journal of clinical microbiology*, 42(5), 2080-2084.
 53. Dinges, M. M., Orwin, P. M., & Schlievert, P. M. (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical microbiology reviews*, 13(1), 16-34.
 54. Do Carmo LS, Cummings C, Linardi VR, Dias RS, De Souza JM, De Sena MJ, Dos Santos DA, Shupp JW, Pereira RK and Jett M. 2004. A case study of a massive staphylococcal food poisoning incident. *Foodborne Path Dis*. 1 (4): 241-6.
 55. Dockerty, T. R., H. W. Ockerman, V. R. Cahill, L. E. Kunkle, and H. H. Weiser. 1970. Microbial level of pork skin as affected by the dressing process. *J. Anim. Sci*. 30:884–890.
 56. Dominguez, T. J. (2004). It's not a spider bite, it's community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Journal of the American Board of Family Practice*, 17(3), 220-226.
 57. Duthie ES. The production of free staphylococcal coagulase. *Journal of general microbiology*. 1954;10(3):437-44.
 58. Δημητρακόπουλος Γ.Ο.: “Εισαγωγή στη Κλινική Μικροβιολογία και τα Λοιμώδη Νοσήματα”, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδη, 1987.
 59. Δημητρακόπουλος Γ.Ο.: “Ιατρική Βακτηριολογία”, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδη, 1987.
 60. Engemann, J. J., Carmeli, Y., Cosgrove, S. E., Fowler, V. G., Bronstein, M. Z., Trivette, S. L., ... & Kaye, K. S. (2003). Adverse clinical and economic outcomes attributable to methicillin resistance among patients with *Staphylococcus aureus* surgical site infection. *Clinical infectious diseases*, 36(5), 592-598.
 61. Epstein JH, Price JT. The significant but understudied impact of pathogen transmission from humans to animals. *Mt Sinai J Med*. 2009 Oct;76(5):448-55.
 62. Evenson ML, Hinds MW, Bernstein RS, and Bergdoll MS. 1988. Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. *Intl J Food Microbiol*. 7: 311-6.
 63. European Commission. 2004. Regulation (EC) no 853/2004 of the European Parliament and the Council of 29 April 2004 laying down specific

- hygiene rules for on the hygiene of foodstuffs. Available at: <http://eurex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:139:0055:020:DE:PDF>. Accessed 20 June 2012.
64. European Food Safety Authority. 2009. Analysis of the baseline survey on the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in holdings with breeding pigs, in the EU, 2008 (1). Part A. MRSA prevalence estimates. *EFSA J.* 7:1376–1467.
 65. European Food Safety Authority. 2010. The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. *The EFSA J.* 1496.
 66. European Food Safety Authority 2011. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. *EFSA J.* 9, 1–378.
 67. Faires, M. C., Tater, K. C., & Weese, J. S. (2009). An investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in people and pets in the same household with an infected person or infected pet. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235(5), 540-543.
 68. FDA, 2012. *Staphylococcus aureus*, in: Lampel, K.A., Al-Khalidi, S., Cahill, S.M. (Eds.), *Bad Bug Book. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. Second Edition.* Center for Food Safety and Applied Nutrition, pp. 87–92.
 69. Fedorka-Cray, P.J., Kelley, L.C., Stabel, T.J., Gray, J.T., Laufer, J.A., 1995. Alternate routes of invasion may affect pathogenesis of *Salmonella typhimurium* in swine. *Infect Immun* 63, 2658–2664.
 70. Figueroa, G., Navarrete, P., Caro, M., Troncoso, M., & Faundez, G. (2002). [Carriage of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food handlers]. *Revista médica de Chile*, 130(8), 859-864.
 71. Gammell, C. G. 1995. Staphylococcal scalded skin syndrome. *J. Med. Microbiol.* 43:318-327.
 72. Genigeorgis C, Riemann H, Sadler WW (1969) Production of enterotoxin B in cured meats. *J Food Sci* 34:62–68.
 73. Genigeorgis C, Foda MS, Mantis A, Sadler WW (1971) Effect of sodium chloride and pH on enterotoxin C production. *Appl Microbiol* 21:862–866.
 74. Gerats, G. E., J. M. A. Snijders, and J. G. Van Logtestijn. 1981. Slaughter techniques and bacterial contamination of pig carcasses, p. 198–200. In *Proceedings of the 27th European Meeting of Meat Research Workers, Vienna.*
 75. Gill, C. O., and J. Bryant. 1992. The contamination of pork with spoilage bacteria during commercial dressing, chilling and cutting of pig carcasses. *Int. J. Food Microbiol.* 16:51–62.
 76. Gill, C. O., and J. Bryant. 1993. The presence of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Campylobacter* in pig carcass dehairing equipment. *Food Microbiol.* 10:337–344.
 77. Gill, C. O., D. S. McGinnis, J. Bryant, and B. Chabot. 1995. Decontamination of commercial, polished pig carcasses with hot water. *Food Microbiol.* 12:143–149.
 78. Griffeth, G. C., Morris, D. O., Abraham, J. L., Shofer, F. S., & Rankin, S. C. (2008). Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. *Veterinary dermatology*, 19(3), 142-149.
 79. Grinberg, A., Kingsbury, D. D., Gibson, I. R., Kirby, B. M., Mack, H. J., & Morrison, D. (2008). Clinically overt infections with methicillin-resistant

- Staphylococcus aureus in animals in New Zealand: a pilot study. *New Zealand veterinary journal*, 56(5), 237-242.
80. Grinberg A, Hittman A, Leyland M, Rogers L, Le Quesne B. Epidemiological and molecular evidence of a monophyletic infection with *Staphylococcus aureus* causing a purulent dermatitis in a dairy farmer and multiple cases of mastitis in his cows. *Epidemiology and infection*. 2004;132(3):507-13.
 81. Gomez-Sanz, E., C. Torres, C. Lozano, R. Ferná'ndez-Pe'rez, C. Aspiroz, F. Ruiz-Larrea, and M. Zarazaga. 2010. Detection, molecular characterization, and clonal diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 and CC97 in Spanish slaughter pigs of different age groups. *Foodborne Pathog. Dis.* 7: 1269–1277.
 82. Gordon RJ, Lowy FD, Pathogenesis *Staphylococcus Aureus* Infection. *Clin Infect Dis*, 2008(46): pp. 350 - 359.
 83. Guardabassi L, Stegger M, Skov R. Retrospective detection of methicillin resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* ST398 in Danish slaughter pigs. *Veterinary microbiology*. 2007;122(3-4):384-6.
 84. Habrun, B., I. Racic, R. Beck, A. Budimir, M. Benic, G. Kompes, S. Spicic, and Z. Cvetnic. 2011. The presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on large pig breeding farms in Croatia. *Acta Vet. Hung.* 59:419–425.
 85. Hajek V, Horak V, Balusek J. Phage typing coagulase-positive staphylococci from rooks and gulls. *Research in veterinary science*. 1988;44(2):247-50.
 86. Harris TO, Grossman D, Kappler JW, Marrack P, Rich RR, Betley MJ et al. (1993) Lack of complete correlation between emetic and Tcell-stimulatory activities of *Staphylococcal* enterotoxins. *Infect Immun* 61:3175–3183.
 87. Hartmann FA, Trostle SS, Klohnen AA. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a postoperative wound infection in a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1997;211(5):590-2.
 88. Hatakka, M., Björkroth, K. J., Asplund, K., Mäki-Petäys, N., & Korkeala, H. J. (2000). Genotypes and enterotoxicity of *Staphylococcus aureus* isolated from the hands and nasal cavities of flight-catering employees. *Journal of Food Protection®*, 63(11), 1487-1491.
 89. Health Protection Agency, UK. Foodborne outbreak surveillance and risk assessment. Available at: <http://www.hpa.org.uk/Topics/InfectiousDiseases/InfectionsAZ/GastrointestinalDisease/EpidemiologicalData/FoodborneOutbreakSurveillanceAndRiskAssessment/>
 90. Hee J. H., Bok K. K., Dong H. B., Cheong K. P. and Young J. L., (2008). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from domestic and imported raw meat in Korea. *KoreanJVet Res* 48: 75-81.
 91. Hennekinne, J.-A., De-Buyser, M.-L., Dragacci, S., 2012. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol. Rev.* 36, 815–836.
 92. Hidron, A. I., Kourbatova, E. V., Halvosa, J. S., Terrell, B. J., McDougal, L. K., Tenover, F. C., ... & King, M. D. (2005). Risk factors for colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients admitted to an urban hospital: emergence of community-associated nasal carriage. *Clinical infectious diseases*, 41(2), 159-166.
 93. Hirooka EY, DeSalzberg SPC, Bergdoll MS (1987) Production of staphylococcal enterotoxin A and thermonuclease in cream pies. *J Food Protect* 50:952–955.

94. Hoeger PH, Lenz W, Boutonnier A, Fournier JM. Staphylococcal skin colonization in children with atopic dermatitis: prevalence, persistence, and transmission of toxigenic and nontoxigenic strains. *J Infect Dis* 1992; 165: 1064-68.
95. Horter, D.C., Yoon, K.J., Zimmerman, J.J., 2003. A review of porcine tonsils in immunity and disease. *Anim Health Res Rev* 4, 143–155.
96. Hubalek Z. Emerging human infectious diseases: Anthroponoses, zoonoses, and sapronoses. *Emerg Infect Dis.* 2003 Mar;9(3):403-4.
97. Huber, H., S. Koller, N. Giezendanner, R. Stephan, and C. Zweifel. 2010. Prevalence and characteristics of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans in contact with farm animals, in livestock, and in food of animal origin, Switzerland, 2009. *Euro Surveill.* 15:7–10.
98. Huijsdens XW, van Dijke BJ, Spalburg E, van Santen-Verheuvél MG, Heck ME, Pluister GN, et al. Community-acquired MRSA and pig-farming. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2006 Nov 10; 5:26.
99. Huong, B. T. M., Mahmud, Z. H., Neogi, S. B., Kassu, A., Van Nhien, N., Mohammad, A., ... & Khan, N. C. (2010). Toxigenicity and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* isolated from Vietnamese ready-to-eat foods. *Food Control*, 21(2), 166-171.
100. Infectious Disease Surveillance Center, Japan. 2001. *Staphylococcus* food poisoning in Japan. IASR.
101. Ing M.B., Baddour L.M. and Bayer A.S.: 'Bacteremia and infective endocarditis: pathogenesis, diagnosis and complications'. In: *The Staphylococci in Human Disease*, Crossley K.B., Archer G.L. (ed), 1: 331-54, New York: Churchill Livingstone, 1997.
102. Jablonski LM, Bohach G (1997) *Staphylococcus aureus*. In: Doyle MP, Beuchat LR, Monteville TJ. (eds), *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington DC, pp 353–357.
103. James, S. 1996. The chill chain "from carcass to consumer." *MeatSci.* 43: S203–S216.
104. Jevons, M. P. 1961. "Celbenin"-resistant staphylococci. *Brit. Med. J.* 1:124-125.
105. Jones, T. F., Kellum, M. E., Porter, S. S., Bell, M., & Schaffner, W. (2002). An outbreak of community-acquired foodborne illness caused by methicillin-resistant. *Emerging infectious diseases*, 8(1), 83.
106. Jordan, F. T. W., & Pattison, M. (1996). Avian mycoplasmosis. *Poultry diseases*, 4, 81-93.
107. Jorgensen HJ, Mork T, Hogasen HR, Rovik LM (2005) Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in bulk milk in Norway. *J Appl Microbiol* 99:158–167.
108. Kamp, E.M., Bokken, G.C., Vermeulen, T.M., de Jong, M.F., Buys, H.E., Reek, F.H., Smits, M.A., 1996. A specific and sensitive PCR assay suitable for large-scale detection of toxigenic *Pasteurella multocida* in nasal and tonsillar swabs specimens of pigs. *J Vet Diagn Invest* 8, 304–309.
109. Kadariya, J., Smith, T. C., & Thapaliya, D. (2014). *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. *BioMed research international*, 2014.
110. Kastrup, G. N. 2011. Untersuchung zum Vorkommen Meticillinresistenter *Staphylococcus aureus* entlang der Schlachtlinie und im Zerlegebereich bei der Gewinnung roher Fleischwaren von Schweinen. Ph.D. dissertation. University of Veterinary Medicine, Hannover, Germany.

111. Khalid, K. A., Z. Zakaria, O. P. Toung, and S. McOrist. 2009. Low levels of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs in Malaysia. *Vet. Rec.* 164:626–627.
112. Khanna, T., R. Friendship, C. Dewey, and J. S. Weese. 2008. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers. *Vet. Microbiol.* 128:298–303.
113. Kelman, A., Soong, Y. A., Dupuy, N., Shafer, D., Richbourg, W., Johnson, K., & McDermott, P. (2011). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* from retail ground meats. *Journal of Food Protection®*, 74(10), 1625-1629.
114. Kitai, S., Shimizu, A., Kawano, J., Sato, E., Nakano, C., Kitagawa, H., & Inamoto, T. (2005). Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* and enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken meat throughout Japan. *Journal of veterinary medical science*, 67(3), 269-274.
115. Kloos W.E. and Schleifer K.H.: 'Isolation and characterization of staphylococci from human skin. II. Description of four new species: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis* and *Staphylococcus simulans*'. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 25: 62-79, 1975.
116. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 505-20.
117. Knight, V., White, A., Foster, F., & Wenzel, T. (1956). Studies on staphylococci from hospital patients: II. Effect of antimicrobial therapy and hospitalization on carrier rates. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 65(3), 206-221.
118. Kock, R., J. Harlizius, N. Bressan, R. Laerberg, L. H. Wieler, W. Witte, R. H. Deurenberg, A. Voss, K. Becker, and A. W. Friedrich. 2009. Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among pigs on German farms and import of livestock-related MRSA into hospitals. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 28:1375–1382.
119. Koláčková I, Koukalová K, Karpíšková R (2014). Occurrence and characteristic of *Staphylococcus aureus* in pork meat. *Epidemiol Mikrobiol. Imunol.* 63(3):191-194
120. Kottler, S., Middleton, J. R., Perry, J., Weese, J. S., & Cohn, L. A. (2010). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carriage in Three Populations. *Journal of veterinary internal medicine*, 24(1), 132-139.
121. Kusumaningrum, H. D., G. Riboldi, W. C. Hazeleger, and R. R. Beumer. 2003. Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *Int. J. Food Microbiol.* 85:227–236.
122. Larsen, J., M. Imanishi, S. Hinjoy, P. Tharavichitkul, K. Duangsong, M. F. Davis, K. E. Nelson, A. R. Larsen, and R. L. Skov. 2012. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST9 in pigs in Thailand. *PLoS ONE* 7(2): e31245
123. Lassok, B and Tenhagen B.A. 2012. From pig to pork: methicillin –resistant *Staphylococcus aureus* in the pork production chain. *J Food Prot*, 76, 1095-1108.
124. Laupland, K. B., Church, D. L., Mucenski, M., Sutherland, L. R., & Davies, H. D. (2003). Population-based study of the epidemiology of and the risk factors for invasive *Staphylococcus aureus* infections. *Journal of Infectious Diseases*, 187(9), 1452-1459.
125. Lee, J. H. (2003). Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(11), 6489-6494.

126. Le-Loir, Y., Baron, F., Gautier, M., 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research* 2 (1), 63-76.
127. Leonard FC, Abbott Y, Rossney A, Quinn PJ, O'Mahony R, Markey BK. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a veterinary surgeon and five dogs in one practice. *The Veterinary record*. 2006;158(5):155-9.
128. Leser, T.D., Amenuvor, J.Z., Jensen, T.K., Lindecrona, R.H., Boye, M., Moller, K., 2002. Culture-independent analysis of gut bacteria: the pig gastrointestinal tract microbiota revisited. *Appl Environ Microbiol* 68, 673–690.
129. Lewis, H. C., K. Molbak, C. Reese, F. M. Aarestrup, M. Selchau, M. Sorum, and R. L. Skov. 2008. Pigs as source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 infections in humans, Denmark. *Emerg. Infect. Dis.* 14:1383–1389.
130. Lim, S. K., H. M. Nam, G. C. Jang, H. S. Lee, S. C. Jung, and H. S. Kwak. 2012. The first detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in pigs in Korea. *Vet. Microbiol.* 155:88–92.
131. Lin J., Sheng K., Liu H. T. and Lin J. H., (2009). *Staphylococcus aureus* isolated from pork and chicken carcasses in Taiwan: prevalence and antimicrobial susceptibility. *J Food Prot* 72: 608-611.
132. Linhares LL, Yang M, Sreevatsan S, Munoz-Zanzi CA, Torremorell M, Davies PR. (2015) The effect of anatomic site and age on detection of *Staphylococcus aureus* in pigs. *J Vet Diagn Invest.* ;27: 55–60.
133. Loretz, M., R. Stephan, and C. Zweifel. 2011. Antibacterial activity of decontamination treatments for pig carcasses. *Food Control* 22: 1121–1125.
134. Lowe, B. A., Marsh, T. L., Isaacs-Cosgrove, N., Kirkwood, R. N., Kiupel, M., & Mulks, M. H. (2011). Microbial communities in the tonsils of healthy pigs. *Veterinary microbiology*, 147(3), 346-357.
135. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* 1998; 339: 520-32.
136. Lozano, C., M. Lo'pez, E. Go'mez-Sanz, F. Ruiz-Larrea, C. Torres, and M. Zarazaga. 2009. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in food samples of animal origin in Spain. *J. Antimicrob. Chemother.* 64:1325–1326.
137. MacInnes, J.I., Gottschalk, M., Lone, A.G., Metcalf, D.S., Ojha, S., Rosendal, T., Watson, S.B., Friendship, R.M., 2008. Prevalence of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus suis*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, and *Streptococcus suis* in representative Ontario swine herds. *Can J Vet Res* 72, 242–248.
138. Malik S, Peng H, Barton MD. Partial nucleotide sequencing of the *mecA* genes of *Staphylococcus aureus* isolates from cats and dogs. *Journal of clinical microbiology*. 2006;44(2):413-6.
139. Manian, F. A. (2003). Asymptomatic nasal carriage of mupirocin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a pet dog associated with MRSA infection in household contacts. *Clinical Infectious Diseases*, 36(2), e26-e28.
140. Marois, C., Cariolet, R., Morvan, H., Kobisch, M., 2008. Transmission of pathogenic respiratory bacteria to specific pathogen free pigs at slaughter. *Vet Microbiol* 129, 325–332.
141. Marrack, P., Blackman, M., Kushnir, E., & Kappler, J. (1990). The toxicity of staphylococcal enterotoxin B in mice is mediated by T cells. *The Journal of experimental medicine*, 171(2), 455-464.
142. Matos JS, White DG, Harmon RJ, Langlois BE. Isolation of *Staphylococcus aureus* from sites other than the lactating mammary gland. *Journal of dairy science*. 1991;74(5):1544-9.

143. Mazzariol, A., Lo Cascio, G., Kocsis, E., Maccacaro, L., Fontana, R. & Cornaglia, G. (2012). Outbreak of linezolid-resistant *Staphylococcus haemolyticus* in an Italian intensive care unit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31, 523–527.
144. Meemken D, Cuny C, Witte W, Eichler U, Staudt R, Blaha T. [Occurrence of MRSA in pigs and in humans involved in pig production--preliminary results of a study in the northwest of Germany]. *DTW Deutsche tierärztliche Wochenschrift*. 2008;115(4):132-9. Epub 2008/05/27. Zum Vorkommen von MRSA bei Schweinen und bei Menschen mit beruflicher Exposition zum Schwein--Erste Ergebnisse einer Studie in Nordwestdeutschland.
145. Melles DC, Gorkink RF, Boelens HA, et al. Natural population dynamics and expansion of pathogenic clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 2004; 114: 1732-40.
146. Menkin, V., & Walston, H. D. (1935). Rôle of Coagulating Principle of *Staphylococcus Aureus* in Relation to Invasiveness of this Microorganism. *Experimental Biology and Medicine*, 32(8), 1259-1263.
147. Miethke, T., Wahl, C., Heeg, K., Echtenacher, B., Krammer, P. H., & Wagner, H. (1992). T cell-mediated lethal shock triggered in mice by the superantigen staphylococcal enterotoxin B: critical role of tumor necrosis factor. *The Journal of experimental medicine*, 175(1), 91-98.
148. Molla, B., M. Byrne, C. Jackson, P. Fedorka-Cray, T. Smith, P. Davies, and W. Gebreyes. 2011. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in market age pigs on farm, at slaughter and retail pork. Presented at Safe Pork 2011, Maastricht, The Netherlands, 19 to 22 June 2011.
149. Monti, G., Tonetto, P., Mostert, M., & Oggero, R. (1996). *Staphylococcus aureus* skin colonization in infants with atopic dermatitis. *Dermatology*, 193(2), 83-87.
150. Montville TJ, Matthews KR (2008) *Food microbiology: An introduction*. 2nd ed, ASM Press, Washington D.C.
151. Montville, T. J., & Matthews, K. R. (2008). *Staphylococcus aureus*. *Food Microbiology: An Introduction*, 2, 189-201.
152. Moodley A, Stegger M, Bagcigil AF, Baptiste KE, Loeffler A, Lloyd DH, et al. spa typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from domestic animals and veterinary staff in the UK and Ireland. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2006;58(6):1118-23.
153. Morcillo, A., B. Castro, C. Rodri'guez-A'lvarez, J. C. Gonza'lez, A. Sierra, M. I. Montesinos, R. Abreu, and A'. Arias. 2012. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs and pig workers in Tenerife, Spain. *Foodborne Pathog. Dis.* 9: 207–210.
154. Moreillon, P., Que, Y., & Glauser, M. P. (2005). *Staphylococcus aureus*. Mandel GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and practice of infectious disease*, 6, 2321-51.
155. Morgan M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: Zoonosis or humanosis? *J Antimicrob Chemother*. 2008 Dec;62(6):1181-7
156. Morris DO, Rook KA, Shofer FS, Rankin SC. Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003-04). *Veterinary dermatology*. 2006;17(5):332-7.
157. Møller, K., Kilian, M., 1990. V factor-dependent members of the family Pasteurellaceae in the porcine upper respiratory tract. *J Clin Microbiol* 28, 2711–2716.

158. Mossel, D. A. A., Vega, C. L., & PUT, H. (1975). Further studies on the suitability of various media containing antibacterial antibiotics for the enumeration of moulds in food and food environments. *Journal of Applied Bacteriology*, 39(1), 15-22.
159. Murray RJ. Recognition and management of *Staphylococcus aureus* toxin-mediated disease. *Internal medicine journal*. 2005;35 Suppl 2: S106-19.
160. Murray, D. L., Ohlendorf, D. H., & Schlievert, P. M. (1995). Staphylococcal and streptococcal superantigens: their role in human diseases. *Asm News*, 61(5), 229-235.
161. Musser JM, Schlievert PM, Chow AW, Ewan P, Kreiswirth BN, Rosdahl VT, et al. A single clone of *Staphylococcus aureus* causes the majority of cases of toxic shock syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1990;87(1):225-9.
162. Mylotte, J. M., McDermott, C., & Spooner, J. A. (1987). Prospective study of 114 consecutive episodes of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Review of Infectious Diseases*, 9(5), 891-907.
163. Nave, H., Gebert, A., Pabst, R., 2001. Morphology and immunology of the human palatine tonsil. *Anat Embryol (Berl)* 204, 367–373.
164. Nemati, M., Hermans, K., Lipinska, U., Denis, O., Deplano, A., Struelens, M., & Haesebrouck, F. (2008). Antimicrobial resistance of old and recent *Staphylococcus aureus* isolates from poultry: first detection of livestock-associated methicillin-resistant strain ST398. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(10), 3817-3819.
165. Nerbrink, E., and E. Borch. 1989. Bacterial contamination during the pig slaughtering process, p. 356–362. In *Proceedings of the 35th International Congress of Meat Science Technology*, Copenhagen.
166. Noble W.C. and Pitcher D.G.: Microbial ecology of the human skin'. *Adv. Microbiol. Ecol.* 2: 245-253, 1978.
167. Noble WC, Valkenburg HA, Wolters CH. Carriage of *Staphylococcus aureus* in random samples of a normal population. *J Hyg (Lond)* 1967; 65: 567-73.
168. Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S., Mula, G., Dambrosio, A., Poggiu, A., & Di Giannatale, E. (2005). Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *International journal of food microbiology*, 98(1), 73-79.
169. Normanno, G., La Salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, N. C., Corrente, M., Parisi, A., & Celano, G. V. (2007). Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 115(3), 290-296.
170. Notermans S, Heuvelman CJ (1983) Combined effect of water activity, pH and suboptimal temperature on growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus*. *J Food Sci* 48:1832–1835,1840.
171. Noskin, G. A., Rubin, R. J., Schentag, J. J., Kluytmans, J., Hedblom, E. C., Smulders, M., & Gemmen, E. (2005). The burden of *Staphylococcus aureus* infections on hospitals in the United States: an analysis of the 2000 and 2001 Nationwide Inpatient Sample Database. *Archives of Internal Medicine*, 165(15), 1756-1761.
172. Ogston, A. (1880) Über Abscesse. *Arch. Klin. Chir.* 25, 588-600.
173. Olsen, K., Sangvik, M., Simonsen, G. S., Sollid, J. U. E., Sundsfjord, A., Thune, I., & Furberg, A. S. (2013). Prevalence and population structure of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in healthcare workers in a general population. The Tromsø Staph and Skin Study. *Epidemiology and infection*, 141(01), 143-152.

174. Omoe K, Ishikawa M, Shimoda Y, Hu DL, Ueda S, Shinagawa K (2002) Detection of seg, seh and sei genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates harboring seg, seh or sei genes. *J Clin Microbiol* 40:857–862.
175. Overesch, G., S. Büttnner, A. Rossano, and V. Perreten. 2011. The increase of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and the presence of an unusual sequence type ST49 in slaughter pigs in Switzerland. *BMC Vet. Res.* 7:30.
176. Pagac, B. B., Reiland, R. W., Bolesh, D. T., & Swanson, D. L. (2006). Skin lesions in barracks: consider community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection instead of spider bites. *Mil Med*, 171(9), 830-2.
177. Palumbo SA, Smith JL, Kissinger JC (1977) Destruction of *Staphylococcus aureus* during frankfurter processing. *Appl. Environ. Microbiol* 34:740–744
178. Paster, B.J., Boches, S.K., Galvin, J.L., Ericson, R.E., Lau, C.N., Levanos, V.A., Sahasrabudhe, A., Dewhirst, F.E., 2001. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 183, 3770–3783.
179. Pesavento G, Ducci B, Comodo N, & Lo Nostro A (2007) Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). (Translated from English) *Food Control* 18(3):196-200 (in English).
180. Pearce, R. A., D. J. Bolton, J. J. Sheridan, D. A. McDowell, I. S. Blair, and D. Harrington. 2004. Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems. *Int. J. Food Microbiol.* 90:331–339.
181. Pexara, A., Burriel, A., Govaris, A. (2010). *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal enterotoxins in foodborne diseases. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 61(4), 316-322.
182. Pexara, A., Solomakos, N., Govaris, A. (2012). Staphylococcal intoxication in meat and meat products. *Meat days* 2012.
183. Piette, A., and G. Verschraegen. (2009). Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. *Vet. Microbiol.* 134:45-54.
184. Pinchuk IV, Beswick JJ, Saada JI, Suarez G, Winston J, Mifflin RC, Di Mari JF, Powell DW, Reyes VE (2007) Monocyte Chemo - attractant Protein-1 Production by Intestinal Myofibroblasts in Response to Staphylococcal Enterotoxin A: Relevance to Staphylococcal Enterotoxigenic Disease. *J Immunol* 178:8097- 8106
185. Pomba, C., H. Hasman, L. M. Cavaco, J. D. da Fonseca, and F. M. Aarestrup. 2009. First description of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) CC30 and CC398 from swine in Portugal. *Int. J. Antimicrob. Agents* 34:193–194
186. Popovich, K. J., & Hota, B. (2008). Treatment and prevention of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections. *Dermatologic therapy*, 21(3), 167-179.
187. Porrero, M. C., T. M. Wassenaar, S. Gómez-Barrero, M. Garcí'a, C. Ba'rcena, J. A'lvarez, J. L. Sa'ez-Llorente, J. F. Fern'andez-Garayza'bal, M. A. Moreno, and L. Dom'nguez. 2012. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Iberian pigs. *Lett. Appl. Microbiol.* 54:280–285.
188. Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., Carter, G.R. 2000. *Staphylococcus* species. In: *Clinical veterinary microbiology*, Mosby, Edinburgh, pp. 118-126.
189. Quin, P. J., B. K. Markey, M. E. Carter, W. J. C. Donnelly, and F. C. Leonard. 2002. *Veterinary microbiology and microbial disease*, 1st ed. Blackwell Science, Ltd., Oxford.

190. Raad, I. I., & Sabbagh, M. F. (1992). Optimal duration of therapy for catheter-related *Staphylococcus aureus* bacteremia: a study of 55 cases and review. *Clinical infectious diseases*, 14(1), 75-82.
191. Rich M. *Staphylococci in animals: prevalence, identification and antimicrobial susceptibility, with an emphasis on methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. *British journal of biomedical science*. 2005;62(2):98-105.
192. Rivas, T., J. A. Vizcaíno, and F. J. Herrera. 2000. Microbial contamination of carcasses and equipment from an Iberian pig slaughterhouse. *J. Food Prot.* 63:1670–1675.
193. Rosenbach, F. G. (1884) *Mikroorganismen bei den Wundinfektionskrankheiten des Menschen*. J. F. Bergmann's Verlag. Wiesbaden, Germany.
194. Saide-Albornoz, J. J., C. Lynn Knipe, E. A. Murano, and G. W. Beran. 1995. Contamination of pork carcasses during slaughter, fabrication, and chilled storage. *J. Food Prot.* 58:993–997.
195. Salgado-Pabón, W., & Schlievert, P. M. (2014). Models matter: the search for an effective *Staphylococcus aureus* vaccine. *Nature Reviews Microbiology*, 12(8), 585-591.
196. Sanabria, T. J., Alpert, J. S., Goldberg, R., Pape, L. A., & Cheeseman, S. H. (1990). Increasing frequency of staphylococcal infective endocarditis: experience at a university hospital, 1981 through 1988. *Archives of internal medicine*, 150(6), 1305-1309.
197. Sanyal D., Johnson A.P., George R.C., Cookson B.D., Williams A.J.: 'Peritonitis due to vancomycin-resistant *Staphylococcus epidermidis*'. *Lancet*, 337: 54, 1991.
198. Schilling, C., B. A. Tenhagen, B. Guerra, and A. Fetsch. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in meat and meat products: results of a survey study. *Fleischwirtschaft* 90:88– 91.
199. Schlievert, P. M., Tripp, T. J., & Peterson, M. L. (2004). Reemergence of staphylococcal toxic shock syndrome in Minneapolis-St. Paul, Minnesota, during the 2000-2003 surveillance period. *Journal of clinical microbiology*, 42(6), 2875-2876.
200. Schmitt M, Schuler-Schmid U, Schmidt-Lorenz W. Temperature limits of growth, TNase and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *International journal of food microbiology*. 1990;11(1):1-19.
201. Schmitz F.J. and Fluit A.C.: 'Mechanisms of resistance'. p. 7.2.1-7.2.14. In D. Armstrong and S. Cohen (eds), *Infectious diseases*. C.V. Mosby, Ltd., London, United Kingdom.
202. Schraft, H., N. Kleinlein, and F. Untermann. 1992. Contamination of pig hindquarters with *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Food Microbiol.* 15:191–194
203. Seguin, J. C., Walker, R. D., Caron, J. P., Kloos, W. E., George, C. G., Hollis, R. J., & Pfaller, M. A. (1999). *Staphylococcus aureus* outbreak in a veterinary teaching hospital: potential human-to-animal transmission. *Journal of clinical microbiology*, 37(5), 1459-1463.
204. Shupp JW, Jett M, Pontzer CH (2002) Identification of a Transcytosis Epitope on *Staphylococcal* Enterotoxins. *Infec Immun* 70(4): 2178–2186
205. Simon, S. S., & Sanjeev, S. (2007). Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. *Food control*, 18(12), 1565-1568.
206. Smith JL, Buchanan RL, Palumbo SA (1983) Effect of food environment on staphylococcal enterotoxin synthesis: A review. *J Food Protect* 46:545–555.

207. Snijders, J. M. A., and G. E. Gerats. 1976. Hygiene bei der Schlachtung von Schweinen. IV. Bakteriologische Beschaffenheit der Schlacht tierkörper während verschiedener Schlachtphasen. *Fleischwirtschaft* 56:717–721.
208. Snijders, J. M. A., G. E. Gerats, and J. G. van Logtestijn. 1984. Good manufacturing practices during slaughtering. *Arch. Lebensmittelhyg.* 35:99–103.
209. Solberg CO. A study of carriers of *Staphylococcus aureus* with special regard to quantitative bacterial estimations. *Acta medica Scandinavica Supplementum.* 1965;436:1-96.
210. Sorqvist, S., and M. L. Danielsson-Tham. 1986. Bacterial contamination of the scalding water during vat scalding of pigs. *Fleischwirtschaft* 66:1745–1748
- Spescha, C., R. Stephan, and C. Zweifel. 2006. Microbiological contamination of pig carcasses at different stages of slaughter in two European Union–approved abattoirs. *J. Food Prot.* 69:2568–2575.
211. Stewart, C. M., & Hocking, A. D. (2003). *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. *Foodborne microorganisms of public health significance*, (Ed. 6), 359-379.
212. Strommenger B, Kehrenberg C, Kettlitz C, Cuny C, Verspohl J, Witte W, et al. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from pet animals and their relationship to human isolates. *The Journal of antimicrobial chemotherapy.* 2006;57(3):461-5.
213. Struelens MJ, Hawkey PM, French GL, Witte W, Tacconelli E. Laboratory tools and strategies for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* screening, surveillance and typing: State of the art and unmet needs. *Clin Microbiol Infect.* 2009 Feb;15(2):112-9.
214. Su YC, Wong ACL. (1995) Identification and purification of a new staphylococcal enterotoxin, *H Appl Environ Microbiol* 61:1438– 1443.
215. Szabo, I., B. Beck, A. Friese, A. Fetsch, B.-A. Tenhagen, and U. Roesler. 2011. Colonization kinetics of different methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) sequence types in pigs and host susceptibilities. *Appl. Environ. Microbiol.* 78:541–548.
216. Takamatsu D, Hata E, Osaki M, Aso H, Kobayashi S, Sekizaki T. Role of SraP in adherence of *Staphylococcus aureus* to the bovine mammary epithelia. *The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science.* 2008;70(7):735-8
217. Talarico, F., Rocca, E., & Del Nero, I. (1997). Prevalence of enterotoxigenic staphylococci in food-handlers in the province of Catanzaro (Italy). *Igiene Moderna*, 107(2), 137-142.
218. Tatini SR (1973) Influence of food environments on growth of *Staphylococcus aureus* and production of various enterotoxins. *J Milk Food Technol* 36:559-563.
219. Taylor LH, Latham SM, Woolhouse ME. Risk factors for human disease emergence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2001 Jul 29;356(1411):983-9.
220. Tenhagen, B.-A., A. Fetsch, B. Stührenberg, G. Schleuter, B. Guerra, J. A. Hammerl, S. Hertwig, J. Kowall, U. Kampe, A. Schroeter, J. Braunig, A. Kaßbohrer, and B. Appel. 2009. Prevalence of MRSA types in slaughter pigs in different German abattoirs. *Vet. Rec.* 165:589–593.
221. The Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, USA. Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook *Staphylococcus aureus*. In: *Bad Bug Book*. <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/ucm070015.htm>

222. Thi Thu HV, George M, Taghrid I, Linh TT, Peter JC (2007). Detection of *Salmonella* spp. in retail raw food samples from Vietnam and characterization of their antibiotic resistance. *Appl. Environ. Microbiol.* 73(21):6885-6890.
223. Tranter HS (1996) Foodborne illness: foodborne staphylococcal illness. *Lancet* 336: 1044–1046
224. Troeger, K. 1993. Scalding and dehairing technology. *Fleischwirtschaft* 73:1157–1160.
225. Tonpitak, W., Rohde, J., Gerlach, G.F., 2007. Prevalence of “*Actinobacillus porcitosillarum*” in porcine tonsils and development of a diagnosis duplex PCR differentiating between “*Actinobacillus porcitosillarum*” and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet Microbiol* 122, 157–165.
226. Tsai, H. Y., C. H. Liao, A. Cheng, C. Y. Liu, Y. T. Huang, L. J. Teng, and P. R. Hsueh. 2012. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sequence type 9 in pigs in Taiwan. *Int. J. Antimicrob. Agents* 39:449–451.
227. Valle, J., Gomez-Lucia, E., Piriz, S., Goyache, J., Orden, J. A., & Vadillo, S. (1990). Enterotoxin production by staphylococci isolated from healthy goats. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(5), 1323-1326.
228. van den Broek, I. V. F., B. A. G. L. Van Cleef, A. Haenen, E. M. Broens, P. J. Van der Wolf, M. J. M. van den Broek, X. W. Huijsdens, J. A. J. W. Kluytmans, A. W. van de Giessen, and E. W. Tiemersma. 2009. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people living and working in pig farms. *Epidemiol. Infect.* 137:700–708.
229. Van Damme I., Berkvens D., Vanantwerpen G, Baré, J., Houf, K., Wauters, G., De Zutter L., (2015) Contamination of freshly slaughtered pig carcasses with enteropathogenic *Yersinia* spp.: Distribution, quantification and identification of risk factors. *International Journal of Food Microbiology*, 204 :33–40
230. Van Duijkeren, E., et al. "Transmission of a Panton-Valentine leucocidin-positive, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain between humans and a dog." *Journal of clinical microbiology* 43.12 (2005): 6
231. van Duijkeren, E., R. Ikawaty, M. J. Broekhuizen-Stins, M. D. Jansen, E. C. Spalburg, A. J. de Neeling, J. G. Allaart, A. van Nes, J. A. Wagenaar, and A. C. Fluit. 2008. Transmission of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains between different kinds of pig farms. *Vet. Microbiol.* 126:383–389.
232. van Loo, I., X. Huijsdens, E. Tiemersma, A. de Neeling, N. Sande- Bruinsma, D. Beaujean, A. Voss, and J. Kluytmans. 2007. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of animal origin in humans. *Emerg. Infect. Dis.* 13:1834–1839.
233. Vernozy-Rozand C, Mazuy-Cruchaudet C, Bavai C, Richard Y (2004) Comparison of three immunological methods for detecting staphylococcal enterotoxins from food. *Lett Appl Microbiol* 39:490–494.
234. Vitale CB, Gross TL, Weese JS. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in cat and owner. *Emerging infectious diseases.* 2006;12(12):1998-2000.
235. Voss, A., F. Loeffen, J. Bakker, C. Klaassen, and M. Wulf. 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg. Infect. Dis.* 11:1965-1966.
236. Wagenaar, J. A., H. Yue, J. Pritchard, M. Broekhuizen-Stins, X. Huijsdens, D. J. Mevius, T. Bosch, and E. van Duijkeren. 2009. Unexpected sequence types in livestock associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA ST9 and a single locus variant of ST9 in pig farming in China. *Vet. Microbiol.* 139: 405–409
237. Wang JP, Yeh KS, Hsieh MW, Fang CY, Chen, ZW, Lin JH (2013). Pathogenic microbiological baseline survey of pork carcasses in Taiwan. *J. Food Prot.* 76(6):1046-1050.

- 238.** Weese, J. S., & Rousseau, J. (2005). Attempted eradication of *Staphylococcus aureus* colonisation in horses on two farms. *Equine veterinary journal*, 37(6), 510-514.
- 239.** Weese, J. S., J. Rousseau, A. Deckert, S. Gow, and R. J. Reid-Smith. 2011. *Clostridium difficile* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* shedding by slaughter-age pigs. *BMC Vet. Res.* 7:41.
- 240.** Weinstein H.J.: 'The relation between the nasal-staphylococcal-carrier state and the incidence of postoperative complications'. *N. Engl. Med.* 260: 1303-8, 1959.
- 241.** Werckenthin, C., Cardoso, M., Martel, J. L., & Schwarz, S. (2001). Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus*, and canine *Staphylococcus intermedius*. *Veterinary research*, 32(3-4), 341-362.
- 242.** Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis* 2005; **5**: 751-62.
- 243.** Wieneke, A.A., D. Roberts and R.J. Gilbert, (1993). Staphylococcal food poisoning in the united kingdom, 1969-90. *Epidemiol. Infect.*, 110: 519-531.
- 244.** Witte W, Hummel R, Meyer W, Exner H, Wundrak R. Ecology of *Staphylococcus aureus*: characterization of strains from chicken. *Zeitschrift fur allgemeine Mikrobiologie.* 1977;17(8):639-46.
- 245.** Yu, S. L., D. Bolton, C. Laubach, P. Kline, A. Oser, and S. A. Palumbo. 1999. Effect of dehairing operations on microbiological quality of swine carcasses. *J. Food Prot.* 62:1478–1481.