

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ –
ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

«Ανίχνευση σαλμονέλας σε εντόσθια κοτόπουλων»

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΜΑΧΑΙΡΑΣ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ**

ΛΑΡΙΣΑ 2013

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- κ. Κρικέλης Βασίλειος, Καθηγητής Τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων
ΤΕΙ Θεσσαλίας, Επιβλέπων Καθηγητής.
- κ. Μηνάς Αναστάσιος, Επίκουρος Καθηγητής ΤΕΙ Θεσσαλίας,
μέλος Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής.
- κ. Πλακοκέφαλος Ηλίας, Επιστημονικός Συνεργάτης ΤΕΙ Θεσσαλίας,
μέλος Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής.

Στη σύζυγό μου,
Ελένη

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εξαιτίας της αύξησης της κατανάλωσης πουλερικών και της βιομηχανικού επιπέδου παραγωγής των προϊόντων τους τις τελευταίες δεκαετίες, αυξήθηκαν οι πιθανότητες ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών. Ένας από τους πιο συνηθισμένους είναι βέβαια η *Salmonella*, για την οποία πρέπει να υπάρχει συνεχής επίβλεψη, έτσι ώστε να μην φτάσει στον καταναλωτή. Καθώς όμως είναι αδύνατο να εξαλειφθεί, χρειάζονται συνεχείς δειγματοληψίες και μελέτες, σε όλο τον κόσμο.

Στην παρούσα μελέτη, στο γενικό μέρος, εξετάζεται αρχικά η παθογόνος δράση της και τα αίτια εμφάνισής της, τα οποία κυμαίνονται, από την επιβάρυνση από γενετικούς παράγοντες, έως ατέλειες στον εξαερισμό και τη στρωμνή, αλλά και στον τρόπο διατροφής των πουλερικών.

Πέρα από τη διάγνωση, μεγαλύτερη σημασία έχει η πρόγνωση και τα μέτρα πρόληψης. Υπάρχουν τρόποι, με προγράμματα εμβολιασμών, με συμπληρώματα διατροφής, με παρακολούθηση της ευαισθησίας στα χορηγούμενα αντιβιοτικά, καθώς και με άλλους φυσικούς και χημικούς τρόπους. Οι αρμόδιες υπηρεσίες της πολιτείας πρέπει και αυτές να λαμβάνουν συνεχώς δείγματα και να τα εξετάζουν, να εκδίδουν οδηγίες (π.χ. για απολύμανση) και να εφαρμόζουν μέτρα πρόληψης ή καταπολέμησης της *Salmonella*.

Στο ειδικό μέρος, περιγράφεται ο τρόπος συλλογής των δειγμάτων, από σφαγεία, κρεοπωλεία και σούπερ μάρκετ, ενώ στη συνέχεια περιγράφεται η διαδικασία επεξεργασίας, με αποθήκευση, χρήση διαφόρων τύπων θρεπτικών υποστρωμάτων, προσθήκη αντιδραστηρίων, τήρηση θερμοκρασιών και χρόνων, και τελικά ταυτοποίηση της *Salmonella* και περιγραφή των αποτελεσμάτων.

Στα συμπεράσματα, αναφέρονται τα κυριότερα χαρακτηριστικά της δράσης της *Salmonella*, στα οποία οφείλεται η προσοχή με την οποία πρέπει να αντιμετωπίζεται.

ABSTRACT

Because of increased consumption of poultry and industrial level production of their products in recent decades, the chances of growth of pathogenic microorganisms are increased. One of the most common pathogens is of course, *Salmonella*, which must be continuously monitored so as not to reach the consumer. As yet it is impossible to eradicate it, a continuous sampling and studies around the world are needed.

In this study, in the general part, the activity of pathogenic and causes appearance are first tested, ranging from the burden of genetic factors to defects in ventilation and bedding, as well as the feeding method.

Beyond diagnosis, of greater importance are the prediction and prevention measures. There are ways in immunization programs, nutritional supplements, while monitoring the susceptibility against administered antibiotics, and other physical and chemical methods. The relevant services of the state must also continuously take samples and examine them, issue instructions (e.g. on disinfection) and implement measures to prevent or combat *Salmonella*.

In the special section, collection of samples from slaughterhouses, butchers and supermarkets is described, and then the treatment process, the storing, using different types of nutrient substrates, reagent addition, keeping record of temperatures and times, and finally identification of *Salmonella* and description of the results are also described.

In conclusions, the main features of the action of *Salmonella* are indicated, which are the main cause of the care with which it should be treated.

Περιεχόμενα	Σελ.
Ευχαριστίες	vii
Κατάσταση πινάκων	viii
Κατάσταση εικόνων και σχημάτων	ix

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Πρόλογος	2
2. Ιστορική αναδρομή	3
3. Ταξινόμηση	4
3.1 <u>Εντεροβακτηριακά</u>	4
4. Φαινοτυπικές και βιοχημικές ιδιότητες	5
5. Οικολογία – Επιδημιολογία	7
5.1 <u>Σαλμονέλλες που απαντώνται μόνο στον άνθρωπο</u>	9
5.2 <u>Σαλμονέλλες που απαντώνται στα ζώα</u>	13
6. Σαλμονελώσεις ορνίθων	15
7. Λοιμογόνοι παράγοντες – Παθογένεια	19
7.1 <u>Παθογόνος δράση</u>	19
7.2 <u>Συσχέτιση με γενετικούς παράγοντες</u>	22
7.3 <u>Ο μηχανικός αερισμός ως πιθανή πηγή σαλμονέλας</u>	25
7.4 <u>Ο τύπος των σιτηρών στην τροφή επηρεάζει τον εποικισμό με σαλμονέλα</u> .	30
7.5 <u>Σαλμονέλα στη στρωμνή και ιδιότητες του εδάφους και της τοποθεσίας της εκτροφής</u>	33
8. Διάγνωση	38
8.1 <u>Διάγνωση των τυφοπαρατυφικών λοιμώξεων</u>	38
8.2 <u>Ανίχνευση σαλμονέλας σε περιττώματα και μετά τη μεταφορά τους σε σφαγείο</u>	39
9. Τρόποι εξάλειψης/αντιμετώπισης της Salmonella στα πουλερικά	44
9.1 <u>Πρόληψη</u>	44
9.2 <u>Ευαισθησία στα αντιβιοτικά – Θεραπεία</u>	44
9.3 <u>Τρόποι εξάλειψης</u>	45
9.4 <u>Εμβολιασμός με σαλμονέλα σε κοτόπουλα εκτροφής</u>	47

9.5 Συμπλήρωμα διατροφής με γλουταμίνη	52
10. Επίσημοι έλεγχοι - πρόγραμμα ελέγχου της σαλμονέλλωσης	56
10.1 <u>Επίσημοι έλεγχοι - οδηγίες συλλογής και αποστολής δειγμάτων</u>	56
<u>A. Συχνότητα-χρόνος διενέργειας των επίσημων ελέγχων</u>	56
<u>B. Μέθοδοι δειγματοληψίας</u>	57
<u>Γ. Επισήμανση εκμεταλλεύσεων, σμηνών και δειγμάτων</u>	61
<u>Δ. Μεταφορά δειγμάτων</u>	62
<u>Ε. Επίσημοι έλεγχοι των μέτρων βιοασφάλειας και των στοιχείων αυτοελέγχων</u>	63
10.2 <u>Επίσημοι έλεγχοι - οδηγίες επαλήθευσης της αξιοπιστίας των αυτοελέγχων</u>	63
10.3 <u>Εργαστηριακές μέθοδοι διάγνωσης</u>	64
10.4 <u>Γενικές αρχές για την απολύμανση των μολυσμένων χώρων και της μολυσμένης στρωμνής - κόπρου ή υδαρούς κόπρου</u>	65
10.5 <u>Πρωτόκολλο δειγματοληψίας για την επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας της απολύμανσης</u>	67

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΥΛΙΚΑ – ΜΕΘΟΔΟΙ	70
I. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ	70
II. ΣΤΑΔΙΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ	72
B. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	75
Βιβλιογραφία	79

Ευχαριστίες

▪ Στην προσπάθεια εκπόνησης της παρούσας πτυχιακής εργασίας βρήκα συνοδοιπόρους και συμπαραστάτες τους καθηγητές μου και τους συναδέλφους μου, τους οποίους και αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω.

▪ Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή Μικροβιολογίας κ. Κρικέλη Βασίλειο, για την άψογη και αποδοτική συνεργασία μας. Μου μετέδωσε όλη τη γνώση που κατέχω σήμερα, τόσο όταν φοιτούσα στο Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων του ΤΕΙ Θεσσαλίας, όσο και στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών. Τον ευχαριστώ επίσης, για το χρόνο που αφιέρωσε στη διόρθωση της εργασίας αυτής, τις πολύτιμες συμβουλές του και για την κατανόηση και συμπαράστασή του.

▪ Ευχαριστώ θερμά τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Μηνά Αναστάσιο για τις γνώσεις που κατέχω σήμερα, αλλά και για τη συμπαράσταση και υποστήριξη σε όλο το διάστημα της προσπάθειάς μου.

▪ Ευχαριστώ επίσης τον κ. Πλακοκέφαλο Ηλία, Επιστημονικό Συνεργάτη ΤΕΙ Θεσσαλίας, μέλος της τριμελούς επιτροπής.

▪ Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης τον καθηγητή κ. Χατζηχριστοδούλου Χρήστο και τη γραμματέα του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών, κα Οικονόμου Μάγδα.

▪ Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

▪ Θα ήθελα εδώ να ευχαριστήσω ιδιαίτερα το προσωπικό του Εργαστηρίου Υγιεινής και Επιδημιολογίας, και πρώτα τις κες Κατσιαφλάκα Άννα, Κυρίτση Μαρία, Δασκαλάκη Αγγελική, Φωτεινή – Αμαλία Κολοκυθοπούλου, καθώς επίσης και τους κους Γκαγκζή Δημήτριο και Κερασιώτη Πέτρο, με τους οποίους πέρασα τις περισσότερες ώρες στο εργαστήριο. Ένα μεγάλο ευχαριστώ για την συμπαράστασή τους.

▪ Τίποτα όμως από όλα αυτά δε θα είχε πραγματοποιηθεί, αν δεν είχα την αμέριστη ηθική και υλική υποστήριξη από τη σύζυγό μου. Ευχαριστώ και εδώ τη σύζυγό μου κα Παληγεώργου Ελένη για την υπομονή και κατανόηση που έδειξε όλα αυτά τα χρόνια και για το ότι ήταν πάντα δίπλα μου και με στήριζε σε όλες τις δύσκολες στιγμές, στην οποία αφιερώνω την παρούσα εργασία ως ελάχιστο δείγμα ευγνωμοσύνης.

Κατάσταση πινάκων

Τίτλος	Σελίδα
Πίνακας 1. Σύνολο των δειγμάτων, ανάλογα με το σημείο προέλευσης.	70

Κατάσταση εικόνων και σχημάτων

Τίτλος	Σελίδα
Εικόνα 1. Ηλεκτρονική μικροφωτογραφία <i>S. Typhi</i>	6
Εικόνα 2. Είσοδος του βακτηρίου της <i>Salmonella</i> στον οργανισμό.	11

Κατάσταση διαγραμμάτων

Τίτλος	Σελίδα
Διάγραμμα 1. Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων	76

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Πρόλογος

Η κατανάλωση επεξεργασμένων προϊόντων κρέατος και κυρίως πουλερικών αυξάνει συνεχώς, προκύπτει ανάγκη μικροβιακής ασφάλειας των τροφίμων αυτών για τους καταναλωτές, τους παραγωγούς και τη δημόσια υγεία γενικότερα. Ζώντα ζώα και ειδικά τα πτηνά είναι αποικισμένα με πλούσια μικροβιακή χλωρίδα στο δέρμα τους, στα φτερά και την πεπτική οδό (Kozacinski et al., 2006). Συνεπώς η μόλυνση κατά τη διαδικασία σφαγής, καθαρισμού και συσκευασίας σφαγίων των πτηνών (carcasses), είναι αναπόφευκτη (Keklik et al. 2010).

Μεγάλος αριθμός παθογόνων μικροοργανισμών απομονώθηκε από προϊόντα πουλερικών όπως διάφορα είδη των: *Campylobacter spp.*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Escherichia coli O157:H7*, *Listeria monocytogenes*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, *Pasteurella multocida*, *Riemerella anatipestifer*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio spp.*, και *Yersinia enterocolitica* (Health Canada, 2002).

Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, οι πιο κοινές αιτίες τροφιμογενών βακτηριακών νόσων του ανθρώπου που συνδέονται με τα πουλερικά οφείλονται στα γένη *Salmonella* και *Campylobacter*, ενώ η *L. monocytogenes* αποτελεί επίσης σοβαρό πρόβλημα που συνδέεται με την επεξεργασία των πουλερικών (Keklik et al. 2010).

Τα διάφορα είδη του γένους *Salmonella* προκαλούν νοσήματα που εκδηλώνονται συχνά σε πολλές χώρες, ενώ τα τελευταία χρόνια ακολουθούν ανοδική πορεία (Ματσάγγος 2007). Αυτό οφείλεται στους οροτύπους που δεν είναι προσαρμοσμένοι σε ένα μόνον είδος ξενιστή, αλλά προσβάλλουν τόσο τα ζώα όσο και τους ανθρώπους. Η μόλυνση προκαλείται από την κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν παθογόνα στελέχη αυτού του γένους σε επαρκή πληθυσμό (Ματσάγγος 2007).

2. Ιστορική αναδρομή

Από το 1960, υπήρξε αξιοσημείωτη αύξηση της κατανάλωσης πουλερικών και προϊόντων μεταποιημένων πουλερικών (Capita et al., 2002). Η αύξηση αυτή οφείλεται κυρίως στο χαμηλό κόστος παραγωγής, στους ταχείς ρυθμούς ανάπτυξης, στην υψηλή θρεπτική αξία, καθώς και στην αυξημένη παραγωγή περαιτέρω προϊόντων μεταποιημένων πουλερικών. Το έτος 2000, παγκοσμίως, παρήχθησαν 70 εκατομμύρια μετρικοί τόνοι κρέατος πουλερικών, με μέσο ετήσιο ρυθμό αύξησης της παραγωγής 5,3% κατά τις τελευταίες 4 δεκαετίες (Bilgili, 2001). Για το 2001, η κατανάλωση πουλερικών εκτιμήθηκε γύρω στο 27% της συνολικής κατανάλωσης κρέατος στον κόσμο (Keklik et al., 2010).

Το 2007 σε πολλές περιοχές των Ηνωμένων Πολιτειών παρατηρήθηκαν επιδημικά κρούσματα Σαλμονέλας, τα οποία οφείλονταν σε κατεψυγμένες πίτες από γαλοπούλα που μαγειρεύονται στην κατσαρόλα (frozen turkey pot pies, προφανώς, πρόκειται για διατροφική συνήθεια διαδεδομένη στις ΗΠΑ). Από αυτή την επιδημία καταγράφηκαν 401 περιπτώσεις σε 41 Πολιτείες και το 32% από αυτές χρειάστηκαν νοσηλεία (CDC, 2008). Στην Ευρώπη, ένα πολυεθνικό ξέσπασμα σαλμονέλας συνέβη το 2008, το οποίο συνδέεται με προϊόντα κρέατος, συμπεριλαμβανομένων των πουλερικών, σε διάφορες μορφές. Από αυτή την επιδημία καταγράφηκαν τουλάχιστον 119 περιπτώσεις, οι οποίες σημειώθηκαν στο Ηνωμένο Βασίλειο (Μ. Βρετανία), την Ιρλανδία και τη Φινλανδία (O'Flanagan et al., 2008; Keklik et al., 2010).

3. Ταξινόμηση

3.1 Εντεροβακτηριακά

Η οικογένεια *Enterobacteriaceae* περιλαμβάνει Gram-αρνητικά, άσπορα, κινητά ή ακίνητα βακτηρίδια, τα οποία ζυμώνουν τη γλυκόζη με ή χωρίς παραγωγή αερίου και ανάγουν τα νιτρικά άλατα σε νιτρώδη. Αναπτύσσονται αερόβιως και προαιρετικά αναερόβιως. Με ορισμένες εξαιρέσεις, η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι οι 37°C.

Βάσει της διάσπασης του δισακχαρίτη λακτόζη, ταξινομούνται σε δύο μεγάλες ομάδες:

α) Εντεροβακτηριακά που ζυμώνουν τη λακτόζη. Περιλαμβάνουν τα γένη *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*.

β) Εντεροβακτηριακά που δεν ζυμώνουν τη λακτόζη. Περιλαμβάνουν τα γένη *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Serratia*, *Proteus-Providencia*.

Ενώ έχουν άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης στους 37°C, μπορούν να αναπτυχθούν σε όρια θερμοκρασίας που κυμαίνονται από 10-45°C. Καλλιεργούνται σε κοινά στερεά και υγρά θρεπτικά υλικά.

Σε αντίθεση με τους Gram-θετικούς κόκκους, αναπτύσσονται παρουσία χολής ή χολικών αλάτων. Στην ιδιότητα αυτή βασίζεται η παρασκευή εκλεκτικών θρεπτικών υλικών, που χρησιμοποιούνται κυρίως για την απομόνωσή τους από κλινικά υλικά, στα οποία υπάρχουν Gram-θετικοί κόκκοι.

Τα εντεροβακτηριακά βρίσκονται στο περιβάλλον (έδαφος και νερό) και αποτελούν μέρος της φυσιολογικής μικροβιολογικής χλωρίδας του εντέρου των ανθρώπων και των ζώων. Ορισμένα μέλη της οικογένειας, όπως τα είδη που ανήκουν στα γένη *Shigella*, *Salmonella* και *Y. pestis*, είναι πάντοτε παθογόνα για τον άνθρωπο. Άλλα είδη όπως τα *E. coli*, *Kl. pneumoniae*, *Pr. mirabilis*, ενώ αποτελούν μέλη της φυσιολογικής χλωρίδας, μπορούν να προκαλέσουν ευκαιριακές λοιμώξεις. Οι λοιμώξεις που προκαλούνται από τα εντεροβακτηριακά μπορεί να είναι ενδογενείς ή εξωγενείς και έχουν διάφορες εντοπίσεις στο σώμα. Θεωρούνται υπεύθυνα για τις περισσότερες από τις νοσοκομειακές λοιμώξεις, που αναπτύσσονται σε ποσοστό 5% περίπου των νοσηλευόμενων ασθενών (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

4. Φαινοτυπικές και βιοχημικές ιδιότητες

Οι σαλμονέλλες (*Salmonella spp*) αποτελούν παγκοσμίως το συχνότερο αίτιο τροφιμογενών λοιμώξεων. Όπως ήδη αναφέρθηκε, είναι τυπικά μέλη της οικογένειας των εντεροβοκτηριακών. Ανήκουν στην ομάδα που δε διασπά τη λακτόζη (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999). Αποικίζουν τον εντερικό σωλήνα θερμόαιμων και ψυχρόαιμων ζώων (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

Καταστρέφονται στους 60°C μετά από διάστημα 15-20' σ' αυτή τη θερμοκρασία. Αντέχουν στην επίδραση ουσιών όπως το τετραθειονικό νάτριο, το δεσοξυχολικό νάτριο, ο σελενίτης, το στίλβον πράσινο κ.ά. Οι ουσίες αυτές χρησιμοποιούνται για την παρασκευή εκλεκτικών θρεπτικών υλικών, γιατί τα περισσότερα από τα άλλα εντεροβακτηριακά είναι ευαίσθητα στις ουσίες αυτές (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

Μορφολογία

Μορφολογικά, οι σαλμονέλλες είναι αρνητικά κατά Gram βακτήρια, διαστάσεων 0,6 x 2μm, κινούμενα με περίτριχες βλεφαρίδες, αερόβια ή προαιρετικά αναερόβια, χωρίς έλυτρο. Εξάιρεση αποτελούν οι *S. typhi*, *S. paratyphi* και *S. dublin* που παράγουν ειδικό περίβλημα σαν έλυτρο, καθώς και οι *S. gallinarum*, *S. pullorum*, που είναι βακτήρια ακίνητα και δύσκολα διαφοροποιούνται από το *E. coli*, τόσο στο μικροσκόπιο, όσο και σε καλλιέργεια (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999· Ματσάγγος, 2007).

Φυσιολογία - Μεταβολισμός

Είναι αερόβια και προαιρετικά αναερόβια μικρόβια. Όπως αναφέρθηκε, η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι οι 37°C, μπορούν όμως να αναπτυχθούν σε εύρος 10-42°C. Στο Mac Conkey άγαρ οι αποικίες είναι μικρές, διαφανείς και δε διασπούν τη λακτόζη. Εκλεκτικά θρεπτικά υλικά για τις σαμονέλλες είναι τα DCA άγαρ (Deoxycholate citrate agar, άγαρ με δεοξυχολικό νάτριο και κιτρικά άλατα), CA άγαρ (Columbia Blood Agar, θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιείται ως βάση για το αιματούχο άγαρ) και ο ζωμός με σελενίτη (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

Οι σαμονέλλες χαρακτηρίζονται από μεγάλη ομοιογένεια όσον αφορά στις βιοχημικές ιδιότητες. Βασικές δοκιμασίες με τις οποίες οι σαλμονέλλες διαχωρίζονται από τα άλλα μέλη της οικογένειας των εντεροβακτηριακών είναι η κινητικότητα, η

παραγωγή H₂S, η διάσπαση της γλυκόζης με παραγωγή αερίου (εξαιρείται η *S. typhi*), η μη διάσπαση της λακτόζης και η ανάπτυξη σε υλικό που περιέχει ως μόνη πηγή άνθρακα το κιτρικό νάτριο.

Με βιοχημικές δοκιμασίες, είναι δυνατό να διακριθούν ορισμένα είδη μεταξύ τους (*S. cholerae-suis*, *S. typhi*, *S. enteritidis*). Σαφέστερος διαχωρισμός τους είναι δυνατός με βάση την αντιγονική σύσταση (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).



Εικόνα 1. Ηλεκτρονική μικροφωτογραφία *S. typhi* (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

Αντιγονική δομή

Η υποδιαίρεση του γένους *Salmonella* βασίζεται κυρίως στην αντιγονική σύσταση. Το γένος χαρακτηρίζεται από εξαιρετικά μεγάλη ποικιλία όσον αφορά στην ειδικότητα του σωματικού αντιγόνου O και του βλεφαριδικού αντιγόνου H. Έχουν περιγραφεί περισσότεροι από 2000 ορογονικοί τύποι σαλμονελλών. Η διάκρισή τους επομένως βασίζεται στο σωματικό αντιγόνο O, στο βλεφαριδικό αντιγόνο H, αλλά και στο αντιγόνο V1 του περιβλήματος.

Το σωματικό αντιγόνο O όπως σε όλα τα Gram-αρνητικά βακτήρια, είναι το πολυσακχαριδικό τμήμα του λιποπολυσακχαρίτη του κυτταρικού τοιχώματος. Είναι θερμοανθεκτικό και δεν καταστρέφεται με βρασμό για 1-2 ώρες. Σε κάθε σαλμονέλλα υπάρχουν περισσότερα από ένα σωματικά O-αντιγόνα. Μπορεί να απολεσθεί μέρος τους, όταν η σαλμονέλλα διατηρηθεί σε υγρό υλικό καλλιέργειας, γεγονός που σημαίνει μια μετάπτωση από τη φάση S (smooth) στη φάση R (rough).

Το βλεφαριδικό H αντιγόνο είναι πρωτεϊνικής φύσης. Καταστρέφεται με θέρμανση στους 70°C, με οινόπνευμα, με οξέα ή αλκάλια. Παράγεται από όλες τις σαλμονέλλες.

Το αντιγόνο περιβλήματος (V1) παράγεται κυρίως από την *S. typhi*. Είναι πολυσακχαριδικής φύσης, θερμοευαίσθητο. Καταστρέφεται με βρασμό για 1 ώρα. Η παρουσία του παρεμποδίζει τη συγκόλληση της σαλμονέλλας με αντιορούς. Το V1 αντιγόνο μπορεί να απολεσθεί κατά τις ανακαλλιέργειες του στελέχους και χρησιμεύει

σαν υποδοχέας για την προσήλωση λυτικών βακτηριοφάγων (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

5. Οικολογία - Επιδημιολογία

Οι μολυσματικές ασθένειες εξακολουθούν να απασχολούν τις αρμόδιες αρχές σε όλο τον κόσμο. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, εκτιμάται ότι καταγράφονται κάθε χρόνο περίπου 76 εκατομμύρια περιπτώσεις τροφιμογενών νόσων, με αποτέλεσμα 325.000 εισαγωγές σε νοσοκομείο και 5.000 θανάτους (Mead et al., 1999). Στην ίδια χώρα, οι ασθένειες που προκαλούνται από τα σημαντικότερα παθογόνα και μόνο, υπολογίζεται ότι κοστίζουν μέχρι και 37,1 δις δολάρια ετησίως σε ιατρικές δαπάνες και απώλεια παραγωγικότητας (Keklik et al., 2010).

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, για το 2006 αναφέρθηκαν 160.649 επιβεβαιωμένα κρούσματα με ποσοστό εμφάνισης 34,6 περιπτώσεων ανά 100.000 πληθυσμού. Υπήρξε ωστόσο μείωση κατά 7,6% σε σχέση με το 2005. Οι *S. enteritidis* και *S. typhimurium* αναφέρονται πιο συχνά στις περιπτώσεις αυτές. Άτομα των ηλικιών 0-4 και 5-14 ετών αποτελούν την πλειονότητα των περιστατικών (Ζαχαριάδης, 2009).

Οι σαλμονέλλες είναι ευρέως κατανεμημένες στο ζωικό βασίλειο. Απομονώνονται από πουλερικά, ερπετά, αιγοπρόβατα, βοοειδή, τρωκτικά, κατοικίδια ζώα, πουλιά, τον άνθρωπο και το περιβάλλον. Οι σαλμονέλλες από επιδημιολογικής άποψης μπορεί να διακριθούν σε τρεις κύριες ομάδες: α) αυτές που απαντούν μόνο στον άνθρωπο, β) αυτές που απαντούν στα ζώα (θερμόαιμα, ψυχρόαιμα και περιβάλλον) και γ) αυτές που απαντούν και στον άνθρωπο και στα ζώα (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999· Ζαχαριάδης, 2009).

Έχουν αναγνωρισθεί ως ένας σημαντικός ζωνοσογόνος παράγοντας (προκαλεί νόσο που μεταδίδεται από τα ζώα στον άνθρωπο), με σημαντικές οικονομικές επιπτώσεις στα ζώα και στους ανθρώπους (Ζαχαριάδης, 2009).

Οι εστίες των τροφιμογενών λοιμώξεων από σαλμονέλλα είναι πολυάριθμες και προκαλούνται από τροφές τόσο ζωικής, όσο και φυτικής προέλευσης. Η μετάδοση συνήθως προκαλείται, όταν ο μικροοργανισμός εισέλθει στους χώρους προετοιμασίας των τροφίμων και αφεθεί να πολλαπλασιαστεί στα τρόφιμα, όπως συμβαίνει στις περιπτώσεις που δεν τηρούνται οι κατάλληλες θερμοκρασίες αποθήκευσης των

τροφίμων, ή στις περιπτώσεις στις οποίες τα τρόφιμα δεν έχουν μαγειρευτεί επαρκώς, ή όταν επιμολύνονται τα έτοιμα παρασκευάσματα τροφίμων. Επίσης, η μετάδοση μπορεί να προκληθεί με άμεση επαφή με μολυσμένα ζώα ή ανθρώπους, ή με τα κόπρανά τους.

Σύμφωνα με την έκθεση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής για την Ασφάλεια των Τροφίμων για τις εστίες και τις τάσεις των ζωνοδόσων, των ζωνοσογόνων παραγόντων και της αντιμικροβιακής αντοχής στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα κατά το έτος 2006, οι πιο συχνά απομονωμένοι ορότυποι από τα κρούσματα σαλμονέλλωσης του ανθρώπου, ήταν οι *S. enteritidis* και *S. typhimurium*. Στις περιπτώσεις μόλυνσης του ανθρώπου με *S. Enteritidis*, οι κυριότερες πηγές μόλυνσης διαπιστώθηκε ότι ήταν η κατανάλωση μολυσμένων αυγών και μολυσμένου κρέατος κοτόπουλου. Στις περιπτώσεις μόλυνσης του ανθρώπου με *S. typhimurium*, οι κυριότερες πηγές μόλυνσης διαπιστώθηκε ότι ήταν η κατανάλωση μολυσμένου κρέατος από χοίρους, κοτόπουλα και βοοειδή.

Στα ζώα είναι συχνές οι υποκλινικές λοιμώξεις. Ο μικροοργανισμός μπορεί να διασπείρεται μεταξύ των ζώων της αγέλης ή του σμήνους χωρίς να ανιχνεύεται και τα ζώα μπορεί να μετατραπούν σε φορείς της σαλμονέλλας και να αποβάλλουν το μικροοργανισμό στο περιβάλλον συνεχώς, ή κατά διαστήματα.

Όσον αφορά στα πουλερικά, αυτά προσβάλλονται τόσο από τις προσαρμοσμένες σε αυτά ακίνητες σαλμονέλες (*S. gallinarum* και *S. pullorum*), οι οποίες προκαλούν λευκή διάρροια και τύφο των ορνίθων, όσο και από τις μη προσαρμοσμένες κινητές σαλμονέλες, οι οποίες προκαλούν παράτυφο των πτηνών και έχουν μεγάλη σημασία για τη δημόσια υγεία.

Οι κινητές σαλμονέλες συνήθως προκαλούν στα πτηνά ασυμπτωματικές λοιμώξεις, είναι όμως δυνατό να προκαλέσουν οξείες σηψαιμικές καταστάσεις και θανάτους, ιδίως στα νεαρά πτηνά.

Οι σαλμονέλες που αποβάλλονται με τα κόπρανα μολύνουν τις τροφές, το νερό και το έδαφος. Με τον τρόπο αυτό η νόσος, διαμέσω της πεπτικής οδού, μεταδίδεται στα άλλα πτηνά. Επίσης η μόλυνση των πτηνών μπορεί να γίνει και κάθετα, είτε λόγω εντόπισης των σαλμονελλών στην ωοθήκη των πτηνών, είτε λόγω μόλυνσης της εξωτερικής επιφάνειας του κελύφους των αυγών, κατά τη διόδό τους από την αμάρα, ή μετά τη γέννησή τους, όταν έλθουν σε επαφή με μολυσμένα κόπρανα ή με άλλα μολυσμένα αυγά. Οι σαλμονέλες στη συνέχεια, διαμέσου των πόρων του κελύφους, εισέρχονται στο εσωτερικό του αυγού, μολύνοντας τα έμβρυα κατά τη διάρκεια της επώασης (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

Ποια είδη προσβάλλει

Προσβάλλει τα πουλερικά, τα χοιρινά, τα βοοειδή, τα άλογα, τους σκύλους, τις γάτες, τα άγρια θηλαστικά και πτηνά, τα ερπετά, τα αμφίβια και τον άνθρωπο.

Τα σημαντικότερα είδη σαλμονέλας (ορότυποι) για κάθε είδος είναι:

Για τον άνθρωπο, *S. typhi* και η *S. paratyphi*.

Για τις όρνιθες, *S. gallinarum* και *S. pullorum*.

Για τις πάπιες, *S. typhimurium* και *S. enteritidis*.

Για τα βοοειδή, *S. typhimurium*, *S. dublin*, *S. enteritidis* και *S. abortus-bovis*.

Για το πρόβατο, *S. dublin*, *S. typhimurium* και *S. abortus-ovis*.

Για το χοίρο, *S. cholerae-suis*, *S. typhi-suis* και *S. typhimurium*.

Για το άλογο, *S. abortus-equi* και *S. typhimurium*.

Επιπλέον, νόσος μπορεί να προκληθεί και από μη προσαρμοσμένους ορότυπους για κάθε είδος, όπως για παράδειγμα στον άνθρωπο, οι ζωνοσογόνοι ορότυποι *S. enteritidis* και *S. typhimurium* που αναφέρθηκαν και πιο πάνω. Προκαλούν συχνά κλινική νόσο και έχουν μεγάλη σημασία για τη δημόσια υγεία (Ζαχαριάδης, 2009).

Το γένος *Salmonella* πρόσφατα υποδιαιρέθηκε σε δύο είδη: *S. enterica* και *S. bongori*. Η *S. enterica* υποδιαιρείται σε έξι υποείδη και οι περισσότερες σαλμονέλλες που ανιχνεύονται ανήκουν στο υποείδος *S. enterica*, υποείδος *enterica*.

Μέχρι σήμερα έχουν ανιχνευθεί περισσότεροι από 2400 ορότυποι ζωνοσογόνου σαλμονέλλας και η συχνότητα εμφάνισής τους ποικίλει σημαντικά (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

5.1 Σαλμονέλλες που απαντώνται μόνο στον άνθρωπο

Στην κατηγορία αυτή υπάγονται η *S. typhi* και η *S. paratyphi A, B, C*. Είναι παθογόνες μόνο για τον άνθρωπο εκτός από την *S. paratyphi B*, που είναι παθογόνος και για τα ζώα. Πηγή των μικροβίων αποτελεί ο πάσχων άνθρωπος ή ο άνθρωπος φορέας. Οι φορείς είναι πολύ επικίνδυνοι για τη δημόσια υγεία, όταν η εργασία τους σχετίζεται με την παρασκευή και τη διακίνηση τροφίμων. Επιδημία τυφοειδούς μπορεί να προκληθεί με μόλυνση τροφής ή νερού κεντρικού δικτύου ύδρευσης. Το μολυσμένο νερό μπορεί να αποτελέσει την αιτία έκρηξης μικρών ή μεγάλων επιδημιών. Η χλωρίωση του νερού μπορεί να περιορίσει αυτό τον κίνδυνο. Δηλαδή η επιδημιολογική αλυσίδα των τυφοπαρατυφικών λοιμώξεων είναι άνθρωπος φορέας - τρόφιμα ή νερό - άνθρωπος.

Για την προφύλαξη από αυτές τις λοιμώξεις επιβάλλεται ο έλεγχος ατόμων που έχουν σχέση με παρασκευή και διακίνηση τροφίμων, η χλωρίωση του νερού, η βελτίωση των δικτύων ύδρευσης και αποχέτευσης και η βελτίωση των συνθηκών υγιεινής σε άτομα που διαβιώνουν ομαδικά (οικοτροφεία, βρεφονηπιακοί σταθμοί, σχολεία, νοσοκομεία) (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

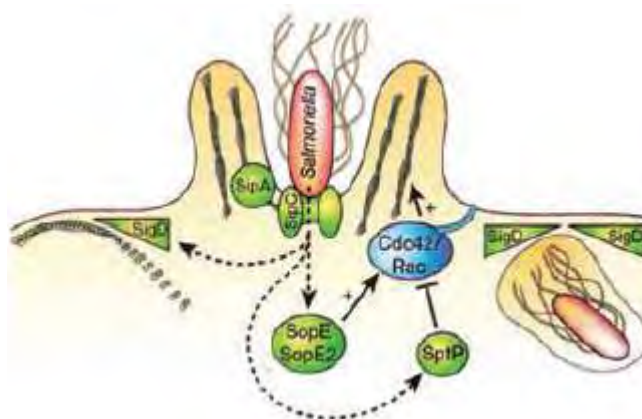
Πως μεταδίδεται στον άνθρωπο

Όσον αφορά τις *S. typhi* και *S. paratyphi*, πηγή μόλυνσης αποτελούν τα άρρωστα άτομα, οι φορείς και το νερό.

Όσον αφορά τις ζωνοσογόνους σαλμονέλες, αυτές δηλαδή που μεταδίδονται από τα ζώα στον άνθρωπο, πηγή μόλυνσης αποτελούν τα προϊόντα ζωικής προέλευσης που προέρχονται από μολυσμένα με σαλμονέλλα ζώα και κυρίως τα αυγά και το κρέας των πουλερικών και κατά δεύτερο λόγο το χοιρινό και βοδινό κρέας, το γάλα και προϊόντα του, καθώς και όλα τα τρόφιμα που επιμολύνονται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας ή συντήρησής τους (όταν δεν τηρούνται οι κατάλληλες θερμοκρασίες αποθήκευσης των τροφίμων ή στις περιπτώσεις που τα τρόφιμα δεν έχουν μαγειρευτεί επαρκώς), τα ασθενή άτομα και οι φορείς, το μολυσμένο νερό και μολυσμένα αντικείμενα (Ζαχαριάδης, 2009).

Ο εντοπισμός των σαλμονελών εστιάζεται κυρίως στον εντερικό σωλήνα του ανθρώπου και των ζώων, στα κόπρανα και τα ούρα, στα απόβλητα σφαγείων, στο νερό, στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές. Μετά από έρευνες, οι οργανισμοί αυτοί βρέθηκαν επίσης στη σπλήνα, το συκώτι, στους μεσεντερικούς και πυλαίους λεμφικούς αδένες, στο διάφραγμα και τον πλωρό. Τα βακτήρια αποβάλλονται με τα κόπρανα και από εκεί μέσω των εντόμων και άλλων ζωντανών οργανισμών μολύνουν το ευρύτερο περιβάλλον, το νερό και τα τρόφιμα. Έτσι οι σαλμονέλες διαγράφουν συνεχή κύκλο, όπου ζώα και άνθρωποι μολύνονται αλυσιδωτά. Πιο συγκεκριμένα, στα ζώα πηγή μόλυνσης εκτός του νερού, αποτελούν τα ιχθυάλευρα και οστεάλευρα, που είναι υποπροϊόντα επεξεργασιών, προσβεβλημένα συνήθως από το βακτήριο της σαλμονέλας. Επόμενο στάδιο είναι το μολυσμένο ζώο να γίνεται φορέας του βακτηρίου ή και να νοσήσει, ενώ παράλληλα επέρχεται μόλυνση όλου του πληθυσμού των ζώων από τον φορέα (ως φορέας ορίζεται ένα άτομο ή ζώο που μολύνει το περιβάλλον με βακτήρια του γένους, κυρίως με τις σωματικές εκκρίσεις, χωρίς το ίδιο να δείχνει σημεία ή συμπτώματα της ασθένειας). Στον άνθρωπο, πηγή μόλυνσης συνήθως αποτελεί η διατροφή του με τρόφιμα ζωικής προέλευσης όπως κρέας, αυγά, πουλερικά και γαλακτοκομικά προϊόντα. Όλοι οι ορότυποι του γένους σαλμονέλα είναι παθογόνοι και προκαλούν κλινικές και υποκλινικές

μορφές νοσημάτων (εντερίτιδες, σηψαιμίες, αποβολές, αρθρίτιδες), ενώ χρόνιες κλινικές μορφές εντοπίζονται σε διάφορα εσωτερικά όργανα, στις αρθρώσεις και αλλού (Ματσάγγος 2007).



Εικόνα 2. Είσοδος του βακτηρίου της *Salmonella* στον οργανισμό (Ματσάγγος, 2007).

Από τις σαλμονέλες, ορισμένες έχουν τη δυνατότητα να προσαρμόζονται λιγότερο ή περισσότερο σε διάφορους ξενιστές, με συνέπεια την υπέρμετρη αύξηση της λοιμογόνου δύναμής της και της παθογένειάς της απέναντι στον ξενιστή, με σύγχρονη ελάττωση ή πλήρη απώλεια της λοιμογόνου δύναμής της απέναντι σε άλλα είδη ξενιστών. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η *S. typhi* που προκαλεί τον τυφοειδή πυρετό στον άνθρωπο, αιτία πολλών θανάτων κατά το παρελθόν (όπως και η *S. paratyphi A & C*, τον παρατυφοειδή πυρετό), ενώ η *S. abortus - onis* στο πρόβατο. Άλλες σαλμονέλες, είναι λιγότερο προσαρμοσμένες σε κάποιο είδος ζώου και προσβάλλουν και άλλους ξενιστές. Παράδειγμα αποτελούν η *S. gallinarum* και η *S. pullorum*, που προκαλούν τον τύφο των ορνίθων και τη λευκή διάρροια των νεοσσών, αλλά και τροφολοιμώξεις στον άνθρωπο. Τέλος, ορισμένοι ορότυποι σαλμονελών προσβάλλουν όλα τα είδη ξενιστών, χωρίς να δείχνουν ιδιαίτερη προτίμηση σε κάποιον, όπως η *S. typhimurium* (Ματσάγγος, 2007).

Τα συμπτώματα της σαλμονέλλωσης του ανθρώπου

Οι *S. typhi* και *S. paratyphi* προκαλούν τη σαλμονέλλωση του ανθρώπου, γνωστή και ως τυφοειδής πυρετός, ένα πολύ σοβαρό και συχνά θανατηφόρο νόσημα, που εκδηλώνεται κυρίως σε υπανάπτυκτες χώρες. Χαρακτηρίζεται από οξεία εμφάνιση πυρετού, κοιλιακό άλγος, ναυτία, και μερικές φορές εμετό. Τα συμπτώματα συνήθως

είναι ήπια και οι περισσότερες λοιμώξεις, διάρκειας λίγων ημερών, είναι αυτοπεριοριζόμενες. Σε μερικές όμως περιπτώσεις, η προκαλούμενη λοίμωξη μπορεί να είναι πολύ σοβαρή, με πρόκληση αφυδάτωσης, ακόμη και σηψαιμίας, οπότε κρίνεται απαραίτητη η θεραπεία με τα κατάλληλα αντιβιοτικά (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

Στις λιγότερο σοβαρές περιπτώσεις, τα συμπτώματα είναι ήπια (συνήθως μόνο διάρροια), ενώ οι σοβαρότερες περιπτώσεις εκδηλώνονται με πυρετό, εμετό, στομαχικό πόνο, αδυναμία και αφυδάτωση. Σ' αυτές τις περιπτώσεις, εάν δεν χορηγηθεί κατάλληλη θεραπευτική αγωγή, μπορεί να καταλήξουν ενδεχομένως σε θάνατο των ασθενών, ιδιαίτερα των ευπαθών ομάδων (μικρά παιδιά, ηλικιωμένοι, άτομα σε ανοσοκαταστολή) (Ζαχαριάδης, 2009).

Πως μπορεί να προστατευθεί ο άνθρωπος από τη σαλμονέλα

> Τήρηση των κανόνων υγιεινής κατά τον χειρισμό των τροφίμων (πλύσιμο χεριών, καλό πλύσιμο αντικειμένων που χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία των τροφίμων (μαχαίρια κ.α.).

> Σωστός τρόπος μαγειρέματος του κρέατος και των αυγών (καλό ψήσιμο – μαγείρεμα).

> Σωστός τρόπος συντήρησης των τροφίμων (ψυγείο, προστασία από επιμολύνσεις).

> Αποφυγή βρώσης τροφίμων που περιέχουν νωπά αυγά (Ζαχαριάδης, 2009).

Προφυλακτικός εμβολιασμός με εμβόλιο (TAB)

Αυτό αποτελείται από μίγμα νεκρών κυττάρων *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *B* και χορηγείται παρεντερικά. Το εμβόλιο αυτό πιστεύεται ότι προσφέρει ανοσία σε ποσοστό 90% για τρία χρόνια. Αν όμως ένα άτομο μολυνθεί με μεγάλο αριθμό μικροβίων, η προστασία μπορεί να μειωθεί. Η χρήση του εμβολίου αυτού αμφισβητείται. Τα παρεντερικά εμβόλια δεν σκοτώνουν τις σαλμονέλλες που είναι προσκολλημένες στο εντερικό επιθήλιο, ούτε προκαλούν την έκκριση τοπικά IgA ανοσοσφαιρινών. Ακόμη, δοκιμάζεται η χορήγηση εξασθενημένων ζωντανών κυττάρων *S. typhi* από το στόμα. Τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά. Ο εμβολιασμός συνιστάται σε άτομα που βρίσκονται σε άμεση επαφή με υγιή φορέα, και σε άτομα που ταξιδεύουν σε περιοχές όπου η νόσος ενδημεί (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

5.2 Σαλμονέλλες που απαντώνται στα ζώα

Στην ομάδα των σαμονελλών ζωικής προέλευσης περιλαμβάνονται οι ακόλουθοι ορότυποι: *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. cholerae-suis*, *S. gallinarum-pullorum*, *S. abortus-equi*, *S. abortus-ovis* κ.α. Τα ζώα μπορεί να είναι απλώς φορείς ή να νοσοούν. Πηγή μόλυνσης αποτελεί το άρρωστο σηψαιμικό ζώο, το οποίο σφάζεται και προορίζεται για κατανάλωση. Αλλά και τα ζώα-φορείς αποτελούν σημαντική πηγή διασποράς, κυρίως μέσω των περιττωμάτων τους.

Τα χοιρινά, τα πουλερικά (γαλοπούλες, πάπιες και κότες), αποτελούν σημαντικές πηγές της *S. enteritidis* σε προηγμένες χώρες Ευρώπης και Αμερικής. Τα αυγά της πάπιας και της κότας μπορούν εύκολα να μολυνθούν στο εσωτερικό της λεκίθου, πριν δημιουργηθεί το κέλυφος του αυγού.

Τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση τα οποία μολύνθηκαν μετά την παρασκευή ή αυτοσυντηρημένα, είναι πολύ επικίνδυνα για πρόκληση νόσου.

Οι κυριότεροι συνδετικοί κρίκοι της επιδημιολογικής αλυσίδας αυτών των λοιμώξεων είναι: α) ζώα-τρόφιμα-άνθρωπος, β) ζωοτροφές-ζώα-άνθρωπος, και γ) άνθρωπος-τρόφιμα-άνθρωπος.

Αν και η έκθεση του ανθρώπου σε σαλμονέλα ζωικής προέλευσης είναι συχνή, εντούτοις για να προκληθεί νόσος χρειάζεται μεγάλος αριθμός μικροβίων (10^6 - 10^8) (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

Πώς μεταδίδεται στα ζώα

Πηγή μόλυνσης αποτελούν κυρίως τα άρρωστα ζώα, οι μολυσμένες ζωοτροφές και το νερό, τα μολυσμένα τροφικά και τα άγρια πτηνά, αλλά και τα έντομα και τα εξωπαράσιτα, τα οποία μπορεί να μεταφέρουν μηχανικά το βακτήριο (Ζαχαριάδης, 2009).

Πώς μπορούν να προστατευθούν τα ζώα από τη σαλμονέλα

> Με την αυστηρή τήρηση των μέτρων βιοασφάλειας (ύπαρξη περίφραξης, διενέργεια μυοκτονιών, απολυμάνσεων και απεντομώσεων, ύπαρξη ποδόλουτρου στην είσοδο της εκτροφής, χρήση νερού από το δίκτυο ύδρευσης, ύπαρξη σιτών στα παράθυρα της εκτροφής και στους αποθηκευτικούς χώρους κ.α.)

> Με την κατανάλωση ασφαλών και απαλλαγμένων από σαλμονέλλα ζωοτροφών.

> Με την εισαγωγή στην εκμετάλλευση, ζώων απαλλαγμένων από σαλμονέλλα.

> Με τον εμβολιασμό των ζώων εναντίον της σαλμονέλας, όπου αυτό είναι δυνατό.

> Με την πιστή εφαρμογή των προγραμμάτων αυτοελέγχου για τη σαλμονέλωση, όπως ήδη γίνεται βάση εθνικών αποφάσεων για τις όρνιθες αναπαραγωγής, αυγοπαραγωγής και κρεατοπαραγωγής, ή με την κατάρτιση προγραμμάτων αυτοελέγχου από τις κτηνοτροφικές επιχειρήσεις, ώστε να παράγουν ασφαλή προϊόντα.

> Με την καλή συνεργασία με τις κτηνιατρικές αρχές κάθε περιοχής (Ζαχαριάδης, 2009).

6. Σαλμονελώσεις ορνίθων

Είδη (ορότυποι) σαλμονέλλας που προσβάλλουν τις όρνιθες

Οι όρνιθες προσβάλλονται τόσο από τις προσαρμοσμένες σε αυτές ακίνητες σαλμονέλες (*S. gallinarum* και *S. pullorum*), οι οποίες προκαλούν τη λευκή διάρροια και τον τύφο των ορνίθων, όσο και από τις μη προσαρμοσμένες κινητές σαλμονέλες (ζωονοσογόνες σαλμονέλες, όπως οι *S. enteritidis*, *S. typhimurium*), οι οποίες προκαλούν τον παράτυφο των πτηνών και έχουν μεγάλη σημασία για τη δημόσια υγεία (Ζαχαριάδης, 2009).

Συμπτώματα της σαλμονέλλωσης στα πουλερικά

Ο τύφος των ορνίθων χαρακτηρίζεται από ανορεξία, κατήφεια, αιφνίδιους θανάτους, αναπνευστικά συμπτώματα κ.α., στην οξεία και υπεροξεία μορφή, σε αναπτυσσόμενα και ενήλικα πτηνά. Στις χρόνιες μορφές χαρακτηρίζεται από ήπια συμπτώματα και σημαντική μείωση της παραγωγής.

Η λευκή διάρροια των νεοσσών χαρακτηρίζεται από υψηλή θνησιμότητα, διάρροια, κατήφεια, έντονη δίψα και νευρικά συμπτώματα. Οι ζωονοσογόνες σαλμονέλες (*S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. infantis*, *S. dublin*, *S. virchow* κ.α.) προκαλούν στα πτηνά συνήθως ασυμπτωματικές λοιμώξεις, είναι όμως δυνατό να προκαλέσουν και οξείες σηψαιμικές καταστάσεις και θανάτους, ιδίως στα νεαρά πτηνά, ιδιαίτερα όταν συνυπάρχουν με επιβαρυντικούς παράγοντες (στρες, κακή διατροφή, παρασιτώσεις του εντέρου κ.α.) (Ζαχαριάδης, 2009).

Πώς μπορούν να προστατευθούν τα πουλερικά από τη σαλμονέλλα

> Με την αυστηρή τήρηση των μέτρων βιοασφάλειας (ύπαρξη περίφραξης, εφαρμογή συστήματος 'all-in / 'all-out' [τα πουλερικά κινούνται όλα μαζί είτε στον στεγασμένο (all-in), είτε στον προαύλιο (all-out) χώρο], διενέργεια μυοκτονιών, απολυμάνσεων και απεντομώσεων, ύπαρξη ποδόλουτρου στην είσοδο της εκτροφής, χρήση νερού από το δίκτυο ύδρευσης, ύπαρξη σιτών στα παράθυρα της εκτροφής και στους αποθηκευτικούς χώρους, κ.α.)

> Με την αξιόπιστη και τεκμηριωμένη εφαρμογή των προγραμμάτων αυτοελέγχου (έλεγχοι που πραγματοποιούνται από τον υπεύθυνο της εκμετάλλευσης) για τη σαλμονέλλωση.

> Με την κατανάλωση ασφαλών και απαλλαγμένων από σαλμονέλλα ζωοτροφών.

> Με την εισαγωγή στην εκμετάλλευση νεοσσών μιας ημέρας, επιβεβαιωμένα απαλλαγμένων από σαλμονέλλα.

> Με τον υποχρεωτικό (όρνιθες ωοπαραγωγής) ή τον προαιρετικό (όρνιθες αναπαραγωγής) εμβολιασμό των πουλερικών εναντίον της σαλμονέλας.

> Με την καλή συνεργασία με τις αρμόδιες κτηνιατρικές αρχές (Ζαχαριάδης, 2009).

Εθνικά προγράμματα για τον έλεγχο της σαλμονέλας στα πουλερικά

A) Εθνικό Πρόγραμμα Ελέγχου της σαλμονέλλωσης στις όρνιθες αναπαραγωγής.

Ο στόχος, όπως είχε περιγραφεί, ήταν η μείωση της συχνότητας εμφάνισης των *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. hadar*, *S. infantis*, *S. virchow* σε ποσοστό 1% ή λιγότερο μέχρι 31/12/2009 επί του συνόλου των ενηλίκων εκτρεφόμενων σμηνών με περισσότερα από 250 πτηνά.

Ο στόχος πραγματοποιείται:

1. Με την υποχρεωτική δειγματοληψία από τον υπεύθυνο της επιχείρησης (αυτοέλεγχος) κάθε 2 εβδομάδες στο εκκολαπτήριο.

2. Με την επίσημη δειγματοληψία (επίσημος έλεγχος).

3. Με τον εμβολιασμό για τη σαλμονέλλα (προαιρετικός).

4. Με την τήρηση των μέτρων βιοασφάλειας.

5. Με τη χορήγηση απαλλαγμένων από σαλμονέλλα ζωοτροφών.

6. Με την καταστροφή των θετικών σμηνών.

7. Με τον επαναπληθυσμό με νεοσσούς μιας ημέρας, επιβεβαιωμένα απαλλαγμένους από τους 5 ορότυπους που περιλαμβάνει το πρόγραμμα.

B) Εθνικό Πρόγραμμα Ελέγχου της σαλμονέλλωσης στις όρνιθες αυγοπαραγωγής.

Από 01/01/2009, σύμφωνα με τον Καν. (ΕΚ) αριθ. 1237/2007, διατίθενται αυγά στην αγορά ως επιτραπέζια αυγά, εάν προέρχονται από σμήνος στο οποίο εφαρμόζεται το εθνικό πρόγραμμα ελέγχου της σαλμονέλλωσης και στο οποίο δεν απομονώθηκαν οι ορότυποι *S. enteritidis* και *S. typhimurium*.

Στόχος είναι η μείωση του επιπολασμού των *S. enteritidis* και *S. typhimurium* σε ποσοστό μικρότερο ή ίσο του 10% επί του συνόλου των ενηλίκων εκτρεφόμενων σμηνών αυγοπαραγωγής, μέχρι τις 31/12/2010.

Ο στόχος πραγματοποιείται:

1. Με την υποχρεωτική δειγματοληψία από τον υπεύθυνο της επιχείρησης (αυτοέλεγχος), κάθε 15 εβδομάδες στην εκμετάλλευση.
2. Με την επίσημη δειγματοληψία (επίσημος έλεγχος).
3. Με τον υποχρεωτικό εμβολιασμό, τουλάχιστον για τη *S. Enteritidis*.
4. Με την τήρηση των μέτρων βιοασφάλειας.
5. Με τη χορήγηση απαλλαγμένων από σαλμονέλλα ζωοτροφών.
6. Με την καταστροφή ή τη θερμική επεξεργασία των θετικών σμηνών.
7. Με τον επαναπληθυσμό με νεοσσούς μιας ημέρας, επιβεβαιωμένα απαλλαγμένους από τις *S. enteritidis* και *S. typhymurium*.

Γ) Εθνικό Πρόγραμμα Ελέγχου της σαλμονέλλωσης στα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής.

Στόχος είναι η μείωση του μέγιστου ποσοστού σμηνών κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής, που εξακολουθούν να είναι θετικά στις *S. enteritidis* και *S. typhymurium* σε 1% ή λιγότερο, έως τις 31 Δεκεμβρίου 2011. Η δειγματοληψία θα γίνει από τον υπεύθυνο της πτηνοτροφικής μονάδας μέσα στις 3 τελευταίες εβδομάδες πριν τη σφαγή και επίσημους ελέγχους.

Ο στόχος πραγματοποιείται:

1. Με την υποχρεωτική δειγματοληψία από τον υπεύθυνο της επιχείρησης. (αυτοέλεγχος) μέσα στις 3 τελευταίες εβδομάδες πριν τη σφαγή, στην εκμετάλλευση.
2. Με την επίσημη δειγματοληψία (επίσημος έλεγχος).
3. Με την τήρηση των μέτρων βιοασφάλειας.
4. Με τη χορήγηση απαλλαγμένων από σαλμονέλα ζωοτροφών.
5. Με τη θερμική επεξεργασία των θετικών σμηνών.
6. Με τον επαναπληθυσμό με νεοσσούς μιας ημέρας επιβεβαιωμένα απαλλαγμένους από τις *S. enteritidis* και *S. typhymurium*.

Ο υπεύθυνος της επιχείρησης πρέπει να επικοινωνήσει με τις κτηνιατρικές αρχές της περιοχής του, για να ενημερωθεί για τη σωστή εφαρμογή των προγραμμάτων.

Στο πλαίσιο εφαρμογής των προγραμμάτων ελέγχου της σαλμονέλλας, απαγορεύεται η χορήγηση θεραπευτικής αγωγής για την καταπολέμηση των οροτύπων σαλμονέλλας που καλύπτουν τα προγράμματα.

Οι οικονομικές αποζημιώσεις που προβλέπονται στις αποφάσεις εφαρμογής των προγραμμάτων, λαμβάνονται μόνο όταν τηρούνται από τον ιδιοκτήτη ή τον υπεύθυνο της εκμετάλλευσης οι αυτοέλεγχοι και τα μέτρα βιοασφαλείας που καθορίζονται σ' αυτές.

Η επιχείρηση πρέπει να βοηθά στην προστασία του καταναλωτή, με την παραγωγή ασφαλών και υγιεινών προϊόντων (Ζαχαριάδης, 2009).

7. Λοιμογόνοι παράγοντες - Παθογένεια

Ο μηχανισμός με τον οποίο οι σαλμονέλες ασκούν παθογόνο δράση τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα, δεν είναι γνωστός. Σημαντικό ρόλο στην πρόκληση της νόσου παίζει το O-σωματικό αντιγόνο, που είναι ενδοτοξίνη.

Οι τροφιμογενείς λοιμώξεις από σαλμονέλες παρουσιάζουν παγκόσμια κατανομή.

Παράγοντας που προέρχεται από τον ξενιστή και μπορεί να συμβάλλει στην εμφάνιση λοίμωξης, είναι η ηλικία. Μικρά παιδιά, μικρότερα του ενός έτους και εξασθενημένοι υπερήλικες, είναι περισσότερο ευπαθείς στη λοίμωξη.

Επίσης, ενήλικες με προβλήματα υγείας ή ανοσοκαταστολή από σοβαρή υποκείμενη νόσο (λευχαιμία, λέμφωμα, δρεπανοκυτταρική αναιμία), όπως και όσοι έχουν υποστεί γαστρεκτομή, προσβάλλονται ευκολότερα και οι λοιμώξεις είναι βαρύτερες (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

7.1 Παθογόνος δράση

Οι σαλμονέλες ενοχοποιούνται για λοιμώξεις που εντοπίζονται στο γαστρεντερικό σύστημα. Είναι δυνατόν όμως να προκληθούν και εξωεντερικές λοιμώξεις.

Οι εντερικές λοιμώξεις διακρίνονται στον εντερικό πυρετό (τύφος και παράτυφος) και στις τροφικές δηλητηριάσεις.

Ως εξωεντερικές λοιμώξεις αναφέρονται οι λοιμώξεις του αναπνευστικού, η μηνιγγίτιδα, η ενδοκαρδίτιδα, η οστεομυελίτιδα, ή σηπτική αρθρίτιδα, η ουρολοίμωξη και τα αποστήματα του σπλήνα, του ήπατος και των μαλακών μορίων (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

Εντερικές λοιμώξεις

Εντερικός πυρετός (τύφος-παράτυφοι)

Προκαλείται από την *S. typhi*, και τους οροτύπους *S. paratyphi A, B* και *C*.

Προκαλούν, μετά από χρόνο επώασης που κυμαίνεται από 10-12 ημέρες, γενικευμένη νόσο μακράς διάρκειας, στην οποία υπερέχουν τα σηψαιμικά συμπτώματα, έναντι των εντερικών.

Η πορεία τύφου και παρατύφων είναι όμοιες. Οι μικροοργανισμοί εισέρχονται στον οργανισμό από το στόμα. Στον εντερικό σωλήνα περνούν τον βλεννογόνο και φθάνουν στους μεσεντέριους λεμφαδένες. Εκεί πολλαπλασιάζονται και με τη λέμφο, διαμέσω του

θωρακικού πόρου, εισέρχονται στην κυκλοφορία (παροδική μικροβιαίμια-πρωτοπαθής). Τα μικρόβια προσλαμβάνονται από τα κύτταρα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (ΔΕΣ) του ήπατος, του σπληνός και του μυελού των οστών. Τα μακροφάγα φαγοκυτταρώνουν το μικρόβιο, χωρίς όμως και να το καταστρέφουν. Μέσα στα μακροφάγα τα μικρόβια πολλαπλασιάζονται, και στη συνέχεια εισέρχονται και πάλι στο αίμα (δευτεροπαθής μικροβιαίμια). Αυτά συμβαίνουν περίπου στις πρώτες 12 ημέρες της νόσου.

Η παρακράτηση των τυφοπαρατυφικών σαλμονελών στο ήπαρ συνδέεται με την εντόπισή τους στη χοληδόχο κύστη. Από εκεί τα μικρόβια έρχονται με το χοληδόχο πόρο στον εντερικό σωλήνα. Πολλαπλασιάζονται στις πλάκες του Peyer (ομάδες λεμφοζιδίων) και προκαλούν νέκρωση του βλεννογόνου. Στη φάση αυτή, που χαρακτηρίζει τη δεύτερη και τρίτη εβδομάδα της νόσου, παρατηρούνται αιμορραγίες από τον εντερικό σωλήνα και τα μικρόβια απομονώνονται από τα κόπρανα.

Κλινικώς παρατηρείται υψηλός πυρετός, ρίγη, διόγκωση των λεμφαδένων, σπληνομεγαλία, λευκοπενία και κοιλιακοί πόνοι, ερυθρές κηλίδες στο θώρακα και στην κοιλιακή χώρα. Διάρρηση του εντέρου και περιτονίτιδα παρατηρείται αν η νόσος μείνει χωρίς θεραπεία. Μπορεί το μικρόβιο να εγκατασταθεί και σε άλλα όργανα και να προκαλέσει οστεομυελίτιδα, μηνιγγίτιδα, ενδοκαρδίτιδα, βρογχίτιδα και πνευμονία. Οι κλινικές εκδηλώσεις από παρατυφικές σαλμονέλες είναι ηπιότερες. Η θνητότητα μπορεί να φθάσει στο 20% χωρίς θεραπεία με αντιβιοτικά, ενώ με ειδική θεραπεία ελαχιστοποιείται.

Σημαντικό ποσοστό των νοσησάντων παραμένουν φορείς και φιλοξενούν το μικρόβιο στη χοληδόχο κύστη. Το 50% από αυτούς αποβάλλουν με τα κόπρανα για 4 εβδομάδες, το 30% για 3 μήνες και ένα μικρό ποσοστό, το 3% περίπου, καθίστανται μόνιμοι φορείς και αποβάλλουν τις σαλμονέλες για 6 μήνες ή και περισσότερο. Τα ποσοστά μικροβιοφόρων είναι μικρότερα στις παρατυφικές λοιμώξεις. Αυτοί οι χρόνιοι φορείς αποτελούν την αιτία επιδημιών τυφοειδούς πυρετού. Η μικροβιοφορία οφείλεται στην παραμονή των σαλμονελών μέσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα των ενδοηπατικών χολαγγείων (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

Μετά την 4η έως 5η ημέρα της νόσου, εμφανίζονται αντισώματα στον ορό προς τα αντιγόνα των σαλμονελλών. Ο τίτλος τους αυξάνεται και φθάνει σε επίπεδα ανιχνεύσιμα με απλή συγκολλητιναντίδραση (Widal), περίπου κατά την 9^η ημέρα από την αρχή της νόσου. Ο τίτλος των αντισωμάτων αυξάνει βαθμιαία και αρχίζει να ελαττώνεται από το τέλος της 3^{ης} εβδομάδας, αλλά παραμένουν σε χαμηλούς τίτλους μέχρι 3 και πλέον

μήνες. Η νόσος έχει σχεδόν εξαφανισθεί από τις προηγμένες χώρες (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

Τροφικές δηλητηριάσεις και εντερίτιδα από σαλμονέλλες

Προκαλούνται από τις σαλμονέλλες ζωικής προέλευσης, κυρίως την *S. typhimurium* και την *S. enteritidis*. Στις περιπτώσεις αυτές οι σαλμονέλλες παραμένουν στο έντερο, δεν εισέρχονται στο αίμα και γι' αυτό δεν παρατηρείται μικροβιαμία. Στις τροφικές δηλητηριάσεις η νόσος αρχίζει μετά από 8-48 ώρες από την κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων, κυρίως ζωϊκής προέλευσης.

Η γαστρεντερίτιδα χαρακτηρίζεται από κοιλιακούς πόνους, ναυτία, εμέτους, διάρροια και πυρετό και διαρκεί 1-4 ημέρες.

Η διάγνωση γίνεται με καλλιέργεια κοπράνων και συνήθως δε χρειάζεται αντιμικροβιακή θεραπεία.

Η εντερίτιδα τύπου τροφικής δηλητηρίασης οφείλεται σε παραγωγή εντεροτοξίνης. Παλαιότερα πιστευόταν ότι οφείλεται σε άφθονο πολλαπλασιασμό της σαλμονέλλας πάνω στα τρόφιμα. Σήμερα αποδίδεται σε παραγωγή εντεροτοξίνης, όπως αυτή που παράγουν άλλα εντεροβακτηριακά όταν μολυνθούν με πλασμίδιο που ρυθμίζει την παραγωγή εντεροτοξίνης.

Το οξύ γαστρεντερικό σύνδρομο που προκαλείται οδηγεί σε έντονη αφυδάτωση (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

Εξωεντερικές λοιμώξεις

Σηψαιμία

Η σηψαιμία από σαλμονέλλες χαρακτηρίζεται από επίμονο πυρετό και χρόνια μικροβιαμία, καθώς και μια τάση των μικροοργανισμών να δημιουργούν εντοπισμένα αποστήματα. Συνήθως προκαλείται από την *S. cholerae-suis* αλλά και από άλλες σαλμονέλλες.

Εντοπισμένες λοιμώξεις

- Λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος, κυρίως σε άτομα μεγάλης ηλικίας ή καρδιοπαθείς, ή διαβητικούς, ή σε άτομα που πάσχουν από κακοήθη νοσήματα, διαβήτη ή καρδιοαναπνευστική ανεπάρκεια.

- Μηνιγγίτιδα, σχεδόν αποκλειστικά σε νεογνά. Η θνητότητα βρίσκεται στο 85% περίπου, ακόμη και μετά τη θεραπεία.

- Ενδοκαρδίτιδα (σπάνια).

- Οστεομυελίτιδα, κυρίως σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία. Επίσης, όταν υπάρχει σοβαρή υποκείμενη νόσος όπως λευχαιμία, ερυθματώδης λύκος και κίρρωση του ήπατος.

- Αποστήματα του σπληνός (σπάνια).

- Αποστήματα του ήπατος (σπάνια, με μεγάλη θνητότητα).

- Αποστήματα μαλακών μορίων, κυρίως σε περιοχές που γειτονεύουν με τον εντερικό σωλήνα.

- Ουρολοίμωξη (σπάνια) (Λεοναρδόπουλος, Κούρτη 1999).

7.2 Συσχέτιση με γενετικούς παράγοντες

Τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα (PMN) είναι ένα σημαντικό συστατικό του σύμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος. Ανιχνεύουν και σκοτώνουν παθογόνα και σηματοδοτούν για να κατευθύνουν άλλους μηχανισμούς ανοσοποιητικής απόκρισης. Τα ετερόφιλα είναι τα PMN των πτηνών, τα οποία, σε αντίθεση με τα ουδετερόφιλα των θηλαστικών, έχουν περιορισμένες ικανότητες για την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species), λόγω απουσίας της μυελοϋπεροξειδάσης σε κοκκία ετεροφίλων. Όπως και τα ουδετερόφιλα, τα ετερόφιλα εκτελούν βασικές λειτουργίες στις αρχές της απάντησης σε παθογόνους οργανισμούς. Η ταχεία ενεργοποίηση και χημειοταξία των ετεροφίλων επιτρέπει σ' αυτές τις απαντήσεις να εδραιωθούν γρήγορα (Redmond et al., 2011).

Η ανίχνευση των βακτηριακών μορίων μέσω ανάλογων των Toll υποδοχέων (Toll-like Receptors, TLR) διεγείρει τη φαγοκυττάρωση ετεροφίλων και την οξειδωτική έκρηξη (Kogut et al., 2001) και επάγει την έκφραση των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών. Τα κοκκία των ετεροφίλων περιέχουν αντιμικροβιακές ουσίες που μπορούν να απελευθερωθούν μέσω αποκοκκίωσης για να σκοτώσουν φαγοκυτταρωμένα βακτήρια, ή να εξωθηθούν με χρωματίνη, όπως οι πρόσφατα ανακαλυφθείσες εξωκυττάριας παγίδες ετεροφίλων (HETs). Η γονιδιακή ρύθμιση αυτών των διαδικασιών δεν έχει διερευνηθεί στα PMN, και ο έλεγχος της παραγωγής HET παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως ένας εναλλακτικός μηχανισμός του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (Fuchs et al., 2007; Redmond et al., 2011).

Εκτός από την προώθηση της κατανόησης των μηχανισμών με τους οποίους τα PMN καταπολεμούν τα παθογόνα, η μελέτη των ετεροφίλων του κοτόπουλου είναι προς όφελος της υγείας του ανθρώπου και των ζώων. Η μεταβλητότητα στην έκφραση και τη

λειτουργία των γονιδίων των ετεροφίλων σχετίζεται με την αντίσταση σε παθογόνους οργανισμούς στα κοτόπουλα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τα κοτόπουλα έχει η αντοχή στην *Salmonella enteritidis*, μια παθογόνο ζωνόσο που μεταδίδεται μέσω της κατανάλωσης μολυσμένων αυγών και είναι μια σημαντική αιτία των τροφιμογενών ασθενειών στον άνθρωπο (Redmond et al., 2011).

Οι περιοχές του γενόματος που σχετίζονται με την αντίσταση στην πρόκληση της σαλμονέλας, έχουν καθοριστεί με βάση τη βακτηριακή επιβάρυνση σε διαφορετικούς πληθυσμούς κοτόπουλων. Οι διαφορές στην έκφραση προφλεγμονωδών κυτοκινών των ουδετερόφιλων έχουν συσχετιστεί με την αντίσταση στην *S. enteritidis*. Η φαινοτυπική επιλογή για το προφίλ έκφρασης των ετερόφιλων έχει προταθεί ως μέθοδος για να αύξηση της αντίστασης στην *S. enteritidis*. Η γενετικά αυξημένη αντοχή μέσω αύξησης της ανοσολογικής απάντησης, είναι μια εναλλακτική λύση στη χρήση των αντιβιοτικών για τη διατήρηση υγιών ζώων κρεατοπαραγωγής (Redmond et al., 2011).

Προηγούμενες αναλύσεις των σειρών κρεατοπαραγωγής (broiler lines) Leghorn και Fayoumi που αποτελούν τις σειρές για την εκκίνηση νεότερων αλληλοδιασταυρώσεων (intercrosses) που χρησιμοποιούνται στη μελέτη των Redmond et al. (2011), έχουν δείξει διακύμανση μεταξύ των σειρών στην απάντηση των ετερόφιλων στην *S. enteritidis*. Η γραμμή κρεατοπαραγωγής είναι χαρακτηριστική των πτηνών που έχουν επιλεγεί για την εμπορική παραγωγή κρέατος, και η έκφραση των γονιδίων στους ανοσοποιημένους ιστούς των κρεατοπαραγωγών πουλερικών διαφέρει λίγο ως απάντηση στην *S. enteritidis* ή σε διαιτητικούς ανοσοτροποποιητικούς παράγοντες (Redmond et al., 2011).

Η σειρά Leghorn (Leghorn line) έχει επιλεγεί για την υψηλή παραγωγή αυγών και αλλάζει την έκφραση των γονιδίων της ανοσοποιητικής αντίδρασης βάσει της πρόκλησης από την *S. enteritidis* και την ανοσοτροποποιητική διαίτα. Η κυτταρική σειρά Fayoumi είναι αυτόχθονη, δεν επιλέγεται για οποιοδήποτε εμπορικό γνώρισμα και προέρχεται από την Αίγυπτο. Πτηνά από τη σειρά Fayoumi έχουν μια ισχυρή απάντηση ετερόφιλων προς τα βακτήρια της *S. enteritidis*, η οποία προκαλεί την έκφραση των γονιδίων των κυτταροκινών και φαγοκυττάρωση σε υψηλότερα επίπεδα, σε σχέση με τις κυτταρικές σειρές κρεατοπαραγωγής (ή Leghorn lines). Τα αποκλίνοντα ιστορικά επιλογής και οι φαινότυποι από αυτές τις ιδρυτικές κυτταρικές σειρές (founder lines) διευκολύνουν τον εντοπισμό δεικτών στους απογόνους διασταύρωσης, που συσχετίζονται με αλληλόμορφα των ιδρυτικών κυτταρικών σειρών που μεταβάλλουν σημαντικά τον φαινότυπο των ετεροφίλων. Για τον προσδιορισμό της γενετικής βάσης της απόκλισης της απάντησης των ετεροφίλων, απομονωμένα ετερόφιλα μεμονομένων ατόμων από την γενιά F13 δύο

προηγμένων σειρών διασταύρωσης, broiler × Leghorn (Br × Leg) και broiler × Fayoumi (Br × Fay), αξιολογήθηκαν για τα λειτουργικά χαρακτηριστικά αντίστασης: φαγοκυττάρωση και φόνευση των βακτηρίων *S. enteritidis*, οξειδωτική έκρηξη και παραγωγή των εξωκυτταρικών παγίδων ετεροφίλων (HETs). Αυτοί οι φαινότυποι ετεροφίλων συσχετίστηκαν με συγκεκριμένες χρωμοσωμικές περιοχές, με τη χρήση υψηλής πυκνότητας σάρωσης του γονιδιώματος για πολυμορφισμούς μονών νουκλεοτιδίων (single nucleotide polymorphisms, SNPs). Χρησιμοποιήθηκε ανάλυση οδού (path analysis) των γονιδίων που εντοπίστηκαν, για να διευκρινιστούν περαιτέρω οι πρωτογενείς μηχανισμοί που δραστηριοποιούνται σε κάθε λειτουργικό φαινότυπο (Redmond et al., 2011).

Η μελέτη των Redmond et al. (2011) έχει προσδιορίσει συσχετισμούς της λειτουργίας των ετεροφίλων των πουλερικών με πολυμορφισμούς σε αρκετές θέσεις (loci), με συνέπειες για τη χρήση της γονιδιωματικά επικουρούμενης επιλογής για την ενίσχυση της ανοσολογικής αντίδρασης και για την κατανόησή μας για τη σχέση μεταξύ λειτουργίας ετεροφίλων και αντοχής στη σαλμονέλα. Ο συσχετισμός των σχετικά καλά χαρακτηρισμένων θέσεων αντίστασης στη σαλμονέλα, SAL1 και SLC11A1, με αντιβακτηριακή δραστηριότητα ουδετεροφίλων, υπογραμμίζει το σημαντικό ρόλο που παίζουν αυτά τα λευκοκύτταρα στην ανθεκτικότητα στις ασθένειες. Τα ευρήματα των Redmond et al. (2011) υποδηλώνουν ότι οι πράξεις αντίστασης προσφέρουν η αντοχή από τη θέση (locus) SAL1, μέσω ενός μηχανισμού που συνδέει την εξωκυττάρια παραγωγή παγίδων PMN με τον επαγόμενο από Siva-1/CD27 κυτταρικό θάνατο. Η συσχέτιση των προηγουμένως μη χαρακτηρισμένων θέσεων με λειτουργικούς φαινοτύπους ετερόφιλων, υποδηλώνει ότι αυτή η στοχευμένη προσέγγιση για τη μελέτη των φαινοτύπων ανοσοποιητικής απάντησης σε κυτταρικό επίπεδο και όχι σε επίπεδο οργανισμού, έχει τη δυνατότητα να εντοπίσει γενετικές επιδράσεις που δεν ανιχνεύονται στη μεγαλύτερη κλίμακα. Καθώς ο σχολιασμός και ο χαρακτηρισμός των γονιδιωμάτων κοτόπουλου και θηλαστικών βελτιώνεται, η χρήση της γονιδιωματικής ανάλυσης για τον εντοπισμό σημαντικών λειτουργικών ρυθμιστών θα γίνει πιο ισχυρή (Redmond et al., 2011).

7.3 Ο μηχανικός αερισμός ως πιθανή πηγή σαλμονέλας

Τα βακτηριακά αερολύματα μπορούν να προέρχονται από διαφορετικές πηγές, με το καθένα να αντιπροσωπεύει ένα μοναδικό περιβάλλον αερολύματος (aerosol). Η δημιουργία αυτών των σωματιδίων μπορεί να συμβεί κατά τη διάρκεια κοινών γεωργικών πρακτικών, όπως η άρδευση με ψεκασμό υδρολυμάτων (Donnison et al., 2004) και διασπορά βιοστερεών. Βιολογικό υλικό στον αέρα δεν εμφανίζεται αναγκαστικά ως ανεξάρτητα σωματίδια, και η επιβίωση των βακτηρίων που συνδέονται με τα αιωρούμενα σωματίδια μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με το μέγεθος των σωματιδίων και τις επικρατούσες ατμοσφαιρικές συνθήκες. Εκτός από τις φυσικές διακυμάνσεις των βακτηρίων που συμβαίνουν στη γενική ατμόσφαιρα, η δημιουργία, η παραγωγή και η διάθεση των αποβλήτων των ανθρώπων και των ζώων μπορεί να αυξήσει το δυναμικό των παθογόνων μικροβιακών οργανισμών που εισέρχονται στο περιβάλλον του αερολύματος. Συστήματα ζωικής παραγωγής, όπως τα πτηνοτροφεία κοτόπουλων κρεοπαραγωγής αποτελούν το επίκεντρο της προσοχής ως πιθανές πηγές των ανθρώπινων παθογόνων που εισέρχονται στο γενικό περιβάλλον και, συνεπώς, τελικά στην ανθρώπινη τροφική αλυσίδα. Μεγάλο μέρος αυτής της εστίασης βρίσκεται στη διασπορά της κοπριάς και όχι μέσω της οδού των αερολυμάτων (Chinivasagam et al., 2009).

Η παραγωγή των αερολυμάτων από διάφορες πηγές συνδέεται γενικά με κινδύνους στους οποίους υπόκεινται γειτονικές κοινότητες εκτρεφόμενων ζώων. Έχει γίνει έρευνα σχετικά με τις επιπτώσεις των βιοαερολυμάτων που απελευθερώνονται άμεσα από συστήματα παραγωγής χοίρειων προϊόντων. Παρομοίως, μελέτες έχουν επίσης πραγματοποιηθεί για την αξιολόγηση του κινδύνου μόλυνσης σε επίπεδο τοπικής κοινωνίας από βιοαερολύματα, σε κατοίκους που γειτνιάζουν με τοποθεσίες που συνδέονται με την εφαρμογή των βιοστερεών (προκύπτουν κατά τις διεργασίες επεξεργασίας των λυμάτων και είναι οργανικά προϊόντα που θα μπορούσαν να επαναχρησιμοποιηθούν, π.χ. στη γεωργία, μετά από την κατάλληλη επεξεργασία) (Brooks et al., 2005; Chinivasagam et al., 2009).

Το περιβάλλον παραγωγής πουλερικών είναι ευρέως αποδεκτό ως πιθανό να αποτελεί πηγή παθογόνων του ανθρώπου, όπως η *Salmonella* και το *Campylobacter*, με δυνατότητα για τους οργανισμούς αυτούς να εισέλθουν στο περιβάλλον του αερολύματος κατά τη διάρκεια του κύκλου παραγωγής. Είναι επίσης πιθανό ότι ο επιπολασμός αυτών των παθογόνων οργανισμών στο περιβάλλον παραγωγής μπορεί να ποικίλλει. Συνήθως, τα κοτόπουλα πάχυνσης δείχνουν αποβολή του *Campylobacter* μέσω κοπράνων και

διασπορά του σε ηλικία περίπου 3 εβδομάδων και μέσα σε 2 έως 4 ημέρες διασποράς, τα σμήνη παρουσιάζουν ποσοστό επιπολασμού 90 έως 100%, εξαιτίας του γρήγορου ρυθμού μετάδοσης μέσα στο σμήνος. Για τη σαλμονέλα, οι εκτιμήσεις του αριθμού των κρουσμάτων ήταν αρκετά ευμετάβλητες. Για παράδειγμα, υπήρχε 42% επιπολασμός της σαλμονέλας σε 198 ορνιθώνες στις ΗΠΑ. Ως γενικό πρότυπο, η σαλμονέλα μπορεί να απομονωθεί από μια ποικιλία πηγών και σε διάφορα στάδια του κύκλου παραγωγής (Chinivasagam et al., 2009).

Οι σύγχρονοι ορνιθώνες αντανακλούν σημαντική πρόοδο όσον αφορά το σχεδιασμό, με την πλειοψηφία τους σε χώρες όπως οι Ηνωμένες Πολιτείες και η Αυστραλία, να αερίζονται μέσω σήραγγας (Kidd et al., 2003). Στα συστήματα αυτά, μεγάλοι όγκοι αέρα κινούνται στο χώρο με αρνητική πίεση, για να παρασχεθεί η βέλτιστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη ορνιθών κρεατοπαραγωγής (broilers) (Kidd et al., 2003). Προφανώς, αυτές οι μεγάλες ποσότητες κινούμενου αέρα θα μπορούσαν δυνητικά να περιέχουν μια σειρά από βακτήρια, που προέρχονται από το εσωτερικό περιβάλλον της εγκατάστασης, συμπεριλαμβανομένων των παθογόνων παραγόντων όπως η *Salmonella* και το *Campylobacter* (Chinivasagam et al., 2009).

Μέχρι σήμερα, λίγες μελέτες έχουν γίνει, ειδικά για την εξέταση των επιπέδων των βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένων των παθογόνων στον αέρα, είτε εντός είτε εκτός των υποστέγων που αερίζονται με τη μέθοδο σήραγγας (tunnel ventilated), στα οποία εκτρέφονται όρνιθες κρεατοπαραγωγής. Σε μια μελέτη στη Βουλγαρία, σε μηχανικά αεριζόμενα υπόστεγα, επίπεδα του $1,68 \times 10^7$ bacteria/m³ αέρα βρέθηκαν στο εσωτερικό των υποστέγων (Baykon & Stoyanov, 1999). Η σαλμονέλα έχει εντοπιστεί, αλλά δεν έχει εκτιμηθεί ποσοτικά στον αέρα μέσα σε χώρο που περιέχει πειραματικά μολυσμένες όρνιθες ωοπαραγωγής και το *Campylobacter* έχει ανιχνευθεί μέσα και έξω από καταστήματα εστίασης, στα οποία το φαγητό είναι κυρίως το ψητό κοτόπουλο (broiler houses), στο Ηνωμένο Βασίλειο (Βρετανία) (Bull et al., 2006). Εκτός από αυτές τις λίγες μελέτες, φαίνεται ότι δεν υπάρχουν μελέτες που προσπαθούν να υπολογίσουν τα επίπεδα των βασικών παθογόνων οργανισμών, όπως το *Campylobacter* και η *Salmonella*, στον αέρα μέσα και γύρω από ορνιθώνες, μέσω του κύκλου παραγωγής. Τέτοιες μελέτες θα επιτρέψουν την αξιολόγηση των ποσοτικά μετρήσιμων κινδύνων (αν υπάρχουν) για τη δημόσια υγεία και τα γύρω περιβάλλοντα, μέσω της οδού του των αερολυμάτων (Chinivasagam et al., 2009).

Οι πηγές των *Campylobacter*, *Salmonella* και *E. coli* στον αέρα είναι η όρνιθα, είτε άμεσα είτε έμμεσα, από τα περιττώματα και τη σκόνη που προέρχονται από το σύστημα παραγωγής. Στην περίπτωση των αυτοματοποιημένων συστημάτων διαχείρισης ωοπαραγωγών ορνιθών, οι κύριες πηγές των αερολυμάτων ήταν τα ζωντανά πτηνά με τα περιττώματα και τα πουλιά να συνδέονται με την συμβολή και των δύο, *Salmonella* και *E. coli*, σε αερολύματα (Venter et al., 2004). Η κυκλοφορία του αέρα μέσα στους χώρους στέγασης των πουλερικών, παρέχει ευκαιρίες για τη μεταφορά αυτών των παθογόνων στον αέρα του περιβάλλοντα χώρου. Αυτή η μεταφορά, η διαδικασία αερολυματοποίησης, είναι τραυματική για τους περισσότερους μικροοργανισμούς, και η επιβίωση μπορεί να εξαρτάται από τους μηχανισμούς αερολυματοποίησης και το κλίμα στο οποίο εκκινούν οι εν λόγω οργανισμοί (Wathes et al., 1986). Στη μελέτη των Chinivasagam et al. (2009), αυτή η διαδικασία μεταφοράς παρατηρήθηκε ότι συμβαίνει μέσω της διασύνδεσης στρωμνής-σκόνης-αέρα μέσα στο περιβάλλον του ορνιθώνα. Η μελέτη έδειξε ένα μάλλον κοινό πρότυπο σε όλα τα αγροκτήματα που μελετήθηκαν, όσον αφορά τα επίπεδα αυτών των οργανισμών που διαπιστώθηκαν τόσο μέσα, όσο και έξω από τον ορνιθώνα. Μεταξύ των τριών οργανισμών που εξετάστηκαν, η *E. coli* ήταν ο κυρίαρχος οργανισμός στα αερολύματα, τόσο μέσα όσο και έξω από τον ορνιθώνα. Το μοτίβο κατανομής του οργανισμού αυτού κατέδειξε σαφώς μια σχέση στρωμνής-αερολυμάτων, σε μελέτες που κάλυψαν ένα διάστημα 3 ετών. Τα επίπεδα της *E. coli* ήταν συνεχώς υψηλά στη στρωμνή και κατά συνέπεια στο αερόλυμα, πράγμα το οποίο δεν ίσχυε για τη *Salmonella* και το *Campylobacter* (Chinivasagam et al., 2009).

Στη μελέτη των Chinivasagam et al. (2009), η *Salmonella* ήταν απομονωμένη σε χαμηλότερα επίπεδα από την *E. coli* στη στρωμνή, και κατά συνέπεια σε χαμηλότερα επίπεδα σε αερολύματα μέσα και έξω από τον ορνιθώνα. Είναι σημαντικό, ότι η ανίχνευση της σαλμονέλας στα αερολύματα παρατηρήθηκε μόνο σε διαλείπουσες ευκαιρίες που παρουσιάστηκαν στη διάρκεια ενός κύκλου. Το βασικό σημείο είναι ότι τα επίπεδα στη στρωμνή, απλά δεν ήταν αρκετά υψηλά (όπως με την *E. coli*), για να προκαλέσουν την κυριαρχία του οργανισμού αυτού στα αερολύματα μέσα στον ορνιθώνα. Επιπλέον, η *Salmonella*, αν και σε ορισμένα αγροκτήματα εντοπιζόταν στη στρωμνή, δεν είχε ποτέ εντοπιστεί σε αερολύματα των ίδιων αγροκτημάτων (Chinivasagam et al., 2009).

Οι μελέτες που υπάρχουν σχετικά με την αερολυματοποιημένη σαλμονέλα σε περιβάλλοντα πουλερικών είναι λίγες. Η αερογενής κίνηση της σκόνης και το χνούδι έχουν ενοχοποιηθεί για την μεταφορά του οργανισμού αυτού σε ωοπαραγωγά

ορνιθοτροφεία. Η *Salmonella* απομονώθηκε (σε 63 από τις 206 δείγματα) σε αερολύματα, σε περιβάλλοντα επεξεργασίας (χώροι διαλογής), σε επίπεδα που κυμαίνονται από 2 έως 598 CFU^m⁻³. Η *Salmonella* έχει αποδειχθεί ότι είναι βιώσιμη σε αερολύματα που παράγονται στο εργαστήριο, για περισσότερο από 2 ώρες (Chinivasagam et al. 2009).

Επίσης, φάνηκε ότι το ποσοστό θνησιμότητας της σαλμονέλας επηρεάστηκε από την προστατευτική φύση των μέσων κατά τη διάρκεια της αερολυματοποίησης, μαζί με τη συνολική επικρατούσα σχετική υγρασία και θερμοκρασία του αέρα. Η εργασία αυτή, αν και πραγματοποιείται υπό συνθήκες εργαστηρίου, δίνει έμφαση στη σύνδεση μεταξύ περιβαλλοντικών παραμέτρων [είτε πρόκειται για το εσωτερικό υπόστεγο των πουλερικών (ορνιθώνα), είτε για την εξωτερική ατμόσφαιρα] και επίπτωσης στην επιβίωση των αερομεταφερόμενων οργανισμών, συμβάλλοντας έτσι στα χαμηλά επίπεδα που παρατηρήθηκαν στον ορνιθώνα (Chinivasagam et al. 2009).

Μελέτες για την ανάκτηση της *S. typhimurium* από μολυσμένα κοτόπουλα, έδειξε ότι η δειγματοληψία αερολυμάτων ήταν ένας αντιπροσωπευτικός τρόπος για την κατανόηση της συνολικής μόλυνσης του σμήνους, περιορίζοντας την ανάγκη να εξεταστεί μεγάλος αριθμός δειγμάτων στρωμνής. Αυτή η μελέτη έδειξε σαφώς έναν σύνδεσμο μεταξύ στρωμνής και αερολύματος, ένα σύνδεσμο που παρατηρήθηκε επίσης στην μελέτη των Chinivasagam et al. (2009). Σε μια κατάσταση παραγωγής σε κλωβό, έχει προταθεί ότι η αποβαλλόμενη σαλμονέλα δείχνει αυξημένη επιβίωση σε κιβώτια-φωλιές, λόγω της θερμότητας του σώματος των πτηνών και της προστασίας μέσω της οργανικής ύλης στις ζωοτροφές ή τη σκόνη. Αυτό αποτελεί μια πιθανή αιτία για την καλή επιβίωση της *E. coli* στη στρωμνή, στη μελέτη των Chinivasagam et al. (2009). Ομοίως, οι θερμοκρασίες μέσα στη στρωμνή μπορεί να παίζουν ένα ρόλο στην υποστήριξη της συνεχούς επιβίωσης του οργανισμού (Chinivasagam et al. 2009).

Διάφοροι παράγοντες μπορούν να συμβάλουν στην επιβίωση της σαλμονέλας σε υλικά που μπορούν να αποτελέσουν πρωτογενή πηγή, όπως η σκόνη και η στρωμνή. Είναι πιθανό ότι κάποιοι ορότυποι μπορεί να είναι πιο ανθεκτικοί από άλλους σε ένα περιβάλλον πουλερικών. Μια μελέτη από τη Δανία διαπίστωσε ότι ο κλώνος *S. Senftenberg* διήρκεσε περισσότερο από 2 χρόνια, παρά τον καθαρισμό, την απολύμανση, την ξήρανση και τη μείωση του πληθυσμού, και στη συνέχεια ήταν σε θέση να μολύνει πρόσφατα τοποθετημένα στρώματα υλικού, που ήταν γνωστό ότι ήταν απαλλαγμένα από *Salmonella* (Chinivasagam et al. 2009).

Στη μελέτη των Chinivasagam et al. (2009), το γεγονός ότι όλες οι οροποικιλίες (εκτός της *S. Senftenberg*) ανιχνεύτηκαν στη στρωμνή και σε αερολύματα, δείχνει ότι οι ορότυποι που ανιχνεύονται στον αέρα ήταν αρκετά ανθεκτικές για να απομονωθούν από το περιβάλλον του αερολύματος, καθώς και στη στρωμνή. Συνολικά, ο *S. Chester* ήταν με διαφορά ο κυρίαρχος ορότυπος που απομονώθηκε και στις τρεις διεπιφάνειες μέσω δύο διαδοχικών κύκλων και, κατά συνέπεια, στη μελέτη των Chinivasagam et al. (2009), ήταν με διαφορά ο πιο ανθεκτικός ορότυπος όσον αφορά στην είσοδο και την επιβίωση στο περιβάλλον του αερολύματος (Chinivasagam et al., 2009).

Τελικά, ο άμεσος κίνδυνος λοίμωξης από τα αερολύματα που περιέχουν αυτά τα παθογόνα, είναι αυτό που έχει σημασία. Τα αιωρούμενα σωματίδια >7μm παγιδεύονται σε περιφέρειες της ανώτερης αναπνευστικής οδού, στη μύτη και το λάρυγγα (και ενδέχεται να αποκτήσουν έτσι πρόσβαση στο γαστρεντερικό σύστημα), ενώ τα μικρότερα σωματίδια (<1μm), μπορούν να περάσουν προς τις των κυψελίδες των πνευμόνων. Επομένως, όσον αφορά στον κίνδυνο άμεσης ασθένειας, μόνο το τμήμα των εναέριων παθογόνων οργανισμών που είναι σε θέση να εισέλθουν με κατάποση, συνιστούν κίνδυνο μόλυνσης. Είναι γενικά αποδεκτό ότι για την παρατυφοειδή *Salmonella* (δηλαδή, τους τύπους της σαλμονέλας που υπάρχουν στα κοτόπουλα σήμερα), η μολυσματική δόση είναι περίπου 10^5 - 10^6 οργανισμοί. Αντίθετα, η μολυσματική δόση για το *Campylobacter* έχει αναφερθεί ότι είναι περίπου 500 οργανισμοί. Συνολικά, κατά την εξέταση της συνάφειας των επιπέδων, εφόσον υπάρχουν, των *Salmonella* και *Campylobacter* στον αέρα, είναι σημαντικό να περιληφθεί η αναγνώριση της διαφοράς της μολυσματικότητας αυτών των δύο ειδών (Chinivasagam et al., 2009).

Η παρούσα μελέτη έχει προσδιορίσει τη δυναμική της μεταφοράς παθογόνου μέσα σε συστήματα παραγωγής με μηχανικό αερισμό στην Αυστραλία, τα οποία δεν διαφέρουν σημαντικά από τα συστήματα παραγωγής των ΗΠΑ (University of Georgia, 2007). Λαμβάνοντας υπόψη τις συνολικές ομοιότητες των συστημάτων παραγωγής, είναι πιθανό να είναι μικρή η διαφορά στον τρόπο που συμπεριφέρεται, τόσο η *Salmonella* όσο και το *Campylobacter*, μέσα στα σχετικά περιβάλλοντα παραγωγής (συμπεριλαμβανομένου του περιβάλλοντος των αερολυμάτων), ο οποίος (τρόπος) σε τελική ανάλυση στηρίζεται στην παρουσία τους και τα επίπεδά τους (Chinivasagam et al., 2009).

Συμπερασματικά, η μελέτη των Chinivasagam et al. (2009) έχει δείξει ότι, ως άμεση συνέπεια του συσχετισμού των *Salmonella* και *Campylobacter* με τα κοτόπουλα,

οι οργανισμοί αυτοί μπορεί να κατοικούν στο άμεσο περιβάλλον των πουλερικών. Ωστόσο, τα επίπεδα αυτών των οργανισμών που μεταφέρονται τόσο στο εσωτερικό, όσο και στο εξωτερικό περιβάλλον ως αερολύματα, έχουν μικρή σημασία από την άποψη των λοιμώξεων του ανθρώπου. Ένας συνδυασμός παραγόντων υπαγορεύει τις δυνατότητες επιβίωσης των οργανισμών αυτών στα περιβάλλοντα που μελετήθηκαν. Τα πολύ χαμηλά επίπεδα της δέσμευσης ως αερολύματα τόσο στο εσωτερικό του ορνιθώνα, όσο και σε κοντινές αποστάσεις από τον ανεμιστήρα έξω από τον ορνιθώνα, σε μια περίοδο 3 ετών και σε διάφορα αγροκτήματα, σημαίνουν ότι υπάρχει ελάχιστος κίνδυνος για υψηλά επίπεδα αυτών των οργανισμών, υπό τις κανονικές συνθήκες λειτουργίας που επικρατούν στα αγροκτήματα εκτροφής πουλερικών (Chinivasagam et al. 2009).

7.4 Ο τύπος των σιτηρών στην τροφή επηρεάζει τον αποικισμό με σαλμονέλα

Το χοίρειο κρέας και το κρέας πουλερικών και τα αυγά εξακολουθούν να έχουν μεγάλη σημασία για τη μετάδοση της σαλμονέλας στον άνθρωπο (Kimura et al., 2004; Kim et al., 2007). Οι ανησυχίες για την ασφάλεια των τροφίμων έχουν οδηγήσει τη βιομηχανία κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής και τις κυβερνήσεις να θεσπίσουν μέτρα για τον έλεγχο της σαλμονέλας σε όλη την αλυσίδα παραγωγής. Στην πρωτογενή φάση παραγωγής, έχουν σημασία τόσο τα μέτρα υγιεινής, όσο και οι γενικές στρατηγικές διαχείρισης των εκμεταλλεύσεων. Αυτές οι στρατηγικές διαχείρισης της εκμετάλλευσης περιλαμβάνουν την εισαγωγή της νεοσσών μιας ημέρας χωρίς σαλμονέλα και τη χορήγηση προϊόντων ζωοτροφών που ελέγχονται για σαλμονέλα. Υπάρχουν πολλά ελεγχόμενα προϊόντα ζωοτροφών, αλλά χρησιμοποιούνται χωρίς να έχουν όλα την ίδια επιτυχία. Έχει περιγραφεί στην επιστημονική βιβλιογραφία ότι, λιπαρά οξέα μικρής και μέσης αλύσου, δηλ. πριβιοτικά [prebiotics, ορίζονται ως τα διατροφικά στοιχεία που παραμένουν άπεπτα και είναι ικανά να επηρεάσουν την ανάπτυξη ή/και την δραστηριότητα συγκεκριμένων βακτηριδιακών ομάδων με τελικό αποτέλεσμα την βελτίωση της υγείας του οργανισμού-δέκτη (Gibson & Roberfoid, 1995)] και προβιοτικά [probiotics, ζωντανά μικροβιακά διατροφικά συμπληρώματα τα οποία επηρεάζοντας την μικρό-χλωρίδα του γαστρεντερικού συστήματος μπορούν να έχουν θετική επίδραση στην υγεία του οργανισμού-δέκτη (Roberfoid, 2000)], και πρόσφατα επίσης, αιθέρια έλαια και άλλα προϊόντα βοτανικής, είναι αποτελεσματικά ενάντια στον αποικισμό από σαλμονέλα, στα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής (Teirlinck et al., 2009).

Ένας πιθανός, οικονομικά αποδοτικός τρόπος για την ενίσχυση του ελέγχου της σαλμονέλας στα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής, θα μπορούσε να είναι η αλλαγή του μεγέθους των σωματιδίων της τροφής, ή της σύνθεσης υδατανθράκων, με την τελευταία να εστιάζεται κυρίως στο επίπεδο των πολυσακχαριτών που δεν προέρχονται από το άμυλο (nonstarch polysaccharides, NSP). Το μέγεθος των σωματιδίων υποτίθεται ότι θα επηρεάσει τον αποικισμό με σαλμονέλα, επηρεάζοντας το pH του εντερικού σωλήνα που προκαλείται από τη διαφορά στην ποσότητα των πτητικών λιπαρών οξέων, και οι ζωοτροφές ολικής αλέσεως και αυτές που είναι αλεσμένες σε μεγάλα κομμάτια, έχει αποδειχθεί ότι οδηγούν σε χαμηλότερο αποικισμό του εντέρου με *Salmonella*, σε αντίθεση με τις αλεσμένες σε λεπτά κομμάτια ζωοτροφές και την ξηρά τροφή σε σβώλους (pelleted feed) (Huang et al., 2006; Santos et al., 2006). Το επίπεδο των NSP στις ζωοτροφές έχει προταθεί ότι επιδρά στην υγεία του εντέρου. Πράγματι, οι NSP έχουν αρνητικές επιπτώσεις στην πέψη θρεπτικών συστατικών και την απορρόφηση, που προκαλείται από αυξημένο ιξώδες κατά την πέψη και πάχυνση του στρώματος βλέννας που περιορίζει τον ρυθμό απορρόφησης στον εντερικό βλεννογόνο. Επιπλέον, οι NSP επηρεάζουν τη σύνθεση της μικροχλωρίδας, επιδρώντας αρνητικά στη μορφολογική δομή του τοιχώματος του εντέρου και προκαλούν φλεγμονή των βλεννογόνων (Santos et al., 2008; Teirlynck et al., 2009). Ενζυμικά συμπληρώματα διατροφής που προκαλούν αποδόμηση των NSP, έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν τη διάχυση της σαλμονέλας (Santos et al., 2008). Επίσης, η προσθήκη υδρολυόμενων NSP (επομένως ολιγοσακχαρίτες) στις ζωοτροφές, έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τον αποικισμό με σαλμονέλα στα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής (Teirlynck et al., 2009).

Η αλλαγή της σύνθεσης του τύπου των σιτηρών θα μπορούσε έτσι δυνητικά να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της σαλμονέλας στα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής. Στη μελέτη των Teirlynck et al. (2009), οι δίαιτες με υψηλούς και χαμηλούς NSP που περιέχονται στον τύπο των σιτηρών [δηλ., σιτάλευρο/σίκαλη και καλαμπόκι (*Zea mays*)] χρησιμοποιήθηκαν για να διερευνηθεί η συνέπεια των αλλαγών στον τύπο των σιτηρών των ζωοτροφών, ως πιθανό πρόσθετο μέτρο ελέγχου της σαλμονέλας στα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής (Teirlynck et al., 2009).

Οι αλλαγές στη σύνθεση των τύπων των δημητριακών στη διατροφή των κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής, θα μπορούσε να είναι μια οικονομικά αποδοτική και εύκολη επιπλέον μέθοδος για τον έλεγχο της σαλμονέλας. Είναι σαφές ότι η πρακτική σκοπιμότητα αυτής της μεθόδου εξαρτάται από οικονομικές παραμέτρους, αλλά ακόμη και μικρές αλλαγές στη σύνθεση των τύπων των σιτηρών, θα μπορούσαν να είναι

χρήσιμες. Το επίπεδο προστασίας του εν λόγω μέτρου σίγουρα δεν είναι τέτοιο ώστε να εξαλείψει τη σαλμονέλα από τα πτηνά, όπως φαίνεται από τη μελέτη των Teirlynck et al. (2009). Ωστόσο, όταν εφαρμόζονται άλλες μέθοδοι ελέγχου, συμπεριλαμβανομένων των μέτρων υγιεινής και ορισμένων πρόσθετων στις ζωοτροφές, η επιπλέον επίδραση θα μπορούσε να είναι σημαντική (Teirlynck et al., 2009).

Το πώς οι τύποι των δημητριακών επηρεάζουν τον αποικισμό με σαλμονέλα, δεν είναι σαφές. Αλλαγές στη σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου, η μορφολογική δομή του βλεννογόνου, ή φλεγμονή του εντέρου είναι πιθανές εξηγήσεις, όλες συνδεδεμένες με τη σύνθεση των τύπων δημητριακών για τη διατροφή των κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής. Το περιεχόμενο σε NSP των διαφορετικών τύπων δημητριακών ήταν ανέκαθεν σε προτεραιότητα για να εξηγηθούν διαφοροποιημένες επιδράσεις των τύπων δημητριακών στην υγεία του εντέρου και την απόδοση (Teirlynck et al., 2009).

Όταν χορηγηθούν δίαιτες με βάση το καλαμπόκι ή σιτάρι/σίκαλη σε κοτόπουλα, έχει όντως αποδειχθεί ότι συμβαίνουν μετατοπίσεις της σύνθεσης της μικροχλωρίδας του εντέρου (Teirlynck et al., 2009). Αν και η ακριβής φύση των μετατοπίσεων της σύνθεσης της μικροχλωρίδας του εντέρου δεν είναι γνωστή, μπορεί να υποθεθεί ότι ορισμένα στοιχεία μικροχλωρίδας του εντέρου ενδέχεται να έχουν επιπτώσεις στην αποίκιση και εισβολή της σαλμονέλας. Αυτό θα μπορούσε να εξηγηθεί ως εξής: Η έκφραση της *hilA*, του βασικού ρυθμιστή της παθογένειας της νησίδας παθογένειας 1 της *Salmonella* (*Salmonella* pathogenicity island 1), είναι απαραίτητη για τη μακροπρόθεσμη διασπορά και τον αποικισμό της σαλμονέλας στο τυφλό έντερο, στα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής (Bohez et al, 2006). Η γονιδιακή έκφραση της νησίδας παθογένειας 1 της *Salmonella*, και ως εκ τούτου η εισβολή από *Salmonella*, μειορυθμίζεται από εστέρα/άλας του βουτυρικού οξέος (Gantois et al., 2006). Η συμπλήρωση των ζωοτροφών για κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής, με επικάλυψη βουτυρικού, μειώνει τη διασπορά της σαλμονέλας. Έχει τεκμηριωθεί ότι η πλειοψηφία της μικροχλωρίδας στο τυφλό και το παχύ έντερο ανήκει στα *Clostridiaceae* και πολλά από αυτά είναι παραγωγοί βουτυρικού στον κατώτερο γαστρεντερικό σωλήνα (Duncan et al, 2004). Το κατά πόσο το περιεχόμενο σε NSP του τύπου των σιτηρών επηρεάζει το συγκεκριμένο κλάσμα μικροχλωρίδας του εντέρου που παράγει βουτυρικό, ωστόσο, απομένει να προσδιοριστεί. Ωστόσο, είναι σημαντικό να γίνει διάκριση μεταξύ των διαφόρων ομάδων (clusters) μέσα στην οικογένεια των *Clostridiaceae*. Τα βακτήρια που ανήκουν στο *Clostridium* cluster I συνδέονται συχνά με εντερική ασθένεια που προκαλείται από τις εξαιρετικά τοξικές εκκρίσεις που παράγουν, για παράδειγμα, το *Clostridium perfringens* με νεκρωτική

εντερίτιδα, ενώ οι άλλες ομάδες είναι γνωστό ότι δεν παράγουν τοξίνες. Οι επιπτώσεις του περιεχομένου σε NSP των τύπων δημητριακών σε αυτούς τους συγκεκριμένους πληθυσμούς, ωστόσο, δεν έχει ακόμη μελετηθεί λεπτομερώς (Teirllynck et al., 2009).

Στις επιπτώσεις που παρατηρούνται από τον τύπο των σιτηρών, ως προς τον αποικισμό με σαλμονέλα, συμπεριλαμβάνονται και μεταβολές στον βλεννογόνο ή μια φλεγμονή. Πράγματι, έχει αποδειχθεί ότι τα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής στα οποία έχει χορηγηθεί διατροφή με βάση τον αραβόσιτο (καλαμπόκι), παρουσιάζουν σύντηξη λαχνών σε μικρότερο βαθμό, παχύτερο μυϊκό χιτώνα και μικρότερη έκταση απόπτωσης των επιθηλιακών κυττάρων του βλεννογόνου, σε σύγκριση με αυτά που διατρέφονται με βάση το σιτάρι/σίκαλη (Teirllynck et al., 2009). Επιπλέον, στα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής που τρέφονται με δίαιτα βασισμένη στον αραβόσιτο, παρατηρούνται μικρότερη φλεγμονή και ιδίως, μικρότερο διήθημα των T-λεμφοκυττάρων στο βλεννογόνο, σε σύγκριση με μια διατροφή βασισμένη στο σιτάρι/σίκαλη (Teirllynck et al., 2009). Ακόμα κι αν είναι γνωστό ότι η σαλμονέλα στα θηλαστικά προκαλεί φλεγμονή του εντέρου, με αποτέλεσμα ένα περιβάλλον που είναι ευνοϊκό για αποικισμό από τη σαλμονέλα, λίγα είναι γνωστά για την επίδραση μιας προϋπάρχουσας φλεγμονής στην ευαισθησία των ζώων, ως προς τη λοίμωξη από σαλμονέλα. Χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο κολίτιδας σε ποντικό, οι Stecher et al. (2007) έδειξαν ότι η φλεγμονή μετατοπίζει την ισορροπία μεταξύ της προστατευτικής μικροχλωρίδας και της *Salmonella*, υπέρ του παθογόνου. Ενδεχομένως, παρόμοιοι μηχανισμοί παίζουν ρόλο στη μελέτη των Teirllynck et al. (2009).

Επομένως, το είδος των σιτηρών στη διατροφή των κοτόπουλων επηρεάζει τον αποικισμό με σαλμονέλα και μπορεί έτσι να θεωρηθεί ως πρόσθετο μέτρο για τον έλεγχο της. Οι πραγματικοί λόγοι για το συσχετισμό αυτό είναι ακόμη ασαφείς, αλλά φαινόμενα όπως μετατοπίσεις στη μικροχλωρίδα του εντέρου ή μια φλεγμονή που προκαλείται από σιτηρά υψηλής περιεκτικότητας σε NSP, θα μπορούσαν να αποτελέσουν μια εξήγηση (Teirllynck et al. 2009).

7.5 Σαλμονέλα στη στρωμνή και ιδιότητες του εδάφους και της τοποθεσίας της εκτροφής

Τα κοτόπουλα που έχουν μόλις εκκολαφθεί είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στον αποικισμό με σαλμονέλα, γεγονός το οποίο πιθανόν να οφείλεται στη σύνθεση της

εντερικής μικροχλωρίδας τους. Κατά τα τελευταία 50 χρόνια στις νότιες ΗΠΑ, τα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής ταχείας ανάπτυξης στα συστήματα εντατικής παραγωγής, στεγάζονται σε στρωμνή που τοποθετείται στο πάτωμα. Σε αυτά τα συστήματα παραγωγής οικονομίας κλίμακας, τα πτηνά τοποθετούνται σε ορνιθώνες με σκοπό την ταχεία ανάπτυξη, μέσα σε μια ημέρα μετά την εκκόλαψη, ακριβώς πάνω στη στρωμνή. Επομένως, εάν υπάρχει σαλμονέλα στη στρωμνή, τα πτηνά εκτίθενται σε ένα διάστημα στο οποίο είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα. Η παρουσία της σαλμονέλας στον ορνιθώνα ταχείας ανάπτυξης, ειδικά στη στρωμνή πριν από την τοποθέτηση ενός νέου σμήνους και η μόλυνση του προηγούμενου σμήνους που εκτρεφόταν στον ορνιθώνα, έχει αποδειχθεί ότι είναι πρόδρομοι υψηλότερων συχνοτήτων σαλμονέλας στο νέο σμήνος, στα επόμενα στάδια της παραγωγής. Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι η ύπαρξη σαλμονέλας στη στρωμνή κατά τη στιγμή της τοποθέτησης του σμήνους, συσχετίστηκε με αυξημένη πιθανότητα ανίχνευσης της σαλμονέλας στις σφάγια κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής από το σμήνος, μετά την ψύχρανση (ψύξη), στον τομέα της μεταποίησης. Ο ρόλος της στρωμνής στην ανακύκλωση της σαλμονέλας σε ορνιθώνες κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής ταχείας ανάπτυξης και σε σμήνη, καθώς και τα αποτελέσματα των χημικών επεξεργασιών σε παλαιά στρωμνή και της διαχείρισης της στρωμνής, στην οικολογία της σαλμονέλας στο εν λόγω υπόστρωμα, έχουν μελετηθεί εκτενώς (Hayes et al. 2000; Pope & Cherry, 2000; Line & Bailey, 2006). Ωστόσο, το ερώτημα του κατά πόσον οι περιβαλλοντικοί καθοριστικοί παράγοντες στην τοποθεσία της εκτροφής κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής, επιδρούν στις συνθήκες της στρωμνής και, συνεπώς, στο βαθμό μόλυνσης από σαλμονέλα, δεν έχει ερευνηθεί αρκετά. Για τέτοιες μελέτες όμως, πρέπει να υπάρχουν δεδομένα μεγάλης ακρίβειας, όπως ο Γενικός Χάρτης Εδάφους (STATSGO) των ΗΠΑ (Volkova et al. 2009).

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ορισμένες ιδιότητες του εδάφους στην εκτροφή κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής, μπορούν να επηρεάζουν τις συνθήκες της στρωμνής στους ορνιθώνες, που αντανακλώνονται στο βαθμό μόλυνσης της στρωμνής με σαλμονέλα. Το έδαφος αποτελείται από ορυκτή ύλη, οργανική ύλη και πορώδη χώρο. Το πορώδες χαρακτηριστικό του εδάφους και η κίνηση του νερού μέσα από αυτό εξαρτάται από τη δομή του εδάφους, την υφή των ορυκτών υλών, το ποσό της οργανικής ύλης καθώς και τα πρότυπα συμπίεσης του εδάφους (Volkova et al. 2009).

Οι ιδιότητες του εδάφους που συσχετίζονται με την πιθανότητα ανίχνευσης σαλμονέλας στη στρωμνή των κρεατοπαραγωγών κοτόπουλων, είναι κυρίως η υφή του εδάφους (σχετικές αναλογίες των διαφόρων μεγεθών σωματιδίων) και οι δυνατότητες

διείσδυσης και αποστράγγισης, δηλαδή ο καθορισμός των ιδιοτήτων του προτύπου κίνησης του νερού μέσω του προφίλ του εδάφους. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ένας χαμηλότερος βαθμός μόλυνσης της στρωμνής των κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής από σαλμονέλα, μπορεί να συνδέεται με τα αγροκτήματα που χτίζονται σε εδάφη με καλύτερη φυσική αποστράγγιση, αλλά και με μεγαλύτερη διαθέσιμη χωρητικότητα νερού (ποσότητα νερού που μπορεί να αποθηκευτεί). Αυτά είναι τα εδάφη με χαμηλότερη περιεκτικότητα μεγάλων (διαμέτρου 7,6cm) θραυσμάτων πετρωμάτων, τα οποία μειώνουν το διαθέσιμο νερό, εκτός αν οι βράχοι είναι πορώδεις και με χαμηλότερη πυκνότητα ακατέργαστης μάζας υλικού με υγρασία (βάρος ανά μονάδα όγκου του υλικού και διαμέτρου 2mm), η οποία ελέγχει τον πορώδη χώρο που θα ήταν αλλιώς διαθέσιμος για το νερό. Οι επιδράσεις των ιδιοτήτων του εδάφους στις συνθήκες της στρωμνής, περιπλέκονται ακόμη περισσότερο από τις αλληλεπιδράσεις με το τοπικό κλίμα. Ειδικότερα, μια μετατοπισμένη χρονικά εποχή φυσικής ετήσιας πλημμύρας σε ένα κανονικό έτος, συσχετίζεται με μια υψηλότερη πιθανότητα ανίχνευσης σαλμονέλας στη στρωμνή, στη διάρκεια όλου του έτους, σε ορνιθώνες κρεατοπαραγωγών πουλερικών χτισμένους πάνω σε μολυσμένο έδαφος [στη μελέτη των Volkova et al. (2009) γινόταν δειγματοληψία στους ορνιθώνες μια φορά στον καθένα, κατά τη διάρκεια των τεσσάρων ετών της μελέτης]. Η υπόθεση αυτή απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση, με ενσωμάτωση λεπτομερέστερων κλιματολογικών πληροφοριών (Volkova et al., 2009).

Μια πιθανή εξήγηση για τις συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν σε αυτή τη μελέτη, είναι ότι η ικανότητα αποστράγγισης των εδαφών, επηρεάζει άμεσα το επίπεδο υγρασίας βαθιά στη στρωμνή, στο πάτωμα των ορνιθώνων κρεατοπαραγωγών πουλερικών. Παρ' όλο που δεν μετρήθηκε το επίπεδο υγρασίας στα δείγματα στρωμνής που συλλέχθηκαν, το επίπεδο αυτό και η δραστηριότητα του νερού στη στρωμνή πουλερικών κρεατοπαραγωγής, είναι γνωστό ότι επιδρούν στην οικολογία της σαλμονέλας στο εν λόγω υπόστρωμα.

Άλλες εναλλακτικές ή συνεργειακές επιπτώσεις, μπορεί να οφείλονται στο ρόλο του εδάφους, όταν γίνεται προσπάθεια προσδιορισμού του κινδύνου εισαγωγής σαλμονέλας σε ορνιθώνες κρεατοπαραγωγών κοτόπουλων με μηχανικά οχήματα ή με ζωντανούς οργανισμούς, που αποτελούν ξενιστές. Για τα πρώτα, τα χαρακτηριστικά του εδάφους στη θέση της φάρμας μπορεί να έχουν επίπτωση σε τέτοια μηχανικά οχήματα στους ορνιθώνες, αλλά και στα υποδήματα των εργαζομένων ή στον κινητό εξοπλισμό (Volkova et al., 2009).

Για το τελευταίο, είναι εύλογο ότι οι ιδιότητες του εδάφους που καθορίζουν τη σύνθεση των ειδών και την κατανομή των τρωκτικών που παρασιτούν στο αγρόκτημα. Μια επιτόπου μελέτη που έγινε στην Αργεντινή, έδειξε ότι τα τρωκτικά δείχνουν να επιλέγουν το που θα εγκατασταθούν. Απ' όσο γνωρίζουν οι συγγραφείς, δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με το εάν η επιλογή των ενδαιτημάτων από τα τρωκτικά επηρεάζεται από τους τύπους των εδαφών στο αγρόκτημα. Υπάρχουν επίσης αντιφατικά στοιχεία ως προς το αν τα τρωκτικά αποτελούν σημαντική πηγή σαλμονέλας στις γεωργικές εκμεταλλεύσεις κρεατοπαραγωγής.

Στη μελέτη αυτή, η παρατήρηση των τρωκτικών από τον κτηματία παρείχε ενδείξεις για την εμμονή της σαλμονέλας σε ορνιθώνες κρεατοπαραγωγών κοτόπουλων ταχείας ανάπτυξης μετά την απολύμανση μεταξύ διαδοχικών σμηνών, σε μία μελέτη στη Γαλλία. Ωστόσο, σε μια άλλη μελέτη παρατήρησης στο Νότιο Αμερική, η ανάκτηση σαλμονέλας από ποντικούς σε δείγματα που λαμβάνονται από ορνιθώνες κρεατοπαραγωγών πουλερικών ταχείας ανάπτυξης, ήταν συγκριτικά χαμηλή.

Οι συσχετίσεις που ανιχνεύθηκαν σε αυτή τη μελέτη παρατηρήθηκαν σε ορνιθώνες κρεατοπαραγωγών κοτόπουλων ταχείας ανάπτυξης χτισμένους πάνω σε θεμέλια γεμισμένα με μολυσμένο χώμα, που τοποθετήθηκαν κατευθείαν πάνω από την επιφάνεια του φυσικού/κανονικού εδάφους της συγκεκριμένης τοποθεσίας. Πρώτον, οι σχέσεις αυτές ενδέχεται να μην ισχύουν για ορνιθώνες κρεατοπαραγωγών κοτόπουλων που κατασκευάζονται με διαφορετικό τρόπο. Δεύτερον, το υλικό είναι φτιαγμένο από έντονα συμπιεσμένο χώμα, συχνά με υψηλό ποσοστό αργίλου, και είναι πιθανό να έχει διαφορετικά χαρακτηριστικά αποστράγγισης σε σύγκριση με τα φυσικά/κανονικά εδάφη κάτω και γύρω από τον ορνιθώνα. Οποιαδήποτε επίδραση των ιδιοτήτων του εδάφους στις συνθήκες της στρωμνής διαμεσολαβείται επομένως από το υλικό. Η έκταση αυτής της επίδρασης εξαρτάται πιθανόν από τις αρχικές ιδιότητες του υλικού (δηλ. του χώματος), από τις ιδιότητες του εδάφους, και από το πώς το χώμα αυτό υποβαθμίζεται με το χρόνο, κάτω από τις δυνάμεις των τελευταίων και τις κλιματικές συνθήκες (Volkova et al. 2009).

Στη μελέτη αυτή, ελήφθη δείγμα από τη στρωμή των πουλερικών κρεατοπαραγωγής σε ένα διάστημα διακοπής μεταξύ δύο σμηνών που εκτρέφονται διαδοχικά σε ορνιθώνες ταχείας ανάπτυξης (εκτός από ένα νέο αγρόκτημα). Η μόνη στρωμή που χρησιμοποιήθηκε ήταν ροκανίδια πεύκου. Διαφορετικά υλικά χρησιμοποιούνται ως στρωμή κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής, στα συστήματα

εντατικής παραγωγής κοτόπουλων σε όλο τον κόσμο (Heyndrickx et al., 2002; Volkova et al., 2009).

Συχνά είναι φυτικής προέλευσης υποπροϊόντα άλλων βιομηχανιών (δασική ή τροφίμων φυτικής παραγωγής), όπως και στην περίπτωση των ροκανιδιών πεύκου. Οι σχέσεις μεταξύ της σαλμονέλας στη στρωμνή και των ιδιοτήτων του εδάφους στη θέση του αγροκτήματος που έχουν παρατηρηθεί εδώ, ενδέχεται να μην ισχύουν για άλλες συνθέσεις στρωμνής.

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής είναι δυνατό να υπόκεινται σε κάποιο σφάλμα. Κι αυτό γιατί, αναλύθηκαν συγκεντρωτικά στοιχεία για τις ιδιότητες των εδαφών εντός της μονάδας χάρτη εδάφους όπου η βρισκόταν εκμετάλλευση, και όχι τα ακριβή χαρακτηριστικά των εδαφών που βρίσκονται αμέσως κάτω ή γύρω από τους ορνιθώνες. Ήταν άγνωστο το πόσο καλά τα πρώτα συνιστούν παράδειγμα των τελευταίων.

Συμπερασματικά, οι ιδιότητες του εδάφους στη θέση της φάρμας κρεατοπαραγωγών κοτόπουλων, ενδέχεται να έχουν αντίκτυπο στις συνθήκες της στρωμνής στους ορνιθώνες. Με τη σειρά τους, οι συνθήκες της στρωμνής καθορίζουν την οικολογία της σαλμονέλας και, ενδεχομένως, αυτή άλλων βακτηρίων, ως προς την ασφάλεια των τροφίμων ή τη σημασία της υγείας των πουλερικών στον εν λόγω υπόστρωμα. Οι μακροπρόθεσμες επιδράσεις τέτοιων συσχετίσεων απαιτούν τη διενέργεια έρευνας στην οποία συν-εξετάζονται οι ιδιότητες του εδάφους, άλλες συνθήκες μέσα στη φάρμα/στο κτήμα και κλιματικές συνθήκες που παίζουν καθοριστικό ρόλο. Η χρησιμότητα των πληροφοριών για τις ιδιότητες του εδάφους ως παράγοντες κινδύνου, θα εξαρτηθεί από τη σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας των εκτιμήσεων που προκύπτουν από αυτές τις πληροφορίες, για τις ιδιότητες του εδάφους, στην επιλογή τοποθεσίας για μια εκμετάλλευση κρεατοπαραγωγών κοτόπουλων, έναντι του εκ των υστέρων ελέγχου της σαλμονέλας στην εκμετάλλευση. Εναλλακτικά θεμέλια για ορνιθώνες κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής ταχείας ανάπτυξης (αντί για χόμα που τοποθετείται κατευθείαν πάνω στην επιφάνεια του φυσικού/κανονικού εδάφους), θα πρέπει να ληφθούν υπόψη στο μέλλον (Volkova et al., 2009).

8. Διάγνωση

Για την απομόνωση των σαλμονελών, χρησιμοποιούνται εμπλουτιστικοί ζωμοί και εκλεκτικά υλικά, τα οποία εμποδίζουν την ανάπτυξη άλλων βακτηρίων. Τα υλικά αυτά παρασκευάζονται από τα κοινά θρεπτικά υποστρώματα με την προσθήκη διαφόρων ουσιών σε ορισμένη αναλογία όπως χολικά άλατα, ή στίλβον πράσινο που είναι τοξικές για τα Gram-θετικά βακτήρια καθώς επίσης και σεληνιώδες νάτριο που είναι τοξικές για πολλά Gram-αρνητικά βακτήρια, αλλά όχι για τις σαλμονέλες.

Η ευνοϊκή τιμή του pH για τις σαλμονέλες είναι 7.0 με εύρος πεδίου 4.0 - 9.0, ενώ η θερμοκρασία κυμαίνεται από 5,3°C (*S.Heidelberg*) έως 45°C η μέγιστη [ή 10-42°C, όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, σύμφωνα με τους Λεοναρδόπουλο & Κούρτη (1999)]. Τέλος, οι σαλμονέλες δεν αντέχουν την υψηλή συγκέντρωση αλάτων όπως και την υψηλή θερμοκρασία και γι' αυτό το λόγο καταστρέφονται κατά την παστερίωση του γάλακτος (Ματσάγος, 2007).

8.1 Διάγνωση των τυφοπαρατυφικών λοιμώξεων

Η διάγνωση των τυφοπαρατυφικών λοιμώξεων γίνεται με καλλιέργεια αίματος, καλλιέργεια κοπράνων και οροαντιδράσεις.

Η καλλιέργεια αίματος είναι θετική στα πρώιμα στάδια της νόσου. Στο 80% των περιπτώσεων είναι θετική την πρώτη εβδομάδα. Μετά οι πιθανότητες απομόνωσης από το αίμα προοδευτικώς ελαττώνονται.

Καλλιέργεια κοπράνων: συχνά είναι θετική κατά την 1η εβδομάδα αλλά είναι περισσότερο πιθανό να είναι θετική (70-80%) των περιπτώσεων την 2η ή 3η εβδομάδα.

Η καλλιέργεια των ούρων είναι θετική στο 20% περίπου των περιπτώσεων, αλλά συνήθως όχι πριν από την 3η εβδομάδα.

Σε όποιο στάδιο και αν βρίσκεται η νόσος, πρέπει να γίνονται επαναληπτικές καλλιέργειες αίματος και κοπράνων, έως ότου απομονωθούν οι μικροοργανισμοί.

Καλλιέργειες ούρων, χολής (δωδεκαδακτυλικού υγρού) και μυελού των οστών, είναι δυνατό να επιτύχουν, όταν οι κλασσικές καλλιέργειες αποτύχουν.

Αντίδραση Widal: είναι μια συγκολλητινοαντίδραση με την οποία αναζητούνται αντισώματα, τα οποία εμφανίζονται κατά την πορεία των τυφοπαρατυφικών λοιμώξεων (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

Η ερμηνεία της συγκολλητινοαντίδρασης Widal είναι συχνά δύσκολη. Η αντίδραση την πρώτη εβδομάδα της νόσου είναι αρνητική, αλλά συνήθως γίνεται θετική κατά τη δεύτερη εβδομάδα. Η εξέταση πρέπει να επαναλαμβάνεται και να συγκρίνονται οι τίτλοι. Αυξανόμενος τίτλος των αντισωμάτων έναντι και των δύο συγκολλητινών O και H, είναι το πλέον σημαντικό διαγνωστικό κριτήριο. Τίτλος αντισωμάτων 1:80 για το αντιγόνο H και 1:160 με το αντιγόνο O, σε μη εμβολιασθέν άτομο, συνήθως υποδηλώνει ενεργό λοίμωξη. Τίτλος για το αντιγόνο V 1:10, σημαίνει ότι ο ασθενής έχει τυφοειδή πυρετό ή ότι είναι φορέας *S. typhi* (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

Υπάρχουν και φυσιολογικές συγκολλητίνες, αλλά για τις *S. typhi* και *S. paratyphi B* ο τίτλος τους δεν υπερβαίνει για το αντιγόνο O το 1:40 και για το αντιγόνο H το 1:20. Τα αντισώματα έναντι του αντιγόνου H είναι δυνατόν να παραμείνουν σε υψηλό τίτλο για αρκετά χρόνια. Αντίθετα, τα αντισώματα έναντι του αντιγόνου O σύντομα ελαττώνονται σε τίτλο κάτω του 1:40.

Σημειώνεται επίσης ότι η θεραπεία με αντιβιοτικά στην αρχή της νόσου, εμποδίζει την αύξηση του τίτλου των αντισωμάτων (Λεοναρδόπουλος & Κούρτη, 1999).

8.2 Ανίχνευση σαλμονέλας σε περιττώματα και μετά τη μεταφορά τους σε σφαγείο

Η κατανάλωση προϊόντων πουλερικών μολυσμένων με *Salmonella enterica*, είναι μια από τις πιο κοινές πηγές γαστρεντερίτιδας του ανθρώπου, ιδίως από τα αυγά και το κρέας πουλερικών (EFSA, 2009). Η μόλυνση των πουλερικών ή του κρέατος των πουλερικών, μπορεί να συμβεί σε ολόκληρη την αλυσίδα παραγωγής και γι' αυτό απαιτούνται συνεχείς προσπάθειες για τη μείωση της επίπτωσης της σαλμονέλας στην παραγωγή κοτόπουλων (Marin & Lainez, 2009).

Ο εμβολιασμός και τα μέτρα υγιεινής μείωσαν σημαντικά την κάθετη μετάδοση της λοίμωξης από τα γονικά σμήνη. Παρ' όλα αυτά, σε εμπορικά πτηνοτροφεία κοτόπουλου κρεοπαραγωγής, 2 από τα σημαντικότερα προβλήματα είναι οι μολυσμένοι ορνιθώνες και οι νεοσσοί μιας ημέρας. Όταν σμήνη νεοσσών μιας ημέρας μολύνονται με τα βακτηρίδια, παρατηρείται ταχεία εξάπλωση της σαλμονέλας σε όλο τον ορνιθώνα και τους τροφοδότες (ταΐστρες). Για παράδειγμα, στις πρώτες εβδομάδες, όταν οι νεοσσοί κρεοπαραγωγής αποκτήσουν πρόσβαση σε τροφοδότες και μολύνουν την τροφή, αυτό συμπίπτει με την υψηλότερη απέκκριση της *Salmonella* σε περιττώματα (Marin et al.,

2009). Στη συνέχεια, το υπόλοιπο των πτηνών καταπίνει τα βακτήρια και ολόκληρο το σμήνος ενδέχεται να μολυνθεί σε λίγες μέρες. Έχει αναφερθεί ότι οι νεοσσοί που προσβάλλονται από σαλμονέλα οδηγούνται σε επίμονη απέκκριση για τουλάχιστον 18 εβδομάδες εκτροφής. Αποτελέσματα άλλων ερευνών, ανέφεραν ότι ανεξάρτητα από την ηλικία κατά την έκθεση, η μόλυνση των νεαρών πτηνών με σαλμονέλα επιμένει μεταξύ 10 και 12 εβδομάδων, πολύ πιο πέρα από την ηλικία σφαγής για τα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής (Marin & Lainez, 2009).

Σημαντικά ζητήματα κατά την επιτήρηση της σαλμονέλας και τα προγράμματα παρακολούθησης, είναι ο τύπος του δείγματος και η στιγμή της δειγματοληψίας, για τον καθορισμό της κατάστασης του σμήνους με την υψηλότερη ευαισθησία. Και οι δύο πλευρές πρέπει να ληφθούν υπόψη στον έλεγχο των προγραμμάτων που βασίζονται σε ανάλυση δειγμάτων κοπράνων (Buhr et al, 2007). Συνήθως, χρησιμοποιούνται επιχρίσματα κλοάκης για την παρακολούθηση της κατάστασης της σαλμονέλας στα κοτόπουλα. Παρ' όλα αυτά, ο διασκορπισμός της σαλμονέλας είναι διαλείπων και πρέπει να ληφθεί ιδιαίτερη φροντίδα, επειδή η τεχνική αυτή δεν είναι αξιόπιστη για την ανίχνευση πτηνών φορέων. Οι Scherer et al. (2008) χρησιμοποίησαν ορολογικές τεχνικές εξέτασης των χοίρων, οι οποίες είναι πιο κατάλληλες για τη διάγνωση ρουτίνας. Ωστόσο, αυτές οι μέθοδοι δείχνουν την έκθεση στη σαλμονέλα και δε μπορούν να διαφοροποιήσουν μεταξύ διασποράς ή εκτεθειμένων σμηνών. Προηγούμενες μελέτες ανέφεραν ότι η δειγματοληψία στρωμών με τη χρήση κατάλληλων υποδημάτων, διαφορετικών για κάθε δείγμα, παρείχαν την υψηλότερη ευαισθησία για τον προσδιορισμό της κατάστασης της σαλμονέλας στα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής, κατά τη διάρκεια της εκτροφής (Buhr et al., 2007; Marin & Lainez, 2009).

Ωστόσο, το πρόβλημα μολυσμένων από σαλμονέλα περιττώματων δεν φαίνεται να περιορίζεται στο εκκολαπτήριο και στην περίοδο εκτροφής. Η απόσυρση των ζωοτροφών, η φόρτωση και μεταφορά από το αγρόκτημα στο σφαγείο είναι γνωστό ότι είναι αγχωτικά για τα ζώα (Burkholder et al, 2008). Αρκετοί συγγραφείς ανέφεραν ότι το στρες προκαλεί διαταραχή των εντερικών λειτουργιών και μπορεί να μειώσει την αντίσταση των ζώντων ζώων και την αύξηση της διάδοσης των εντερικών βακτηρίων (Burkholder et al., 2008).

Άλλοι αναφέρουν ότι η μεταφορά τους στο σφαγείο αύξησε τον επιπολασμό των θετικών πτηνών, που οφείλεται στην περιττωματική μόλυνση του δέρματος και των πτερών από γειτονικά μολυσμένα πτηνά κατά τη διάρκεια της αποστολής/μεταφοράς.

Από την άλλη πλευρά, η μεταφορά στο σφαγείο σε μολυσμένα φορτηγά αποτελεί μια μεγάλη ανησυχία, επειδή η σαλμονέλλα μπορεί να εισαχθεί σε ένα σμήνος που δεν ήταν μολυσμένο (Marin et al, 2009). Λόγω αυτών των ανησυχιών, ο διασκορπισμός μέσω κοπράνων διευκολύνει τη διασταυρούμενη μόλυνση μεταξύ των σφαγίων και του εξοπλισμού κατά την επεξεργασία, αυξάνοντας τη μόλυνση των τελικών προϊόντων διατροφής. Οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι η μείωση του επιπολασμού των βακτηρίων στη φάρμα και του άγχους κατά τη διάρκεια της μεταφοράς, είναι σημαντικές στρατηγικές για να μειωθεί ο κίνδυνος των μολυσμένων προϊόντων κρέατος που εισέρχονται στην τροφική αλυσίδα (Marin & Lainez, 2009).

Προηγούμενα αποτελέσματα έδειξαν ότι μολυσμένα κοπάδια που διασκορπίσαν σαλμονέλα σε περιττώματα τις πρώτες ημέρες της εκτροφής, συνέχισαν να διασκορπίζουν τα βακτήρια μέχρι τη σφαγή και έτσι αυτή ήταν μια πιθανή οδός μόλυνσης κατά την επεξεργασία. Αυτό το γεγονός πρέπει να ληφθεί υπόψη, επειδή για την εξάλειψη της σαλμονέλας από προϊόντα πουλερικών, ολόκληρο το σύστημα παραγωγής πρέπει να είναι ελεύθερο από σαλμονέλα. Μια σημαντική πτυχή της παρακολούθησης της σαλμονέλας και των προγραμμάτων παρακολούθησης, της κυβέρνησης ή των εταιρειών πουλερικών, ή και των δύο, είναι ο τύπος του δείγματος και η στιγμή της δειγματοληψίας, για τον προσδιορισμό της κατάστασης της σαλμονέλας στο σμήνος με την υψηλότερη ευαισθησία. Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή (EC, 2005) ανέφερε δειγματοληψία σε περιττώματα από τη στρωμνή, χρησιμοποιώντας αρκετά ζεύγη γαλότσες, μέσα σε 3 εβδομάδες πριν από τη σφαγή, ως την επίσημη μέθοδο δειγματοληψίας στην βασική έρευνα για τον επιπολασμό της σαλμονέλας σε σμήνη κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής *Gallus gallus*. Αυτή η μελέτη πρότεινε ότι οι παραλλαγές της σαλμονέλας σε ποσοστά αρκετά υψηλά για την ανίχνευση σε περιττώματα που συλλέγονται με μάκτρα (μπατονέτες) σε όλη την περίοδο εκτροφής, προκύπτουν ανεξάρτητα από το γεγονός ότι σμήνη νεοσσών μιας ημέρας έφτασαν μολυσμένα από το εκκολαπτήριο ή μολύνθηκαν στο αγρόκτημα. Επιπλέον, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η υψηλότερη τάση ανίχνευσης σε περιττώματα, συνέβη την 14^η ημέρα της εκτροφής. Αργότερα, η ανίχνευση σαλμονέλας μειώθηκε και έγινε διαλείπουσα μέχρι την ημέρα της σφαγής. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να εξηγηθεί γιατί η υψηλότερη απέκκριση *Salmonella* εμφανίζεται περίπου στη 2^η εβδομάδα εκτροφής, που συμπίπτει με ένα ανώριμο ανοσοποιητικό σύστημα. Ωστόσο, μια αύξηση στην ανίχνευση σαλμονέλας παρατηρήθηκε την 35^η ημέρα εκτροφής, σε μολυσμένα κοπάδια νεοσσών μιας ημέρας. Η αύξηση αυτή φαίνεται να σχετίζεται με την απομάκρυνση των αντιβιοτικών αυξητικών

παραγόντων από τη διατροφή, που προκαλούν τη διαταραχή της βακτηριακής χλωρίδας του εντέρου στο κοτόπουλο. Μια άλλη υπόθεση θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα του στρες που προκαλείται κατά τη διάρκεια της αραίωσης. Η πρακτική αυτή προκάλεσε τα σμήνη-φορείς να διασπείρουν τα βακτήρια με υψηλότερους ρυθμούς και να αυξήσουν την ανίχνευση της σαλμονέλας (Corry et al, 2002). Για όλους αυτούς τους λόγους, η αξιολόγηση της κατάστασης της εκμετάλλευσης εντός 3 εβδομάδων πριν από την ηλικία σφαγής, είναι δυνατό να υποτιμά τον επιπολασμό στο σμήνος. Κατά πάσα πιθανότητα, η ολοκλήρωση 2 εβδομάδων εκτροφής, θα πρέπει να θεωρείται η καλύτερη στιγμή για τον προσδιορισμό της κατάστασης της σαλμονέλας, λόγω της υψηλότερης ανίχνευσής της σε δείγματα. Επιπλέον, όσο πιο γρήγορα μπορεί να ανιχνευθεί το σμήνος ως θετικό για τα βακτήρια, τόσο λιγότερα έξοδα θα υπάρχουν στην εκτέλεση των μέτρων ελέγχου και εξάλειψης, όπως η σφαγή σμήνους (Marin & Lainez, 2009).

Παρ' όλα αυτά, προγράμματα επιτήρησης και ελέγχου της *Salmonella* δεν σταματούν σε επίπεδο γεωργικής εκμετάλλευσης. Ο έλεγχος θα πρέπει να θεωρείται ότι συνεχίζεται μέχρι το τέλος της μονάδας επεξεργασίας και των αγορών. Η σημασία των μεταφορών στην εξάπλωση της σαλμονέλας συχνά αποκλείεται. Η μεταφορά κρεατοπαραγωγής στη μονάδα μεταποίησης έδειξε ότι αυξάνει τον επιπολασμό της σαλμονέλας σε περιττώματα, ευνοώντας τον κίνδυνο μόλυνσης του τελικού προϊόντος διατροφής. Αρκετές αναφορές έδειξαν ότι μια αγχωτική κατάσταση, όπως η μεταφορά τους στο σφαγείο μπορεί να προκαλέσει τα σμήνη-φορείς να διασπείρουν σαλμονέλα σε υψηλότερα ποσοστά, λόγω της διαταραχής των εντερικών λειτουργιών που ενδέχεται να αυξήσουν τη διάδοση των εντερικών βακτηρίων (Corry et al, 2002). Επιπλέον, όπως στην παρούσα μελέτη, αρκετοί συγγραφείς ανέφεραν ότι φορτηγά μεταφοράς έχουν βρεθεί να έχουν μολυνθεί σε υψηλή συχνότητα με τα βακτήρια, αποτελώντας μια σημαντική πηγή μόλυνσης με *Salmonella* από σμήνη κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής (Marin et al, 2009). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά τη μεταφορά, ένας σημαντικός αριθμός αρνητικών σμηνών είχαν κόπρανα θετικά στη σαλμονέλα, αν και τα φορτηγά είχαν απολυμανθεί δεόντως. Ως εκ τούτου, τα πουλερικά που καθορίστηκαν ως αρνητικά σε επίπεδο γεωργικής εκμετάλλευσης, θα μπορούσαν να εισέλθουν στο εργοστάσιο επεξεργασίας μεταφέροντας τα βακτήρια, εσωτερικά ή εξωτερικά. Ωστόσο, το κύριο πρόβλημα της αναλύσης του σφαγείου είναι το χρονικό διάστημα που απαιτείται για να καθοριστεί ένα δείγμα ως θετικό, σύμφωνα με την επίσημη μέθοδο ISO 6579:2002 (παράρτημα D). Είναι γνωστό ότι 24 ώρες μετά τη σφαγή, τα σφάγια έχουν σταλεί στις

αγορές, έτοιμα για κατανάλωση από τον άνθρωπο. Ως εκ τούτου, θα πρέπει να αναπτυχθούν πιο σύγχρονες, πρακτικές, οικονομικά αποδοτικές και κατάλληλες τεχνικές για τη διάγνωση ρουτίνας, για να προσδιορίζεται η κατάσταση των κοπαδιών σε σύντομο χρονικό διάστημα και με τη μεγαλύτερη ευαισθησία (Marin, Lainez 2009).

Ο κύριος ορότυπος που εμπλέκεται σε ξεσπάσματα κρουσμάτων *Salmonella* σε ανθρώπους είναι η *Salmonella enteritidis*, (EFSA, 2009). Η *Salmonella enteritidis* ήταν ο πιο διαδεδομένος ορότυπος που απομονώθηκε σ' αυτή τη μελέτη κατά τη διάρκεια της εκτροφής και μετά τη μεταφορά στο σφαγείο, σύμφωνα με προηγούμενες αναφορές (EFSA, 2007). Έχει προταθεί ότι η πρόσφατη πρόσκτηση παραγόντων λοιμογόνου δύναμης, σε συνδυασμό με τους υπάρχοντες μηχανισμούς εισβολής και της παθογένειας, ενδέχεται να συμβάλουν στην ανάπτυξη συστηματικής λοίμωξης με *Salmonella Enteritidis* και επακόλουθη επικράτηση της σε πουλερικά στο σφαγείο. Επιπλέον, τα στοιχεία δείχνουν ότι μόνο 4 ορότυποι από τους 15 που απομονώθηκαν κατά τη διάρκεια της εκτροφής, απομονώθηκαν σε περιττώματα στο σφαγείο (*Salmonella enteritidis*, *Salmonella hadar*, *Salmonella typhimurium* και *Salmonella mbandaka*). Έχει αναφερθεί ότι οι ορότυποι που απομονώθηκαν από τα περιττώματα, εντοπίστηκαν αργότερα σε σφάγια και ήπατα, υποδεικνύοντας μόλυνση από ενδογενή μικροχλωρίδα στα περιττώματα πτηνών. Οι Marin & Lainez (2009) διαπιστώνουν ότι υπάρχει έλλειψη επιστημονικής βιβλιογραφίας σχετικά με την ταυτότητα και τη διακίνηση των συγκεκριμένων οροτύπων της σαλμονέλας σε όλη την χρονική περίοδο εκτροφής. Παρ' όλα αυτά, η ταχεία εξάπλωση περιορισμένου αριθμού επιτυχημένων οροτύπων σαλμονέλας στον πρωτογενή τομέα, όπως η *Salmonella enteritidis*, έχει προταθεί ως η πιο σημαντική αιτία της σαλμονέλωσης σε όλο τον κόσμο (Marin & Lainez, 2009).

Συμπερασματικά, (i) ανεξάρτητα από το αν σμήνη κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής φτάσουν στο αγρόκτημα διασπείροντας ήδη την σαλμονέλα σε περιττώματα, ή μολύνονται κατά τη διάρκεια της εκτροφής, το μέγιστο ποσοστό ανίχνευσης της σαλμονέλας βρίσκεται γύρω από την 14η ημέρα της εκτροφής. (ii) Σημαντικές αυξήσεις στα ποσοστά ανίχνευσης της σαλμονέλας παρατηρήθηκαν μετά τη μεταφορά στο σφαγείο. (iii) Το πρότυπο των πλέον διαδεδομένων οροτύπων διαφέρει κατά την περίοδο εκτροφής και αλλάζει μετά τη μεταφορά στο σφαγείο, αν και η *Salmonella enteritidis*, είναι ο πιο διαδεδομένος ορότυπος που απομονώθηκε κατά την εκτροφή και μετά τη μεταφορά (Marin, Lainez 2009).

9. Τρόποι εξάλειψης/αντιμετώπισης της *Salmonella* στα πουλερικά

9.1 Πρόληψη

Για την προφύλαξη από τις τροφιμογενείς και υδατογενείς σαλμονελλώσεις επιβάλλεται:

- Υγιεινή διαβίωση, διατροφή και ιατρική παρακολούθηση πασχόντων και μη ζώων. Τα ζώα που πρόκειται να διατεθούν στην κατανάλωση πρέπει να είναι απόλυτα υγιή και τα προϊόντα τους (γάλα και αυγά) να μην είναι φορείς του μικροβίου.

- Νωπές τροφές ζωϊκής προέλευσης πρέπει να εξυγιαίνονται με θερμότητα (ψήσιμο). Να σερβίρονται και να καταναλώνονται αμέσως μετά το ψήσιμο ή να ψύχονται γρήγορα και να διατηρούνται στη θερμοκρασία ψύξης έως ότου καταναλωθούν.

- Σχολαστικός καθαρισμός των σκευών κουζίνας (πάγκοι, σκεύη φύλαξης και σερβιρίσματος) για τον κίνδυνο της αναμόλυνσης.

- Ο ανθρώπινος παράγοντας αποτελεί το συνήθη κρίκο σ' αυτή την επιδημιολογική αλυσίδα, όπως και σε άλλες. Χρειάζεται συνεχής επιμόρφωση σε θέματα υγιεινής, ιδιαίτερα στο χειρισμό των τροφών. Οι χειριστές των τροφίμων χονδρικής και λιανικής πώλησης πρέπει να είναι ενημερωμένοι και να εφαρμόζουν τους κανόνες υγιεινής στην παρασκευή και διακίνηση των τροφίμων (Λεοναρδόπουλος, Κούρτη 1999).

9.2 Ευαισθησία στα αντιβιοτικά - θεραπεία

Οι σαλμονέλλες είναι κατ' εξοχήν ευαίσθητες στη χλωραμφαινικόλη, στην αμπικιλλίνη και στην κορτιμοξαζόλη. Επίσης είναι ευαίσθητες στις τετρακυκλίνες, τις κεφαλοσπορίνες, τις σουλφοναμίδες, τα νιτροφουράνια, την τριμεθοπρίμη, τις αμινογλυκοσίδες και τις κινολόνες. Σημειώνεται όμως ότι τα τελευταία χρόνια η συχνότητα εξάπλωσης ανθεκτικών στελεχών βαίνει συνεχώς αυξανόμενη (Λεοναρδόπουλος, Κούρτη 1999).

9.3 Τρόποι εξάλειψης

Για την εξάλειψη παθογόνων στα προϊόντα πουλερικών, έχουν μελετηθεί διάφορες φυσικές και χημικές μέθοδοι. Η πλύση των σφαγίων πουλερικών με πόσιμο νερό υπό πίεση (στους 40 έως 70°C) χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία επεξεργασίας πουλερικών και μπορεί να μειώσει τους αριθμούς παθογόνων στην επιφάνεια κατά 90 έως 99%. Οι Fabrizio et al. (2002) σύγκριναν το ηλεκτρολυμένο οξειδωτικό νερό (electrolyzed oxidizing water) με διάφορες αντιμικροβιακές παρεμβάσεις, για τη μείωση της *Salmonella typhimurium* στα πουλερικά. Όξινο ηλεκτρολυμένο νερό μείωσε τη σαλμονέλα στις επιφάνειες των πουλερικών κατά 0,86 και 1,06 log₁₀ την πρώτη και την έβδομη ημέρα αποθήκευσης, αντίστοιχα. Οι Arritt et al. (2002) διερεύνησαν την επίδραση των διαφόρων χημικών επεξεργασιών σε πληθυσμούς του *Campylobacter jejuni*, στο δέρμα του στήθους κοτόπουλου. Παρατηρήθηκε μείωση κατά 4,67 log₁₀ cfu/επιφάνεια δέρματος στήθους κοτόπουλου με χλωριούχο κετυλοπυριδίνιο 0,5% (cfu: colony-forming unit, μονάδα σχηματισμού αποικιών), ενώ παρατηρήθηκε μείωση κατά 1,28 log₁₀ cfu/επιφάνεια δέρματος στήθους κοτόπουλου με φωσφορικό τρινάτριο 10% (Keklik et al., 2010).

Αν και οι παρούσες μέθοδοι απολύμανσης όπως ο ψεκασμός με ζεστό νερό, η ψύξη, η ακτινοβολία, το φωσφορικό τρινάτριο και το γαλακτικό οξύ, έχουν δείξει μείωση των μικροβιακών φορτίων των πουλερικών, οι μέθοδοι αυτές έχουν ορισμένα οικονομικά και ποιοτικά μειονεκτήματα ή τον κίνδυνο της αποτυχίας. Έτσι, εξακολουθεί να υπάρχει ανάγκη για ασφαλή και οικονομική μέθοδο θεραπείας για την απολύμανση των ανεπεξέργαστων προϊόντων πουλερικών (Keklik et al., 2010).

Το παλμικό UV (υπεριώδες) φως είναι μια νέα τεχνολογία, η οποία προσφέρει ουσιαστική αδρανοποίηση των παθογόνων παραγόντων στις επιφάνειες των τροφίμων σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα. Κατά βάση, το παλμικό φως λαμπτήρα UV παράγει ένα συνεχές φάσμα ευρείας ζώνης από το βαθύ υπεριώδες ως το υπέρυθρο. Αυτό το συνεχές φάσμα είναι ιδιαίτερα πλούσιο και αποτελεσματικό στην UV περιοχή κάτω από τα 400 nm, η οποία είναι μικροβιοκτόνος. Το σύστημα περιλαμβάνει παλμό ενός λαμπτήρα αερίου xenon με διάρκεια παλμού μικροδευτερολέπτου και πολλαπλούς παλμούς ανά δευτερόλεπτο (Dunn, 1996). Το παλμικό UV φως μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών στα ανεπεξέργαστα και ελάχιστα επεξεργασμένα τρόφιμα, διότι η τεχνολογία αυτή θεωρείται ότι είναι μη θερμική, για σύντομο χρόνο επεξεργασίας. Είναι, επίσης, μια εναλλακτική τεχνική απορρύπανσης, ως προς την ακτινοβολία. Το 1999, η μεταχείριση των τροφίμων με

παλμικό φως εγκρίθηκε από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (Food and Drug Administration) (Keklik et al., 2010).

Διάφορες μελέτες έχουν διεξαχθεί για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της μεταχείρισης με παλμικό υπεριώδες φως για την απολύμανση των τροφίμων. Έχει διερευνηθεί η αποτελεσματικότητα του παλμικού UV φωτός στην αδρανοποίηση του *E. coli* O157: H7 και *L. monocytogenes* σε ανεπεξέργαστο σολωμό. Μια μείωση κατά 1 log₁₀ (~ 90%) και των δύο, *E. coli* O157: H7 και *L. monocytogenes* Scott A, επιτεύχθηκε με χειρισμό για 60s (3 παλμοί / s) σε απόσταση 8cm από το παράθυρο χαλαζία (5,8cm από τη UV λυχνία στροβοσκοπίου) στο θάλαμο παλμικού UV φωτός (5,6 J/cm² ανά παλμό στην επιφάνεια της λυχνίας στροβοσκοπίου), χωρίς καμία αλλαγή στην ποιότητα του δείγματος. Οι Bialka και Demirci (2007) μελέτησαν την απολύμανση των βατόμουρων με παλμικό UV φως. Η μέγιστη μείωση κατά 4,3 και 2,9 log₁₀ cfu/g επιτεύχθηκαν μετά από ένα χειρισμό διάρκειας 60s σε απόσταση 8cm από το παράθυρο χαλαζία (5,8cm από τη UV λυχνία στροβοσκοπίου) για τα *S. enterica* και *E. coli* O157: H7, αντίστοιχα. Οι Krishnamurthy et al. (2007) διερεύνησαν την παστερίωση του γάλακτος με συνεχή χειρισμό με παλμικό UV φως. Πλήρης απενεργοποίηση του *Staphylococcus aureus* επιτεύχθηκε μετά την επεξεργασία του γάλακτος σε απόσταση 8cm από το παράθυρο χαλαζία, με ένα πέρασμα, και με ρυθμό ροής 20 ml/min και μετά από θεραπεία σε απόσταση 11cm, σε 2 πέρασματα και με ρυθμό ροής 20 ml/min (Keklik et al., 2010).

Σε αυτή τη μελέτη, ερευνήθηκε η αποτελεσματικότητα της θεραπείας με παλμικό UV φως για τη *Salmonella Typhimurium* στην απολύμανση των μη συσκευασμένων και εν κενώ συσκευασμένων, ανεπεξέργαστων και χωρίς κόκαλα στηθών κοτόπουλου. Οι ειδικοί στόχοι της παρούσας μελέτης ήταν να καθορίσουν λογαριθμικές μειώσεις των πληθυσμών *Salmonella* μετά από θεραπεία με παλμικό UV φως, για να αξιολογηθεί η επίδραση της θεραπείας με παλμικό UV φως στην υπεροξειδωση των λιπιδίων και την ποιότητα του χρώματος των δειγμάτων και να εκτιμηθεί η επίδραση του παλμικού UV (υπεριώδους) φωτός στις μηχανικές ιδιότητες των πλαστικών υλικών συσκευασίας (Keklik et al., 2010).

Συμπερασματικά, τα ευρήματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι το παλμικό UV φως ήταν αποτελεσματικό για τη *Salmonella typhimurium*, στις επιφάνειες των μη συσκευασμένων και συσκευασμένων εν κενώ (πολυπροπυλένιο) νωπών στηθών κοτόπουλου χωρίς κόκαλα. Προσδιορίστηκαν οι λογαριθμικές μειώσεις της σαλμονέλας μετά τις θεραπείες και οι βέλτιστες συνθήκες μεταχείρισης για ασυσκευάστα και

συσκευασμένα δείγματα βρέθηκαν να είναι στα 5cm για 15 δευτερόλεπτα και στα 5 cm για 30s, αντίστοιχα. Η αντιμετώπιση και των δύο, μη συσκευασμένων και συσκευασμένων δειγμάτων, είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση κατά $\sim 2 \log$. Η υπεροξείδωση των λιπιδίων και η ποιότητα του χρώματος των δειγμάτων αξιολογήθηκαν μετά από ήπιες, μέτριες και ακραίες εφαρμογές. Η χρωματική και χημική ποιότητα των δειγμάτων δεν έδειξε σημαντική διαφορά ($P > 0,05$) μετά από ήπιες και μέτριες εφαρμογές. Η επίδραση του παλμικού υπεριώδους φωτός στις μηχανικές ιδιότητες των πλαστικών υλικών συσκευασίας (πολυπροπυλένιο) καθορίστηκε για τις ήπιες, μέτριες και ακραίες θεραπείες. Το μέτρο ελαστικότητας του πολυπροπυλενίου τόσο στη διεύθυνση κατά μήκος της μηχανής, όσο και κάθετα προς τη μηχανή και το όριο διαρροής (ή αντοχής) στη διεύθυνση κάθετα προς τη μηχανή, ήταν οι μόνες μηχανικές ιδιότητες που έδειξαν μια σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μετά από ακραία εφαρμογή, η οποία, κατά πάσα πιθανότητα, δεν εφαρμόζεται στην εμπορική επεξεργασία (Keklik et al., 2010).

9.4 Εμβολιασμός με σαλμονέλα σε κοτόπουλα εκτροφής

Τα πουλερικά έχει εκτιμηθεί ότι αντιπροσωπεύουν σχεδόν το 17% των εστιών τροφιμογενών λοιμώξεων που συνδέονται με σαλμονέλα στις ΗΠΑ. Το συνεχιζόμενο πρόβλημα της μόλυνσης των προϊόντων πουλερικών λιανικής πώλησης από σαλμονέλα, έχει σημαντικές επιπτώσεις για τη δημόσια υγεία, ιδίως αν ληφθεί υπόψη η παγκόσμια αύξηση της κατανάλωσης κοτόπουλου (Matyas et al., 2010; Scanes, 2007). Σε απάντηση, το Υπουργείο Γεωργίας των ΗΠΑ (USDA) υλοποίησε την Ανάλυση Κινδύνου Κρίσιμων Σημείων Ελέγχου (Hazard Analysis of Critical Control Points, HACCP), ένα πρόγραμμα στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας κρέατος, για να προσφέρει ποιοτικό έλεγχο και επιτήρηση, προκειμένου να μειωθεί το φορτίο μίανσης (contamination) με σαλμονέλα που σχετίζεται με τα πουλερικά (Dórea et al., 2010).

Η κατανόηση της μετάδοσης της σαλμονέλας σε εταιρείες πουλερικών είναι πολύπλοκη, λόγω του μεγέθους και του ολοκληρωμένου χαρακτήρα αυτού του συστήματος παραγωγής τροφίμων. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, οι περισσότερες εταιρείες πουλερικών επιβλέπουν την πλειοψηφία των διαδικασιών παραγωγής, από (i) την αγορά και τοποθέτηση των ηλικίας ημερών, αποθεμάτων πτηνών (κοτόπουλα εκτροφής που προορίζονται για ψήσιμο) σε εκμεταλλεύσεις (ii) τις συμφωνίες βάσει συμβολαίου με τους εκτροφείς πουλερικών να αυξήσουν το απόθεμα εκτροφής ή τους απογόνους του

που είναι κατάλληλοι για κρεατοπαραγωγή (iii) την παραγωγή ζωοτροφών για τα πουλερικά (iv) την κατανομή των πτηνών, ζωοτροφών, και την κτηνιατρική φροντίδα για τους αγρότες σύμβαση (v) την επώαση και την εκκόλαψη των κρεατοπαραγωγών πτηνών (vi) τη μεταφορά των πτηνών στη μονάδα μεταποίησης και (vii) την τελική παραγωγή και την εμπορία του κρέατος πουλερικών. Η σαλμονέλα μπορεί να εισαχθεί σε αυτό το εμπορικό σύστημα σε οποιοδήποτε σημείο και να μεταδοθεί μέσω της ολοκληρωμένης ροής εργασιών στο αγρόκτημα. Ενώ τα κοτόπουλα μπορεί να προσβληθούν από σαλμονέλα από το περιβάλλον του ορνιθώνα, τις ζωοτροφές, τα τροφικά και έντομα ή μέσω της άμεσης επαφής μεταξύ μολυσμένων και μη μολυσμένων πτηνών (οριζόντια μετάδοση), πολλά είδη οροτύπων σαλμονέλας μεταδίδονται από τα αυγά, περνούν από προγόνους (παππούδες) στα κρεατοπαραγωγά πτηνά. Ωστόσο, η υγιεινή στο αγρόκτημα και ο έλεγχος των τροφτικών αντιμετωπίζουν μόνο την οριζόντια μετάδοση της σαλμονέλας στα πουλερικά. Προκειμένου να μειωθεί αποτελεσματικά η μίανση, η στρατηγική επιτήρησης και παρέμβασης πρέπει να περιλαμβάνει την έρευνα και τον εντοπισμό των παραγόντων διαχείρισης που επηρεάζουν την παρουσία αυτών των παθογόνων οργανισμών σε όλα τα επίπεδα της παραγωγής πουλερικών (Dórea et al., 2010).

Αν και έχουν προταθεί πολλά διαφορετικά μέτρα για τον έλεγχο της σαλμονέλας στα πουλερικά, ο εμβολιασμός είναι πιθανό να έχει κεντρικό ρόλο στη μείωση της σαλμονέλας σε εμπορικές δραστηριότητες (Van Immerseel et al., 2005), γιατί ερευνητικές μελέτες δείχνουν ότι ενδέχεται να μειώσει τόσο την οριζόντια, όσο και την κάθετη μετάδοση της *Salmonella* (Holt et al., 2003). Ο εμβολιασμός λειτουργεί με τη μείωση του επιπολασμού της σαλμονέλας στις όρνιθες που εκτρέφονται και στους απογόνους τους, ή με την αύξηση της παθητικής ανοσίας των πτηνών κρεατοπαραγωγής και την παρεμπόδιση της οριζόντιας μετάδοσης της σαλμονέλας σε κοτόπουλα που προορίζονται για ψητό κρέας. Ωστόσο, λίγες μελέτες επικεντρώνονται στο αν τα εμβόλια είναι αποτελεσματικά στη μείωση της σαλμονέλας σε εμπορική κλίμακα (Toyota-Hanatani et al., 2009; Dórea et al., 2010).

Εμπορικές δραστηριότητες εκτροφής πουλερικών που έχουν υιοθετήσει προγράμματα εμβολιασμού κατά της σαλμονέλας, χρησιμοποιούν συνήθως φονευμένα εμβόλια (killed vaccines) μόνο, ή έναν συνδυασμό ζωντανών και φονευμένων εμβολίων σαλμονέλας. Το πλεονέκτημα των ζώντων εξασθενημένων εμβολίων είναι ότι τα εξασθενημένα βακτήρια σαλμονέλας αναπαράγονται, αποικίζουν και εισβάλλουν στο έντερο και τα σπλαχνικά όργανα των εμβολιασμένων ορνίθων, παράγοντας μακροχρόνια

προστατευτική ανοσία. Το πρώτο ζωντανό εμβόλιο που αδειοδοτήθηκε στις Ηνωμένες Πολιτείες για πουλερικά, το 'Megan VAC', είναι ένας μεταλλαγμένος ορότυπος μιας *Salmonella enterica*, του *Typhimurium* Δcya Δcrp, εξασθενημένος, προκειμένου να μειωθεί η ικανότητά του να μολύνει και να επιμένει στον ξενιστή, ενώ εξακολουθεί να αποσπά χυμική και κυτταρική ανοσία έναντι ομόλογων και ετερόλογων οροτύπων. Αυτό το στέλεχος *Salmonella* είναι μη παθογόνο, σταθερό και ανοσογόνο και δεν προάγει την ανάπτυξη μιας κατάστασης φορέα της *Salmonella* στις όρνιθες (Dórea et al., 2010).

Αν και λιγότερο αποτελεσματικό από τα ζωντανά εμβόλια στην παραγωγή ευρείας ανοσίας σε ορομάδα (ορότυπο), τα αδρανή βακτήρια/αντιγόνα έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν τον αποικισμό του αυγού (Woodward et al., 2002) και του τυφλού εντέρου με τον *Enteritidis* ορότυπο της *S. enterica*. Ο στόχος αυτής της μελέτης ήταν να διαπιστωθεί η επίδραση του εμβολιασμού κατά της σαλμονέλας σε κοπάδια πουλάδων στη μετάδοση της σαλμονέλας στους απογόνους τους κρεατοπαραγωγής. Συγκρίθηκαν οι επιπολασμοί της σαλμονέλας στα γονικά πτηνά (κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής για ψήσιμο) και τους κρεατοπαραγωγούς απογόνους τους (κοτόπουλα για ψήσιμο) από δύο ομάδες συνεργαζόμενων εταιρειών εκτροφής πουλερικών και προσδιορίστηκε η επίδραση του προγράμματος εμβολιασμού κατά της σαλμονέλας στον επιπολασμό της σαλμονέλας στα κρεατοπαραγωγά πουλερικά (Dórea et al., 2010).

Το HACCP εφαρμόστηκε σε μια προσπάθεια να βελτιωθεί η ασφάλεια των τροφίμων και να μειωθούν οι ασθένειες του ανθρώπου που οφείλονται σε πουλερικά, επιβάλλοντας αλλαγές στις εγκαταστάσεις, που θα μειώσουν τη μίανση του τελικού, ακατέργαστου προϊόντος με τροφιμογενείς παράγοντες. Ενώ η μόλυνση των σφαγίων κοτόπουλου με σαλμονέλα έχει μειωθεί μετά την εφαρμογή του συστήματος HACCP από >20% σε 7,3%, η επίπτωση των ανθρώπινων ασθενειών που σχετίζονται με τη σαλμονέλα παρέμεινε σχετικά αμετάβλητη, στις 15,9 περιπτώσεις/100.000 άτομα (Matyas et al., 2010). Με εξαίρεση τις πρόσθετες, εντός των εγκαταστάσεων στρατηγικές παρέμβασης, το επόμενο βήμα για τη μείωση της σαλμονέλας στο τελικό προϊόν θα είναι να μειωθεί ο αριθμός των μολυσμένων πτηνών που εισέρχονται στην εγκατάσταση. Αυτό θα απαιτούσε τον προσδιορισμό της σημαντικότερης πηγής της σαλμονέλας για τα κρεατοπαραγωγά πτηνά και την εφαρμογή μιας αποτελεσματικής στρατηγικής παρέμβασης στο αγρόκτημα, για την πρόληψη ή τη μείωση του αποικισμού με σαλμονέλα ή της διάχυσής της στις όρνιθες (Dórea et al., 2010).

Ο εμβολιασμός μπορεί να έχει ένα κεντρικό ρόλο στον έλεγχο της σαλμονέλας, καθώς έχει τη δυνατότητα να μειώσει τόσο την οριζόντια μετάδοση της σαλμονέλας

μεταξύ ορνίθων που προορίζονται για αναπαραγωγή και μερίδες ψητού κρέατος και των ορνίθων που προορίζονται για ψήσιμο κρέατος μόνο και την κάθετη μετάδοση της σαλμονέλας από τις όρνιθες που προορίζονται για αναπαραγωγή και μερίδες ψητού κρέατος στις όρνιθες κρεατοπαραγωγής που προορίζονται για μερίδες ψητού κρέατος. Στην παρούσα εργασία, ποσοτικοποιήθηκε η επίδραση του εμβολιασμού σμηνών αναπαραγωγής με εμβόλια αδρανών βακτηρίων/αντιγόνων *S. typhimurium* ζωντανά και *S. berta* και *S. kentucky* φονευμένα, στον επιπολασμό της σαλμονέλας στα κοτόπουλα που προορίζονται για ψήσιμο κρέατος. Η υιοθέτηση ενός προγράμματος εμβολιασμού μείωσε τον επιπολασμό της σαλμονέλας στις όρνιθες και στους απογόνους τους που προορίζονται για μερίδες ψητού κρέατος. Ωστόσο, οι διαφορές στον επιπολασμό δεν ήταν εμφανείς στο επίπεδο νεαρών ορνίθων, όταν τα πτηνά έφταναν σε σεξουαλική ωριμότητα (ηλικία 4 έως 5 μηνών). Ο επιπολασμός της σαλμονέλας και το φορτίο σε κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής, έχει αποδειχθεί ότι είναι υψηλότερα όταν οι όρνιθες αρχίσουν τον κύκλο αναπαραγωγής τους, ή όταν υποβάλλονται σε στρες (π.χ., επαγόμενη απώλεια πτερώματος) (Holt et al., 2003). Έτσι, η αποτελεσματικότητα του εμβολιασμού δεν είναι πιθανό να γίνει εμφανής, μέχρι τα πτηνά φθάνουν στη σεξουαλική ωριμότητα και την έναρξη του κύκλου ωοτοκίας τους (Dórea et al., 2010).

Σε αυτή τη μελέτη, οι διαφορές στον επιπολασμό της σαλμονέλας δεν ήταν εμφανείς για δείγματα που συλλέγονται στην εκτροφή, από πτηνά για αναπαραγωγή και μερίδες ψητού κρέατος. Άλλοι ερευνητές έχουν ήδη αναφέρει ένα υψηλό ποσοστό δειγμάτων από το περιβάλλον, θετικών για *S. enteritidis*, παρά την υιοθέτηση εμβολιασμού με *S. enteritidis*, των σμηνών με εμπορικό χαρακτήρα. Παρά την έλλειψη διαφοράς στον επιπολασμό της σαλμονέλας εντός του περιβάλλοντος της εκτροφής κρεατοπαραγωγής, οι εμβολιασμένες όρνιθες αποίκιστηκαν λιγότερο συχνά με σαλμονέλα, όπως υποδεικνύεται από τη σημαντικά χαμηλότερη μίανση των σφαγίων ορνίθων της εταιρείας VAX. Το εύρημα αυτό είναι σε συμφωνία με προηγούμενες εργασίες πάνω στο εμβόλιο με φονευμένη (killed) *S. enteritidis*, η οποίες κατέδειξαν μια προστατευτική επίδραση του εμβολιασμού κατά του αποικισμού σε όργανα από τη σαλμονέλα, αλλά και ελάχιστη επίδραση στη μείωση διάχυσης της σαλμονέλας μέσω των κοπράνων (Holt et al., 2003). Οι Holt et al. ανέφεραν επίσης πολύ μικρή επίδραση του ζωντανού εμβολίου *S. typhimurium* Δcya Δcrp στη μετάδοση της σαλμονέλας μεταξύ πτηνών που έχουν πιθανότητες να έρθουν σε επαφή με την *S. enteritidis* ή τη μείωση της διάχυσης της *S. enteritidis* μέσω κοπράνων, μετά τον εμβολιασμό των οοπαραγωγών ορνίθων (Dórea et al., 2010).

Εκτός από την προστατευτική επίδραση του ζωντανού εμβολίου *S. Typhimurium* Δcya Δcpr στη μείωση των αποικιών σε όργανα από τη σαλμονέλα, το ζωντανό εμβόλιο μειώνει επίσης τον αποικισμό από *Salmonella* των αυγών εμβολιασμένων όρνιθων ή τουλάχιστο μειώνει την ανάκτηση από τις ωοθήκες (Holt et al., 2003). Το ζωντανό εμβόλιο *S. typhimurium* Δcya Δcpr διεγείρει επίσης την παθητική ανοσία, αποτρέποντας τη μόλυνση των πρόσφατα εκκολαφθέντων, τα οποία είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στη σαλμονέλα πτηνά. Σε αυτή τη μελέτη, παρατηρήσαμε σημαντικά χαμηλότερο επιπολασμό της σαλμονέλας σε νεαρούς νεοσσούς εμβολιασμένων ορνίθων. Επιπλέον, παρατηρήσαμε σημαντικά χαμηλότερο επίπεδο περιβαλλοντικής μόλυνσης με σαλμονέλα για τα πτηνοτροφεία, όταν γίνεται τοποθέτηση νεοσσών από εμβολιασμένα σμήνη πουλερικών αναπαραγωγής, που δείχνει ότι το εμβόλιο μειώνει τον επιπολασμό της σαλμονέλας ή τη διάχυση μέσω κοπράνων στους απογόνους-κοτόπουλα πάχυνσης/που προορίζονται για ψήσιμο των εμβολιασμένων ορνίθων (Dórea et al., 2010).

Ωστόσο, στα στατιστικά μοντέλα που δομήθηκαν, οι πρακτικές εκτροφής δεν είχαν καλύτερη προγνωστική αξία (μεγαλύτερη στατιστική σημασία), εκτός από μία που αφορά στη μεταβλητή «εταιρεία προέλευσης», για τον καθορισμό του κινδύνου μίανσης από σαλμονέλα, γεγονός που υποδηλώνει ότι η χρήση του εμβολίου μπορεί να ήταν ο πιο σημαντικός καθοριστικός παράγοντας του κινδύνου από σαλμονέλα. Για την επιχείρηση όπου το πρόγραμμα εμβολιασμού για τη *Salmonella* δεν υιοθετήθηκε, οι εκτροφείς φαίνεται να έχουν μεγαλύτερη επίγνωση της ανάγκης να ληφθούν μέτρα βιοασφάλειας (π.χ., χρήση ποδόλουτρων) και όμως, παρά την εφαρμογή αυτών των πρακτικών, ο επιπολασμός της σαλμονέλας ήταν υψηλότερος από ότι για τη δεύτερη εταιρεία εκτροφής πουλερικών που δεν υιοθέτησε τις εν λόγω πρακτικές (Dórea et al., 2010).

Ζωντανά και φονευμένα εμβόλια, όταν χρησιμοποιούνται μαζί, μπορούν να μειώσουν αποτελεσματικά την κάθετη και οριζόντια μετάδοση της σαλμονέλας στα πτηνά κρέατοπαραγωγής (Young et al., 2007). Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε εξάλειψη της σαλμονέλας από την εταιρεία. Άλλοι συγγραφείς που ερευνούν τις επιδράσεις του εμβολιασμού κατά της σαλμονέλας στις όρνιθες ωοπαραγωγής, στα σμήνη πουλερικών αναπαραγωγής (ανατροφείς) και στους απογόνους τους έχουν επίσης αναφέρει μια αποτυχία του εμβολίου στην εξάλειψη της σαλμονέλας από σμήνη πουλερικών. Τα ζωντανά και φονευμένα εμβόλια σαλμονέλας (*S. berta*, *S. kentucky* και *S. typhimurium*) που χρησιμοποιούνται στη μελέτη των Young et al. (2007), αναμενόταν να παράσχουν προστασία έναντι επιπλέον οροποικιλιών σαλμονέλας που ανήκουν στις ίδιες Ο

οροομάδες (για παράδειγμα, ο ορότυπος της *S. enterica, heidelberg*), όπως και τα εμβόλια και η διασταυρούμενη προστασία σε άλλες παρόμοιες αντιγονικά Ο οροομάδες της *Salmonella* (οροομάδες A και E1) (Dórea et al., 2010).

Ο εμβολιασμός δεν θα παρέχει ανοσία κατά των αντιγονικά ασύνδετων Ο οροομάδων της *Salmonella* (για παράδειγμα, C1 οροομάδας). Ως εκ τούτου, η αποτυχία των εμβολίων για την εξάλειψη της σαλμονέλας από εμβολιασμένα σμήνη πουλερικών, ενδέχεται να αντανakλά την επικράτηση και την κατανομή των άλλων Ο οροομάδων της *Salmonella* που δεν καλύπτονται από τα εμβόλια. Αυτό, σε συνδυασμό με την ολοένα και μικρότερη ανοσία των πτηνών με την πάροδο της ηλικίας, ενδέχεται να εξηγήσει την αποτυχία των εμβολίων για την εξάλειψη της σαλμονέλας από εμβολιασμένα σμήνη πουλερικών αναπαραγωγής και τους κρεατοπαραγωγούς (για ψητό κρέας) απογόνους τους. Ο εμβολιασμός κατά της *Salmonella* θα πρέπει να χρησιμοποιείται ως μέρος ενός ολοκληρωμένου προγράμματος πρόληψης, που περιλαμβάνει άλλα μέτρα ελέγχου, και όχι ως το μοναδικό βήμα παρέμβασης για τον έλεγχο της σαλμονέλας στις όρνιθες (Dórea et al. 2010).

9.5 Συμπλήρωμα διατροφής με γλουταμίνη

Ο ορότυπος της *Salmonella enterica, typhimurium*, είναι η κύρια αιτία της τροφιμογενούς γαστρεντερίτιδας σε ανθρώπους (CDC, 2006) και συνήθως συσχετίζεται με την γαστρεντερίτιδα που προκαλείται από την κατανάλωση μολυσμένου με σαλμονέλα κρέατος κοτόπουλου (Zhang et al, 2003; CDC, 2006). Η εντερική μόλυνση από σαλμονέλα είναι γνωστό ότι μολύνει συστηματικά νεοσσούς ηλικίας μικρότερης από 3 ημέρες, αλλά προκαλεί υποκλινική λοίμωξη σε μεγαλύτερα πουλιά. Παρά το γεγονός ότι τα μεγαλύτερα πτηνά δεν εκφράζουν κλινική νόσο, ο αποικισμός συχνά οδηγεί σε αποβολή κοπράνων που προωθεί την οριζόντια μετάδοση μέσα στο κοπάδι, και την επακόλουθη επιμόλυνση των σφαγίων ή της συγκομιδής κρέατος κατά τη σφαγή και την επεξεργασία. Ως αποτέλεσμα, υπήρξαν συνεχείς προσπάθειες για τη μείωση των αποικιών σαλμονέλας στα σπλάχνα και το τυφλό των κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής που προορίζονται για μερίδες ψητού κρέατος (Fasina et al., 2010).

Στα πουλερικά, ο εντερικός αποικισμός με παθογόνα συνήθως ελέγχεται μέσω προφυλακτικής χορήγησης αντιβιοτικών ευρέος φάσματος στις ζωοτροφές. Τα τελευταία χρόνια, έχουν βρεθεί αυξημένοι αριθμοί ανθεκτικών στα αντιβιοτικά στελεχών *Salmonella* (CDC, 2006). Επιπλέον, υπάρχει αυξανόμενη πίεση από τους καταναλωτές

και τις κυβερνήσεις να μειωθούν ή να καταργηθούν τα φάρμακα από τις ζωοτροφές για τα ζώα που προορίζονται για τρόφιμα. Οι παράγοντες αυτοί έχουν προωθήσει την εξερεύνηση μιας ποικιλίας από μη αντιβιοτικά, αντιμικροβιακά πρόσθετα ζωοτροφών, η οποία περιλαμβάνει τη διαχείριση των ανοσο-θεραπευτικών ουσιών. Οι ανοσο-θεραπευτικές ουσίες όπως η γλουταμίνη, είναι θεραπευτικά συστατικά που είναι σε θέση να βελτιώσουν (πλειορυθμίσουν ή μειορυθμίσουν) την ανοσολογική απόκριση σε μια παθογόνο κατάσταση ή ασθένεια και συνεπώς ενδέχεται να μειώσουν τα επίπεδα των παθογόνων παραγόντων (Fasina et al., 2010).

Η γλουταμίνη είναι ένα σημαντικό συστατικό των πρωτεϊνών και είναι ένας πρόδρομος για τη σύνθεση των αμινοξέων, νουκλεοτιδίων, νουκλεϊκών οξέων, αμινοσακχάρων, καθώς και διαφόρων άλλων σημαντικών βιολογικών μορίων (Roth, 2008). Επιπλέον, η γλουταμίνη είναι το κύριο ενεργειακό υπόστρωμα για τα ταχέως πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα, όπως εντεροκύτταρα και ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα του εντερικού επιθηλίου. Ως ανοσο-θεραπευτική ουσία (immunonutrient), η γλουταμίνη είναι σημαντική για την προώθηση της ακεραιότητας και της ωρίμανσης της εντερικής μικροχλωρίδας που συνδέεται με το ανοσοποιητικό σύστημα, για την ενίσχυση της σύνθεσης βλεννίνης για τη διατήρηση της δομής του εντερικού βλεννογόνου, καθώς και για την ενίσχυση του επιθηλιακού φραγμού κατά των βακτηριακών επιθέσεων (Yi et al., 2005). Ακόμη, έχει αναφερθεί σε μελέτη ότι η γλουταμίνη έχει πράγματι ανοσοτροποποιητικές δυνατότητες. Οι επιστήμονες μελέτησαν την επίδραση των διατροφικών συμπληρωμάτων L-γλουταμίνης και νουκλεοτιδίων στον βλεννογόνο του ειλεού σε θηλυκά χοιρίδια απογαλακτισμού, τυχαίως διανεμημένα σε 4 θεραπείες. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν έδειξαν ότι τα διατροφικά συμπληρώματα L-γλουταμίνης και νουκλεοτιδίων, ή και τα δύο, αύξησαν ($P < 0,01$) τον αριθμό των μακροφάγων του βλεννογόνου και των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων στον ειλέο των χοιριδίων (Fasina et al., 2010).

Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι η γλουταμίνη είναι ένα υπό όρους απαραίτητο αμινοξύ κατά τη διάρκεια φλεγμονώδων καταστάσεων, όπως μόλυνση και ο τραυματισμός (Newsholme, 2001). Αν και υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα της γλουταμίνης στην ανακούφιση από τις συνθήκες της νόσου, οι περισσότερες μελέτες έχουν αναφέρει ότι τα συμπληρώματα γλουταμίνης είναι ευεργετικά σε καταστάσεις ασθένειας. Για παράδειγμα, τα αποτελέσματα από 2 ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο δοκιμές που εξετάζουν την επίδραση του συμπληρώματος γλουταμίνης (2,5 g/5ml του διαλύματος Saforis/d) στη στοματική

βλεννογονίτιδα σε ανθρώπους, έδειξαν ότι η γλουταμίνη μείωσε τη συχνότητα εμφάνισης ($p = 0,026$) και της βαρύτητας ($P = 0,005$) της στοματικής μυκητίασης κατά τη διάρκεια χημειοθεραπείας με βάση την ανθρακυκλίνη. Σε μια άλλη μελέτη, οι Li et al. (2006) δεν βρήκαν καμία ευεργετική επίδραση στην στοματίτιδα και τη διάρροια, όταν έδωσαν σε ανθρώπους ποσότητα γλουταμίνης (30g σε νερό/ημέρα) κατά τη διάρκεια συμπληρωματικής χημειοθεραπείας. Άλλοι μελετητές επίσης αναφέρουν ότι η γλουταμίνη μείωσε τη βακτηριακή μετατόπιση σε ζώα. Πιο πρόσφατα, διαπιστώθηκε ότι τα συμπληρώματα γλουταμίνης ελάφρυναν την βακτηριακή μετατόπιση και την ενδοτοξιναιμία που σχετίζεται με αποφρακτικό ίκτερο, όταν χορηγείται από το στόμα γλουταμίνη (4,5g/kg ανά ημέρα στο πόσιμο νερό) σε αρσενικούς επίμυες Wistar, που αποτελούν πειραματικά μοντέλα του αποφρακτικού ίκτερου σε ανθρώπους. Η μεταβλητότητα της αποτελεσματικότητας της γλουταμίνης σε συνθήκες νόσου, ενδέχεται να οφείλεται σε διαφορές στη δόση και την ασθένεια που διερευνάται (Fasina et al., 2010).

Παρά το γεγονός ότι έχει καθιερωθεί ότι η συμπλήρωση με γλουταμίνη στο επίπεδο του 1% της διατροφής βελτιώνει την απόδοση ανάπτυξης και διεγείρει την ανάπτυξη του εντέρου (Yi et al, 2005; Bartell et al, 2007; Murakami et al, 2007), μόνο η μελέτη των Yi et al. (2005) αξιολόγησε την αποτελεσματικότητα της γλουταμίνης στην ανακούφιση μία κατάσταση εντερικής νόσου. Σε αυτή τη μελέτη, οι νεοσσοί κρεατοπαραγωγής ήταν είτε πεινασμένοι, και τους χορηγήθηκε ζωοτροφή, ή τους δόθηκε 'Oasis' (ένα ενυδατωμένο συμπλήρωμα διατροφής για πουλερικά που εκκολάφθηκαν πρόσφατα της εταιρείας Novus International Inc, St Louis, MO) με ή χωρίς το συμπλήρωμα γλουταμίνης 1% για 48 ώρες μετά την εκκόλαψη. Στη συνέχεια, στους νεοσσούς δόθηκε μια κοινή ζωοτροφή εκκίνησης και στη συνέχεια αμφισβητήθηκε την 22^η ημέρα της ηλικίας με 4 x 10⁴ βιώσιμες σποριογόνες ωοκύστες του *Eimeria maxima*/πτηνό. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το συμπλήρωμα 'Oasis' με γλουταμίνη 1% μείωσε τη συχνότητα εμφάνισης των βλαβών από *E. maxima* που προκαλούνται στα έντερα των νεοσσών κρεατοπαραγωγής (Fasina et al. 2010).

Ο στόχος της παρούσας μελέτης είναι να αξιολογηθεί η επίδραση των διατροφικών συμπληρωμάτων γλουταμίνης στο επίπεδο του 1% της διατροφής, στην εντερική αποίκιση από *Salmonella Typhimurium* (Fasina et al. 2010).

Η προσπάθεια λοιπόν έγινε για να διαπιστωθεί εάν το συμπλήρωμα με γλουταμίνη στη διατροφή, ως ανοσοτροποποιητική θρεπτική ουσία, μπορεί να είναι αποτελεσματική στη μείωση των επιπέδων της σαλμονέλας στο τυφλό έντερο, σε νεοσσούς

κρεατοπαραγωγής. Τα αποτελέσματα από τη μελέτη αυτή έδειξαν ότι, παρά τη συμπλήρωση με γλουταμίνη σε επίπεδο 1% της διατροφής βελτίωσε την απόδοση της ανάπτυξης, δεν μείωσε τα επίπεδα της *Salmonella typhimurium* στο τυφλό έντερο. Ίσως το επίπεδο της 1% συμπληρωματικής γλουταμίνης που χρησιμοποιούνται στην παρούσα μελέτη, δεν ήταν το βέλτιστο για να επιτευχθεί μείωση της *Salmonella typhimurium* στο τυφλό έντερο. Είναι όλο και περισσότερο σημαντικό να στηριχθεί η επιλογή των βέλτιστων επιπέδων ένταξης στη διατροφή βιοενεργών θρεπτικών συστατικών, για τις απαιτήσεις του ανοσοποιητικού συστήματος, επιπλέον των απαιτήσεων για την ανάπτυξη των πτηνών. Περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη για να διαπιστωθεί αν υπάρχει ένα βέλτιστο επίπεδο συμπληρωματικής γλουταμίνης, που θα ενισχύσει την εντερική ανοσία στη σαλμονέλα και τη μείωση του επιπέδου του βακτηρίου αυτού στο γαστρεντερικό σωλήνα των κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής (Fasina et al. 2010).

10. Επίσημοι έλεγχοι - πρόγραμμα ελέγχου της σαλμονέλλωσης

10.1 Επίσημοι έλεγχοι - οδηγίες συλλογής και αποστολής δειγμάτων

Οι επίσημοι έλεγχοι περιλαμβάνουν:

1. Τον έλεγχο της τήρησης των μέτρων βιοασφάλειας
2. Τον έλεγχο των εγγράφων και λοιπών στοιχείων που αφορούν την εφαρμογή του προγράμματος των αυτοελέγχων
3. Κλινικό έλεγχο των σμηνών και
4. Διενέργεια επίσημης δειγματοληψίας.

Όλα τα λαμβανόμενα επίσημα δείγματα, συνοδευόμενα από τα προβλεπόμενα συνοδευτικά έγγραφα, κατάλληλα σημασμένα, αποστέλλονται το ταχύτερο στα αρμόδια Κτηνιατρικά Εργαστήρια για τη διενέργεια των προβλεπομένων εξετάσεων. Πριν τη διενέργεια της δειγματοληψίας και την αποστολή των δειγμάτων πρέπει να ενημερώνεται και τηλεφωνικά το αρμόδιο Κτηνιατρικό Εργαστήριο.

Οι δειγματολήπτες λαμβάνουν τα απαραίτητα προληπτικά μέτρα ώστε να αποφευχθεί η μεταφορά οποιασδήποτε ασθένειας μεταξύ διαφορετικών εγκαταστάσεων της ίδιας εκμετάλλευσης ή διαφορετικών εκμεταλλεύσεων (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

A. Συχνότητα-χρόνος διενέργειας των επίσημων ελέγχων

Οι επίσημοι έλεγχοι των σμηνών διενεργούνται:

A. σε τουλάχιστον ένα σμήνος κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής από το 10% των εκμεταλλεύσεων που έχουν πάνω από 5000 πτηνά κάθε χρόνο.

B. Βάση αξιολόγησης κινδύνου:

B1. σε τυχόν περίπτωση υπόνοιας μόλυνσης από *Salmonella enteritidis* ή *Salmonella typhimurium*, ως αποτέλεσμα της επιδημιολογικής έρευνας τροφιμογενών εστιών σύμφωνα με το άρθρο 8 της οδηγίας 2003/99/EK του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου.

B2. σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος για *Salmonella enteritidis* ή *Salmonella typhimurium* σε δειγματοληψία που πραγματοποίησε ο υπεύθυνος του σφαγείου σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2073/2005.

B3. σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος για *Salmonella enteritidis* ή *Salmonella typhimurium* κατά τον επίσημο έλεγχο στο σφαγείο σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 854/2004.

B4. σε περίπτωση ανίχνευσης αντιμικροβιακών ουσιών, στα πλαίσια του προγράμματος ανίχνευσης καταλοίπων, κατά τους επισήμους ελέγχους στο σφαγείο.

Η δειγματοληψία που διενεργείται από την αρμόδια αρχή μπορεί να αντικαταστήσει μία δειγματοληψία με πρωτοβουλία του υπευθύνου της πτηνοτροφικής μονάδας (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

Στην περίπτωση δειγματοληψίας από την αρμόδια αρχή για υπόνοια μόλυνσης από σαλμονέλλα και σε κάθε άλλη περίπτωση που κρίνεται απαραίτητο, η αρμόδια αρχή βεβαιώνεται (διενεργώντας περαιτέρω δοκιμές υποχρεωτικής δειγματοληψίας στα σφάγια για σαλμονέλλα και χρήση αντιμικροβιακών ουσιών), όπου κρίνεται απαραίτητο, ότι τα αποτελέσματα των εξετάσεων για σαλμονέλλα στα σμήνη κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής δεν έχουν επηρεαστεί από τη χρήση αντιμικροβιακών παραγόντων στα σμήνη.

Σε περίπτωση που δεν ανιχνευθεί η παρουσία των *Salmonella enteritidis* και *typhimurium*, αλλά ανιχνευθούν αντιμικροβιακοί παράγοντες ή παράγοντες ανασταλτικοί για την ανάπτυξη βακτηρίων, το σμήνος κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής θεωρείται μολυσμένο για τους σκοπούς του κοινοτικού στόχου και εφαρμόζονται τα μέτρα της παραγράφου 2 του άρθρου 7 της παρούσας απόφασης (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

B. Μέθοδοι δειγματοληψίας

Τα ληφθέντα δείγματα σημαίνονται κατάλληλα και επί της συσκευασίας γράφονται η ημερομηνία, ο τύπος δείγματος και ο κωδικός αριθμός σμήνους.

Όσον αφορά τον τρόπο λήψης των δειγμάτων, αυτά θα πρέπει να λαμβάνονται με τα κατάλληλα αποστειρωμένα εργαλεία, θα πρέπει να πακετάρονται σε κατάλληλες ασφαλείς συσκευασίες στις οποίες να αναγράφεται σε ετικέτα το είδος και ο κωδικός του δείγματος, και να στέλνονται στο αρμόδιο εργαστήριο συνοδευόμενα από τα κατάλληλα έντυπα (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

B1. Δειγματοληψία στην εκμετάλλευση

Τα δείγματα αποτελούνται από σύνθετα δείγματα περιττωμάτων, τα οποία συλλέγονται από διαφορετικά σημεία του θαλάμου με τον ακόλουθο τρόπο συλλογής:

α. μέθοδος μάκτρων για μπότες (boot swabs):

Από κάθε σμήνος που υποβάλλεται σε δειγματοληψία στην εκμετάλλευση πρέπει να λαμβάνονται τουλάχιστον δύο ζεύγη μάκτρων για μπότες ή δύο ζεύγη «καλτσών». Στην περίπτωση σμηνών κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής ελεύθερης βοσκής, τα δείγματα πρέπει να συλλέγονται μόνον εντός του ορνιθώνα. Όλα τα μάκτρα για μπότες/ή «κάλτσες» πρέπει να συγκεντρώνονται σε ένα δείγμα.

Σε σμήνη με λιγότερα από 100 κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής, όταν δεν είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μάκτρα για μπότες ή «κάλτσες» επειδή δεν είναι δυνατή η πρόσβαση στους ορνιθώνες, αυτά μπορούν να αντικατασταθούν από μάκτρα που σύρονται με τα χέρια -δηλαδή τα μάκτρα για μπότες ή οι «κάλτσες» φωρούνται στα χέρια πάνω από γάντια και τρίβονται επάνω σε επιφάνειες που είναι λερωμένες με φρέσκα περιττώματα ή εάν αυτό δεν είναι δυνατόν, με άλλες τεχνικές δειγματοληψίας για περιττώματα κατάλληλες για τον προοριζόμενο σκοπό.

Πριν φορεθούν τα μάκτρα για μπότες ή οι «κάλτσες», πρέπει να υγραίνεται η επιφάνειά τους με διαλυτική ουσία για μέγιστη περισυλλογή (0,8% χλωριούχο νάτριο, 0,1% πεπτόνη σε αποστειρωμένο απιονισμένο νερό) ή αποστειρωμένο νερό ή άλλο διαλυτικό εγκεκριμένο από το εθνικό εργαστήριο αναφοράς, όπως αναφέρεται στο άρθρο 11 του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 2160/2003. Απαγορεύεται η χρήση ύδατος από την εκμετάλλευση το οποίο περιέχει αντιμικροβιακές ουσίες ή επιπλέον απολυμαντικά. Ο συνιστώμενος τρόπος να υγραίνονται τα μάκτρα για μπότες είναι να ρίξουμε υγρό μέσα τους πριν τα φορέσουμε.

Εναλλακτικά, προτού χρησιμοποιηθούν τα μάκτρα για μπότες ή οι «κάλτσες», μπορούν να τοποθετηθούν σε αυτόκαστο μέσα σε σακούλες ή δοχεία αποστείρωσης που περιέχουν διαλυτικό. Τα διαλυτικά μπορούν να προστεθούν και αφού φορεθούν οι μπότες, με τη χρήση ψεκαστήρα ή υδροβολέα.

Εξασφαλίζεται ότι όλα τα τμήματα του ορνιθώνα αντιπροσωπεύονται στη δειγματοληψία ανάλογα με το μέγεθός τους. Κάθε ζεύγος πρέπει να καλύπτει περίπου το 50% της έκτασης του ορνιθώνα (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

β. Εναλλακτικά, αντί των δύο ζευγών μάκτρων μπορεί να ληφθεί ένα ζεύγος μάκτρων για μπότες, καλύπτοντας το 100% της έκτασης του ορνιθώνα, εάν συνδυαστεί με δείγμα σκόνης, που συλλέγεται από πολλαπλές θέσεις σε όλο το θάλαμο, από τις επιφάνειες με ορατή παρουσία σκόνης.

Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία στον επιλεγθέντα θάλαμο, τα μάκτρα πρέπει να αφαιρούνται προσεκτικά, ώστε να μην αποκολληθούν τα υλικά που έχουν προσκολληθεί σε αυτά. Αυτό επιτυγχάνεται εάν γυριστούν τα μάκτρα για μπότες από την ανάποδη.

Στη συνέχεια τοποθετούνται σε σακούλα ή δοχείο τα οποία φέρουν ετικέτες στις οποίες πρέπει να καταγράφονται η ημερομηνία, ο τύπος δείγματος, ο κωδικός αριθμός σμήνους.

Οι δειγματολήπτες πρέπει να είναι εφοδιασμένοι με αποστειρωμένη φόρμα μιας χρήσης, μάσκα για τη σκόνη, γάντια, λαστιχένιες μπότες, πλαστικά ποδονάρια, ειδικά απορροφητικά μάκτρα για μπότες, κατάλληλους υποδοχείς δειγμάτων (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

B2. Δειγματοληψία στο σφαγείο

Για τη λήψη δειγμάτων στο σφαγείο από τα σφάγια των θετικών σμηνών, λαμβάνονται τυχαία δείγματα από 15 σφάγια τουλάχιστον και μετά την ψύξη. Πρέπει να λαμβάνεται τεμάχιο περίπου 10g από το δέρμα του λαιμού για κάθε σφάγιο. Πριν από την εξέταση πρέπει να ομαδοποιούνται τα δείγματα από το δέρμα του λαιμού τριών σφαγίων, προκειμένου να σχηματισθούν 5x25g τελικά δείγματα (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

B3. Δειγματοληψία για την ανίχνευση αντιμικροβιακών παραγόντων

Όσον αφορά τα κρεοπαραγωγά ορνίθια, στην περίπτωση απομόνωσης αντιμικροβιακών παραγόντων από το πρόγραμμα των καταλοίπων, θα πρέπει να ειδοποιείται η αρμόδια αρχή που εφαρμόζει το πρόγραμμα ελέγχου της σαλμονέλλας, ώστε να προβεί σε δειγματοληψία για τη σαλμονέλλα στην συγκεκριμένη εκμετάλλευση. Στην περίπτωση που δεν απομονωθεί σαλμονέλλα, θα πρέπει να λαμβάνονται από 1 έως 5 ολόκληρα πουλερικά για την ανίχνευση αντιμικροβιακών παραγόντων, ώστε να διασφαλιστεί ότι το αποτέλεσμα της σαλμονέλλας δεν έχει επηρεασθεί από τη χρήση αντιμικροβιακών παραγόντων.

Τα παραπάνω δείγματα θα αποστέλλονται στα περιφερειακά εργαστήρια που διενεργούν το screening των αντιμικροβιακών παραγόντων, όπως περιγράφονται στην εγκύκλιο του ΕΠΕΚ (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

Αφαίρεση μυϊκών μαζών στέρνου πτηνών

Το πτηνό τοποθετείται σε ραχιαία θέση με τα άκρα στραμμένα προς τον δειγματολήπτη και τέμνεται το δέρμα που ενώνει τα κάτω άκρα με τα κοιλιακά τοιχώματα. Ακολούθως, συγκρατούνται με τα χέρια τα δύο άκρα του πτηνού στο ύψος των κατά γόνυ αρθρώσεων με τον δείκτη στην έξω και τον αντίχειρα στην έσω επιφάνειά τους και στρέφονται από τα έσω προς τα έξω και κάτω. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται απεξάρθρωση των κατ' ισχύον αρθρώσεων και σταθεροποιείται το σώμα του πτηνού στη ραχιαία του θέση.

Στη συνέχεια, και στο ύψος του μέσου τριτημορίου περίπου της κοιλιάς τέμνεται κάθετα το δέρμα σε όλο το πλάτος του. Με το αριστερό χέρι συγκρατείται το πρόσθιο χεῖλος της τομής και με το δεξί το οπίσθιο. Το μεν πρόσθιο χεῖλος με το αριστερό χέρι ἔλκεται προς τα εμπρός, το δε οπίσθιο χεῖλος προς τα πίσω. Με τον τρόπο αυτό αποσπάται το δέρμα από τους υποκείμενους ιστούς. Για την αφαίρεση των μυϊκών μαζών του στέρνου ακολουθούν δύο τομές: μία κάθετη ως προς το οριζόντιο επίπεδο, αριστερά ή δεξιά της τρόπιδας του στέρνου, και μία υπό γωνία 90 μοιρών ως προς την προηγούμενη. Με τον τρόπο αυτό αφαιρείται το ἡμισυ περίπου των μυϊκών μαζών του στέρνου. Εάν κρίνεται απαραίτητο, η διαδικασία μπορεί να επαναληφθεί και για το άλλο ἡμισυ (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

Οδηγία δειγματοληψιών για αντιβιοτικά

1. Πρέπει να λαμβάνεται δείγμα και αντίδειγμα.
2. Πρέπει να εξασφαλίζεται η ελάχιστη απαιτούμενη και αντιπροσωπευτική ποσότητα κάθε υποδείγματος. Αυτή ορίζεται σε 200g μυϊκού ιστού.
3. Το δείγμα και το αντίδειγμα θα σφραγίζονται και θα σημαίνονται ξεχωριστά.

Τα δείγματα πρέπει να:

1. συσκευάζονται αμέσως σε ξεχωριστή συσκευασία μετά τη συλλογή και να φυλάσσεται σε βαθιά κατάψυξη

2. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται στη σήμανση και στην αδιάβλητη συσκευασία των δειγμάτων, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η ιχνηλασιμότητα και η ακεραιότητα του δείγματος σε όλα τα βήματα της δειγματοληψίας.

3. Στο δελτίο αποστολής αναγράφονται ευκρινώς τα στοιχεία του δείγματος και κατά τρόπο, ώστε να μην αλλοιώνονται αυτά τα στοιχεία από παράγοντες όπως υγρασία κ.λ.π. Πρέπει να εξασφαλίζεται ότι τα δελτία αποστολής δε θα αφαιρεθούν ή αλλοιωθούν (π.χ. υγρασία).

4. Τα δείγματα, μετά από κατάψυξη, τοποθετούνται σε ισοθερμικά δοχεία μεταφοράς και αποστέλλονται στα εργαστήρια το αργότερο μέσα σε τρεις ημέρες.

5. Δείγματα τα οποία δεν είναι δυνατό να αποσταλούν άμεσα στο εργαστήριο, (μέσα σε τρεις μέρες από την ημερομηνία δειγματοληψίας τους), πρέπει να διατηρούνται σε βαθιά κατάψυξη (-70°C) και να αποστέλλονται στο εργαστήριο εντός λίγων ημερών.

6. Το δελτίο αποστολής πρέπει να συνοδεύει τα δείγματα που αποστέλλονται στο εργαστήριο και να αναγράφεται σαφώς ότι η δειγματοληψία είτε εντάσσεται στο Εθνικό Πρόγραμμα Ελέγχου Καταλοίπων είτε στο Πρόγραμμα Ελέγχου Σαλμονέλλας.

7. Αναλυτικότερες οδηγίες για τη δειγματοληψία, σήμανση, σφράγιση κ.λπ. των δειγμάτων περιγράφονται στην εγκύκλιο του Εθνικού Προγράμματος Ελέγχου Καταλοίπων (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

Γ. Επίσημανση εκμεταλλεύσεων, σμηγών και δειγμάτων

Λόγω έλλειψης επίσημης κωδικοποίησης των εκμεταλλεύσεων ορνιθίων κρεατοπαραγωγής, θα πρέπει η κάθε Δ/νση Κτηνιατρικής να δημιουργήσει ένα αρχείο, στο οποίο να κωδικοποιεί όλες τις εκμεταλλεύσεις ορνιθίων κρεατοπαραγωγής του νομού της. Για την κωδικοποίηση των εκμεταλλεύσεων ορνιθίων κρεατοπαραγωγής προτείνεται ο ακόλουθος τρόπος:

Κωδικός αριθμός νομού σύμφωνα με τους κωδικούς δήμων και κοινοτήτων/αύξοντας αριθμός εκμετάλλευσης

Για παράδειγμα, έστω ότι η Θεσσαλονίκη έχει 30 εκμεταλλεύσεις κρεατοπαραγωγής. Οι κωδικοί των παραπάνω εκμεταλλεύσεων για τις ανάγκες του προγράμματος θα είναι: ΘΕΣ 54/1, ΘΕΣ54/2,.....ΘΕΣ54/30.

Είναι πολύ σημαντικό να διατηρούνται οι ίδιοι κωδικοί των εκμεταλλεύσεων καθόλη τη διάρκεια εφαρμογής του προγράμματος. Ακόμη και στην περίπτωση που κάποια εκμετάλλευση σταματήσει τη λειτουργία της, ο κωδικός της δε θα δοθεί σε κάποια άλλη εκμετάλλευση.

Οι παραπάνω κωδικοί αριθμοί πρέπει να κοινοποιούνται στις εκμεταλλεύσεις ορνιθίων κρεατοπαραγωγής κάθε νομού (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

Κάθε σμήνος της εκμετάλλευσης επισημαίνεται με τα ακόλουθα στοιχεία:

A) Τον δημιουργούμενο, από την οικεία Δ/νση Κτηνιατρικής, κωδικό αριθμό εκμετάλλευσης.

B) Τον αριθμό αναγνώρισης του θαλάμου, εάν η εκμετάλλευση αποτελείται από περισσότερους του ενός θαλάμους.

Γ) Την ημερομηνία τοποθέτησης του σμήνους

Κάθε δείγμα που λαμβάνεται στο σμήνος και αποστέλλεται στο αρμόδιο κτηνιατρικό εργαστήριο επισημαίνεται με τα ακόλουθα στοιχεία:

A) Τον δημιουργούμενο, από την οικεία Δ/νση Κτηνιατρικής, κωδικό αριθμό εκμετάλλευσης.

B) Τον αριθμό αναγνώρισης του θαλάμου, εάν η εκμετάλλευση αποτελείται από περισσότερους του ενός θαλάμους.

Γ) Την ημερομηνία τοποθέτησης του σμήνους.

Δ) Την ημερομηνία δειγματοληψίας.

E) τον αύξοντα αριθμό του δείγματος, π.χ. ΘΕΣ54/1/1/16.08.2009/08.09.2009/1 (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

Δ. Μεταφορά δειγμάτων

Τα δείγματα μετά τη συλλογή τους φυλάσσονται υπό ψύξη, μέχρι την αποστολή τους στο εργαστήριο, η οποία πρέπει να γίνεται άμεσα (και σε διάστημα μικρότερο των 25 ωρών), με το ταχύτερο και προσφορότερο μέσο, αφού πρώτα τοποθετηθούν σε ισοθεμικά δοχεία με παγοκύστες (ειδικότερα κατά τους θερινούς μήνες).

Πριν τη δειγματοληψία και αποστολή των δειγμάτων πρέπει να έχει προηγηθεί τηλεφωνική επικοινωνία με το εργαστήριο (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

Ε. Επίσημοι έλεγχοι των μέτρων βιοασφάλειας και των στοιχείων αυτοελέγχων

Οι επίσημοι έλεγχοι των μέτρων βιοασφάλειας και των αυτοελέγχων συνίστανται σε έλεγχο των εγκαταστάσεων και των εγγράφων στοιχείων των εκμεταλλεύσεων, ο οποίος διενεργείται κάθε φορά που διενεργείται επίσημη δειγματοληψία των σμηνών.

Τα ευρήματα του ελέγχου καταγράφονται σε ειδική έκθεση, η οποία τηρείται στο αρχείο της αρμόδιας κτηνιατρικής αρχής και αντίγραφο αυτής επιδίδεται στον υπεύθυνο της εκμετάλλευσης (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

10.2 Επίσημοι έλεγχοι - οδηγίες επαλήθευσης της αξιοπιστίας των αυτοελέγχων

Κατά τη διεξαγωγή του επίσημου ελέγχου και του ελέγχου του αρχείου της εκμετάλλευσης, όσον αφορά τη διενέργεια των αυτοελέγχων, πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή στα παρακάτω σημεία:

1^ο: Στα διαβιβαστικά έγγραφα των δειγμάτων των αυτοελέγχων, στα οποία πρέπει να αναφέρονται με ευκρίνεια ο κωδικός του σμήνους από το οποίο προέρχονται τα δείγματα, ο αριθμός και το είδος των δειγμάτων, το βάρος του κάθε είδους δείγματος και η ημερομηνία δειγματοληψίας.

2^ο: Στα έγγραφα των εργαστηριακών αποτελεσμάτων των αυτοελέγχων, στα οποία πρέπει να αναφέρονται με ευκρίνεια ο κωδικός του σμήνους από το οποίο προέρχονται τα εξεταζόμενα δείγματα, ο αριθμός και το είδος των εξετασμένων δειγμάτων, το βάρος του κάθε είδους δείγματος, η ημερομηνία έναρξης της ανάλυσης των δειγμάτων, καθώς και η ημερομηνία έκδοσης του εργαστηριακού αποτελέσματος.

3^ο: Στη συχνότητα διενέργειας των αυτοελέγχων και στο εάν αυτή είναι σε συμμόρφωση με τις διατάξεις της εθνικής απόφασης για τον έλεγχο της σαλμονέλας στα σμήνη ορνίθων αναπαραγωγής.

4^ο: Στην ύπαρξη του κατάλληλου εξοπλισμού (μάκτρα, φόρμες μιας χρήσης, γάντια, ποδονάρια, υποδοχείς των δειγμάτων κ.λπ.) για τη διενέργεια της δειγματοληψίας από τον υπεύθυνο της εκμετάλλευσης.

Επίσης, με την υποβολή ερωτήσεων στον υπεύθυνο της πτηνοτροφικής εκμετάλλευσης σχετικά με τον τρόπο συλλογής των δειγμάτων των αυτοελέγχων, ο επίσημος κτηνίατρος μπορεί να εξακριβώσει, εάν ο υπεύθυνος της εκμετάλλευσης είναι γνώστης των διατάξεων του παρατήματος Ι της απόφασης 261069/23.03.2009 (Β' 575) του ΥΠΑΑΤ «για την εφαρμογή Προγράμματος Ελέγχου της σαλμονέλλωσης στα ορνίθια

κρεατοπαραγωγής του είδους *Gallus gallus*», σχετικά με τη συχνότητα και το πρωτόκολλο δειγματοληψίας των δειγμάτων του αυτοελέγχου.

Όσον αφορά στην κωδικοποίηση του σμήνους από τον υπεύθυνο της εκμετάλλευσης, συστήνεται να ακολουθείται η διαδικασία που αναφέρεται στο σημείο 3Γ του παρόντος εγχειριδίου (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

10.3 Εργαστηριακές μέθοδοι διάγνωσης

Τα δείγματα αποστέλλονται με κατεπείγουσα ταχυδρομική αποστολή ή με ιδιωτική ταχυδρομική υπηρεσία στα εργαστήρια εντός 25 ωρών από τη συλλογής τους. Στα εργαστήρια τα δείγματα διατηρούνται σε ψύξη έως την εξέτασή τους, η οποία διενεργείται μέσα σε 48 ώρες από την παραλαβή τους.

Οι περιέκτες των δειγμάτων μετά την άφιξή τους στο εργαστήριο πρέπει να απολυμαίνονται με ψεκάσμο με οινόπνευμα 70% και να αφεθούν για τουλάχιστον 1 λεπτό.

Η συσκευασία των δύο ζευγών μάκτρων για μπότες (ή καλτσών) αφαιρείται προσεκτικά, ώστε να μην αποκολληθούν τα υλικά που έχουν προσκολληθεί σε αυτά. Στη συνέχεια, τα μάκτρα ομαδοποιούνται και τοποθετούνται σε 225 ml ρυθμιστικού υδατικού διαλύματος πεπτόνης, το οποίο έχει προθερμανθεί σε θερμοκρασία δωματίου.

Το δείγμα σκόνης θα αναλυθεί κατά προτίμηση χωριστά. Ωστόσο, μπορεί και να ομαδοποιηθεί με το ζεύγος μάκτρων για μπότες, ή «καλτσών», για την ανάλυση.

Το δείγμα περιδινείται για να κορεσθεί πλήρως και συνεχίζεται η καλλιέργεια με τη μέθοδο ανίχνευσης που περιγράφεται παρακάτω.

Μέθοδος ανίχνευσης

Για την ανίχνευση της σαλμονέλας χρησιμοποιείται η μέθοδος που συνιστάται από το Κοινοτικό Εργαστήριο Αναφοράς για τη σαλμονέλα στο Bilthoven (Κάτω Χώρες). Αυτή η μέθοδος περιγράφεται στην τρέχουσα έκδοση του σχεδίου του παραρτήματος Δ του προτύπου ISO 6579 (2002), για την ανίχνευση ειδών *Salmonella* σε περιττώματα ζώων και σε δείγματα του σταδίου της πρωτογενούς παραγωγής. Σε αυτή τη μέθοδο χρησιμοποιείται ημιστερεό μέσο (τροποποιημένο ημιστερεό μέσο Rappaport-Vassiliadis (MSRV), ως το μοναδικό μέσο επιλεκτικού εμπλουτισμού το οποίο επωάζεται σε 41,5+1°C για 2 x 24+3 ώρες.

Προσδιορισμός του ορότυπου

Γίνεται προσδιορισμός του ορότυπου τουλάχιστον ενός απομονωθέντος στελέχους από κάθε θετικό δείγμα, σύμφωνα με το σύστημα Kaufmann-White.

Για τους σκοπούς του προγράμματος, ένα σμήνος ορνιθίων κρεατοπαραγωγής του είδους *Gallus gallus* χαρακτηρίζεται θετικό για σαλμονέλα, εάν η παρουσία της σαλμονέλας ανιχνευθεί τουλάχιστον σε ένα δείγμα του. Επιπρόσθετα, μετά την οροτυποποίηση των θετικών σμηνών, όλοι οι ορότυποι αναφέρονται ξεχωριστά, συμπεριλαμβανομένων των μη τυποποιήσιμων.

Εναλλακτικές μέθοδοι

Όσον αφορά τα δείγματα που λαμβάνονται με πρωτοβουλία του υπευθύνου της πτηνοτροφικής εκμετάλλευσης, οι μέθοδοι ανάλυσης που προβλέπονται στο άρθρο 11 του κανονισμού (ΕΚ) αριθ.882/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν αντί των μεθόδων για την προετοιμασία των δειγμάτων, των μεθόδων ανίχνευσης και προσδιορισμού του ορότυπου που περιγράφονται παραπάνω, εάν πιστοποιούνται σύμφωνα με το πρότυπο EN/ISO 16140/2003.

Αποθήκευση των στελεχών

Τουλάχιστον ένα απομονωμένο στέλεχος ανά ορνιθώνα και ανά έτος συλλέγεται από την αρμόδια αρχή και αποθηκεύεται για μελλοντική βακτηριοφαγική τυπολόγηση και δοκιμή της ευαισθησίας σε αντιμικροβιακούς παράγοντες, χρησιμοποιώντας τις συνήθεις μεθόδους συλλογής καλλιεργειών, οι οποίες πρέπει να διασφαλίζουν την ακεραιότητα των στελεχών για ελάχιστη περίοδο δύο ετών (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

10.4 Γενικές αρχές για την απολύμανση των μολυσμένων χώρων και της μολυσμένης στρωμνής-κόπρου ή υδαρούς κόπρου

A. Για την απολύμανση των μολυσμένων θαλάμων των εκμεταλλεύσεων ορνιθών κρεατοπαραγωγής συνιστώνται τα παρακάτω:

Όλοι οι χώροι της εκμετάλλευσης που έχουν φιλοξενήσει θετικά πτηνά, θα πρέπει να καλύπτονται με στρώμα άνυδρου άσβεστου και κατόπιν να καθαρίζονται.

Αυτό περιλαμβάνει την απομάκρυνση της στρωμνής (εάν χρησιμοποιείται) και της κόπρου, οι οποίες ακολούθως απολυμαίνονται με τις διαδικασίες του σημείου 7B.

Το τσιμεντένιο δάπεδο, καθώς και όλες οι μεταλλικές ή ξύλινες κατασκευές (π.χ. μεσότοιχοι) ή άλλος κτιριακός εξοπλισμός πρέπει να βουρτσίζονται και να πλένονται με διάλυμα εγκεκριμένου απολυμαντικού (συνιστάται το υποχλωριώδες νάτριο σε συγκέντρωση 20.000 ppm ελεύθερου χλωρίου).

Η Διεύθυνση Κτηνιατρικής της Νομαρχιακής Αυτοδιοίκησης στην οποία βρίσκεται η εκμετάλλευση, οφείλει να ενημερώνει τον υπεύθυνο της εκμετάλλευσης σχετικά με τις παραπάνω διαδικασίες.

B. Η απολύμανση στρωμνής, κόπρου και υδαρούς κόπρου που έχουν μολυνθεί γίνεται σύμφωνα με τις ακόλουθες αρχές και διαδικασίες:

α) η κόπρος και η χρησιμοποιηθείσα στρωμνή:

i) είτε υφίστανται επεξεργασία με ατμό σε θερμοκρασία τουλάχιστον 70°C,

ii) είτε καταστρέφονται με καύση,

iii) είτε θάβονται σε βάθος τέτοιο ώστε να μην είναι δυνατή η πρόσβαση από άγρια πτηνά ή άλλα ζώα, είτε

iv) στοιβάζονται, ψεκάζονται με απολυμαντικό και διατηρούνται επί τουλάχιστον 42 ημέρες,

β) η υδαρής κόπρος πρέπει να αποθηκεύεται τουλάχιστον για 60 ημέρες μετά την τελευταία προσθήκη μολυσματικού υλικού, εκτός αν οι αρμόδιες αρχές επιτρέψουν μικρότερο διάστημα αποθήκευσης για υδαρή κόπρο η οποία έχει όντως υποβληθεί σε αποτελεσματική επεξεργασία σύμφωνα με τις οδηγίες του επίσημου κτηνιάτρου ώστε να εξασφαλιστεί η καταστροφή της σαλμονέλλας.

Η Διεύθυνση Κτηνιατρικής της Νομαρχιακής Αυτοδιοίκησης, μπορεί να εγκρίνει τη μεταφορά κόπρου, απορριμμάτων και στρωμνής που ενδέχεται να έχουν μολυνθεί είτε σε εγκεκριμένη εγκατάσταση επεξεργασίας στην οποία πραγματοποιείται επεξεργασία που εξασφαλίζει την καταστροφή της σαλμονέλλας είτε για ενδιάμεση αποθήκευση πριν από καταστροφή ή επεξεργασία, σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1774/2002 (ή με τους ειδικούς κανόνες που καθορίζονται με τη διαδικασία της Επιτροπής). Η μεταφορά αυτή πραγματοποιείται σε κλειστά, υδατοστεγή οχήματα ή περιέκτες υπό την εποπτεία της, ούτως ώστε να αποφεύγεται η εξάπλωση της σαλμονέλλας (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

10.5 Πρωτόκολλο δειγματοληψίας για την επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας της απολύμανσης

Το δείγμα λαμβάνεται αφού στεγνώσουν οι επιφάνειες μετά την απολύμανση στον ορنيθώνα.

Η δειγματοληψία θα πρέπει να γίνεται με τρόπο ώστε να λαμβάνεται αντιπροσωπευτικό δείγμα.

Τα μέρη που πρέπει να δειγματιστούν είναι οι τοίχοι, το πάτωμα, οι ποτίστρες, οι ταΐστρες, οι φωλιές, οι σωληνώσεις εξαερισμού, τα δοκάρια, τα χωρίσματα, οι ταινίες μεταφοράς, και άλλες επιφάνειες και συσκευές .

Μεγάλες επιφάνειες

Η ελάχιστη επιφάνεια δειγματοληψίας είναι 1 m².

- Η δειγματοληψία μπορεί να γίνει με αποστειρωμένα μάκτρα όπως γάζες ή σπόγγοι κυτταρίνης με τη χρήση γαντιού μιας χρήσης ή την τεχνική της «αναποδογυρισμένης σακούλας» (Η πλαστική σακούλα που περιέχει το μάκτρο κρατιέται από την εξωτερική πλευρά, με τρόπο ώστε όταν αντιστρέφεται να εκτίθεται το μάκτρο και μετά την κάλυψη της επιφάνειας η σακούλα αντιστρέφεται και πάλι). Η επιφάνεια σπογγίζεται μέχρι να φαίνεται λερωμένο το μάκτρο.

- Για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της απολύμανσης στο δάπεδο χρησιμοποιούνται ποδόμακτρα, όπως και για τα περιττωματικά υλικά.

Όταν δειγματίζονται στεγνές επιφάνειες, τα μάκτρα πρέπει να έχουν υγρανθεί, όπως και για τα περιττωματικά υλικά με τη μέθοδο των ποδομάκτρων.

Μετά τη δειγματοληψία οι περιέκτες σφραγίζονται και σημαίνονται.

Μικρές επιφάνειες

Η δειγματοληψία μπορεί να γίνει με αποστειρωμένες βαμβακοφόρους ράβδους ή οποιαδήποτε ράβδο ξύλινη ή πλαστική με άκρο από βαμβάκι ή συνθετικό υλικό, επιμένοντας όπου υπάρχουν σχισμές, γωνίες, ανώμαλες επιφάνειες. Πριν χρησιμοποιηθούν πρέπει να υγρανθούν. Αφαιρούμε τη ράβδο από τον αποστειρωμένο περιέκτη της και βυθίζουμε το άκρο σε σωλήνα που περιέχει κατάλληλο υγρό. Ανασύροντας πιέζουμε το άκρο στα τοιχώματα του σωλήνα για να φύγει το επιπλέον υγρό. Μετά τη δειγματοληψία κόβουμε το άκρο άσηπτα και το ρίχνουμε μέσα στο υγρό μεταφοράς.

Τα δείγματα παραμένουν στους 2-10°C για 48 ώρες μέχρι την εξέταση ή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χαμηλότερη των 25ο για άμεση μεταφορά και εξέταση (έως 18 ώρες) (Δ/Νση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων, 2010).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΥΛΙΚΑ – ΜΕΘΟΔΟΙ

I. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε κατά την περίοδο Ιανουαρίου – Μαΐου 2012. Συλλέχθησαν 50 δείγματα από εντόσθια κοτόπουλων στην ευρύτερη περιοχή της Λάρισας. Συγκεκριμένα συλλέχθησαν τα εξής δείγματα:

- σφαγεία Λάρισας (10 δείγματα),
- κρεοπωλείο μόνο για πουλερικά (10 δείγματα),
- κρεοπωλείο με όλα τα είδη κρέατος (10 δείγματα),
- κατεψυγμένη αγορά (10 δείγματα),
- σούπερ μάρκετ (10 δείγματα).

Τα παραπάνω συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Πίνακας 1. Σύνολο των δειγμάτων, ανάλογα με το σημείο προέλευσης.

A/A	Δείγμα	Σημείο προέλευσης
1	Εντόσθια κοτόπουλου	Σφαγείο Λάρισας
2	»	»
3	»	»
4	»	»
5	»	»
6	»	»
7	»	»
8	»	»
9	»	»
10	»	»
11	»	Κρεοπωλείο πουλερικών
12	»	»
13	»	»
14	»	»
15	»	»
16	»	»
17	»	»
18	»	»
19	»	»

20	»	»
21	»	Κρεοπωλείο με όλα τα είδη κρέατος
22	»	»
23	»	»
24	»	»
25	»	»
26	»	»
27	»	»
28	»	»
29	»	»
30	»	»
31	»	Κατεψυγμένη αγορά
32	»	»
33	»	»
34	»	»
35	»	»
36	»	»
37	»	»
38	»	»
39	»	»
40	»	»
41	»	Σούπερ μάρκετ
42	»	»
43	»	»
44	»	»
45	»	»
46	»	»
47	»	»
48	»	»
49	»	»
50	»	»

Ο αριθμός των δηγηματοληψιών που έγιναν, καθορίστηκε με βάση το εξής κριτήριο:

- Επιλογή των εντόσθιων κοτόπουλων από διαφορετικά σημεία προέλευσης, ώστε το σύνολο των δειγμάτων να είναι όσο γίνεται πιο αντιπροσωπευτικό.

II. ΣΤΑΔΙΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

1. Μεταφορά δειγμάτων στο εργαστήριο, στους 2°C - 8°C σε σκοτάδι, σε ισόθερμο δοχείο. Τα δείγματα πρέπει να αναλυθούν όσο πιο σύντομα γίνεται την ημέρα συλλογής τους, αλλιώς αποθηκεύονται στους 2°C - 8°C και εξετάζονται εντός 24 ωρών.

2. Υπό ασηπτικές συνθήκες άνοιξα τη συσκευασία που περιείχε το εκάστοτε δείγμα (με νυστεράκι το οποίο είχε απολυμανθεί και καεί σε φλόγα), έπαιρνα 25gr δείγματος από διαφορετικά σημεία του δείγματος, προκειμένου να είναι όσο γίνεται πιο αντιπροσωπευτικό και τα τοποθετούσα σε ειδική σακούλα δειγματοληψίας, η οποία ανοιγόταν δίπλα σε φλόγα ασηπτικά, προκειμένου να μη μολυνθεί. Στη συνέχεια, προσέθετα 225ml Buffered Peptone Water και τοποθετούσα τη σακούλα σε ειδική συσκευή Stomacher, προκειμένου να λειοτριβηθεί, να αναδευτεί και να ομογενοποιηθεί το δείγμα ασηπτικά. Αυτή τη διαδικασία την επαναλάμβανα για όλα τα δείγματα και κάθε φορά που άνοιγα καινούρια συσκευασία με δείγματα, απολύμαινα και έκαιγα το νυστεράκι. Στη συνέχεια τοποθετούσα τις σακούλες σε στατό και τις έβαζα για επώαση στους 37°C για 18 ώρες.

- Η παρασκευή του Buffered Peptone Water (πεπτονούχο νερό σε ρυθμιστικό διάλυμα) γίνεται ως εξής: σε 1lt απιονισμένο νερό προστίθενται 20gr σκόνη Buffered Peptone Water και τοποθετούνται σε αυτόκαυστο για 15min. Στη συνέχεια γίνεται ανάδευση.

3. Στη συνέχεια δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετούνται σε στατό, εφόσον πρώτα έχουν αριθμηθεί και έχει σημειωθεί η ημερομηνία. Κατόπιν, σε 2 σωληνάρια με 10ml selenite cystine ζωμό, προστίθεται 1ml δείγματος από τη σακούλα. Παίρνουμε άλλα 2 σωληνάρια με 10ml RVS ζωμό (Rappaport Vasiliadis Salmonella) και προστίθεται 0,1ml δείγματος από τη σακούλα. Τα σωληνάρια με RVS τοποθετούνται για επώαση στους 44°C για 24 ώρες, ενώ τα σωληνάρια με selenite τοποθετούνται για επώαση στους 37°C για 24 ώρες.

- Η παρασκευή του selenite cystine γίνεται ως εξής: σε 500ml φυσιολογικό ορό προστίθενται 11,5gr selenite. Στο κάθε σωληνάριο τοποθετούμε 10ml selenite cystine.

▪ Η παρασκευή του rapparort γίνεται ως εξής: σε 500ml νερό προστίθενται 13,3gr rapparort και τοποθετούνται στο αυτόκαυστο. Στο κάθε σωληνάριο προστίθενται 12ml rapparort.

4. Στη συνέχεια πραγματοποιείται ανακαλλιέργεια. Για κάθε ζωμό ανακαλλιεργούμε 1 τρυβλίο με XLD άγαρ και 1 τρυβλίο με SS άγαρ. Δηλαδή παίρνουμε μια “κρική” 10ml και ενδοφθαλμίζουμε στα τρυβλία. Στη συνέχεια τα επωάζουμε στους 37°C για 24 ώρες.

5. Την επόμενη μέρα παίρνουμε τα τρυβλία από τον επωαστικό κλίβανο και παρατηρούμε αν υπάρχουν ύποπτες αποικίες. Αν αυτό συμβαίνει, κάνουμε ανακαλλιέργεια σε XLD άγαρ, Mac άγαρ ή COS άγαρ.

Επωάζουμε πάλι στους 37°C για 24 ώρες.

6. Κάνουμε ταυτοποίηση της σαλμονέλας με API 20E. Το API 20E αποτελεί ένα προτυποποιημένο σύστημα ταυτοποίησης για enterobacteriaceae και άλλα μη απαιτητικά Gram-αρνητικά βακτηρίδια, που χρησιμοποιεί 21 βιοχημικές εξετάσεις σε μικρογραφία και μια βάση δεδομένων. Η ταινία API20E αποτελείται από 20 μικροσωλήνες που περιέχουν αφυδατωμένα υποστρώματα. Αυτές οι εξετάσεις ενοφθαλμίζονται με βακτηριακό εναιώρημα που προκαλεί ανασύσταση των υλικών. Κατά τη διάρκεια της επώασης, ο μεταβολισμός προκαλεί χρωματικές μεταβολές που είτε είναι αυτόματες, είτε αποκαλύπτονται με την προσθήκη των αντιδραστηρίων. Οι αντιδράσεις διαβάζονται σύμφωνα με τον Πίνακα Ανάγνωσης. Μετά την περίοδο επώασης, διαβάστε την ταινία με βάση τον Πίνακα Ανάγνωσης. Αν 3 ή περισσότερες εξετάσεις είναι θετικές, καταγράφουμε όλες τις αυτόματες αντιδράσεις στο φύλλο αποτελεσμάτων και στη συνέχεια αποκαλύπτουμε τις εξετάσεις που απαιτούν την προσθήκη αντιδραστηρίων:

α) εξέταση TDA: προσθέτουμε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου TDA. Η εμφάνιση κοκκινωπού καφέ χρώματος υποδεικνύει μια θετική αντίδραση προς καταγραφή στο φύλλο αποτελεσμάτων.

β) εξέταση IND: προσθέτουμε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου James. Η εμφάνιση ρόδινου χρώματος που αναπτύσσεται σε ολόκληρο το κυπέλλο υποδεικνύει μια θετική αντίδραση προς καταγραφή στο φύλλο αποτελεσμάτων.

γ) Εξέταση VP: προσθέτουμε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου VP1 και 1 σταγόνα αντιδραστηρίου VP2. Περιμένουμε τουλάχιστον για 10 λεπτά. Η εμφάνιση ρόδινου ή ερυθρού χρώματος υποδεικνύει μια θετική αντίδραση προς καταγραφή στο φύλλο

αποτελεσμάτων. Αν έπειτα από 10 λεπτά εμφανιστεί ένα ελαφρώς ρόδινο χρώμα, η αντίδραση πρέπει να θεωρηθεί αρνητική.

Η ερμηνεία προκύπτει με το αριθμητικό προφίλ. Στα φύλλα αποτελεσμάτων, οι εξετάσεις χωρίζονται σε ομάδες των 3 και για κάθε μια δίνεται τιμή 1, 2 ή 4. Προσθέτοντας τις τιμές που αντιστοιχούν σε θετικές αντιδράσεις μέσα σε κάθε ομάδα, προκύπτει ένας 7ψήφιος αριθμός προφίλ για τις 20 εξετάσεις της ταινίας API 20E. Για την ταυτοποίηση αναζητούμε το αριθμητικό προφίλ στον κατάλογο των προφίλ και γίνεται με το λογισμικό ταυτοποίησης arweb. Εισάγουμε το 7ψήφιο αριθμητικό προφίλ χειροκίνητα, χρησιμοποιώντας το πληκτρολόγιο.

Το XLD agar (άγαρ Ξυλόζης Λυσίνης Δεσοξυχολικού άλατος) είναι ένα μετρίως εκλεκτικό και διαφορικό υλικό για την απομόνωση και διαφοροποίηση gram αρνητικών εντερικών παθογόνων (*Salmonella* και *Shigella*) από κλινικά δείγματα.

Το SS agar (άγαρ *Salmonella-Shigella*) είναι ένα εκλεκτικό υλικό για την απομόνωση παθογόνων εντερικών βακίλλων, ιδιαίτερα αυτών που ανήκουν στο γένος *Salmonella*.

Το Mac agar (MacConkey άγαρ) είναι ένα θρεπτικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη Gram αρνητικών βακτηρίων που ζυμώνουν τη λακτόζη.

Το Cos agar (αιματούχο άγαρ) είναι ένα άγαρ με αίμα για την ανάπτυξη των gram θετικών βακτηριδίων. Περιέχει ένα μίγμα πεπτόνης. Η παρουσία αίματος επιτρέπει την αιμόλυση που είναι βασικό κριτήριο για τον προσανατολισμό της βακτηριακής αναγνώρισης.

B. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα 10 δείγματα από το σφαγείο της Λάρισας ήταν αρνητικά.

Το 15^ο δείγμα που προήλθε από κρεοπωλείο μόνο με πουλερικά, από το ζωμό του selenite στο XLD άγαρ εμφάνισε ύποπτες μαύρες αποικίες, αλλά ήταν λόγω της παραγωγής του υδροθείου.

Στο SS άγαρ είχε διάφανες αποικίες.

Στον RVS ζωμό εμφάνισε μαύρες αποικίες στο XLD άγαρ και ελάχιστες διαφανείς στο SS άγαρ.

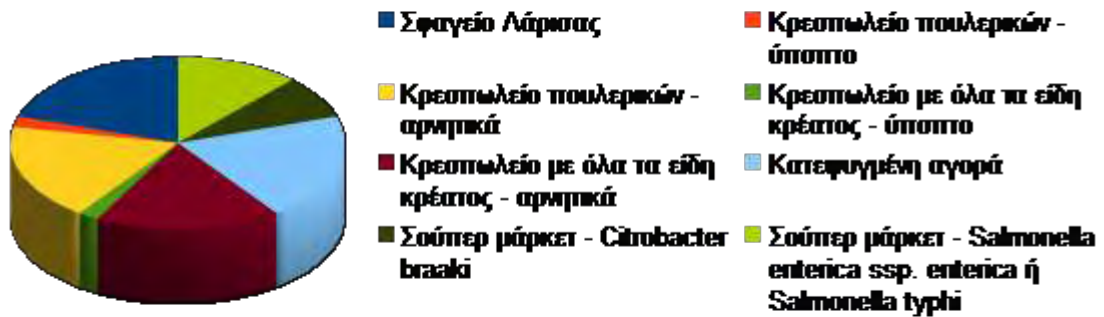
Τα υπόλοιπα δείγματα ήταν αρνητικά.

Το 21^ο δείγμα που προήλθε από κρεοπωλείο με όλα τα είδη κρέατος, από τον RVS ζωμό στο SS άγαρ δεν εμφάνισε καμία ύποπτη, ενώ από τον RVS ζωμό στο XLD άγαρ εμφάνισε μαύρες αποικίες με διαφανή υάλω και κάναμε ανακαλλιέργεια σε XLD άγαρ και Mac άγαρ, τα οποία βγήκαν αρνητικά. Από τον ζωμό selenite στο SS άγαρ και στο XLD άγαρ εμφανίστηκαν ύποπτες αποικίες και κάναμε ανακαλλιέργεια σε XLD άγαρ και Mac άγαρ, οι οποίες βγήκαν αρνητικές. Τα υπόλοιπα δείγματα από το κρεοπωλείο με όλα τα είδη κρέατος δεν εμφάνισαν καμία ύποπτη αποικία.

Όλα τα δείγματα από την κατεψυγμένη αγορά από το 31^ο έως το 40^ο στον RVS ζωμό, στο SS άγαρ και στο XLD άγαρ είχαν ύποπτες μαύρες αποικίες και έγινε ανακαλλιέργεια σε XLD άγαρ και Mac άγαρ, τα οποία βγήκαν αρνητικά. Στο ζωμό του selenite στο XLD άγαρ βρέθηκαν ύποπτες μαύρες αποικίες και έγινε ανακαλλιέργεια σε XLD άγαρ και Mac άγαρ, τα οποία βγήκαν αρνητικά στη *Salmonella*. Ενώ στο SS άγαρ του ζωμού του selenite βρέθηκαν διαφανείς αποικίες και έγινε ανακαλλιέργεια σε XLD άγαρ, Mac άγαρ και COS άγαρ. Τα βάλουμε για επώαση στους 37°C για 24 ώρες και στην ταυτοποίηση στο API 20E βρέθηκε *Proteus mirabilis* (99,9% , T=0,89).

Στα δείγματα από το σούπερ μάρκετ (41^ο, 42^ο, 43^ο και 44^ο) και από το ζωμό του selenite και από το ζωμό του rvs στα xld και ss άγαρ βρέθηκαν ύποπτες αποικίες, οι οποίες ανακαλλιεργήθηκαν σε xld και mac άγαρ και ταυτοποιήθηκαν σε api 20e και βρέθηκε *Citrobacter braaki* (99,9% , t=1,0).

Στα υπόλοιπα δείγματα (45° – 50°) βρέθηκαν ύποπτες μαύρες αποικίες με διαφανή υάλω, ανακαλλιεργήθηκαν σε XLD και Mac άγαρ και ταυτοποιήθηκαν σε API 20E και βρέθηκε *Salmonella enterica ssp. enterica* ή *Salmonella typhi* (99,9%).



Διάγραμμα 1. Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων

Βιβλιογραφία

Ελληνική

Ελληνική Δημοκρατία. Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. Δ/ση Κτηνιατρικής Θεσσαλονίκης Τμήμα Υγείας των Ζώων. Παράρτημα ΓΕΩΤΕ Κεντρικής Μακεδονίας.

Ελληνική Δημοκρατία. Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. Γενική Διεύθυνση Κτηνιατρικής. Δ/ση Υγείας των Ζώων. Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων (2010). Εγχειρίδιο οδηγιών εφαρμογής των επίσημων ελέγχων του προγράμματος ελέγχου της σαλμονέλλωσης σε σμήνη ορνιθίων κρεατοπαραγωγής. 2η Έκδοση.

Zaxariadis S. (2009). Σαλμονέλα. Ενα μικρόβιο με σημαντικές επιπτώσεις στην υγεία των ζώων και στη δημόσια υγεία. Εθνικά προγράμματα ελέγχου της σαλμονέλλωσης στις όρνιθες.

Λεοναρδόπουλος Ι., Κούρτη Ε. (1999). Κεφάλαιο 8 Εντεροβακτηριακά. Στο: Αντωνιάδης Α., Αντωνιάδης Γρ., Λεγάκης Ν., Τσελέντης Ι. Ιατρική Μικροβιολογία Τόμος ΙΙ. Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης.

Ματσάγγος Σ. Κ. (2007). Σαλμονέλα. Που οφείλεται; Food Technology, τεύχος 3.

Ξένη

Arritt F. M., Eifert D. J., Pierson D. M., Sumner S. S. (2002). Efficacy of antimicrobials against *Campylobacter jejuni* on chicken breast skin. J. Appl. Poult. Res. 11:358–366.

Bartell S. M., Batal B. A. (2007). The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers. Poult. Sci. 86:1940–1947.

Baykov B., Stoyanov M. (1999). Microbial air pollution caused by intensive broiler chicken breeding. *FEMS Microbiol. Ecol.* 29:389–392.

Bialka K. L., Demirci A. (2007). Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on blueberries using ozone and pulsed UV-light. *J. Food Sci.* 72:M391–M396. <http://www.comitedearandos.cl/pdf/3.9.201014.5.43.pdf>

Bilgili S. F. (2001). Poultry products and processing in the international market place.

Bohez L., Gantois I., Ducatelle R., Pasmans F., Dewulf J., Haesebrouck F., Van Immerseel F. (2006). The *Salmonella* pathogenicity island 2 regulator *ssrA* promotes reproductive tract but not intestinal colonization in chickens. *Vet. Microbiol.* 116:202–210.

Brooks J. P., Tanner D. B., Josephson L. K., Gerba P. C., Haas N. C., Pepper L. I. (2005). A national study on the residential impact of biological aerosols from the land application of biosolids. *J. Appl. Microbiol.* 99:310–322.

Buhr R., Richardson L., Cason J., Cox N., Fairchild B. (2007). Comparison of four sampling methods for the detection of *Salmonella* in broiler litter. *Poult. Sci.* 86:21–25.

Bull S. A., Allen M.V., Domingue G., Jorgensen F., Frost A. J., Ure R., Whyte R., Tinker D., Corry E. L. J., Gillard-King J., Humphrey J. T. (2006). Sources of *Campylobacter* spp. colonizing housed broiler flocks during rearing. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:645–652.

Burkholder K., Thompson K., Einstein M., Applegate T., Patterson J. (2008). Influence of stressors on normal intestinal microbiota, intestinal morphology, and susceptibility to *Salmonella Enteritidis* colonization in broilers. *Poult. Sci.* 87:1734–1741.

CDC (2006). Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food—10 States, United States, 2005. *MMRW* 55:392–395.

CDC (2008). Multistate outbreak of Salmonella infections associated with frozen pot pies—United States, 2007. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 57:1277–1280.

Chinivasagam N. H., Tran T., Maddock L., Gale A., and Blackall J. P. (2009). Mechanically Ventilated Broiler Sheds: a Possible Source of Aerosolized Salmonella, Campylobacter, and Escherichia coli. *Applied And Environmental Microbiology*, p. 7417–7425.

Corry J., Allen V., Hudson W., Breslin M., Davies H. R. (2002). Sources of Salmonella on broiler carcasses during transportation and processing: Modes of contamination and methods of control. *J. Appl. Microbiol.* 92:424–432.

Donnison, A., Ross C., Noonan M., Fisher G., Waller J. (2004). Bacterial survival and dispersal in spray irrigation aerosols. *N. Z. J. Agric. Res.* 47: 575–585. 14.

Dórea C. F., Cole J. D., C. Hofacre, Zamperini K., Mathis D., Doyle P. M., Lee D. M., Maurer J. J. (2010). Effect of Salmonella Vaccination of Breeder Chickens on Contamination of Broiler Chicken Carcasses in Integrated Poultry Operations. *Applied and Environmental Microbiology*; p. 7820–7825.

Dunn J. (1996). Pulsed light and pulsed electric field for foods and eggs. *Poult. Sci.* 75:1133–1136.

Duncan, S. H., Louis P., Flint J. H. (2004). Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major fermentation product. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:5810–5817.

EC (European Commission) (2005). Baseline Survey on the Prevalence of Salmonella in Broiler Flocks of Gallus gallus in the EU. Technical specifications. Rev.1. Working document (15/07/05).

EFSA (European Food Safety Authority) (2009). The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007. *EFSA J.* 223:1–217.

Fabrizio K. A., Sharma R. R., Demirci A., Cutter N. C. (2002). Comparison of electrolyzed oxidizing water with various antimicrobial interventions to reduce *Salmonella* species on poultry. *Poult. Sci.* 81:1598–1605.

Fasina O. Y., Bowers B. J., Hess B. J., McKee R. S. (2010). Effect of dietary glutamine supplementation on *Salmonella* colonization in the ceca of young broiler chicks. *Poult Sci*; 89:1042-1048.

Fuchs T. A., Abed U., Goosmann C., Hurwitz R., Schulze I., Wahn V., Weinrauch Y., Brinkmann V., Zychlinsky A. (2007). Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol*; 176:231–241.

Gantois I., Ducatelle R., Pasmans F., Haesebrouck F., Hautefort I., Thompson A., Hinton C. J., Van Immerseel F. (2006). Butyrate specifically down-regulates *Salmonella* pathogenicity island 1 gene expression. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:946–949.

Gibson G.R., Roberfroid B. M. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*; 125: 1401 – 1412.
<http://jn.nutrition.org/content/125/6/1401.full.pdf>

Hayes J. R., Carr L. E., Mallinson E. T., Douglass L. W., Joseph S. W. (2000). Characterization of the contribution of water activity and moisture content to the population distribution of *Salmonella* spp. in commercial poultry houses. *Poultry Science*; 79: 1557–1561.

Health Canada (2002). Uses of antimicrobials in food animals in Canada: Impact on resistance and human health. http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/alt_formats/hpfb-dgpsa/pdf/pubs/amr-ram_final_report-rapport_06-27-eng.pdf

Heyndrickx M., Vandekerchove D., Herman L., Rollier I., Grijspeerd K., et al. (2002). Routes for Salmonella contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiology and Infection*; 129:253–265.

Holt P. S., Gast K. R., Kelly-Aehle S. (2003). Use of a live attenuated Salmonella typhimurium vaccine to protect hens against Salmonella enteritidis infection while undergoing molt. *Avian Dis.* 47:656–661.

Huang D. S., Li F. D., Xing J. J., Ma X. Y., Li J. Z., Lv Q. S. (2006). Effects of feed particle size and feed form on survival of Salmonella typhimurium in the alimentary tract and cecal S. typhimurium reduction in growing broilers. *Poult. Sci.* 85:831–836.

Keklik M. N., Demirci A., Puri M. V. (2010). Decontamination of unpackaged and vacuum-packaged boneless chicken breast with pulsed ultraviolet light. *Poult Sci.* 89:570-581.

Kidd M. T., Barber J. S., Zumwalt D. C., Branton L. S., Hoehler D. (2003). Dietary amino acid and sodium bicarbonate responses in broilers reared in hot environmental temperatures. *J. Appl. Poult. Res.* 12:321–327.

Kim A., Lee J. Y., Kang S. M., Kwag I. S., Cho K. J. (2007). Dissemination and tracking of Salmonella spp. in integrated broiler operation. *J. Vet. Sci.* 8:155–161.

Kimura A. C., Reddy V., Marcus R., Cieslak R.P., Mohle-Boetani C. J., Kassenborg D. H., Segler D. S., Hardnett P. F., Barrett T., Swerdlow L. D. (2004). Chicken consumption is a newly identified risk factor for sporadic Salmonella enterica serotype Enteritidis infections in the United States: A case-control study in FoodNet sites. *Clin. Infect. Dis.* 38:244–252.

Kogut M. H., Genovese K. J., Lowry V. K. (2001). Differential activation of signal transduction pathways mediating phagocytosis, oxidative burst, and degranulation by chicken heterophils in response to stimulation with opsonized Salmonella enteritidis. *Inflammation*; 25(7–362):15.

Kozacinski, L., Hadziosmanovic M., Zdolec N. (2006). Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. *Vet. Arhiv.* 76:305–313.

Krishnamurthy K., Tewari C. J., Irudayaraj J., Demirci A. (2010). Microscopic and spectroscopic evaluation of inactivation of *Staphylococcus aureus* by pulsed UV light and infrared heating. *Food Bioprocess. Technol.* 3:93–104.

Li Y., Yu Z., Liu F., Tan L., Wu B., Li J. (2006). Oral glutamine ameliorates chemotherapy-induced changes of intestinal permeability and does not interfere with the antitumor effect of chemotherapy in patients with breast cancer: A prospective randomized trial. *Tumori*; 92:396–401.

Line J. E., Bailey J. S. (2006). Effect of on-farm litter acidification treatments on *Campylobacter* and *Salmonella* populations in commercial broiler houses in northeast Georgia. *Poultry Science*; 85: 1529–1534.

Marin C., Hernandiz A., Lainez M. (2009). Biofilm development capacity of *Salmonella* strains isolated in poultry risk factors and their resistance against disinfectants. *Poult. Sci.* 88:424–431.

Marin C., Lainez M. (2009). Processing, Products, and Food Safety. *Salmonella* detection in feces during broiler rearing and after live transport to the slaughterhouse. *Poult Sci*; 88:1999-2005.

Matyas B., Cronquist A., Cartter M., Tobin-D'Angelo M., Blythe D., Smith K., Lathrop S., Morse D., Cieslak P., Dunn J., Holt G. K., Henao L. O., Fullerton E. K., Mahon B. E., Hoekstra M. R., Griffin M. P., Tauxe V. R., Bhattarai A. (2010). Preliminary FoodNet data on the incidence of infections with pathogens transmitted commonly through food—10 states, 2009. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 59:16.

Murakami A. E., Sakamoto I. M., Natali M. R. M., Souza M. G. L., Franco J. R. G. (2007). Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. *Poult. Sci.* 86:488–495.

Newsholme P. (2001). Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? *J. Nutr.* 131:2515S–2522S.

O’Flanagan, D., Cormican M., McKeown P., Nicolay N., Cowden J., Mason B., Morgan D., Lane C., Irvine N., Browning L. (2008). A multi-country outbreak of *Salmonella* Agona, February-August 2008. *Eurosurveillance*; 13:1–2.

Pope M. J., Cherry T. E. (2000). An evaluation of the presence of pathogens on broilers raised on poultry litter treatmentH-treated litter. *Poultry Science*; 79:1351–1355.

Redmond B. S., Chuammitri P., Andreasen B. C., Palić D. & Lamont J. S. (2011). Genetic control of chicken heterophil function in advanced intercross lines: associations with novel and with known *Salmonella* resistance loci and a likely mechanism for cell death in extracellular trap production. *Immunogenetics*; 63:449–458.

Roberfroid M.B. (2000). Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *American journal of Clinical Nutrition* 71: 1682S – 1687S.

<http://www.ajcn.org/content/71/6/1682S.full.pdf+html>

Roth E. (2008). Nonnutritive effects of glutamine. *J. Nutr.* 138:2025S–2031S.

Santos F. B. O., Santos A. A., Jr., Ferket R. P., Sheldon W. B. (2006). Influence of grain particle size and insoluble fiber content on *Salmonella* colonization and shedding of turkeys fed corn-soybean meal diets. *Int. J. Poult. Sci.* 5:731–739.

Santos F. B. O., Sheldon W. B., Santos A. A., Jr., Ferket R. P. (2008). Influence of housing system, grain type, and particle size on *Salmonella* colonization and shedding of broilers fed triticale or corn-soybean meal diets. *Poult. Sci.* 87:405–420.

Scanes C. G. (2007). The global importance of poultry. *Poult. Sci.* 86:1057–1058.

Stecher B., Robbiani R., Walker W. A., Westendorf M. A., Barthel M., Kremer M., Chaffron S., Macpherson J. A., Buer J., Parkhill J., Dougan G., von Mering C., Hardt D. W. (2007). *Salmonella enterica* serovar Typhimurium exploits inflammation to compete with the intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 5:2177–2189.

Teirlynck E., Bjerrum L., Eeckhaut V., Huygebaert G., Pasmans F., Haesebrouck F., Dewulf J., Ducatelle R., Van Immerseel F. (2009). The cereal type in feed influences gut wall morphology and intestinal immune cell infiltration in broiler chickens. *Br. J. Nutr*;102(10):1453-61.

Teirlynck E., Haesebrouck F., Pasmans F., Dewulf J., Ducatelle R., Van Immerseel F. (2009). Immunology, Health, and Disease. The cereal type in feed influences *Salmonella* Enteritidis colonization in broilers. *Poult Sci*; 88:2108-2112.

Toyota-Hanatani Y., Ekawa T., Ohta H., Igimi S., Hara-Kudo Y., Sasai K., Baba E. (2009). Public health assessment of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis inactivated-vaccine treatment in layer flocks. *Appl. Environ. Microbiol.* 75:1005–1010.

University of Georgia (2007). Life cycle of a broiler chicken. University of Georgia, Athens. <http://www.vet.uga.edu/vpp/animaldoc/poultry/poultry04.php>.

Van Immerseel F., Methner U., Rychlik I., Nagy B., Velge P., Martin G., Foster N., Ducatelle R., Barrow A. P. (2005). Vaccination and early protection against non-host-specific *Salmonella* serotypes in poultry: exploitation of innate immunity and microbial activity. *Epidemiol. Infect.* 133:959–978.

Venter P., Lues F. R. J., Theron H. (2004). Quantification of bioaerosols in automated chicken egg production plants. *Poult. Sci.* 83:1226–1231.

Victoriya V., Volkova R., Bailey H., Wills W. R. (2009). *Salmonella* in Broiler Litter and Properties of Soil at Farm Location. *PLoS ONE* 4(7): e6403.

Wathes C. M., Howard K., Webster J. F. A. (1986). The survival of *Escherichia coli* in an aerosol at air temperatures of 15 and 30C and a range of humidities. *J. Hyg.* 97:489–496.

Woodward M. J., Gettinby G., Breslin F. M., Corkish D. J., Houghton S. (2002). The efficacy of Salenvac, a *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serotype Enteritidis iron-restricted bacterin vaccine, in laying chickens. *Avian Pathol.* 31:383–392.

Yi G. F., Allee L. G., Knight D. C., Dibner J. J. (2005). Impact of glutamine and Oasis hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. *Poult. Sci.* 84:283–293.

Young S. D., Olusanya O., Jones H. K., Liu T., Liljebjelke A. K., and Hofacre L. C. (2007). Salmonella incidence in broilers from breeders vaccinated with live and killed Salmonella. *J. Appl. Poult. Res.* 16:521–528.

Zhang S., Kingsley A. R., Santos L. R., Andrew-Polymenis H., Raffatellu M., Figueiredo J., Nunes J., Tsolis M. R., Adams G. L., Baumler J. A. (2003). Molecular pathogenesis of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium-induced diarrhoea. *Infect. Immun.* 71:1–12.