

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

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΗΣ LISTERIA MONOCYTOGENES  
ΣΕ ΑΜΥΓΔΑΛΕΣ ΣΦΑΓΙΩΝ ΧΟΙΡΩΝ ΑΠΟ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑ  
ΣΦΑΓΕΙΑ ΤΗΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΗΣ ΕΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΡΔΙΤΣΑΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
**ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ΣΤΥΛΛΑ ΤΟΥ ΑΘΑΝΑΣΙΟΥ**  
ΠΤΥΧΙΟΥΧΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΛΑΡΙΣΑ, 2017

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

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΗΣ LISTERIA MONOCYTOGENES  
ΣΕ ΑΜΥΓΔΑΛΕΣ ΣΦΑΓΙΩΝ ΧΟΙΡΩΝ ΑΠΟ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑ  
ΣΦΑΓΕΙΑ ΤΗΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΗΣ ΕΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΡΔΙΤΣΑΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
**ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ΣΤΥΛΛΑ ΤΟΥ ΔΘΑΝΑΣΙΟΥ**  
ΠΤΥΧΙΟΥΧΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΛΑΡΙΣΑ, 2017

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:**

ΣΟΛΩΜΑΚΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ (ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΘ)

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

ΓΚΟΒΑΡΗΣ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ (ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΘ)

ΠΕΞΑΡΑ ΑΝΔΡΕΑΝΑ (ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΘ)

ΣΟΛΩΜΑΚΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ (ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΘ)

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ:

### ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΗΣ *LISTERIA MONOCYTOGENES* ΣΕ ΑΜΥΓΔΑΛΕΣ ΣΦΑΓΙΩΝ ΧΟΙΡΩΝ ΑΠΟ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑ ΣΦΑΓΕΙΑ ΤΗΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΗΣ ΕΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΡΔΙΤΣΑΣ

**Εισαγωγή:** Οι αμυγδαλές είναι σημείο εισόδου, και ανάπτυξης ποικίλων μικροοργανισμών και παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανοσολογική απάντηση του οργανισμού. Οι αμυγδαλές των χοίρων φιλοξενούν πληθυσμούς παθογόνων βακτηρίων όπως *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *L.monocytogenes*, *E. coli* ή *Yersinia enterocolitica*. Κατά την διαδικασία της σφαγής των χοίρων οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που μπορεί να βρίσκονται στις αμυγδαλές είναι δυνατό να επιμολύνουν το σφάγιο και τον εξοπλισμό του σφαγείου κατά την σφαγή. **Σκοπός:** Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της παρουσίας της *L.monocytogenes* σε αμυγδαλές σφαγίων χοίρων από σφαγεία της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας. **Μεθοδολογία:** Το χρονικό διάστημα από τον Απρίλιο έως τον Μάιο του 2017, συλλέχθηκαν 58 δείγματα αμυγδαλών από σφάγια χοίρων, των οποίων η σφαγή πραγματοποιήθηκε σε βιομηχανικά σφαγεία στην περιοχή της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας. Τα δείγματα συλλέχθηκαν σε 4 δειγματοληψίες (2 τον Απρίλιο και 2 τον Μάιο). Στην συνέχεια 10 γραμμάρια από κάθε δείγμα τοποθετούνταν σε σακούλα stomacher με προσθήκη ποσότητας 90 mL πεπτονούχου ύδατος (BPW-Buffered Peptone Water). Τα δείγματα ομογενοποιούνταν σε συσκευή stomacher για 2 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολούθως 1 mL του ομογενοποιημένου δείγματος μεταφέρθηκε σε 9 mL Fraser Broth και ακολούθησε επώαση στους 37 °C για 24-48 ώρες. Στη συνέχεια 10 µL από τον εκλεκτικό ζωμό ενοφθαλμίστηκαν σε διπλά τριβλία εκλεκτικού υποστρώματος *Listeria*, τα οποία επώαστηκαν στους 37 °C για 24 ώρες. Η επιβεβαίωση των ύποπτων αποικιών έγινε με την χρήση ορολογικών μεθόδων. **Αποτελέσματα-Συμπεράσματα:** Από τα συνολικά 58 δείγματα αμυγδαλών από σφάγια χοίρων από βιομηχανικά σφαγεία στην περιοχή της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας που εξετάστηκαν, σε 14 από αυτά (24,15 %) ανιχνεύθηκε η παρουσία *Listeria* spp. Τα αποτελέσματα της ταυτοποίησης έδειξαν ότι σε 9 από τα 58 δείγματα (15,52%) απομονώθηκε *L. monocytogenes* και σε 5 (8,62%) απομονώθηκε *L. innocua*. Λόγω της ευρείας διασποράς του *L. monocytogenes* η εφαρμογή μέτρων ελέγχου, όπως η τήρηση των αρχών της Ορθής Βιομηχανικής Πρακτικής (GMP) και του συστήματος Ανάλυσης των κρίσιμων σημείων Ελέγχου (HACCP), για την αποφυγή της επιμόλυνσης του κρέατος και των προϊόντων του με το παθογόνο βακτήριο είναι πολύ σημαντική για τη δημόσια υγεία.

Στύλλα Αικατερίνη, Μάιος 2017

Λέξεις κλειδιά : *Listeria Monocytogenes*, Λιστερίωση, αμυγδαλές, σφάγια χοίρων

## **ABSTRACT**

### **Occurrence of *Listeria monocytogenes* on pig carcasses in slaughterhouses in the regional unit of Karditsa, Thessaly, Greece.**

**Introduction:** The tonsils are a spot of entry and growth of several organisms and play an important role in the immune response of the host. Tonsils could host populations of pathogenic bacteria such as *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *L.monocytogenes*, *E. coli* or *Yersinia enterocolitica*. During the slaughter process the pathogenic microorganisms hosted in the tonsils can contaminate the carcass and the abattoir equipment. **Aim:** The aim of this study was to investigate the occurrence of *L.monocytogenes* in the tonsils of pig carcasses slaughtered in abattoirs located in the Regional Unity of Karditsa, Thessaly, Greece. **Methodology:** From April through May 2017, 58 samples of tonsils from pig carcasses from slaughterhouses in the regional unit of Karditsa, Thessaly were examined for the presence of *L.monocytogenes*. Then, 10 g from each sample, were placed in a stomacher bag with an addition of 90 mL of buffered peptone water and were homogenized using a stomacher device for 2 minutes in ambient temperature. Subsequently, 1 mL of the homogenized sample was transferred to 9 mL of Fraser Broth, which were then incubated for 24-48 hours at 37 °C. Then, 10 µL from each sample was inoculated in duplicate on selective *Listeria* agar and were incubated for 24-48 hours at 37 °C. The suspected colonies were confirmed using serological methods. **Results-Conclusions** Results showed that 14 (24.15%) of the 58 samples tested, were found positive in *Listeria* spp. From the 14 positive samples for *Listeria* spp. 9 samples were found positive for *L.monocytogenes* (15.52%) and 5 samples for *L. innocua* (8,62%).

Stylla Aikaterini, May of 2017

Key words: *Listeria monocytogenes*, Listeriosis, tonsils, pig carcasses

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΑΦΙΕΡΩΣΕΙΣ .....	i
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	ii
ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	iii
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	0
ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 <sup>ο</sup> .....	3
<i>Listeria monocytogenes</i> .....	3
1.1 Ιστορική αναδρομή .....	3
1.2 Γενικά χαρακτηριστικά .....	4
1.2.1 Ταξινόμηση .....	4
1.2.2 Ανάπτυξη .....	5
1.2.3 Επιβίωση .....	6
1.2.4 Ένζυμα και τοξίνες.....	7
1.2.5 Παρουσία της <i>L.monocytogenes</i> στα τρόφιμα .....	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 <sup>ο</sup> .....	12
Η <i>L.monocytogenes</i> στον άνθρωπο .....	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 <sup>ο</sup> .....	18
Η <i>L.monocytogenes</i> στα ζώα .....	18
3.1 Η <i>L.monocytogenes</i> στα διάφορα είδη ζώων .....	18
3.2 Η <i>L.monocytogenes</i> στους χοίρους.....	21
3.3 Η <i>L.monocytogenes</i> στις αμυγδαλές των χοίρων .....	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 <sup>ο</sup> .....	25
Η <i>L.monocytogenes</i> στο χοιρινό κρέας .....	24
4.1 Η <i>L.monocytogenes</i> στο περιβάλλον επεξεργασίας .....	24
4.2 Η <i>L.monocytogenes</i> στα σφάγια χοίρων και το χοιρινό κρέας .....	26
4.3 Η <i>L.monocytogenes</i> στα προϊόντα χοιρινού κρέατος .....	27
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	29
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	30
2.1 Συλλογή δειγμάτων .....	30
Το χρονικό διάστημα από τον Απρίλιο έως τον Μάιο του 2017, συλλέχθηκαν 50 δείγματα αμυγδαλών από σφάγια χοίρων που η διαδικασία σφαγής έγινε σε βιομηχανικό σφαγείο στην περιοχή της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας της Περιφέρειας Θεσσαλίας. Το σύνολο των δειγμάτων συλλέχθηκαν σε 4 δειγματοληψίες (2 τον	

Απρίλιο και 2 τον Μάιο), με την μεθοδολογία που περιγράφεται από τους Fredriksson-Ahomaa et al., 2009. Συνοπτικά το πρώτο δείγμα λαμβάνονταν 5 λεπτά μετά τον εκσπλαχνισμό του πρώτου χοίρου στην γραμμή σφαγής και στην συνέχεια λαμβάνονταν κάθε 5 λεπτά από σφάγιο μετά τον εκσπλαχνισμό του. Οι αμυγδαλές λαμβάνονταν με άσηπτο τρόπο και τοποθετούνταν σε αποστειρωμένες σακούλες stomacher. Στην συνέχεια τα δείγματα μεταφέρονταν υπό ψύξη στο Εργαστήριο Υγιεινής Τροφίμων του Τμήματος Κτηνιατρικής του Π.Θ την ημέρα της δειγματοληψίας.

2.2 Μικροβιολογική Ανάλυση .....	30
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	32
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	34
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	35

*Στην οικογένεια μου*



## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή της διπλωματικής μου εργασίας κύριο Σολωμάκο Νίκο (Επίκουρο Καθηγητή του ΠΘ) για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση του θέματος και τον ενθουσιασμό, την κατανόηση και την καθοδήγηση του κατά την περάτωση της πειραματικής διαδικασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής κύριο Γκόβαρη Αλέξανδρο (Καθηγητής ΠΘ) και κυρία Πεξαρά Ανδρεάνα (Επίκουρη Καθηγήτρια ΠΘ) για την συνεχή καθοδήγηση και τις πολύτιμες υποδείξεις κατά την συγγραφή της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, τον πατέρα μου Αθανάσιο και την μητέρα μου Θεοδώρα για την αγάπη, εμπιστοσύνη και την ηθική και οικονομική υποστήριξη που έχουν διαθέσει αμέριστα καθ'όλη την διάρκεια των προπτυχιακών και μεταπτυχιακών σπουδών μου και την συνεχή ενθάρρυνση τους κατά την διάρκεια περάτωσης της διπλωματικής μου εργασίας .

## ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας I:</b> Συνθήκες ανάπτυξης της <i>Listeria Monocytogenes</i> .	<b>Σελίδα 6</b>
<b>Πίνακας II :</b> Τιμές D και z της <i>Listeria Monocytogenes</i> για θέρμανση σε πυκνά ιζήματα κοτόπουλου και βόειου κρέατος.	<b>Σελίδα 7</b>
<b>Πίνακας III :</b> Δημοσιευμένες εξάρσεις λιστερίωσης από το 2010.	<b>Σελίδα 12</b>



## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι ζωνόσοι και οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που μεταδίδονται στον άνθρωπο, αποτελούν σημαντικό πρόβλημα της παγκόσμιας υγείας (Erstein & Price, 2009). Έχει υπολογιστεί ότι περισσότερο από το 61% των παθογόνων μικροοργανισμών δύναται να μεταδοθούν από τα ζώα στον άνθρωπο (Taylor et al., 2001). Μερικοί από τους παθογόνους μικροοργανισμούς, που χρησιμοποιούν ως κύριο ξενιστή τα ζώα, είναι δυνατόν να μολύνουν τον άνθρωπο, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις παθογόνα που προσβάλλουν τον άνθρωπο μπορεί να μεταδοθούν στα ζώα (Hubalek, 2003).

Τα τελευταία χρόνια, η *L.monocytogenes* έχει αποκτήσει μεγάλη σημασία ως τροφιμογενές παθογόνο. Λόγω της υψηλής θνησιμότητας η λιστερίωση καθίσταται μία από τις πιο συχνές αιτίες θανάτου που οφείλεται σε τροφιμογενή νόσο (Jemmi & Stephan, 2006). Στην Ευρωπαϊκή Ένωση το 2015, 28 κράτη μέλη ανέφεραν 2,206 περιπτώσεις λιστερίωσης. Η επίπτωση υπολογίστηκε στις 0,46 περιπτώσεις ανά 100.000 πληθυσμού ενώ η θνησιμότητα άγγιζε το 17,7% των επιβεβαιωμένων 1,524 περιστατικών. Τα περισσότερα περιστατικά αφορούσαν ηλικιωμένους άνω των 64 ετών και ειδικότερα άνω των 84 ετών (ECDC, 2015). Στη χώρα μας, τα κρούσματα λιστερίωσης που καταγράφηκαν το διάστημα 2004-2010 διαμόρφωσαν τη μέση ετήσια επίπτωση στα 0,55 κρούσματα ανά 1.000.000 κατοίκους (ΚΕΕΛΠΝΟ, 2011).

Πολλά διαφορετικά τρόφιμα έχουν θεωρηθεί ύποπτα στην μετάδοση του παθογόνου. Τρόφιμα τα οποία δύναται να περιέχουν *L.monocytogenes* είναι τα λουκάνικα (σαλάμι, πατέ), το ωμό κρέας, το μαρούλι, τα ωμά μανιτάρια, το απαστερίωτο γάλα και προϊόντα που παράγονται από αυτό, τα μαλακά τυριά (Munster, Roquefort, Camembert, Brie), τα θαλασσινά όπως τα μύδια και ο σολωμός και γεύματα τα οποία συντηρούνται μετά από θέρμανση (Ryser & Marth, 2007). Όμως τα περισσότερα περιστατικά λιστερίωσης έχουν συνδεθεί με την κατανάλωση έτοιμων προς κατανάλωση τροφίμων (Swaminathan & Gerner-Smidt, 2007).

Η *L. monocytogenes* είναι ευκαιριακά παθογόνος μικροοργανισμός, έτσι δεν προκαλεί νόσο σε υγιή άτομα (Marsden, 1994) ή δύναται να προκαλέσει ελαφριά γαστρεντερίτιδα. Όμως, αν το άτομο ανήκει σε μία από τις ευπαθείς ομάδες πληθυσμού (έμβρυα και νεογνά, ηλικιωμένοι, έγκυες γυναίκες, ανοσοκατασταλμένα άτομα) η νόσος δύναται να εμφανιστεί με έναν συνδυασμό συμπτωμάτων. Στους ενήλικες, εκτός των εγκύων, η νόσος εκδηλώνεται με κεφαλαλγία, ρίγος, πυρετό, μυαλγία, ναυτία, έμετο και ακολουθούν δυσκαμψία τραχήλου, συσπάσεις των μυών και ενδεχομένως λήθαργος. Στις εγκύους η λοίμωξη σε ορισμένες περιπτώσεις εκδηλώνεται ως αυτοπεριοριζόμενη νόσος που ομοιάζει με γρίπη» (Καραϊωαννόγλου, 2008). Ανάλογα με την ηλικία της κύησης, η μόλυνση της μητέρας είναι δυνατό να οδηγήσει σε αποβολή, θνησιγένεια (γέννηση νεκρού νεογνού), πρόωρο τοκετό ή σε σοβαρή λοίμωξη του νεογνού (ΚΕΕΛΠΝΟ, 2011).

Η πλειονότητα των στελεχών του παθογόνου ανήκουν στις γενεαλογίες I και II, οι οποίες περιλαμβάνουν τους ορότυπους που προκαλούν πιο συχνά νόσο στον άνθρωπο; οι 1/2b και 4b στην γενεαλογία I και οι 1/2a και 1/2c στην γενεαλογία II (Clyde et al., 2015). Η μολύνουσα δόση της *L.monocytogenes* είναι περίπου 10–100 εκατομμύρια

CFU σε υγιείς ξενιστές και μόνο 0.1–10 εκατομμύρια CFU σε ευπαθείς ομάδες πληθυσμού (Bortolussi, 2008).

Στο ωμό κρέας, συμπεριλαμβανομένου και του χοιρινού κρέατος πιο συχνά ανευρίσκονται οι ορότυποι 1/2a, 1/2b και 1/2c (Hof & Rocourt, 1992; Thevenot et al., 2005b). Τα σφάγια θεωρείται ότι μολύνονται κατά το στάδιο του εκσπλαχνισμού, λόγω της διάνοιξης του παχέος εντέρου (Skonggaard & Norrung, 1989). Παρ'όλα αυτά κάποιοι ερευνητές αναφέρουν ότι όλα τα στελέχη που μολύνουν το χοιρινό κρέας δεν είναι εντερικής προέλευσης, όπως ο Bunčić et al., 1991 ο οποίος κατέδειξε ότι υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα τα χοίρια σφάγια να φιλοξενούν την *Listeria* στις αμυγδαλές τους σε σχέση με τα κόπρανα τους. Οι Autio et al., 2000 προσπάθησαν να συνδέσουν τον ρόλο των αμυγδαλών στην μετάδοση του παθογόνου στο σφάγιο και υπέθεσαν ότι αυτή συμβαίνει κατά την επαφή των αμυγδαλών, της γλώσσας και των υπόλοιπων σπλάχνων με το σφάγιο κατά το στάδιο του εκσπλαχνισμού. Η *L. monocytogenes* απομονώθηκε επίσης πιο συχνά από αμυγδαλές σε σχέση με τα κόπρανα; το 32% των χοίρων πάχυνσης που εξετάστηκαν ήταν θετικό στην παρουσία του μικροβίου στις αμυγδαλές και μόνο το 4% ήταν θετικό για την παρουσία του μικροβίου στα κόπρανα κατά την σφαγή (Wesley et al., 2008). Οι αμυγδαλές λοιπόν, ίσως να δίνουν μια καλύτερη εκτίμηση της παρουσίας *L. monocytogenes* σε σχέση με τα κόπρανα (Fredriksson-Ahomaa et al., 2009).

**Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της παρουσίας της *Listeria Monocytogenes* σε αμυγδαλές σφάγειων χοίρων από σφαγεία της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας.**

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup>

## *Listeria monocytogenes*

### 1.1 Ιστορική Αναδρομή

Η *L.monocytogenes* εμφανίστηκε πολύ πρόσφατα στον τομέα της βακτηριολογίας. Ο μικροοργανισμός περιγράφηκε αρχικά από τον Pirie, το 1927 ως αίτιο επιζωοτίας σε τρωκτικά στην Νότιο Αφρική (Tiger River Disease). Το 1926 μια ερευνητική ομάδα (Murray et al., 1926) περιέγραψε σηπτική νόσο σε κουνέλια εργαστηρίου, η οποία χαρακτηριζόταν από περιφερική μονοκυττάρωση. Το γεγονός αυτό, οδήγησε στην ονομασία του παθογόνου ως *Bacterium monocytogenes*. Αργότερα υιοθετήθηκε η ονομασία *Listerella* και μετά *Listeria*. Η μονοκυττάρωση δεν είναι καθοριστική του κλινικού συνδρόμου της λιστερίωσης στους ανθρώπους, παρ'όλα αυτά έχει βρεθεί αντιγόνο παραγωγής μονοκυττάρωσης (Shum & Galsworthy, 1982).

Την δεκαετία του 1920 δημοσιεύτηκε ένα σύνολο ερευνών οι οποίες περιέγραφαν κλινικά περιστατικά λιστερίωσης σε ανθρώπους και ζώα ; όμως ο μικροοργανισμός παρέμεινε ένα μυστήριο μέχρι τον δεύτερο Παγκόσμιο Πόλεμο, όταν ένας ερευνητής στην Ανατολική Γερμανία (Potel, 1952) κατάφερε να απομονώσει το παθογόνο από μυκότιο, αίμα και διάφορα όργανα και αποδείχθηκε ως αίτιο νεογνικής σήψης και μηνιγγίτιδας. Το 1967 αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά η νόσος σε ενήλικες ασθενείς με ανοσοκαταστολή (Lougia et al., 1967), λόγω της εκτεταμένης έρευνας που υπήρχε εκείνη την εποχή στον τομέα των ανοκατασταλτικών φαρμάκων όπως τα κορτικοστεροειδή και τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Η πρόοδος στον τομέα της νεφρικής αιμοκάθαρσης και αργότερα της μεταμόσχευσης οργάνων, αύξησε το ποσοστό του πληθυσμού σε κίνδυνο να εμφανίσει την νόσο (Stamm, 1982). Παράγοντες όπως ο HIV έχουν αυξήσει τον πληθυσμό σε κίνδυνο και επομένως την θνησιμότητα των οροθετικών ατόμων από λιστερίωση σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό (Jurado et al., 1993).

Το 1983 Ο Rocourt για πρώτη φορά κατάφερε να διαχωρίσει την *Listeria monocytogenes* από τα υπόλοιπα είδη *Listeria*, χρησιμοποιώντας διάφορες βιοχημικές μεθόδους και αργότερα γενετική σύγκριση (Rocourt et al., 1983). Ενώ όλα τα στελέχη της *Listeria monocytogenes* περιγράφηκαν ως παθογόνα, τα υπόλοιπα είδη όπως *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri* και *Listeria ivanovii* θεωρήθηκαν πρακτικά μη παθογόνα (Hof & Rocourt, 1992).

Παρά το γεγονός ότι είχε περιγραφεί από πολύ νωρίς (1926) η μετάδοση του μικροοργανισμού μέσω της εντεροστοματικής οδού (Murray et al., 1926), η *L.monocytogenes* δεν είχε ενταχθεί στις λίστες των σημαντικότερων τροφιμογενών παθογόνων. Τελικά αποδείχθηκε η μετάδοση του παθογόνου διαμέσω της στοματικής οδού από τους Schlech et al., 1983 οι οποίοι παρατήρησαν ότι σε μια επιδημία *Listeria*

στο Halifax του Καναδά, το μέσο μετάδοσης ήταν η λαχανοσαλάτα. Αργότερα, ανάλογες περιπτώσεις στις ΗΠΑ (Καλιφόρνια, 1985) με αίτιο το τυρί, υποστήριξαν τα συμπεράσματα του Schlech.

## 1.2 Γενικά χαρακτηριστικά

### 1.2.1. Ταξινόμηση

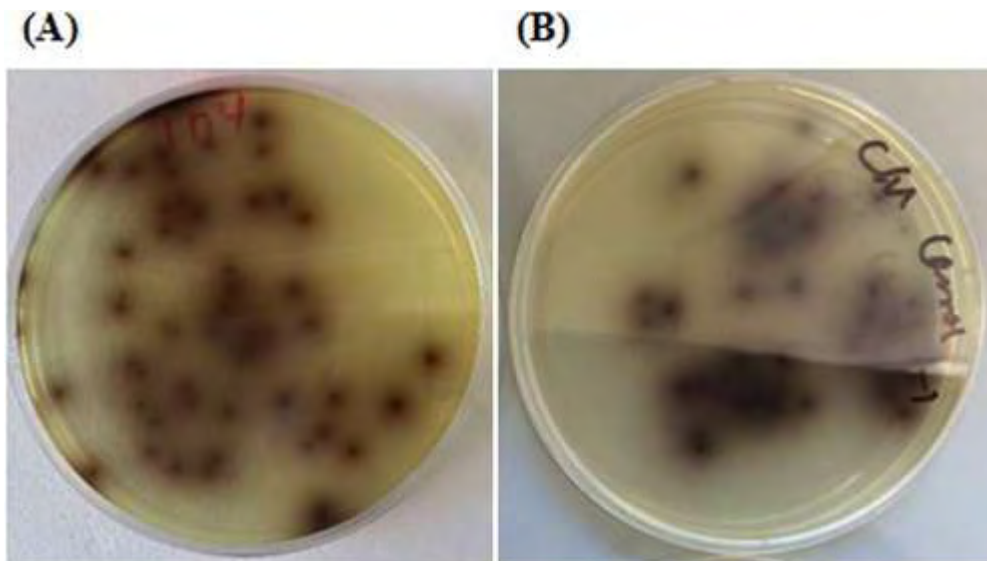
Η *L. monocytogenes* ανήκει στο γένος των *Listeria*. Είναι ένα κινητό, μη σπορογόνο, κατά Gram θετικό, προαιρετικώς αναερόβιο βακτήριο κοκκοειδούς σχήματος. Είναι θετικό στην δοκιμή καταλάσης και αρνητικό στην δοκιμή οξειδάσης, ενώ προσβάλλει και καταστρέφει τα ερυθροκύτταρα μέσω της έκφρασης μιας β-αιμολυσίνης (Farber & Peterkin, 1991). Η *L. monocytogenes* διαθέτει περίτριχα μαστίγια τα οποία υποβοηθούν την κίνηση της. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η κίνηση του βακτηρίου είναι δυνατή σε θερμοκρασίες μικρότερες των 30 °C (Grundling et al., 2004), ενώ αναστέλλεται σε θερμοκρασία 37 °C (Todar, 2008).

Το γένος *Listeria* ανήκει στην οικογένεια των *Listericiae*, στην κλάση των *Bacilli* και κατ' επέκταση στην τάξη των *Bacillales* (Murray et al., 1926). Σήμερα το γένος περιλαμβάνει εννέα είδη, τα *L. fleischmannii*, *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. marthii*, *L. monocytogenes*, *L. rocourtiae*, *L. seeligeri*, *L. weihenstephanensis* και *L. welshimeri*. Στο παρελθόν στο γένος αυτό είχε ταξινομηθεί και η *L. denitrificans* αλλά αργότερα οι Collins et al., 1991 σε μια φυλογενετική ανάλυση που πραγματοποίησαν, την κατέταξαν στο γένος *Jonesia*.

Τα στελέχη της *L. monocytogenes* κατατάσσονται με βάση το σωματικό αντιγόνο O και το αντιγόνο H που βρίσκεται στα μαστίγια (Lei et al., 2001). Έχουν περιγραφεί 14 ορότυποι του μικροοργανισμού, αλλά μόνο τρεις εξ' αυτών (1/2a, 1/2b και 4b) προκαλούν την πλειονότητα των ανθρώπινων περιπτώσεων λιστερίωσης (Tarrero et al., 1995). Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι ενώ ο ορότυπος 1/2a ανευρίσκεται πιο συχνά στα τρόφιμα, ο ορότυπος 4b προκαλεί την πλειονότητα των ανθρώπινων επιδημιών (Gilot et al., 1996).

Οι ορότυποι της *L. monocytogenes* που αναφέρθηκαν προηγουμένως διαχωρίζονται σε τρεις γενεαλογίες. Η γενεαλογία I περιλαμβάνει τους ορότυπους 4b, 1/2b, 3b, 4d και 4e. Η γενεαλογία II περιλαμβάνει τους ορότυπους 1/2a, 1/2c, 3a και 3c ενώ η γενεαλογία III τους ορότυπους 4a, 4c και 4b (Ward et al., 2004). Οι ορότυποι της πρώτης γενεαλογίας απομονώνονται κυρίως σε ανθρώπινες επιδημίες (Jeffers et al., 2001) ενώ οι ορότυποι της γενεαλογίας II βρίσκονται πιο συχνά σε ζώα, δείγματα τροφίμων και περιβαλλοντικά δείγματα (Gray et al., 2004). Οι ορότυποι της γενεαλογίας III απομονώνονται σπάνια και αφορούν κυρίως περιπτώσεις λιστερίωσης σε ζώα (Jeffers et al., 2001).





**Εικόνα 1:** Τυπικές αποικίες *L.monocytogenes* σε *Listeria* εκλεκτικό άγαρ. (Α) Καθαρές αποικίες *L.monocytogenes* (στέλεχος V7), (Β) Αποικίες προερχόμενες από ένα δοκιμαστικό δείγμα.

### 1.2.2 Ανάπτυξη

Η ανάπτυξη και επιβίωση της *L. monocytogenes* εξαρτάται από ένα εύρος παραγόντων όπως είναι η θερμοκρασία, η ενεργός οξύτητα (PH), ο συντελεστής ενεργού ύδατος (aw), η αλατότητα και η παρουσία συντηρητικών.

Το θερμοκρασιακό εύρος που είναι δυνατόν να αναπτυχθεί η *L.monocytogenes* κυμαίνεται από τους -1.5 έως 45 °C, ενώ το βέλτιστο εύρος θερμοκρασίας είναι 30-37 °C. Το μικρόβιο δεν μπορεί να επιβιώσει σε θερμοκρασίες άνω των 50 °C. Η ψύξη δύναται να προκαλέσει μείωση στους πληθυσμούς του μικροοργανισμού (Lado & Yousef, 2007). Εφόσον το βακτήριο μπορεί να αναπτύσσεται αργά σε θερμοκρασίες έως και -1.5 °C, δύναται να επιβιώσει κατά την ψύξη.

Όσον αφορά την ενεργό οξύτητα, ο μικροοργανισμός αναπτύσσεται σε εύρος PH από 4 έως 9,6 (Lado & Yousef, 2007). Δεν έχει αναφερθεί ανάπτυξη του μικροοργανισμού σε PH λιγότερο από 4. Ο τύπος του οξέος που χρησιμοποιείται για την οξείδωση του υλικού σε συνδυασμό με την θερμοκρασία συντήρησης, επηρεάζουν την ικανότητα της *Listeria* να αναπτύσσεται σε χαμηλό PH. Αυτή η ικανότητα χάνεται σε υψηλές θερμοκρασίες συντήρησης (Lado & Yousef, 2007).

Η *L.monocytogenes* έχει βέλτιστη ανάπτυξη σε συντελεστή ενεργού ύδατος 0.97 όπως πολλά είδη βακτηρίων. Σύμφωνα με τους Lado & Yousef, 2007 μπορεί να αναπτυχθεί και σε συντελεστή ενεργού ύδατος 0.90. Όμως οι Johnson et al., 1988 ανέφεραν ότι μπορεί να επιβιώσει και σε συντελεστή ενεργού ύδατος 0.81.

Το ποσοστό αλατότητας που επιτρέπει στο παθογόνο να αναπτυχθεί είναι 13-14 % (Farber et al., 1992). Όπως και στην περίπτωση του PH, η θερμοκρασία συντήρησης

επιρεάζει καθοριστικά την ικανότητα ανάπτυξης του μικροβίου σε συνθήκες αλατότητας. Σε υψηλές συγκεντρώσεις χλωριούχου νατρίου, το ποσοστό επιβίωσης της *L.monocytogenes* ήταν υψηλότερο όταν η θερμοκρασία συντήρησης ήταν χαμηλή (Lado & Yousef, 2007).

Η επίδραση των συντηρητικών στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes* εξαρτάται από τις συνθήκες θερμοκρασίας, pH, αλατότητας και ενεργού ύδατος. Τα σορβικά άλατα αναστέλλουν την ανάπτυξη του μικροοργανισμού σε χαμηλές τιμές θερμοκρασίας και pH. Η προσθήκη χλωριούχου νατρίου ή η μείωση της θερμοκρασίας προλαμβάνουν την ανάπτυξη της *Listeria*. Ακόμα σε χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνεται η ικανότητα του διοξικού νατρίου, του προπιονικού νατρίου και του βενζοϊκού νατρίου να προλαμβάνουν την ανάπτυξη του μικροοργανισμού (Lado & Yousef, 2007).

**Πίνακας I : Συνθήκες ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes***

	Ανάπτυξη βακτηρίου	
	Βέλτιστο	Εύρος
<b>Θερμοκρασία (°C)</b>	30-37	-1,5-45
<b>pH</b>	6-8	4–9,6
<b>Ενεργότητα νερού(a<sub>w</sub>)</b>	0,97	0,90–>0,97

### 1.2.3 Επιβίωση

Πολλές έρευνες έδειξαν ότι η *L.monocytogenes* εμφανίζει υψηλή ανθεκτικότητα όταν θερμαίνεται σε προϊόντα κρέατος ή κοτόπουλου. Οι Karaiouannoglou & Xenos, 1980 απομόνωσαν ζωντανά κύτταρα σε ψημένα κεφτεδάκια, τα οποία θερμάνθηκαν σε εσωτερική θερμοκρασία 78-85°C, όταν το αρχικό ενοφθάλμισμα ήταν 10<sup>3</sup> κύτταρα/g αλλά όχι όταν ήταν 10<sup>2</sup>/g. Υψηλή ανθεκτικότητα ανέφεραν και οι Carpenter & Harrison, 1988a, οι οποίοι απομόνωσαν έναν μεγάλο αριθμό ζωντανών μικροοργανισμών σε στήθος κοτόπουλου το οποίο είχε ψηθεί σε εσωτερική θερμοκρασία 65.5-71 °C, ενώ μικρότεροι πληθυσμοί απομονώθηκαν μετά από θέρμανση στους 82°C.

Οι Lund et al.,1989 κατέδειξαν ότι η θέρμανση κοτόπουλου σε φούρνο μικροκυμάτων σε θερμοκρασία 70°C οδήγησε σε θνησιμότητα της τάξης των 10<sup>6</sup> κυττάρων . Οι τιμές D για τις θερμοκρασίες 60°C, 65°C και 70°C ήταν περίπου 4.5, 0.65 και 0.15 λεπτά (Lund et al., 1989). Οι Gaze et al., 1989 υπολόγισαν ακριβείς τιμές D και z σε πυκνά ιζήματα από κοτόπουλο και βόειο κρέας.

**Πίνακας II :** Τιμές D και z της *Listeria monocytogenes* για θέρμανση σε πυκνά ιζήματα κοτόπουλου και βόειου κρέατος. (Gaze et al., 1989)

Δείγμα	Στέλεχος	D <sub>60</sub> (λεπτά)	Z*
Βόειο κρέας	Scott A	8.32	5.98
Βόειο κρέας	NCTC 11994	6.97	5.98
Κοτόπουλο	Scott A	5.29	6.72
Κοτόπουλο	NCTC 11994	5.02	7.39

**Οι τιμές z υπολογίστηκαν για θερμοκρασίες μεταξύ 60 και 70 °C.**

Η *L.monocytogenes* σε υγρό πλήρες αυγό ήταν σχετικά πιο ανθεκτική σε σχέση με το γάλα. Οι τιμές D στους 62°C ήταν 72 και 108 sec ενώ 62 sec στο γάλα. Οι τιμές z (9.0, 9.9) που υπολογίστηκαν ήταν αρκετά υψηλές (Leasor & Foegeding, 1988). Η ανθεκτικότητα του μικροβίου σε χυμό λάχανου ήταν μικρότερη σε σχέση με το γάλα. Οι τιμές D υπολογίστηκαν σε 2.04 και 3.64 λεπτά σε pH 4.6 ενώ 9.9 λεπτά στο γάλα (Beuchat et al., 1986). Το όξινο PH του τυριού cottage (pH 5.0-5.4) δεν ήταν αρκετό για την καταστροφή της *L.monocytogenes* κατά την διάρκεια του μαγειρέματος τυροπηγμάτων, τα οποία περιείχαν 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> κύτταρα/gr, παρ'όλα αυτά οι πληθυσμοί που επιβίωσαν της θέρμανσης (57.2°C για 30 λεπτά) ήταν πολύ χαμηλοί και μπορούσαν να ανιχνευθούν, μόνο με εμπλουτισμό (Ryser et al., 1985). Η ξήρανση με ψεκάσμο του ξηρού γάλατος δεν εξασφαλίζει την καταστροφή της *L.monocytogenes*. Με θερμοκρασίες εισόδου και εξόδου της τάξης των 165°C και 67°C, παρατηρήθηκε μόνο 10 με 30 φορές μείωση του πληθυσμού (Doyle et al., 1985).

#### 1.2.4 Ένζυμα και τοξίνες

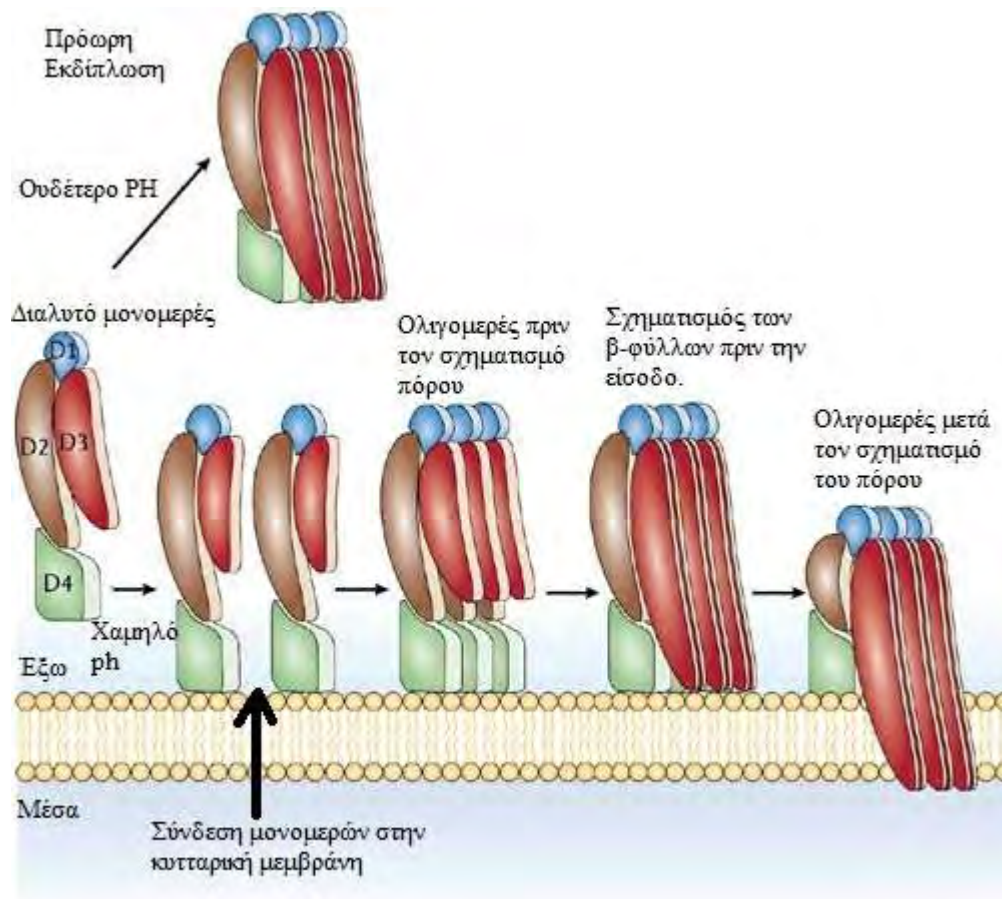
Η *Listeria monocytogenes* είναι προαιρετικά ενδοκυτταρικό βακτήριο και διαθέτει την ικανότητα να μολύνει ένα ευρύ φάσμα κυττάρων τόσο in vivo όσο και in vitro (Cossard & Mengaud, 1989; Gaillard et al., 1989; Havell, 1986; Kuhn et al., 1988; Portnoy et al., 1988). Μετά την είσοδο στο κύτταρο, τα βακτήρια διαφεύγουν από το φαγοσωματικό κενοτόπιο, πολλαπλασιάζονται ταχέως μέσα στο κυτταρόπλασμα και στην συνέχεια εκμεταλλεύονται το σύστημα ακτίνης του κυττάρου ξενιστή για την κίνηση τους με σκοπό να μολύνουν γειτονικά κύτταρα. Σε αυτό το στάδιο, τα βακτήρια περιορίζονται προσωρινά σε κενά διπλής μεμβράνης, από τα οποία διαφεύγουν για να επαναλάβουν τον κύκλο (Dabiri et al., 1990; Mounier et al., 1990; Theriot et al., 1992; Tilney & Portnoy, 1989).

Η *L.monocytogenes* εκκρίνει τρεις λοιμογόνους παράγοντες, οι οποίοι αλληλεπιδρούν με τις κυτταρικές μεμβράνες του ξενιστή. Η λύση του κενοτόπιου του κυττάρου ξενιστή, υποβοηθάται κυρίως από την Λιστεριολυσίνη O (αιμολυσίνη η οποία ενεργοποιείται μέσω της θειόλης και δρα στις κυτταρικές μεμβράνες σχηματίζοντας πόρους) (Bielecki

et al., 1990; Gaillard et al., 1987; Mengaud et al., 1988; Tilney & Portnoy, 1989). Τα μη αιμολυτικά στελέχη δεν διαθέτουν την ικανότητα ενδοκυτταρικής ανάπτυξης στους περισσότερους τύπους κυττάρων και είναι απαθολόνα στο μοντέλο μόλυνσης των ποντικών (Cossart et al., 1989; Gaillard et al., 1987; Gaillard et al., 1986; Kathariou et al., 1987; Michel et al., 1990; Portnoy et al., 1988).

Η Λιστεριολυσίνη O ανήκει σε μια μεγάλη ομάδα κυτολυσινών, τις χοληστερολοεξαρτώμενες κυτολυσίνες (cholesterol-dependent cytolysins-CDC) οι οποίες παράγονται από έναν μεγάλο αριθμό Gram θετικών παθογόνων βακτηρίων. Στην ομάδα αυτή ανήκουν επίσης η στρεπτολυσίνη O (SLO) του *Streptococcus pyogenes* και η περφρινγολυσίνη O (PFO) του *Clostridium perfringens*. Λόγω της υψηλής ομοιότητας στην αρχική δομή, όλα τα μέλη της ομάδας θεωρείται ότι μοιράζονται έναν κοινό μηχανισμό δράσης, ο οποίος περιλαμβάνει την σύνδεση με μεμβράνες που περιέχουν χοληστερόλη και στην συνέχεια είσοδο στο κύτταρο, ολιγομερισμό 20-80 μονομερών και τον σχηματισμό ενός πόρου με διάμετρο 20–30 nm. Οι κυτολυσίνες αυτής της ομάδας αποτελούνται από τέσσερις τομείς από τους οποίους οι τρεις συμμετέχουν στον ολιγομερισμό της τοξίνης και την διαταραχή της κυτταρικής μεμβράνης. Ο τέταρτος βοηθά στην σύνδεση του βακτηρίου στις μεμβράνες. Η μεγάλη διαφορά όμως της λιστεριολυσίνης O με τις υπόλοιπες είναι ότι έχει βέλτιστη δράση σε όξινο περιβάλλον (Geoffroy et al., 1987).

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η *L.monocytogenes* εκκρίνει τρεις μολυσματικούς παράγοντες, από τους οποίους οι εναπομείναντες δύο είναι τα ένζυμα της φωσφολιπάσης C (PLC) : η φωσφατιδυλινοσιτόλη (PI) –ειδική PLC (PI-PLC ; κωδικοποιείται από το γονίδιο *plcA*) η οποία έχει υψηλή ειδικότητα για την PI (Camilli et al., 1991; Goldfine & Knob, 1992; Leimeister-Wachter et al., 1989; Mengaud et al., 1991) και αδύναμη δραστηριότητα επί των δεσμών glycosyl-PI (Gandhi et al., 1993). Το δεύτερο ένζυμο, η φωσφατιδυλγολίνη (PC)-προτιμητέα PLC (PC-PLC; *plcB*) δρα σε ένα ευρύ φάσμα φωσφολιπιδίων (PC > φωσφατιδυλαιθανολαμίνη > φωσφατιδυλσερίνη > σφιγγομυελίνη (SM) >> PI) και υδρολύει την σφιγγομυελίνη περίπου στο ¼ της ταχύτητας που υδρολύει την φωσφολιπάση C (Geoffroy et al., 1991; Goldfine et al., 1993; Vazquez-Boland et al., 1992). Στελέχη τα οποία στερούνται PI-PLC διαφεύγουν λιγότερο αποτελεσματικά από το πρωτογενές φαγοκυτταρικό κενοτόπιο (Camilli et al., 1993), ενώ στελεχή ελλειπή σε PC-PLC συσσωρεύονται στα δευτερεύοντα κενοτόπια διπλής μεμβράνης (Vasquez-Boland, 1992). Μελέτες έχουν δείξει ότι οι δύο φωσφολιπάσες έχουν συνδυαστικό ρόλο στην διαφυγή από τα πρωτεύοντα και δευτερεύοντα κενοτόπια (Smith et al., 1995). Σε ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα Henle 407, ο συνδυασμός PC-PLC είναι ικανός να υποβοηθήσει την διαφυγή του βακτηρίου από το πρωτεύον κενοτόπιο, απουσία της λιστεριολυσίνης O (Marquis et al., 1995).



**Εικόνα II :** Μηχανισμός δράσης της Λιστεριολυσίνης O (τροποποίηση από Hamon *et al*, 2006). Σε όξινο pH το διαλυτό μονομερές της λιστεριολυσίνης O έρχεται σε επαφή με την μεμβράνη του κυττάρου ξενιστή, μέσω της σύνδεσης με την χοληστερόλη. Κατά την επαφή με την μεμβράνη, δομικές ανακατατάξεις ενός μονομερούς εκθέτουν υπολλείματα τα οποία μπορούν να δημιουργήσουν στην συνέχεια δεσμούς υδρογόνου με άλλα μονομερή και έτσι επιτρέπουν τον ολιγομερισμό τους σε ένα προσύμπλοκο. Μετά τον ολιγομερισμό, δύο α-ελικοειδείς δεσμοί από κάθε μονομερές εκτείνονται για να σχηματίσουν διαμεμβρανικούς σχηματισμούς που μοιάζουν με καρφίτσες (κόκκινο) και διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη. Οι πόροι που σχηματίζονται από την λιστεριολυσίνη O και άλλες πρωτεΐνες που συνδέονται με την χοληστερόλη, δύναται να έχουν διάμετρο από 250 έως 300 Å. Σε ουδέτερο pH, ο τομέας 3 (D3) του μονομερούς εκδιπλώνεται πρώιμα, καθιστώντας την πρωτεΐνη ανίκανη να δημιουργήσει πόρους.

### 1.2.5 Παρουσία της *L.monocytogenes* στα τρόφιμα

Η κυκλοφορία ανθρώπινων και ζωικών παθογόνων στην βιόσφαιρα είναι ένα σημαντικό ζήτημα υγείας. Τα οικοσυστήματα δύναται να συμμετέχουν στην μετάδοση των παθογόνων στην τροφική αλυσίδα μέσω της παραγωγής μολυσμένων ωμών προϊόντων (Vivant et al., 2013). Επειδή η *L.monocytogenes* είναι παρούσα παντού στο περιβάλλον και συχνά στο περιβάλλον επεξεργασίας τροφίμων, δύναται να μολύνει τα τρόφιμα.

Η παρουσία του μικροβίου στα τρόφιμα αποτελεί σημαντικό πρόβλημα στην περίπτωση που η σύσταση τους μπορεί να υποστηρίξει την ανάπτυξη του. Έτσι η *L.monocytogenes* ανευρίσκεται συχνά σε ωμά τρόφιμα τόσο ζωικής όσο και φυτικής προέλευσης, αλλά και σε μαγειρεμένα τρόφιμα λόγω μόλυνσης μετά την επεξεργασία. Έχει απομονωθεί από απαστερίωτο γάλα, τυρί, παγωτό, ζυμωμένα κρέατα και μαγειρεμένα λουκάνικα, ωμό και μαγειρεμένο κοτόπουλο, ωμά κρέατα και ωμό και καπνιστό σολωμό, προϊόντα delicatessen, ψάρια, θαλασσινά και λαχανικά (Nakari et al., 2014; Vongkamjan et al., 2013; Jami et al., 2014; Chao et al., 2006; Inoue et al., 2000; Cordano & Jacquet, 2009).

Όμως τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα είναι η πιο σημαντική πηγή σποραδικών περιστατικών λιστερίωσης σε ανθρώπους, όπως και τρόφιμα τα οποία συντηρούνται για μεγάλο χρονικό διάστημα (extended shelf life) ή καταναλώνονται χωρίς περαιτέρω επεξεργασία (Westrell et al., 2009; Pinner et al., 1992; Rocourt, 1996; FDA/FSIS, 2001; Nørrung et al., 1999). Η μόλυνση των έτοιμων προς κατανάλωση τροφίμων μπορεί να γίνει σε διαφορετικά στάδια της επεξεργασίας, της διανομής και πώλησης. Η κύρια πηγή μόλυνσης των έτοιμων προς κατανάλωση delicatessen προϊόντων είναι η διασταυρούμενη μόλυνση κατά την πώληση (Sauders et al., 2009; Tompkin, 2002; Vorst et al., 2006). Δεδομένα από διάφορες έρευνες δείχνουν ότι έτοιμα προς κατανάλωση delicatessen προϊόντα, τα οποία έχουν συσκευαστεί πριν την πώληση, εμφανίζουν μικρότερα επίπεδα παρουσίας *L.monocytogenes* (Gombas et al., 2003).

Η επιβίωση του παθογόνου σε συνθήκες επεξεργασίας οφείλεται σε διάφορους παράγοντες, όπως η ικανότητα του να αναπτύσσεται σε ένα μεγάλο θερμοκρασιακό εύρος, ειδικότερα θερμοκρασίες ψύξης (Schmid et al., 2009), η αντοχή του στο όξινο ΡΗ, την αποξήρανση (Takahashi et al., 2011) και τα μέσα απολύμανσης, αλλά και η ικανότητα του να δημιουργεί βιομεμβράνες (Gandhi & Chikindas, 2007; Galvão et al., 2012). Γενικά, στελέχη του παθογόνου τα οποία απομονώνονται για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα από το ίδιο περιβάλλον, θεωρούνται επίμονα. Τέτοια στελέχη έχουν βρεθεί σε μεγάλης κλίμακας εγκαταστάσεις παραγωγής τυριού (Lomonaco et al., 2009), μικρότερες τεχνικές εγκαταστάσεις (Fox et al., 2011), στην βιομηχανία σολωμού (Tocmo et al., 2014), σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας κρεάτων (Gomez et al., 2015) και σε εγκαταστάσεις παραγωγής κοτόπουλου (Lawrence & Gilmour, 1995; Ojieniyi et al., 2000). Αν και είναι πιθανόν τα στελέχη να επιβιώνουν και να εγκαθίστανται στο περιβάλλον επεξεργασίας των τροφίμων, μπορεί η αιτία να βρίσκεται στην συνεχή μόλυνση του περιβάλλοντος επεξεργασίας, από εξωτερικές πηγές, όπως οι πρώτες ύλες, οι οποίες λειτουργούν σαν συνεχή πηγή εισόδου συγκεκριμένων στελεχών *L.monocytogenes* (Carpentier & Cerf, 2011).

Εκτός από τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα, τα γαλακτοκομικά προϊόντα θεωρούνται επίσης επικίνδυνα στην μετάδοση του παθογόνου (Marth & Ryser, 1990; Greenwood et al., 1991). Αν το γάλα περιέχει μεγάλο πληθυσμό μικροοργανισμών πριν την παστερίωση, δύναται κάποιος από αυτούς να επιβιώσουν. Επίσης η αποθήκευση μολυσμένου γάλακτος σε θερμοκρασίες ψύξης μετά την παστερίωση μπορεί να επιτρέψει την εκλεκτική ανάπτυξη των μικροοργανισμών που έχουν απομείνει (Twedt, 1984). Η *L.monocytogenes* εμφανίζει θερμοανθεκτικότητα (Beams & Girard, 1958; Rowan & Anderson, 1998) και έχει παρατηρηθεί ότι οι ατυπικές μακριές κυτταρικές αλυσίδες είναι πιο θερμικά σταθερές από τις τυπικές διάρπαρτες κυτταρικές μορφές (Rowan & Anderson, 1998). Η μόλυνση με *L.monocytogenes* είναι πιο κοινή στο τυρί σε σχέση με τα υπόλοιπα γαλακτοκομικά προϊόντα. Ένας από τους παράγοντες που επηρεάζει θετικά την επιβίωση του παθογόνου στο τυρί είναι ο προστατευτικός ρόλος των λιπών του γάλακτος κατά την παστερίωση (McDonald & Sutherland, 1993). Το τυρί έχει περιεκτικότητα 0.5-2% σε αλάτι. Κάτω όμως από συνθήκες εργαστήριου το παθογόνο μπορεί να επιβιώσει σε συγκεντρώσεις άλατος από 16 έως 20% (Buchanan et al., 1989). Το αλάτι παρεμποδίζει την ανάπτυξη άλλων ανταγωνιστικών μικροοργανισμών, δίνοντας την ευκαιρία στην *L.monocytogenes* να αυξηθεί σε ένα λιγότερο ανταγωνιστικό περιβάλλον. Οι Greenwood et al., 1991 ανέφεραν πιο συχνή παρουσία του παθογόνου στο μαλακό αγελαδινό τυρί.

Όσον αφορά το κρέας, το ωμό κρέας είναι η κύρια πηγή μόλυνσης των τελικών προϊόντων με το παθογόνο (Giovannacci et al., 1999; Kathariou, 2002; Kanuganti et al., 2002; Thévenot et al., 2005). Επίσης, λόγω της παρουσίας ευνοϊκών συνθηκών για ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό του βακτηρίου κατά τα στάδια της ψύξης και του τεμαχισμού, η παρουσία της *L.monocytogenes* σε κιμά που προορίζεται για επεξεργασία ανέρχεται σε 16% έως 50% (Jay, 1996 ; Chasseignaux et al., 2002 ). Το επίπεδο μόλυνσης αυξάνεται σημαντικά κατά τα στάδια της λείανσης και της συσκευασίας του κρέατος, σε ποσοστό 70%-100% (Nesbakken et al., 1996 ; Thévenot et al., 2005). Το κρέας μπορεί επίσης να μολυνθεί μέσω της επαφής με τον εξοπλισμό και τις επιφάνειες εργασίας. Το επίπεδο της μόλυνσης με ή χωρίς επαφή του κρέατος με τις επιφάνειες εργασίας κατά την επεξεργασία κυμαίνεται μεταξύ 17%-50% και 11%-25% αντίστοιχα (Thévenot et al., 2005; Mureddu et al., 2014 ).

Σε μια έρευνα που έγινε στην Ιρλανδία το διάστημα 2013-2014, αναλύθηκαν 48 μονάδες επεξεργασίας από διαφορετικούς τομείς τροφίμων για την παρουσία του παθογόνου. Βρέθηκε ότι η *L.monocytogenes* υπήρχε σε ποσοστό 3.9% στις μονάδες επεξεργασίας γάλακτος, 4,2% στον τομέα επεξεργασίας κρέατος, 9,4 % στον τομέα των λαχανικών και 4,6 % στον τομέα των θαλασσινών (Leong et al., 2014).

Οι Williams et al., 2011 ανέφεραν την παρουσία του παθογόνου σε μικρές μονάδες παραγωγής έτοιμων προς κατανάλωση τροφίμων σε ποσοστά από 1,7 έως 10,8%. Αντιθέτως στην Ιταλία και στην Ισπανία, βρέθηκαν μεγαλύτερα ποσοστά του παθογόνου στα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα. Οι Gambarin et al., 2012 κατέδειξαν ποσοστό παρουσίας 23,68% σε έτοιμα προς κατανάλωση θαλασσινά και 22% οι Sanchez et al., 2012 σε διάφορα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα. Στην Δανία το 2000 αναφέρθηκαν ποσοστά από 25,9 % έως 41,4% του παθογόνου κατά την παραγωγή σε μια μονάδα επεξεργασίας γαλοπούλας (Ojeniyi et al., 2000).

Όσον αφορά τον τομέα των θαλασσινών οι Chen et al., 2010 βρήκαν ποσοστό 21,6% των δειγμάτων θετικά στο παθογόνο, τα οποία προέρχονταν από προϊόντα, συγκεκριμένα γατόψαρο και από το περιβάλλον επεξεργασίας. Στην Βόρεια Ισπανία οι Garrido et al., 2009 ανέφεραν 25% των δειγμάτων τους ως θετικά στην παρουσία του παθογόνου. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τον EFSA βρέθηκε παρουσία του παθογόνου της τάξης του 10,4% σε καπνιστό ψάρι. Το 2010 αναφέρθηκε αύξηση των περιστατικών λιστερίωσης στην Φινλανδία, γεγονός που οφειλόταν σε δύο μονάδες αλειίας, που περιείχαν επίμονα στελέχη του παθογόνου (Nakari et al., 2014).

### Πίνακας III: Δημοσιευμένες εξάρσεις λιστερίωσης από το 2010.

Έτος	Χώρα	Αρ.Περιπτώσεων (θάνατοι)	Τρόφιμο	Ορότυπος	Πηγή
2009/2010	Αυστρία/Γερμανία Τσεχοσλοβακία	34 (8)	Τυρί Quargel	1/2α (2 στελέχη)	Fretz et al.2010
2011-2012	ΗΠΑ	146 (31)	Πεπονάκι	Πολλαπλά στελέχη 1/2α και 1/2b.	CDC,2011
2012	14 Πολιτείες (ΗΠΑ)	20 (4)	Τυρί Ricotta		CDC,2012
2012	Ισπανία	2	Φρέσκο τυρί	1/2α	De Castro et al.,2012
2013	5 Πολιτείες (ΗΠΑ)	6 (1)	Τυρί αγροκτήματος (Farmstead)		CDC,2013
2014	Καλιφόρνια και Μέρυλαντ (ΗΠΑ)	8(1)	Γαλακτοκομικά		CDC,2014b
2013-2014	Δανία	41 (17)	Καρυκευμένο αρνίσιο ρολό,χοιρινό,λουκάνικα,πατέ και άλλα προϊόντα κρέατος.		Anonymous 2015a
2014-Ιανουάριος 2015	12 Πολιτείες (ΗΠΑ)	35 (7)	Καραμελωμένο μήλο	4b	CDC,2015a
2015	4 Πολιτείες (ΗΠΑ)	10 (3)	Παγωτό		CDC,2015b



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup>

### Η *L.monocytogenes* στον άνθρωπο

Η *L. monocytogenes* είναι το μόνο είδος *Listeria* που μολύνει τον άνθρωπο, αν και έχουν αναφερθεί σπάνιες περιπτώσεις ανθρώπινης μόλυνσης από την *L. ivanovii* (προσβάλλει τα μυρηκαστικά) και από την *L. grayi* (Guillet et al., 2010; Salimnia et al., 2010). Η *Listeria* είναι προαιρετικά ενδοκυτταρικό παράσιτο. Το κυρίως περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσεται είναι το έδαφος και φυτικό υλικό σε αποσύνθεση. Οι περισσότερες περιπτώσεις λιστερίωσης στον άνθρωπο, θεωρείται ότι προήλθαν από κατάποση και επακόλουθη διείσδυση μέσω του εντερικού βλεννογόνου και συστηματική μόλυνση. Περίπου 1-5% των υγιών ατόμων αποβάλλουν την *L.monocytogenes* με τα κόπρανα τους (Lorber, 1997).

Η *L. monocytogenes* εισέρχεται στα κύτταρα με έναν μηχανισμό που περιλαμβάνει την σύνδεση μια βακτηριακής πρωτεΐνης (ιντερναλίνη) με την Ε-καντχερίνη (CDH1) του κυττάρου στόχου (Mengaud et al., 1996; Drevets et al., 1995). Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός είναι μέσω της LapB, μιας σορτάσης A, πρωτεΐνης επιφανείας, η οποία μπορεί να είναι απαραίτητη για την προσκόλληση και την επακόλουθη είσοδο στο κύτταρο-στόχο (Reis et al., 2010). Ο μικροοργανισμός στην συνέχεια χρησιμοποιεί έναν μηχανισμό εξάπλωσης από κύτταρο σε κύτταρο χωρίς να εκτίθεται στο εξωκυτταρικό περιβάλλον (Drevets et al., 1995). Αυτό το καταφέρνει ανατρέποντας τον κυτταρικό συστολικό μηχανισμό που βασίζεται στην ακτίνη, ενώ η προώθηση του εντός του κυτταροπλάσματος των μολυσμένων κυττάρων ξενιστών και η μετάδοση από κύτταρο σε κύτταρο θεωρείται ότι καθοδηγούνται από τον πολυμερισμό της ακτίνης στην βακτηριακή μεμβράνη και τον σχηματισμό μια ουράς κομήτη (Southwick & Purich, 1996). Και οι δύο πρωτεΐνες, ιδιαίτερα η προφιλίνη (μια πρωτεΐνη σύνδεσης του κυττάρου ξενιστή) και μια βακτηριακή πρωτεΐνη επιφανείας (καλούμενη ActA) είναι απαραίτητες για την συναρμολόγηση της ακτίνης από το παθογόνο (Theriot et al., 1994; Welch et al., 1997).

Η λιστερίωση εμφανίζεται πιο συχνά σαν σποραδική ασθένεια και όχι τόσο με την μορφή εξάρσεων. Το γεγονός αυτό εξεγήγηθηκε από τον FoodNet (Foodborne Diseases Active Surveillance Network) στις ΗΠΑ (Varma et al., 2007). Ανάμεσα στις 249 επιβεβαιωμένες περιπτώσεις σε 9 πολιτείες το διάστημα 2000-2003, 95 % αυτών ήταν σποραδικές. Η σποραδική γαστρεντερίτιδα φαίνεται να είναι σπάνια ασθένεια, όπως αποδεικνύεται από μια έρευνα διάρκειας δύο χρόνων, κατά την οποία συλλέχθηκαν κόπρανα από ασθενείς που έπασχαν από διάρροια (Schlech et al., 2005). Η *Listeria spp.* απομονώθηκε μόνο στα 39 από τα 7775 δείγματα κοπράνων (0,5%). Έτσι δεν υπάρχει λόγος συστηματικής εξέτασης των κοπράνων σε τέτοιες περιπτώσεις. Η πηγή μόλυνσης στις σποραδικές περιπτώσεις είναι συνήθως άγνωστη, αλλά οι περισσότερες θεωρείται ότι οφείλονται σε κατάποση μολυσμένου τροφίμου (Lorber, 2010; Bille, 2007; Varma et al., 2007; Schuchat et al., 1992; Pinner et al., 1992). Η κλινική μόλυνση είναι πιο πιθανή μετά την κατάποση τροφίμων με υψηλότερα επίπεδα πληθυσμού του παθογόνου (Goulet, 2007). Η μετάδοση του παθογόνου μέσω της επαφής με ζώα είναι σπάνια, και κυρίως συναντάται σε κτηνιάτρους, εκδοροσφαγείς και αγρότες.

Η μολύνουσα δόση της *L.monocytogenes* είναι περίπου 10–100 εκατομμύρια CFU σε υγιείς ξενιστές και μόνο 0.1–10 εκατομμύρια CFU σε ευπαθείς ομάδες πληθυσμού (Bortolussi, 2008). Ευπαθείς ομάδες θεωρούνται οι έγκυες γυναίκες, έμβρυα και νεογνά, άτομα με μειωμένη ανοσία, άτομα μεγάλης ηλικίας, άτομα στα οποία χορηγούνται κορτικοστεροειδή, άτομα που πάσχουν από λευχαιμία ή που έχουν προσβληθεί από τον ιό του HIV (Mardsen, 1994; CDC, 1999). Η περίοδος επώασης έως την εμφάνιση γαστρεντερίτιδας είναι σχετικά μικρότερη σε σχέση με αυτήν για την εμφάνιση συστηματικής ασθένειας (Ooi & Lorber, 2005; Linnan et al., 1988). Στην περίπτωση της γαστρεντερίτιδας η μέση περίοδος επώασης είναι 24 ώρες (από 6-10 ημέρες) (Ooi & Lorber, 2005), ενώ στην περίπτωση της συστηματικής ασθένειας η μέση περίοδος επώασης είναι 35 ημέρες (από 1-91 ημέρες) (Linnan et al., 1988).

Σε υγιείς ασθενείς η λιστερίωση μπορεί να εμφανιστεί με μορφή εμπύρετης γαστρεντερίτιδας. Το επίπεδο νοσηρότητας σε διάφορες εξάρσεις γαστρεντερίτιδας κυμαινόταν από 50% έως 100% (Ooi & Lorber, 2005). Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν πυρετό, υδαρή διάρροια, ναυτία, εμετό, πονοκέφαλο και πόνο στις αρθρώσεις και τους μύες. Η τυπική διάρκεια των συμπτωμάτων είναι δύο μέρες ή και λιγότερο και συνήθως επέρχεται πλήρης ανάρρωση (Ooi & Lorber, 2005). Η συστηματική λιστερίωση είναι σπάνια και πιο επικίνδυνη σε ανοσοκατασταλμένες έγκυες γυναίκες και υπερήλικες. Σε μια έρευνα όπου συμμετείχαν 57 ενήλικες οι οποίοι έφαγαν μολυσμένο τυρί, το 21 % εμφάνισε βακτηριαιμία, το 40% μηνιγγίτιδα και το 39% μηνιγγοεγκεφαλίτιδα (Büla et al., 1995). Το 42% των ασθενών είχαν κάποια υποκείμενη ασθένεια και περισσότεροι από τους μισούς ήταν 65 ετών και άνω. Τα ευρήματα αυτά, δείχνουν ότι ένας σημαντικός αριθμός υγιών ατόμων, παραμένουν ασυμπτωματικά ή με υποκλινική νόσο.

Η λιστερίωση κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης συνήθως συμβαίνει στο τρίτο τρίμηνο (Lorber, 2010). Σε μια αναδρομική σειρά, διάρκειας 10 ετών, στην οποία συμμετείχαν 11 ασθενείς από 4 νοσοκομεία, οι 9 εξ'αυτών βρέσκονταν στο τρίτο τρίμηνο της κύησης και οι υπόλοιποι δύο στην 17<sup>η</sup> και 18<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης αντίστοιχα (Mylonakis et al., 2002). Και οι δύο τελευταίες περιπτώσεις κατέληξαν σε εμβρυϊκό θάνατο, η πρώτη μετά από ξαφνική αποβολή και η δεύτερη με θάνατο του εμβρύου αμέσως μετά τον τοκετό. Έξι από τα εναπομείναντα νεογνά, τα οποία γεννήθηκαν πρόωρα, είχαν μολυνθεί από το παθογόνο. Τα τρία που γεννήθηκαν κανονικά, δεν ήταν μολυσμένα. Πυρετός, ρίγη και πόνος στην μέση είναι μερικά από τα συμπτώματα που μπορεί να εμφανιστούν στις έγκυες γυναίκες. Πιο συχνά όμως τα συμπτώματα ομοιάζουν με την γρίπη (Mylonakis et al., 2002). Η μόλυνση μπορεί να είναι ήπια, να μην χρειαστεί θεραπεία και η διάγνωση να μην γίνει ποτέ, αν δεν ληφθούν δείγματα αίματος για καλλιέργεια (Linnan et al., 1988; Lorber, 2010). Έτσι θα πρέπει να συλλέγεται αίμα από οποιαδήποτε έγκυο γυναίκα, η οποία εμφανίζει πυρετό και δεν διαφαίνεται κάποια εναλλακτική αιτία για αυτό. Η λιστερίωση στις έγκυες γυναίκες μπορεί να οδηγήσει σε εμβρυϊκό θάνατο, πρόωρο τοκετό και μολυσμένα νεογνά (Linnan et al., 1988; Mylonakis et al., 2002; Lamont, 2011). Μια σοβαρή ενδομήτρια μόλυνση του εμβρύου, η *granulomatosis infantiseptica*, μπορεί να προέλθει μέσω διαπλακούντιας μετάδοσης του παθογόνου. Έμβρυα που πάσχουν από αυτό το σύνδρομο, έχουν διάσπαρτα αποστήματα και/ή κοκκιώματα σε διάφορα εσωτερικά όργανα (ήπαρ, σπλήνας, νεφροί, εγκέφαλος). Δερματικές αλλοιώσεις, φλεγμονώδεις ή ελκώδεις, δύναται να αναπτυχθούν. Τα περισσότερα νεογνά γεννιούνται νεκρά ή πεθαίνουν αμέσως μετά τον τοκετό (Lorber, 2010).

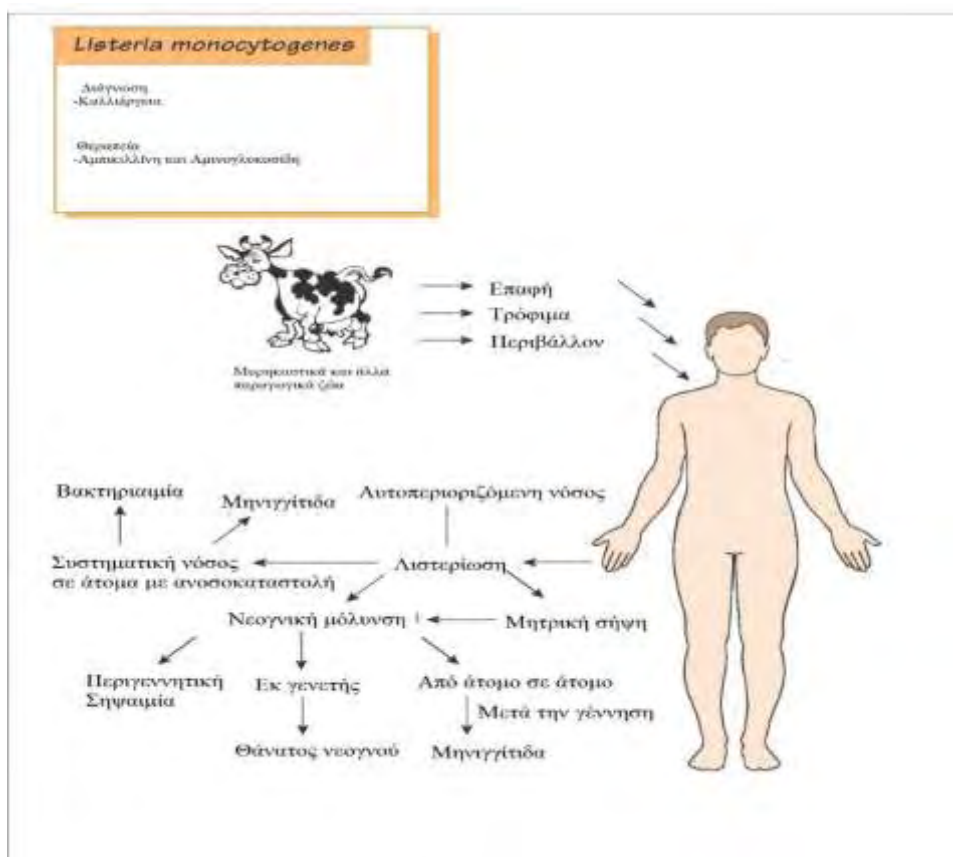
Σήψη μπορεί να εμφανιστεί σε ασθενείς όλων των ηλικιών. Τα νεογνά μολύνονται κατά την διάρκεια ή μετά τον τοκετό. Αν η μόλυνση γίνει κατά την πρώτη εβδομάδα της ζωής του νεογνού, συνήθως εκδηλώνεται με σήψη, ενώ μετά το πέρας της 1<sup>ης</sup> εβδομάδας, τα συμπτώματα ποικίλλουν και μπορεί να περιλαμβάνουν και την εμφάνιση μηνιγγίτιδας. Η πρόωμη εμφάνιση σήψης, συνοδεύεται από υψηλή περιγεννητική θνησιμότητα και συσχετίζεται με ασθένεια της μητέρας και πρόωρο τοκετό. Αν η νόσος εμφανιστεί καθυστερημένα, τα μωρά γεννιούνται κανονικά χωρίς περαιτέρω επιπλοκές (Kessler & Dajani, 1990). Μηνιγγοεγκεφαλίτιδα συνήθως εμφανίζεται σε νεογνά μετά την ηλικία των τριών ημερών και σε ανοσοκατασταλμένους ή υπερήλικες ανθρώπους. Ακόμα και αν η *L.monocytogenes* μπορεί να προκαλέσει σήψη σε ανοσοκατασταλμένα παιδιά, αυτό είναι σπάνιο (Mora et al., 1998). Ενήλικες με σήψη, εμφανίζουν πυρετό και ρίγη. Δύναται σε κάποιες περιπτώσεις να αναπτυχθεί σηπτικό σοκ, με επακόλουθο την εμφάνιση μηνιγγίτιδας και εγκεφαλίτιδας. Στις έγκυες γυναίκες εμφανίζεται βακτηριαμία, χωρίς προσβολή του κεντρικού νευρικού συστήματος (Lorber, 1997). Σε μια έρευνα, 30 % των μολυσμένων ατόμων που είχαν λάβει μεταμόσχευση νεφρού, εμφάνισαν πρωτογενή βακτηριαμία, και σχεδόν όλοι οι υπόλοιποι εμφάνισαν μόλυνση του κεντρικού νευρικού συστήματος (Stamm et al., 1982). Η διάγνωση της βακτηριαμίας μπορεί να γίνει μόνο με καλλιέργεια αίματος και είναι δύσκολη η διαφορική διάγνωση από άλλα νοσήματα που εμφανίζονται με παρόμοια συμπτώματα.

Η πιο συχνή εκδήλωση της λοίμωξης από το κεντρικό νευρικό σύστημα είναι η μηνιγγοεγκεφαλίτιδα. Η εγκεφαλίτιδα, η οποία σπάνια προχωρά σε απόστημα του εγκεφάλου και η ρομβεγκεφαλίτιδα είναι λιγότερο συχνές.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η μηνιγγοεγκεφαλίτιδα εμφανίζεται σε νεογνά μετά την ηλικία των 3 ημερών και σε ανοσοκατασταλμένους ή υπερήλικες ασθενείς. Η σημασία της ηλικίας στην νόσηση, παρουσιάστηκε σε μια έρευνα στις ΗΠΑ το 1995 (Schuchat et al., 1997). Η λιστερίωση αποτελούσε το 22% των περιπτώσεων υπερήλικων ασθενών, 23 % των νεογνικών περιπτώσεων και μόνο 4 % των περιπτώσεων από 2 έως 60 ετών. Εκτός από την ηλικία, μεγάλη σημασία έχει και η κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος του ασθενούς, για την εμφάνιση μηνιγγοεγκεφαλίτιδας. Το γεγονός αυτό διαφαίνεται σε μια έρευνα που περιελάμβανε 44 νέες περιπτώσεις λιστερίωσης του κεντρικού νευρικού συστήματος και 778 περιπτώσεις οι οποίες είχαν δηλωθεί στο παρελθόν (97% με μηνιγγοεγκεφαλίτιδα) εκτός εγκυμοσύνης και νεογνικής περιόδου (Mylonakis et al., 1998). Οι κύριοι προδιαθετικοί παράγοντες ήταν η κακοήθεια του αίματος και η μεταμόσχευση νεφρού, αλλά το 36% των ατόμων δεν είχαν καμία υποκείμενη νόσο. Η κλινική εμφάνιση της μηνιγγοεγκεφαλίτιδας κυμαίνεται από ήπια νόσο με πυρετό και νοητικές μεταβολές μέχρι κόμμα (Lorber, 2010; Lorber, 1997; Mylonakis et al., 1998; Lavetter et al., 1971). Οι περισσότεροι ενήλικες εμφανίζουν υποξεία μορφή της νόσου και στην παραπάνω έρευνα το 42% των ασθενών δεν εμφάνιζαν συμπτώματα βλάβης των μηνίγγων (Mylonakis et al., 1998). Εντοπισμένα νευρολογικά συμπτώματα δύναται να υπάρχουν, υποδηλώνοντας στοιχεία εγκεφαλίτιδας. Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν ανωμαλίες των κρανιακών νεύρων, αταξία, τρέμουλο, ημιπληγία και κώφωση. Είναι δυνατό να εμφανιστούν επιληψίες, αλλά εμφανίζονται αργότερα (Mylonakis et al., 1998). Μια υποξεία μορφή της ασθένειας με παραλύσεις των κρανιακών νεύρων, λεμφοκυτταρική πλειοκυττάρωση, αυξημένη CSF πρωτεΐνη και χαμηλά επίπεδα γλυκόζης, μπορεί να μιμείται την φυματιώδη ή μυκητιακή μηνιγγίτιδα. Η καλλιέργεια εγκεφαλονωτιαίου υγρού σε αυτές τις περιπτώσεις είναι συνήθως θετική, αλλά δεν είναι σύνηθες να υπάρχουν θετικές καλλιέργειες αίματος σε περίπτωση αρνητικών αποτελεσμάτων από την καλλιέργεια εγκεφαλονωτιαίου υγρού (Lorber, 2010).

Η εγκεφαλίτιδα προκύπτει από άμεση αιματογενή προσβολή του εγκεφαλικού παρεγχύματος, συνήθως με μικρή ή καθόλου συμμετοχή των μηνίγγων (Watson et al., 1978). Παρ'όλα αυτά μηνιγγίτιδα και εγκεφαλίτιδα μπορούν να συνυπάρχουν στον ίδιο ασθενή. Η κλινική εκδήλωση της εγκεφαλίτιδας κυμαίνεται από πυρετό, πονοκέφαλο έως και ημιπληγία, που ομοιάζει με εγκεφαλικό επεισόδιο (Kilic et al., 2016). Μια μελέτη σειράς ανέφερε 5 ασθενείς με εγκεφαλικό απόστημα, από τους οποίους οι τρεις είχαν κάνει μεταμόσχευση καρδιάς (Eckburg et al., 2001).

Η ρομβεγκεφαλίτιδα είναι μια σπάνια εκδήλωση της λιστερίωσης, η οποία τυπικά εμφανίζεται σε υγιείς ασθενείς που έχουν λάβει κάποιο μολυσμένο τρόφιμο, συνήθως σε εξάρσεις (Armstrong & Fung, 1993). Η ρομβεγκεφαλίτιδα ακολουθεί μια διφασική πορεία, η οποία ξεκινάει με πονοκέφαλο, πυρετό, ναυτία, εμετούς και μετά από κάποιες μέρες ακολουθούν παράλυση των κρανιακών νεύρων, αταξία, τρέμουλο, μειωμένη συνείδηση και ίσως επιληψίες και ημιπάρεση. Η διαφορική διάγνωση της ρομβεγκεφαλίτιδας περιλαμβάνει ένα μεγάλο εύρος λοιμογόνων και μη λοιμογόνων ασθενειών (Moragas et al., 2011). Κάποιες από αυτές είναι η φυματίωση, η τοξοπλάσμωση, η κρυπτοκόκκωση και άλλες μυκητιακές εγκεφαλίτιδες, η νόσος του Lyme, ο ιός Epstein-Barr, η βρουκέλλωση. Μη λοιμογόνες ασθένειες που μπορούν να προκαλέσουν αλλοιώσεις στο εγκεφαλικό στέλεχος και την παρεγκεφαλίδα είναι η σκλήρυνση κατά πλάκας, η σαρκοείδωση, συστηματικές ρευματικές ασθένειες (σύνδρομο Behçet's, συστηματικός ερυθρεμάτης), λέμφωμα και παρανεοπλασματικά σύνδρομα.



**Εικόνα II :** Τρόποι μετάδοσης και κλινικές εκδηλώσεις που προκαλεί η *L.monocytogenes*. (Τροποίηση από <http://what-when-how.com/medical-microbiology-and-infection/listeria-bacillus-corynebacterium-and-environmental-mycobacteria-bacteriology-medical-microbiology-and-infection/>)

Η λιστερίωση αποτελεί νόσημα με παγκόσμια κατανομή που όμως σπάνια διαγιγνώσκεται. Παρότι αποτελεί νόσημα με μικρή επίπτωση, συμβάλει σημαντικά στην εκδήλωση σοβαρής νοσηρότητας στον πληθυσμό (ΚΕΕΛΠΝΟ, 2011).

Στις ΗΠΑ, η συχνότητα των εργαστηριακά επιβεβαιωμένων περιπτώσεων λιστερίωσης ήταν 0,34 ανά 100.000 άτομα, το 2009 (CDC, 2009). Μια έρευνα στις ΗΠΑ, που πραγματοποιήθηκε κατά το χρονικό διάστημα από το 2000 έως το 2008, υπολόγισε ότι καταγράφονται 1600 περιπτώσεις, με ποσοστό θνησιμότητας 16 % (περίπου 255 θάνατοι) (Scallan et al., 2011). Ανάμεσα στα τροφιμογενή νοσήματα, η λιστερίωση έχει την τρίτη υψηλότερη θνησιμότητα (περίπου 16% σε σχέση με 35 % για το *Vibrio vulnificus* και 17 % για το *Clostridium Botulinum*) και είναι υπεύθυνη για το 19% όλων των θανάτων που οφείλονται σε τροφιμογενή μόλυνση. Οι μη περιγεννητικοί θάνατοι που σχετίζονται με την λιστερίωση μειώθηκαν σημαντικά από το 1990 έως το 2005 (Bennion et al., 2008). Αύξηση των περιστατικών λιστερίωσης έχει καταγραφεί σε διάφορες ευρωπαϊκές χώρες (Allerberger & Wagner, 2010). Σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Αγγλία, παρατήρηθηκε συσχέτιση μεταξύ της νόσησης από *L.monocytogenes* και την κατοίκηση σε περιοχές χαμηλών οικονομικών στρωμάτων (Gillespie et al., 2010). Άτομα που έκαναν τις αγορές τους από μικρά τοπικά καταστήματα είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν την ασθένεια σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό.

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση το 2015, 28 κράτη μέλη ανέφεραν 2,206 περιπτώσεις λιστερίωσης. Η επίπτωση υπολογίστηκε στις 0,46 περιπτώσεις ανά 100.000 πληθυσμού, παρόμοια με το 2014. Υπήρξε μια σημαντική στατιστική αύξηση των περιστατικών κατά το διάστημα 2008-2015. Δεκά εννέα κράτη μέλη ανέφεραν 270 θανάτους το 2015, το μεγαλύτερο ποσοστό θανάτων που έχει καταγραφεί από το 2008. Η θνησιμότητα εντός της ένωσης ήταν περίπου 17,7% των επιβεβαιωμένων 1,524 περιστατικών . Τα περισσότερα περιστατικά αφορούσαν ηλικιωμένους άνω των 64 ετών και ειδικότερα άνω των 84 ετών (ECDC, 2015)

Στη χώρα μας, τα κρούσματα λιστερίωσης που καταγράφηκαν το διάστημα 2004-2010 διαμόρφωσαν τη μέση ετήσια επίπτωση στα 0,55 κρούσματα ανά 1.000.000 κατοίκους (ΚΕΕΛΠΝΟ, 2011).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup>

### Η *L.monocytogenes* στα ζώα

#### 3.1 Η *L.monocytogenes* στα διάφορα είδη ζώων

Η *L.monocytogenes* απομονώθηκε για πρώτη φορά σε ζώα, σε μια επιδημία κουνελιών και ινδικών χοιριδίων που συνέβη σε μια εργαστηριακή μονάδα αναπαραγωγής ζώων (Murray et al., 1926). Η ασθένεια έχει καταγραφεί σε περισσότερα από 40 είδη άγριων και οικόσιτων ζώων (Seeliger, 1961). Η λιστερίωση έχει μεγάλη κτηνιατρική σημασία στα βοοειδή, πρόβατα και αίγες, αλλά στο Ηνωμένο Βασίλειο είναι πιο κοινή στα πρόβατα (Anon., 1992). Ένα σύνολο συμπτωμάτων έχουν συνδεθεί με την κλινική εικόνα της ασθένειας, αλλά η εγκεφαλίτιδα και οι μολύνσεις του ουροποιητικού είναι τα πιο συχνά (Wilesmith & Gitter, 1986). Παρ'όλα αυτά δύναται να εμφανιστούν διαφορετικές εκδηλώσεις της ασθένειας μέσα στο ίδιο κοπάδι (Ladds et al., 1974; Jubb & Huxtable, 1992). Η πρώτη περιγραφή εγκεφαλίτιδας λόγω λιστερίωσης έγινε μετά από μια εκτεταμένη νευρολογική ασθένεια που εμφανίστηκε στην Νέα Ζηλανδία, γνωστή και ως circling disease (Gill, 1931). Η *L.monocytogenes* απομονώθηκε από τις αλλοιώσεις (Gill, 1933), αλλά και άλλα περιστατικά εγκεφαλίτιδας σε μυρμηκαστικά περιγράφηκαν αργότερα σε όλο τον κόσμο (Jungherr, 1937; Graham, 1939; Biester & Schwarte, 1939; Pillai, 1962; Gitter et al, 1965; Vandegraff et al., 1981; Istvan, 1982).

Οι κλινικές εκδηλώσεις της εγκεφαλίτιδας αποτελούν συνέπεια των αλλοιώσεων στο εγκεφαλικό στέλεχος (Rebhun & DeLahunta, 1982) και ενώ η κάθε περίπτωση είναι ξεχωριστή, τα συμπτώματα συνήθως περιλαμβάνουν νωθρότητα, γύρισμα και περιστροφή της κεφαλής προς την μια μεριά και βάδισμα σε κύκλους. Η μονόπλευρη παράλυση του προσώπου οδηγεί σε πτώση του βλεφάρου και του αυτιού, και το ζώο εμφανίζει σιελόρροια λόγω της μερικής παράλυσης του φάρυγγα. Στα πρόβατα και τις αίγες, ο θάνατος επέρχεται σε 2 με 3 ημέρες, ενώ στα βοοειδή η νόσηση έχει μεγαλύτερη διάρκεια. Ανάλογα με το στάδιο της λοίμωξης, η θερμοκρασία του ζώου μπορεί να είναι φυσιολογική ή αυξημένη. Οι περίοδοι επώασης ποικίλλουν αλλά σύμφωνα με έρευνες ο μέσος όρος είναι περίπου 2 με 6 εβδομάδες.

Μακροσκοπικές αλλοιώσεις του εγκεφάλου σπάνια παρατηρούνται, αλλά υπάρχουν παθολογικές μικροσκοπικές αλλοιώσεις, οι οποίες είναι κυρίως μονόπλευρες και πιο σοβαρές στον προμήκη μυελό και στην γέφυρα. Λιγότερο συχνές είναι οι αλλοιώσεις στην παρεγκεφαλίδα, στον νωτιαίο μυελό και τον διέγκεφαλο. Η πιο χαρακτηριστική αλλοίωση περιλαμβάνει την συγκέντρωση φλεγμονωδών κυττάρων με γειτονικές περιαγγειακές μανσέτες, οι οποίες αποτελούνται κυρίως από λεμφοκύτταρα, ιστιοκύτταρα, πλασμοκύτταρα και κάποιες φορές ουδετερόφιλα. Σε σοβαρές περιπτώσεις οι αλλοιώσεις μπορεί να συσπειρωθούν για να επηρεάσουν μεγάλες περιοχές του εγκεφαλικού ιστού. Η μηνιγγίτιδα είναι συχνά παρούσα, αναπτυσσόμενη δευτερογενώς από τις παρεγχυματικές βλάβες, αλλά τα στρώματα του επενδυμίου και των χοριοειδών πλεγμάτων σπάνια επηρεάζονται (Cordy & Osebold, 1959; Ladds et al., 1974; Charlton & Garcia, 1977; Jubb & Huxtable, 1992). Σπάνια περιστατικά παράλυσης άκρων ως αποτέλεσμα λιστερίνης μυελίτιδας έχουν

περιγραφεί στα πρόβατα (Gates et al., 1967; Seaman et al., 1990) και υπάρχει μια μοναδική περιγραφή ήπιας εγκεφαλοπάθειας σχετική με μόλυνση από *L.innocua* (Walker et al., 1994). Σε περιπτώσεις εγκεφαλίτιδας η *L.monocytogenes* κατά κανόνα απομονώνεται μόνο από τον εγκέφαλο (Urbanek, 1962a; Charlton & Garcia, 1977).

Η *L. monocytogenes* μπορεί να οδηγήσει σε αποβολές στα μυρρηκαστικά και σε άλλα είδη οικόσιτων ζώων (Patterson, 1940b; Stockton et al., 1954; Seeliger, 1961; Gray & Killinger, 1966; Njoku & Dennis, 1973; Mason et al., 1980; Kennedy & Miller, 1992 ; Watson & Evans, 1985; Sturgess, 1989; McLaughlin et al., 1993). Η *L.ivanovii* έχει επίσης καταγραφεί ως αίτιο αποβολής στα πρόβατα και στα βοοειδή, αλλά με μικρότερη συχνότητα σε σχέση με την *L.monocytogenes* (Ivanov, 1962 ; MacLeod et al., 1974; Sergeant et al., 1991; Alexander et al., 1992). Οι αποβολές λόγω της *L.monocytogenes* στο Ηνωμένο Βασίλειο είναι πιο συχνές στα πρόβατα (Anon, 1992), ενώ οι περισσότερες περιπτώσεις είναι σποραδικές (Kennedy & Miller, 1992) σε εξαιρετικές συνθήκες έχει επηρεαστεί μέχρι και το 50 % του κοπαδιού (Low & Renton, 1985). Οι αλλοιώσεις στον πλακούντα περιλαμβάνουν κιτρινωπές, νεκρωτικές εστίες σε σχήμα καρφίτσας μαζί με μια εστιακή ή εκτεταμένη πλακουντίτιδα, η οποία συνοδεύεται από κοκκινωπό/καφέ εξίδρωμα. Το έμβryo συνήθως είναι αυτολυτικό με νεκρωτικές εστίες στο ήπαρ και τον σπλήνα. Ιστολογικά αυτές οι εστίες εμφανίζουν στοιχεία πηκτικής νέκρωσης και διήθηση από μακροφάγα και ουδετερόφιλα (MacDonald, 1967; MacLeod et al., 1974; Kennedy & Miller, 1992). Η μόλυνση του εμβρύου θεωρείται ότι γίνεται αιματογενώς μέσω του πλακούντα (Molello & Jensen, 1964; Smith et al., 1970; Njoku & Dennis, 1973; Ladds et al., 1974; Low & Renton, 1985).

Η σηψαιμία είναι σχετικά σπάνια και συμβαίνει συνήθως στα νεογνά ως αποτέλεσμα ενδομητρικής μόλυνσης. Η πιο συχνή αλλοίωση είναι η εστιακή νέκρωση του ήπατος με την παρουσία γκριζωπών και λευκών οζιδίων σε σχήμα καρφίτσας, τα οποία καλύπτουν όλο το ήπαρ. Αλλοιώσεις εμφανίζονται και στον σπλήνα, αλλά σπάνια σε άλλους ιστούς. Η ιστολογική εικόνα αποτελείται από πολλαπλές εστιακές περιοχές νέκρωσης με εισβολή πολυμορφοπύρηνων και μονοπύρηνων κυττάρων. Ο μικροοργανισμός μπορεί να βρεθεί εύκολα στις αλλοιώσεις και να απομονωθεί με καλλιέργεια (Seeliger, 1961; Gray & Killinger, 1966). Δεδομένης της πρόσληψης μια μεγάλης ποσότητας του μικροβίου, η σηψαιμία εκδηλώνεται από την παρουσία του παθογόνου μέσα στο αίμα (Murray et al., 1926; Gill, 1937; .Jungherr, 1937; Osebold & Inouye, 1954b; Gray & Killinger, 1966) και η περίοδος επώασης διαρκεί 2 με 3 ημέρες (Low & Renton, 1985). Έχουν περιγραφεί μαζικές εξάρσεις σηψαιμίας σε έγκυες προβατίνες (Low & Renton, 1985), οι οποίες εμφάνισαν πυρετό και άφθονη διάρροια. Η διάγνωση της λιστερικής σηψαιμίας εξαρτάται από την απομόνωση του παθογόνου από τους ιστούς του ζώου. Στα ενήλικα πρόβατα ως αποτέλεσμα της μόλυνσης από *L.monocytogenes* έχουν καταγραφεί έντονη διάρροια με αιμορραγία, η οποία επηρεάζει τις πτυχές του ηνύστρου, εξέλκωση του βλεννογόνου του ηνύστρου και του εντέρου και αποστηματοποίηση των πλακών του Peyer. Μετά την διάγνωση, τα ασθενή ζώα ανταποκρίνονται θετικά στα αντιβιοτικά, αλλά στα έγκυα ζώα, περιπτώσεις αποβολής μπορεί να οδηγηθούν σε κλινική ανάρρωση (Low & Renton, 1985).

Άλλα συμπτώματα που έχουν καταγραφεί στα βοοειδή και στα πρόβατα είναι ιρίτιδα και κερατοεπιπεφυκίτιδα (Kummeneje & Mikkelsen, 1975; Morgan, 1977; Watson, 1989; Blowey & Weaver, 1991; Walker & Morgan, 1993). Η κατάσταση συνήθως είναι μονόπλευρη και συμβαίνει τον χειμώνα σε ζώα που τρέφονται με φρέσκο χόρτο. Η ανταπόκριση στην θεραπεία με αντιβιοτικά είναι συνήθως φτωχή, αλλά ο συνδυασμός

κορτικοστεροειδών και αντιβιοτικών στην έναρξη των συμπτωμάτων είναι μια αποτελεσματική θεραπεία. Έχει επίσης αναφερθεί και μαστίτιδα σε βοοειδή με λίγες τεκμηριωμένες περιπτώσεις (Gitter et al, 1980; Sharp, 1989; Farber et al., 1990; Fedio et al., 1990; Vishinsky et al., 1993). Η μαστίτιδα εκδηλώνεται με υποκλινική ή κλινική μορφή και σε όλες τις περιπτώσεις η ανταπόκριση στα αντιβιοτικά ήταν μηδαμινή, ενώ ο μικροοργανισμός εκκρινόταν για μεγάλο χρονικό διάστημα. Έτσι συνιστάται η σφαγή τέτοιων ζώων.

Στα μονογαστρικά ζώα, η λιστερίωση είναι σπάνια, αν και έχουν αναφερθεί περιπτώσεις με σηψαιμία και μηνιγγοεγκεφαλίτιδα (Gray & Killinger, 1966; Radostits et al., 1994). Η μόλυνση στα πτηνά προκαλεί σηψαιμία και νέκρωση του μυοκαρδίου (Seastone, 1935). Η μόλυνση των κουνελιών με μη θανατηφόρες δόσεις του παθογόνου, εκδηλώνεται με έντονη μονοκυττάρωση (Murray et al., 1926; Osebold & Inouye, 1954b; Gray & Killinger, 1966) και όσον αφορά τα εργαστηριακά ζώα και τα τρωκτικά εκδηλώνεται με σηψαιμία όπως έχει περιγραφεί από τους Murray et al., 1926. Οι μεταθανάτιες αλλοιώσεις μοιάζουν με εκείνες που περιγράφηκαν για τα μυρηκαστικά.



### 3.2 Η *L.monocytogenes* στους χοίρους

Η λιστερίωση στους χοίρους εκδηλώνεται με σηψαιμία. Η εγκεφαλίτιδα αναφέρεται λιγότερο συχνά και οι αποβολές είναι σπάνιες (Blenden, 1986). Η κλινική σηψαιμία συνήθως παρατηρείται στα νεογνά και σε αυτές οι περιπτώσεις η ηπατική νέκρωση είναι χαρακτηριστικό σύμπτωμα (Harcourt, 1966; Meyer & Gardner, 1970). Παρά την πολύ συχνή εμφάνιση της ασθένειας στα μυρηκαστικά, είναι σχετικά σπάνια στους χοίρους. Ο Slabospits'Kii, 1938 ανέφερε για πρώτη φορά την παρουσία του παθογόνου σε νεαρούς χοίρους σε μια φάρμα στην Ρωσία, και το ονόμασε *L.suis* (Blenden, 1986). Η πρώτη περιγραφή της ασθένειας στους χοίρους στις ΗΠΑ, έγινε από τους Biester & Schwarte, 1940 οι οποίοι ανέφεραν περιστατικά εγκεφαλίτιδας σε χοίρους στην Αϊόβα. Αργότερα οι Kerlin & Graham, 1945 απομόνωσαν το παθογόνο από το ήπαρ ενός χοίρου, ο οποίος δεν εμφάνιζε κανένα σύμπτωμα εγκεφαλίτιδας. Στην Νορβηγία ο Hessen, 1957 ανέφερε περίπτωση σηψαιμίας σε χοιρίδια, τα οποία είχαν εκτραφεί σε μονάδα στην οποία διέμεναν προηγουμένως πρόβατα, τα οποία είχαν πεθάνει από την ασθένεια.

Σε φυσικές και πειραματικές μολύνσεις, η λιστερίωση είναι πιο σοβαρή στα νεαρά ζώα. (Bocklisch et al., 1991; Busch et al., 1971; Kemenes et al., 1971). Τα χοιρίδια υποκύπτουν στην λοίμωξη ενώ οι ενήλικοι χοίροι επιβιώνουν. Στις νεογνικές λοιμώξεις, το παθογόνο μπορεί να προέρχεται από τις αμυγδαλές της χοιρομητέρας, στην συνέχεια διέρχεται τον εντερικό βλεννογόνο και προκαλεί συστηματική νόσο (Timoney et al., 1988). Η νεογνική λιστερίωση εμφανίζει κάποια εποχικότητα με μεγαλύτερη συχνότητα χωρίς τον χειμώνα (Lopez & Blindfell, 1989) και την άνοιξη.

Η εγκεφαλίτιδα σπάνια εκδηλώνεται στους χοίρους. Συμπτώματα από το κεντρικό νευρικό σύστημα όπως αταξία και προοδευτική αδυναμία, είναι χαρακτηριστικά της λιστερίωσης στα νεαρά ζώα. Η μηνιγγοεγκεφαλίτιδα στους χοίρους ξεκινά με μια ξαφνική άρνηση για φαγητό και στην συνέχεια εμφανίζονται ποικίλα νευρικά συμπτώματα όπως τρέμουλο, μερική παράλυση, αταξία, κυκλικές κινήσεις και σπασμοί. Η ιστοπαθολογική εικόνα της μηνιγγοεγκεφαλίτιδας χαρακτηρίζεται από έντονη μονοκυτταρική διήθηση. Πολλαπλά αιμοφόρα αγγεία, ιδιαίτερα εκείνα που βρίσκονται στην γέφυρα εμφανίζουν περιαγγειακή μανσέτα (Blenden, 1986; Gray & Killinger, 1966; Radostis et al., 2000). Ενώ η λιστεριακή μηνιγγοεγκεφαλίτιδα είναι σπάνια στους χοίρους, έχουν καταγραφεί εξάρσεις στο παρελθόν, όπως στην Ινδία όπου 27 από 57 χοίρους πέθαναν από μηνιγγοεγκεφαλίτιδα (Malik et al., 2002; Rahman et al., 1985).

Στην Αγγλία, το Κτηνιατρικό κέντρο Ερευνών (VIC-Veterinary Investigation Center) ανέφερε μόνο 14 περιπτώσεις λιστερίωσης στους χοίρους μεταξύ 1975 και 1982, σε σύγκριση με 666 περιπτώσεις λιστερίωσης προβάτων και 472 περιπτώσεις βοοειδών (Gitter, 1985). Η λιστερίωση είναι επίσης σπάνια στην Ολλανδία (Narucka & Westendorp, 1973). Η λιστερίωση σε χοίρους αποτελεί μόνο το 1% των περιπτώσεων λιστερίωσης στον Δυτικό Καναδά (Beauregard & Malkin, 1971). Στην Αϊόβα, μια σημαντική χοιροπαραγωγική πολιτεία, από το 1993 μέχρι το 2000, από το σύνολο των 253 δηλώσεις περιπτώσεων λιστερίωσης, καμία δεν αφορούσε χοίρους. Στο ίδιο διάστημα, το 87 % αυτών των περιπτώσεων ήταν βοοειδή (Wesley et al., 2002). Ο Blenden, 1986 ωστόσο είχε αναφέρει ότι τα βοοειδή και τα πρόβατα αντιπροσώπευαν

το 98 % των περιπτώσεων λιστερίωσης που είχαν δηλωθεί στο Διαγνωστικό Κέντρο του Μισούρι και μόνο ένα αφορούσε χοίρους.

Επειδή πολύ λίγες διαθέσιμες έρευνες περιγράφουν την παρουσία της *L.monocytogenes* σε υγιείς χοίρους, η κατανομή της (0-16%) μπορεί να εκτιμηθεί από έρευνες περιττωματικών απεκκρίσεων και δειγμάτων από αμυγδαλές και σφάγια, τα οποία συλλέγονται κατά την σφαγή (Fenlon et al., 1996; Hohne et al., 1975; Nesbakken et al., 1994; Vojinovic, 1992). Σε μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε στις ΗΠΑ, με 300 χοίρους, το παθογόνο απομονώθηκε από το 2,4 % των ιστών των ζώων, συμπεριλαμβανομένων των αμυγδαλών (7%), θωρακικών (3,5%) και βουβωνικών λεμφαδένων (1,9%). Σε μια έρευνα περιορισμένης κλίμακας στην Ιαπωνία, η οποία πραγματοποιήθηκε σε 131 αγριόχοιρους, ο ορότυπος 4b της *L.monocytogenes* απομονώθηκε από το 2% των δειγμάτων κοπράνων. Το μικρότερο ποσοστό απομόνωσης σε αυτή την περίπτωση μπορεί να εξηγηθεί από την μικρότερη πυκνότητα του ζωικού πληθυσμού στο φυσικό περιβάλλον (Hayashidani et al., 2002).

Η παρουσία ασυμπτωματικών φορέων είναι πιο συχνή στην Ανατολική Ευρώπη. (Ralovich, 1984; Ralovich & Domjan-Kovacs, 1996). Ο Ralovich, 1984 παρουσίασε έρευνες που περιέγραφαν απομόνωση του παθογόνου από τα κόπρανα στο 47 % των ζώων στις 11 από τις 12 μονάδες που εξετάστηκαν. Το υψηλό ποσοστό μόλυνσης των χοίρων έχει οδηγήσει στην υπόθεση ότι οι χοίροι μπορεί να αποτελούν σημαντική δεξαμενή της ασθένειας στην Ανατολική Ευρώπη (Gray & Killinger, 1966).

Διάφορες πρακτικές διαχείρισης όπως το τάισμα με ξηρή τροφή ή φρέσκο χόρτο, η εκτροφή σε κλειστούς χώρους, η διατήρηση κοπαδιών ελεύθερων από συγκεκριμένα παθογόνα (SPF- specific-pathogen-free), αλλά και διαφορές στον τύπο του δείγματος (αμυγδαλές έναντι κοπράνων), η εποχικότητα μπορεί να είναι παράγοντες που επηρεάζουν την διακύμανση της συχνότητας δήλωσης περιπτώσεων υγιών-φορέων. Στην πρώην Γιουγκοσλαβία για παράδειγμα, το παθογόνο απομονώθηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό από χοίρους που διατρέφονταν με φρέσκο χόρτο (61%) σε σχέση με αυτούς που διατρέφονταν με ξηρή τροφή (29%).

Η συχνότητα απομόνωσης του παθογόνου στο κρέας είναι πιο υψηλή σε σχέση με τα ζωντανά ζώα, γεγονός που υποδεικνύει την μόλυνση του κρέατος μετά την σφαγή, κατά την διάρκεια επεξεργασίας. Οι Skovgaard & Noarrung, 1989 ανέφεραν ότι ενώ μόνο το 1,7 % των δειγμάτων κοπράνων ήταν θετικό στην παρουσία του μικροβίου, παρ'όλα αυτά απομονώθηκε στο 12 % των δειγμάτων χοιρινού κρέατος στην Δανία. Αυτό υποδηλώνει ότι η επιμόλυνση συνέβη κατά την επεξεργασία, μια παρατήρηση που έχει γίνει και από άλλους ερευνητές (Buncic, 1991). Στην Γαλλία, σε μια έξαρση με 279 ανθρώπινες περιπτώσεις, ενοχοποιήθηκε ως κύριο μέσο μετάδοσης η χοιρινή γλώσσα τουρσί και ως ύποπτα θεωρήθηκαν διάφορα έντονα επεξεργασμένα, έτοιμα προς κατανάλωση delicatessen τρόφιμα (DeValk et al., 2001; Jacquet et al., 1995). Οι ζωντανοί χοίροι θεωρήθηκε ότι εισήγαγαν το παθογόνο μέσα στην μονάδα επεξεργασίας.

Αν και είναι διαθέσιμα ελάχιστα επιδημιολογικά δεδομένα, έχουν αναφερθεί δύο ανθρώπινες περιπτώσεις λιστερίωσης σε νεογνά, που συσχετιζόνταν με έμμεση επαφή με χοίρους (Smyth & Bamford, 1988). Ενναλακτικά, μπορεί να αντανakλούν την έκθεση σε μια κοινή πηγή μόλυνσης.

### 3.3 Η *L.monocytogenes* στις αμυγδαλές χοίρων

Ο λεμφοειδής ιστός των αμυγδαλών παίζει σημαντικό ρόλο στην ανοσολογική απάντηση του οργανισμού ενάντια σε διάφορα παθογόνα βακτήρια (Belz and Heath, 1996; Horter et al., 2003). Οι αμυγδαλές είναι σημαντικό μέσο εισόδου, πολλαπλασιασμού και ανάπτυξης ποικίλων μικροοργανισμών, στους ανθρώπους και τα ζώα, συμπεριλαμβανομένων και των χοίρων (Salles & Middleton, 2000). Ένα σύνολο ερευνών έχουν τονίσει την παρουσία, χωρίς εκδήλωση κλινικών συμπτωμάτων, διαφόρων βακτηρίων σε αυτές, όπως τα *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus suis*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* ή *Mycoplasma hyopneumoniae*, αλλά και ιών όπως ο ιός του αναπνευστικού και αναπαραγωγικού συνδρόμου του χοίρου, η κλασική γρίπη των χοίρων (Marois et al., 2008). Οι αμυγδαλές επίσης φιλοξενούν πληθυσμούς βακτηρίων όπως *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *E. coli* ή *Yersinia enterocolitica* (Swanenburg et al., 2001; Bucher et al., 2008). Η *L.monocytogenes* ενίοτε ανευρίσκεται στον εντερικό σωλήνα διαφόρων ζώων αλλά έχει απομονωθεί και από τις αμυγδαλές παχυνόμενων χοίρων (Autio et al., 2004). Οι αμυγδαλές επιμολύνουν το σφάγιο και το περιβάλλον του σφαγείου κατά την σφαγή (Fredriksson-Ahomaa et al., 2000).

Οι υπερώιες αμυγδαλές των χοίρων αποτελούνται από πολυάριθμες κρύπτες που εκτείνονται και διακλαδίζονται εκτεταμένα εντός του λεμφοειδούς ιστού. Το στρωματοποιημένο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο που καλύπτει την επιφάνεια του στοματοφάρυγγα είναι συνεχές, όμοιο με εκείνο που φέρει ο λαιμός των κρυπών. Ο λεμφοειδής ιστός εντός των κρυπών καλύπτεται από λεμφοεπιθήλιο. Απαρτίζεται από μη κερατινοποιημένα επιθηλιακά κύτταρα, κύτταρα M, κυπελλοειδή κύτταρα και πολλά ενδοεπιθηλιακά λεμφοειδή κύτταρα. Τα κύτταρα M διαθέτουν ποικίλη μορφολογία στην επιφάνεια τους, άλλα καλύπτονται από σχετικά κανονικές και καλά σχηματισμένες μικρολάχνες, ενώ άλλα διαθέτουν μακρόστενες μικρολάχνες που προέρχονται από ευρείες μεμβρανώδεις πτυχές (Belz & Heath, 1996).

Κατά την διάρκεια της σφαγής των χοίρων, το σφάγιο μπορεί να επιμολυνθεί από παθογόνους μικροοργανισμούς (Borch et al., 1996). Η διασταυρούμενη βακτηριακή μόλυνση κατά την διάρκεια της σφαγής είναι μια κρυφή, αόρατη διαδικασία, η οποία είναι δύσκολο να ελεγχθεί αποτελεσματικά. Ο γαστρεντερικός σωλήνας των χοίρων και τα γειτονικά σε αυτόν όργανα, θεωρούνται ως τα πιο επικίνδυνα για την επιμόλυνση του χοιρινού κρέατος κατά την σφαγή. Ο κίνδυνος που συνδέεται με τα λεμφοειδή όργανα είναι συγκριτικά μικρότερος, αν οι ιστοί δεν μετακινηθούν ή διανοιχθούν. Παρ'όλα αυτά, η μόλυνση κατά τον χειρισμό των λεμφαδένων και των αμυγδαλών, κατά την διάρκεια της επεξεργασίας των σφάγιων, παραβλέπεται, ιδιαίτερα εάν αυτά δεν εμφανίζουν παθολογοανατομικές αλλοιώσεις (Mann et al., 2015). Ενώ η απομάκρυνση των αμυγδαλών από το σφάγιο είναι απαραίτητη με βάση τον νόμο 854/2004 της Ευρωπαϊκής Ένωσης, υπάρχουν σφαγεία που δεν ακολουθούν την πρακτική αυτή. Η σημασία της απομάκρυνσης των αμυγδαλών κατά την σφαγή των χοίρων διαφαίνεται σε μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Ρουμανία, στην οποία συλλέχθηκαν δείγματα αμυγδαλών και σφάγιων από τα οποία δεν είχαν αφαιρεθεί οι αμυγδαλές. Μετά την μικροβιολογική ανάλυση των δειγμάτων βρέθηκε ότι στα σφάγια στα οποία παρέμειναν

οι αμυγδαλές, εμφανίζονται υψηλοί πληθυσμοί παθογόνων μικροοργανισμών, ανάμεσα σε αυτούς και η *L.monocytogenes* (Lärušan et al., 2012).

Σε μια έρευνα που έγινε στην Ελβετία, η *L.monocytogenes* απομονώθηκε στο 5,6 % των δειγμάτων αμυγδαλών, τα οποία συλλέχθηκαν από διάφορα σφαγεία. Επιπλέον έγινε ταυτοποίηση των ορότυπων του παθογόνου και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι από τα 28 στελέχη που απομονώθηκαν, το 57 % ανήκε στον ορότυπο 1/2a, το 25 % στον ορότυπο 4b και το 18% στον ορότυπο 1/2b. Οι ορότυποι αυτοί έχουν συνδεθεί στο παρελθόν με εξάρσεις της ασθένειας σε ανθρώπους και έτσι φαίνεται ότι οι αμυγδαλές μπορούν να αποτελέσουν κίνδυνο για την δημόσια υγεία, αν δεν ακολουθούνται σωστές πρακτικές υγιεινής κατά την σφαγή (Sarno et al., 2015). Στην Φινλανδία οι Autio et al., 2004 συγκέντρωσαν δείγματα αμυγδαλών από παχυνόμενους χοίρους και χοιρομητέρες. Η *L monocytogenes* απομονώθηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό στους παχυνόμενους χοίρους (22%) σε σχέση με τις χοιρομητέρες (6 %). Συνολικά 14 % των σφάγιων χοίρων που εξετάστηκαν έφεραν το μικρόβιο στις αμυγδαλές τους. Ποσοστά φορέων της *L.monocytogenes* στις αμυγδαλές έχουν αναφέρει οι Buncic et al., 1991 στην Γιουγκοσλαβία (45 %) και οι Kanuganti et al., 2002 (7%).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup>

### Η *L.monocytogenes* στο χοιρινό κρέας

#### 4.1 Η *L.monocytogenes* στο περιβάλλον επεξεργασίας

Η παρουσία της *L. monocytogenes* στα σφαγεία και στις μονάδες επεξεργασίας κρέατος έχει συσχετιστεί με περιβαλλοντική αποίκιση του παθογόνου, λόγω της ικανότητας του να προσαρμόζεται και να επιβιώνει ακόμα και σε “καθαρό” εξοπλισμό και χώρους (Lunden et al., 2000). Όμως η *L. monocytogenes* μπορεί να εισέλθει μέσα στο περιβάλλον επεξεργασίας, μέσω των μολυσμένων ζώων, του ωμού κρέατος, αλλά και ενδιάμεσων προϊόντων που προέρχονται από τους προμηθευτές (Boerlin & Piffaretti 1991; Gill & Jones, 1995; Fenlon et al., 1996; Nesbakken et al., 1996; Sammarco et al., 1997).

Γενικά, η κύρια πηγή της μόλυνσης των τροφίμων από την *L.monocytogenes* φαίνεται να είναι το περιβάλλον επεξεργασίας (Kathariou, 2002).

Πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι τα στελέχη του παθογόνου που απομονώνονται πιο συχνά από μονάδες επεξεργασίας κρέατος ανήκουν στους ορότυπους 1/2a, 1/2b και 1/2c (Jay, 1996; Chasseignaux et al., 2002; Thevenot et al., 2005b). Έχουν απομονωθεί και οι ορότυποι 4b και 4e σε εργοστάσια επεξεργασίας κρέατος στην Γαλλία (Thevenot et al., 2005b).

Διαφορετικές μοριακές τεχνικές έχουν δείξει ότι οι γενότυποι των στελεχών που απομονώνονται από μονάδες επεξεργασίας χοιρινού κρέατος εμφανίζουν μεγάλη ποικιλομορφία (Chasseignaux et al., 2001; Lundén et al., 2003a,b; Martinez et al., 2003; Thevenot et al., 2006). Η ποικιλομορφία αυτή των στελεχών που απομονώνονται από τις επιφάνειες κατά την επεξεργασία αλλά και τα ίδια τα προϊόντα, δείχνει είτε μια συνεχή μόλυνση από τις πρώτες ύλες ή την ανθεκτικότητα κάποιων στελεχών παρά τις διαδικασίες καθαρισμού και απολύμανσης. Οι Lundén et al., 2003a,b και Thevenot et al., 2006 ανέφεραν την παρουσία παροδικών (σποραδικών) αλλά και μόνιμων (επίμονων) στελεχών, στις μονάδες επεξεργασίας κρέατος. Η *L.monocytogenes* δύναται να εγκατασταθεί στο περιβάλλον επεξεργασίας και να επιβιώσει για μεγάλο χρονικό διάστημα. Οι Giannaccì et al., 1999 και Lundén et al., 2002 ανέφεραν την επιβίωση του παθογόνου για περισσότερο από ένα χρόνο σε δυο μονάδες επεξεργασίας χοιρινού κρέατος και για 3 χρόνια σε μια μηχανή λείανσης κρέατος.

Η *L.monocytogenes* προσκολλάται στις αδρανείς επιφάνειες που βρίσκονται μέσα στο περιβάλλον επεξεργασίας των τροφίμων, αν και υπάρχουν διαφορές τόσο στην έκταση όσο και στον ρυθμό προσρόφησης ανάλογα με τον τύπο της επιφάνειας, την προεπεξεργασία, τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τους βακτηριακούς ορότυπους (AFSSA, 2000). Οι βιομεμβράνες αναπτύσσονται ως αποτέλεσμα τόσο της προσρόφησης όσο και της προσκόλλησης των ελεύθερων κυττάρων και της συνεχιζόμενης ανάπτυξης των κυττάρων μέσα στην μήτρα της βιομεμβράνης.

Η *L.monocytogenes* μπορεί να ενσωματωθεί σε μια βιομεμβράνη, αν και οι Chae & Schraft, 2000 κατέδειξαν ότι όλα τα στελέχη της *L. monocytogenes* δεν διαθέτουν την ίδια ικανότητα ανάπτυξης μέσα σε μια ώριμη βιομεμβράνη. Οι ίδιοι συγγραφείς ανέφεραν ότι ο ρυθμός πολλαπλασιασμού των ελεύθερων κυττάρων του παθογόνου διέφερε σε σχέση με τα κύτταρα που βρίσκονταν σε βιομεμβράνες και πρότειναν ότι η συμπεριφορά ανάπτυξης επηρεαζόταν ανάλογα με τα μέσα ανάπτυξης. Οι Kalmokoff et al., 2001 δεν βρήκαν σημαντικές διαφορές στους ρυθμούς προσρόφησης διαφορετικών στελεχών, αλλά παρατήρησαν διαφορές στην ικανότητα προσκόλλησης και σχηματισμού βιομεμβρανών. Τα στελέχη με έντονη ικανότητα προσκόλλησης παρήγαγαν ινίδια, τα οποία απουσιάζαν από στελέχη με μειωμένη ικανότητα προσκόλλησης (Vatanyoopaisatn et al., 2000). Οι Norwood & Gilmour, 2000 εξέτασαν 111 στελέχη της *L.monocytogenes* και ανακάλυψαν ότι ο ορότυπος 1/2c εμφάνιζε μεγαλύτερη προσκόλληση στο ανοξείδωτο ατσάλι σε σχέση με άλλους ορότυπους σε χρονικό διάστημα 24 ωρών. Οι Lundén et al., 2000 επίσης παρατήρησαν διαφορές στην προσρόφηση ανάμεσα σε μόνιμα και παροδικά στελέχη, σε ένα μοντέλο επιφάνειας από ανοξείδωτο ατσάλι. Στελέχη τα οποία ανήκαν στον ορότυπο 1/2c εμφάνιζαν τον μεγαλύτερο βαθμό προσρόφησης.

Μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Autio et al., 2003 σε 11 μονάδες επεξεργασίας τροφίμων κατέδειξε ότι κάποια στελέχη έχουν μεγαλύτερη ικανότητα επίμονης μόλυνσης των χώρων επεξεργασίας σε σχέση με άλλα στελέχη. Οι συγγραφείς υπέθεσαν ότι τα στελέχη αυτά, προσαρμόζονται μέσω φυσικής επιλογής. Όμως οι Lundén et al., 2003a,b παρατήρησαν αρκετά στελέχη τα οποία ήταν μόνιμα σε ένα εργοστάσιο αλλά όχι σε άλλο, τονίζοντας έτσι την πολυπλοκότητα της παροδικής και επίμονης μόλυνσης. Οι συγγραφείς όμως δήλωσαν ότι αν συλλέγονταν επιπλέον δείγματα, κάποια από τα παροδικά στελέχη, μπορεί να απομονώνονταν πιο συχνά, και έτσι να κατηγοριοποιούνταν ως επίμονα.

## 4.2 Η *L.monocytogenes* στα σφάγια χοίρου και το χοιρινό κρέας

Η *L.monocytogenes* συναντάται συχνά στο ωμό χοιρινό κρέας (Norrung et al., 1999), αλλά η προέλευση της μόλυνσης είναι άγνωστη. Η *L.monocytogenes* ενίοτε έχει απομονωθεί από κόπρανα και δέρμα, υποθετικά υγιών χοίρων (Skovgaard and Norrung, 1989). Ο μικροοργανισμός θεωρείται ότι φιλοξενείται στον εντερικό σωλήνα : η παρουσία της σε δείγματα κοπράνων κυμαίνεται από 0% έως 47%, με τα πιο υψηλά ποσοστά να αναφέρονται στην Ανατολική Ευρώπη (Felon et al., 1996). Πρακτικές αναπαραγωγής οι οποίες περιλαμβάνουν διατροφή με ξηρή τροφή ή φρέσκο χόρτο, όπως και η εκτροφή σε κλειστούς χώρους αλλά και η διατήρηση κοπαδιών ελεύθερων από συγκεκριμένα παθογόνα, μπορεί να είναι οι παράγοντες στους οποίους οφείλεται η μεγάλη διακύμανση στις αναφερόμενες συχνότητες εμφάνισης του παθογόνου σε υγιείς χοίρους ανά τον κόσμο (Felon et al., 1996).

Τα σφάγια μολύνονται κατά την διάτρηση του παχέος εντέρου στο στάδιο του εκσπλαγχιισμού (Skovgaard & Norrung, 1989). Παρ'όλα αυτά οι Kanuganti et al., 2002, ανίχνευαν το παθογόνο μόνο στο 4 % των σφάγιων, αλλά καθόλου στα κόπρανα των

ζώων πριν την σφαγή. Αυτό μπορεί να οφείλεται, στο γεγονός ότι κάποια σφαγεία, εκκενώνουν το ορθό πριν τον εκσπλαχνισμό και έτσι μειώνουν τα περιεχόμενα του ορθού, άρα και το ποσοστό επιμόλυνσης του σφάγιου. Συγγραφείς έχουν προτείνει ότι η *L.monocytogenes* που ανιχνεύεται σε σφάγια, δεν είναι πάντα κοπρανόδους προέλευσης. Οι Bunčić et al., 1991 έδειξαν ότι οι χοίροι είναι πιο πιθανό, να φιλοξενούν το παθογόνο στις αμυγδαλές τους, παρά να το απεκκρίνουν με τα κόπρανα τους.

Οι Autio et al., 2000 βρήκαν ότι από τα δείγματα που συλλέχθηκαν από σφαγεία, το παθογόνο ανιχνεύθηκε στο 14 % των γλωσσών χοίρων και στο 12 % των αμυγδαλών. Οι Kanuganti et al., 2002 κατέδειξαν ότι η *L.monocytogenes* ανιχνεύεται πιο εύκολα σε ομογενοποιημένα δείγματα αμυγδαλών σε σχέση με ξέσματα αμυγδαλών που συλλέχθηκαν στην εκτροφή (3% των δειγμάτων). Η αναφερόμενη παρουσία της *L.monocytogenes* στις αμυγδαλές κυμαίνεται από 0% έως 61%; η διακύμανση αυτή ίσως να οφείλεται στις διαφορετικές τεχνικές δειγματοληψίας ή/και σε διαφορετικές μεθόδους διαχείρισης των εκτροφών (Felon et al., 1996).

Οι Autio et al., 2000 ανέφεραν ότι τα ποσοστά παρουσίας του παθογόνου διέφερε ανάμεσα στα σφαγεία. Ακόμα το επίπεδο μόλυνσης των σπλάχνων (γλώσσα, οισοφάγος, τραχεία, πνεύμονες, καρδιά, διάφραγμα, νεφροί και ήπαρ) ήταν ιδιαίτερα υψηλό (64%). Υπέθεσαν ότι η *L.monocytogenes* εξαπλώθηκε μέσω της επαφής των αμυγδαλών και της γλώσσας με τα υπόλοιπα σπλάχνα και το σφάγιο, κατά το στάδιο του εκσπλαχνισμού. Ακόμα οι Kanuganti et al., 2002 απομόνωσαν την *L.monocytogenes* πιο συχνά στο χοιρινό κρέας (45–50,2% των δειγμάτων) σε σχέση με τους ιστούς (0,8–2,4% των δειγμάτων) πρόσφατα σφαγμένων χοίρων ή το λεπτό έντερο (8,3–9,3% των δειγμάτων). Μια εκτενής έρευνα των επιπέδων επιμόλυνσης του κρέατος, στο περιβάλλον επεξεργασίας, έδειξε ότι η ψύξη και η κοπή του κρέατος, αύξανε σημαντικά την επιμόλυνση του χοιρινού κρέατος (Nesbakken et al., 1996), ενώ οι Van der Elzen & Snijders, 1993 υποστήριξαν ότι η περιβαλλοντική επικράτηση του παθογόνου στους χώρους ψύξης και κοπής ανέρχεται σε 71 με 100%. Τα παραπάνω ευρήματα υποδηλώνουν ότι η επεξεργασία μετά την σφαγή είναι σημαντική πηγή επιμόλυνσης του χοιρινού κρέατος, και ότι η επιμόλυνση ενισχύεται στους χώρους ψύξης και κοπής (Nesbakken et al., 1996). Έρευνες που χρησιμοποίησαν PFGE για την απομόνωση στελεχών *Listeria*, από ωμό κρέας και επιφάνειες εργασίας κατά την επεξεργασία, κατέδειξαν ότι το ωμό χοιρινό κρέας δύναται να μολύνει το περιβάλλον επεξεργασίας. Στην συνέχεια, ο μολυσμένος εξοπλισμός μπορεί να επιμολύνει το κρέας κατά την διάρκεια της επεξεργασίας (Giovannacci et al., 1999, Thevenot et al., 2004).

Το κρέας επιμολύνεται συνήθως από τους ορότυπους 1/2a, 1/2b και 1/2c (Hof & Rocourt, 1992). Το ίδιο ισχύει και για το ωμό χοιρινό κρέας (Thevenot et al., 2005b). Οι περισσότερες περιπτώσεις λιστερίωσης είναι σποραδικές και αφορούν τους ορότυπους 1/2a και 1/2b (Schuchat et al., 1991). Η παρουσία και επικράτηση του 1/2a και λιγότερο του 1/2b στις μονάδες επεξεργασίας κρέατος, μπορεί να αποτελέσει πηγή σποραδικών περιστατικών της ασθένειας. Βρέθηκε ότι στελέχη του ορότυπου 4b στο ωμό χοιρινό κρέας, εισήλθαν σε εργοστάσια κρεάτων delicatessen στην Γαλλία (Thevenot et al. 2005b). Όμως οι Giovannacci et al., 1999 δεν βρήκαν το συγκεκριμένο στέλεχος σε μονάδες σφαγής και κοπής χοιρινού κρέατος. Σε οποιαδήποτε περίπτωση, είναι ένας

σημαντικός κίνδυνος για την δημόσια υγεία, εφόσον ο ορότυπος 4b είναι υπεύθυνος για την πλειοψηφία των εξάρσεων λιστερίωσης στην Γαλλία (Goulet et al., 1998).

### 4.3 Η *L.monocytogenes* στα προϊόντα χοιρινού κρέατος

Τα προϊόντα κρέατος μπορούν να επιμολυνθούν από την *L.monocytogenes* σε διαφορετικά στάδια της παραγωγικής διαδικασίας. Αιτίες επιμόλυνσης των τελικών προϊόντων είναι οι μολυσμένες πρώτες ύλες σε συνδυασμό με την ανικανότητα της παραγωγικής διαδικασίας, να δώσει ένα τελικό προϊόν απαλλαγμένο μικροβίων ή μέσω της επαφής με μη επεξεργασμένες πρώτες ύλες, με ακάθαρτες επιφάνειες και προσωπικό (Samelis et al., 1998; Chasseignaux et al., 2001). Η κακή υγιεινή του προσωπικού, συμπεριλαμβανομένων απλών διαδικασιών όπως το πλύσιμο των χεριών, έχουν αναγνωριστεί ως τρόπος μετάδοσης παθογόνων (AFSSA, 2000). Η διασταυρούμενη μόλυνση μπορεί να συμβεί σε οποιοδήποτε στάδιο από την μονάδα επεξεργασίας μέχρι την κουζίνα του καταναλωτή (Reij & De Aantrekker, 2004). Η μόλυνση των προϊόντων στο σπίτι συμβαίνει όταν χρησιμοποιούνται τα ίδια σκεύη (πάγκοι κοπής, μαχαίρια) για την αρχική προετοιμασία ωμών τροφίμων και στην συνέχεια την προετοιμασία στείρων τροφίμων (μαγειρεμένα ή επεξεργασμένα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα) (AFSSA, 2000).

Μέχρι τώρα, έχουν υπάρξει σποραδικές πληροφορίες για την παρουσία της *L.monocytogenes* στα μεταποιημένα προϊόντα με βάση το χοιρινό κρέας. Πρώτον, γιατί η μόλυνση μπορεί να συμβεί μετά την επεξεργασία, στην οικιακή κουζίνα (AFSSA, 2000). Δεύτερον, πολλά προϊόντα με βάση το κρέας είναι προϊόντα ειδικού τύπου, τα οποία είναι συγκεκριμένα μιας περιοχής ή χώρας.

Παρ'όλα αυτά, πολλές έρευνες έχουν τεκμηριώσει την παρουσία της *L.monocytogenes* σε μεταποιημένα προϊόντα ωμού χοιρινού κρέατος. Στην Ιαπωνία οι Inoue et al., 2000 παρατήρησαν ότι 20,6% των δειγμάτων χοιρινού κιμά ήταν επιμολυσμένα με τους ορότυπους 1/2a και 1/2b. Στις ΗΠΑ, το 22,9% των προϊόντων χοιρινού κρέατος και λουκάνικων ήταν επιμολυσμένα με το παθογόνο (Duffy et al., 2001). Η *L.monocytogenes* βρέθηκε στο 10,6 % και στο 10% των αποξηραμένων ωμών λουκάνικων στην Χιλή (Cordano & Rocourt, 2001) και στην Γαλλία (Thevenot et al., 2005b) αντίστοιχα.

Σε μια έρευνα που αφορούσε τα προϊόντα μαγειρεμένου χοιρινού κρέατος και πραγματοποιήθηκε από τις Γαλλικές Υπηρεσίες Ελέγχου Υγιεινής το χρονικό διάστημα από το 1993 έως το 1996, βρέθηκε ότι το 16% της γλώσσας, 9% του πατέ, 11,7 % των ριγιέτ (rillettes), το 6,02% του σαλαμιού και 13,1 % του χοιρομερίου, τα οποία συλλέχθηκαν και εξετάστηκαν, ήταν μολυσμένα με το παθογόνο. Επίσης το 1%, 1%, 1,7%, 0,2% και 1,1% των μολυσμένων προϊόντων, αντίστοιχα, έφεραν πληθυσμούς του παθογόνου πάνω από 10 CFU g<sup>-1</sup> (DGCCRF, 1996).



Όπως και με το ωμό χοιρινό κρέας, οι ορότυποι 1/2a, 1/2c και 1/2b είναι οι πιο κοινοί στα μεταποιημένα προϊόντα με βάση το χοιρινό κρέας (Jay, 1996), ενώ ο ορότυπος 4b είναι σπάνιος (Greenwood et al., 1991; Hayes et al., 1991). Παρ'όλα αυτά απομονώθηκαν από τους Thevenot et al., 2006, σε δύο εργοστάσια επεξεργασίας χοιρινού κρέατος στην Γαλλία, πολλά στελέχη του ορότυπου 4b, που είχαν τους ίδιους τύπους PFGE με το στέλεχος αναφοράς ορότυπου 4b (CIP 78·38). Επιπλέον 45 στελέχη (που συλλέχθηκαν κυρίως από ένα εργοστάσιο) μοιράζονταν σχεδόν ταυτόσημα προφίλ PFGE με ένα στέλεχος της *L.monocytogenes* που απομονώθηκε από μια ανθρώπινη κλινική περίπτωση λιστερίωσης (CIP 105550). Η ομοιότητα των προφίλ υποδηλώνει ότι τα στελέχη είναι συγγενή. Οι Martinez et al., 2003 βρήκαν επίσης τους ίδιους τύπους PFGE μεταξύ στελεχών που απομονώθηκαν από μια περίπτωση ανθρώπινης λιστερίωσης και μιας εταιρείας επεξεργασίας κοτόπουλων. Η παρουσία στελεχών 4b στη βιομηχανία κρέατος μπορεί να προκαλέσει σποραδικές περιπτώσεις ή μια έξαρση λιστερίωσης, ιδιαίτερα εάν τα τρόφιμα καταναλώνονται από άτομα που ανήκουν στις ευπαθείς ομάδες πληθυσμού.

## **ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## **2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.1 Συλλογή Δειγμάτων**

Το χρονικό διάστημα από τον Απρίλιο έως τον Μάιο του 2017, συλλέχθηκαν 58 δείγματα αμυγδαλών από σφάγια χοίρων, των οποίων η σφαγή πραγματοποιήθηκε σε βιομηχανικά σφαγεία στην περιοχή της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας. Τα δείγματα συλλέχθηκαν σε 4 δειγματοληψίες (2 τον Απρίλιο και 2 τον Μάιο), με την μεθοδολογία που περιγράφεται από τους M. Fredriksson-Ahomaa et al., 2009. Συνοπτικά το πρώτο δείγμα λαμβάνονταν 5 λεπτά μετά τον εκσπλαχνισμό του πρώτου χοίρου στην γραμμή σφαγής και στην συνέχεια λαμβάνονταν κάθε 5 λεπτά από σφάγιο μετά τον εκσπλαχνισμό του. Οι αμυγδαλές λαμβάνονταν με άσηπτο τρόπο και τοποθετούνταν σε αποστειρωμένες σακούλες stomacher. Στην συνέχεια τα δείγματα μεταφέρονταν υπό ψύξη στο Εργαστήριο Υγιεινής Τροφίμων του Τμήματος Κτηνιατρικής του Π.Θ την ημέρα της δειγματοληψίας.

### **2.2 Μικροβιολογική Ανάλυση**

Από κάθε δείγμα αμυγδαλών λαμβάνονταν 10 γραμμάρια με άσηπτο τρόπο. Στην συνέχεια το δείγμα τοποθετούνταν σε σακούλα stomacher με προσθήκη ποσότητας 90 mL πεπτονόχου ύδατος (BPW-Buffered Peptone Water). Ακολούθως, τα δείγματα ομογενοποιούνταν σε συσκευή Stomacher για 2 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Μετά την ομογενοποίηση 1 mL του ομογενοποιημένου δείγματος ενοφθαλμιζόταν σε 9 mL Fraser Broth, το οποίο επώαστηκε στους 37 °C για 24 ώρες. Μετά την επώαση 100 μL από τον εκλεκτικό ζωμό ενοφθαλμίστηκε σε εκλεκτικό υπόστρωμα *Listeria* agar (Merck, Germany). Το εκλεκτικό υπόστρωμα επώαστηκε στους 37 °C για 24 ώρες. Η επιβεβαίωση των ύποπτων αποικιών έγινε με την χρήση ορολογικών μεθόδων.

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Εξετάστηκαν συνολικά 58 δείγματα αμυγδαλών από σφάγια χοίρων από βιομηχανικά σφαγεία στην περιοχή της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας και σε 14 από αυτά (24,15 %) ανιχνεύθηκε η παρουσία *Listeria* spp.

Αναλυτικά, από τα 14 δείγματα αμυγδαλών που απομονώθηκε *Listeria* spp., στα 9 δείγματα απομονώθηκε *L.monocytogenes* (64,3%) και σε 5 *L. innocua* (35,7%). Στο σύνολο των 58 δειγμάτων τα οποία εξετάστηκαν, η *L.monocytogenes* βρέθηκε στο 15,52% και η *L. innocua* στο 8,62%.

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

	Αριθμός δειγμάτων θετικών στην παρουσία	(%) σε σύνολο 77 δειγμάτων
<i>Listeria</i> spp.	14	24,15%
<i>L. monocytogenes</i>	9	15,5%
<i>L. innocua</i>	5	8,62%

Όσον αφορά την παρουσία της *L. monocytogenes* σε δείγματα αμυγδαλών από σφάγια χοίρων, περιορισμένος αριθμός ερευνών έχουν δημοσιευτεί μέχρι σήμερα.

Ανάλογα αποτελέσματα με την παρούσα εργασία αναφέρονται από τους Autio et al., 2004 οι οποίοι εξέτασαν 271 δείγματα αμυγδαλών από χοίρους σε 5 σφαγεία στη Φινλανδία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το παθογόνο απομονώθηκε στο 14% των δειγμάτων που εξετάστηκαν. Επίσης, στη μελέτη απομονώθηκε *L.innocua* σε ποσοστό 4% των δειγμάτων.

Ομοίως, οι Weindl et al., 2016 απομόνωσαν τη *L.monocytogenes* σε 7 δείγματα αμυγδαλών από αγριόχοιρους σε σύνολο 49 δειγμάτων που εξετάστηκαν (14,3%) στη Γερμανία και την Αυστρία.

Σε μια άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Sanna et al., 2010 στη Φινλανδία, εξετάστηκαν 424 δείγματα αμυγδαλών τόσο σε επίπεδο εκτροφής, όσο και στο σφαγείο. Τα δείγματα προέρχονταν από χοίρους από συμβατικές, αλλά και βιολογικές εκτροφές. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το παθογόνο απομονώθηκε από το 24 % των δειγμάτων που εξετάστηκαν, σε αρκετά υψηλότερο ποσοστό σε σχέση με τη δική μας έρευνα.

Οι ερευνητές αναφέρουν ότι τα ποσοστά απομόνωσης του παθογόνου ήταν σημαντικά υψηλότερα στα δείγματα που προέρχονταν από ζώα από βιολογικές εκτροφές, ενώ στη δική μας μελέτη κανένα από τα δείγματα που εξετάστηκαν δεν προέρχονταν από βιολογικές εκτροφές.

Οι Sarno et al., 2016 εξετάσαν 504 δείγματα αμυγδαλών από παχυνόμενους χοίρους από σφαγεία στην Ελβετία για την παρουσία της *L.monocytogenes*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το παθογόνο βρέθηκε σε 28 δείγματα (5,6%), ποσοστό χαμηλότερο από την παρούσα εργασία.

Στην παρούσα εργασία, τα 55 από τα 58 δείγματα αμυγδαλών που εξετάστηκαν ήταν από παχυνόμενους χοίρους και τα υπόλοιπα 3 από χοιρομητέρες. Τα 8 από τα 55 δείγματα από παχυνόμενους χοίρους βρέθηκαν θετικά στην παρουσία της *L.monocytogenes* (14,55%) και το 1 στα 3 δείγματα από χοιρομητέρες. Υψηλότερα ποσοστά αναφέρονται από τους Autio et al., 2004 οι οποίοι εξέτασαν 132 δείγματα αμυγδαλών από παχυνόμενους χοίρους σε 5 σφαγεία στη Φινλανδία και το 22% βρέθηκε θετικό στην παρουσία της *L. monocytogenes*. Το αντίστοιχο ποσοστό σε 139 δείγματα από χοιρομητέρες ήταν 6%.

Η απομόνωση της *L. monocytogenes* σε ποσοστό 15,5 % από τις αμυγδαλές σφάγιων χοίρων είναι ιδιαίτερης σημασίας για τη δημόσια υγεία. Το 2013 καταγράφηκαν 1763 κρούσματα λιστερίωσης σε ανθρώπους στην Ευρωπαϊκή Ένωση (EFSA, 2015) με αποτέλεσμα να είναι η 5<sup>η</sup> συχνότερη ζωοανθρωπονόσος. Όμως, ήταν η ζωοανθρωπονόσος με το υψηλότερο ποσοστό κρουσμάτων που απαιτήθηκε νοσοκομειακή περίθαλψη > 99% και θανάτων 15,6% των περιστατικών, τα οποία καταγράφηκαν (EFSA, 2015). Οι Sarno et al., 2016 σε 504 δείγματα αμυγδαλών από παχυνόμενους χοίρους από σφαγεία στην Ελβετία βρήκαν τη *L.monocytogenes* σε ποσοστό 5,6%. Τα στελέχη του παθογόνου μικροοργανισμού που απομονώθηκαν βρέθηκε ότι είναι κοινά με αυτά που απομονώνονται από περιστατικά λιστερίωσης στον άνθρωπο.

Πρέπει να σημειωθεί ότι δεν υπάρχει νομοθετική πρόβλεψη για τα σφάγια των χοίρων σε σχέση με τη *L.monocytogenes*, όμως η παρουσία της στα σφάγια επιτρέπει την είσοδο της στη διατροφική αλυσίδα. Ταυτόχρονα, παρουσιάζει ιδιαίτερη σημασία για τη δημόσια υγεία ότι η *L.monocytogenes* είναι ψυχρότροφος μικροοργανισμός με αποτέλεσμα να μπορεί να αναπτυχθεί σε θερμοκρασίες ψύξης.

#### 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν συνολικά 58 δείγματα αμυγδαλών από σφάγια χοίρων από βιομηχανικά σφαγεία στην περιοχή της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας και σε 14 από αυτά (24,15 %) ανιχνεύθηκε η παρουσία *Listeria spp.*

Τα αποτελέσματα της ταυτοποίησης έδειξαν ότι σε 9 από τα 58 δείγματα (15,52%) απομονώθηκε *L. monocytogenes* και σε 5 (8,62%) απομονώθηκε *L. innocua*.

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

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### ΞΕΝΗ

1. AFSSA. (2000). "Rapport de la Commission D'étude des Risques liés à *Listeria monocytogenes*". <https://www.anses.fr/fr>. Προσπέλαση την 13/05/2017.
2. Alexander, A. V., Walker, R. L., Johnson, B. J., Charlton, B. R., Woods, L. W. (1992). "Bovine abortions attributable to *Listeria ivanovii*: four cases (1988-1990)". **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 200, 711-4.
3. Allerberger, F., Wagner, M. (2010) "*Listeriosis: a resurgent foodborne infection*". **Clin Microbiol Infect**, 2010; 16:16.
4. Anon. (1992). "*Veterinary Investigation Diagnosis Analysis III*". Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Central Veterinary Laboratory, Weybridge.
5. Armstrong, R. W., Fung, P. C. (1993). "Brainstem encephalitis (rhombencephalitis) due to *Listeria monocytogenes*: case report and review". **Clin Infect Dis** 1993; 16:689.
6. Autio, T., Markkula, A., Hellström, S., Niskanen, T., Lundén, J., Korkeala, H. (2004). "Prevalence and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* in the tonsils of pigs". **Journal of Food Protection**, 4, 805–808.
7. Autio, T., Sateri T., Fredriksson-Ahoma M., Rahko M., Lunden J., Korkeala H. (2000). "Listeria monocytogenes contamination pattern in pig slaughterhouses". **J Food Prot**, 63, 1438–1442.
8. Beams, R.E, Girard, K.F. (1958). "The effect of pasteurization on *Listeria monocytogenes*". **Can. J. Microbiol.**, 4, 55-61.
9. Beauregard, M., Malkin K.L. (1971). "Isolation of *Listeria Monocytogenes* from brain specimens of domestic animals in Ontario". **Can. Vet. Med. J.**, 12, 221-223.
10. Belz, G.T., Heath, T.J. (1996). "Tonsils of the soft palate of young pigs: crypt structure and lymphoepithelium". **Anatomy Researches**, 245, 102-113
11. Bennion, J.R., Sorvillo, F., Wise, M.E., Krishna, S., Mascola, L. (2008). "Decreasing listeriosis mortality in the United States, 1990-2005". **Clin Infect Dis**, 47, 867.
12. Beuchat, L.R., Brackett, R.E., Hao, D.Y.Y., Conner, D.E. (1986). "Growth and thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in cabbage and cabbage fruite". **Canadian Journal of Microbiology**, 32, 791-795
13. Bielecki, J., Youngman, P., Connelly, P., Portnoy, D. A. (1990). "*Bacillus subtilis* expressing a haemolysin gene from *Listeria monocytogenes* can grow in mammalian cells". **Nature**, 345, 175–176
14. Biester, H. E., Schwartz, L. H. (1939). "Studies on *Listerella* infection in sheep". **Journal of Infectious Diseases**, 64, 135-44.
15. Biester, H.E, Schwarte, L.H. (1940). "*Listerella* infection in swine". **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, 96, 339-342.
16. Bille, J. (2007) *Listeria* and *Erysipelothrix*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed., ASM Press, Washington, DC. pp. 474.
17. Blendon D.C (1986) *Listeriosis*. In *Diseases of Swine*, 6<sup>th</sup> ed., eds, A. D. Leman, B. Straw, R. D. Glock, W. I. Mengeling, R. H. C. Penny, E. Scholl. Ames: Iowa State University Press, pp. 584-590.
18. Blowey, R.W., Weaver, A.D. (1991) *A colour atlas of diseases and disorders of cattle*. London: Wolfe Publishing Ltd., pp. 136.

19. Bocklisch H., Wilhelms, D., Mirle, C., Lange, S., Kucken U. (1991). “*Listeria abortions in cattle: bacteriology, serology and epizootiology*”. **Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.** , 104, 307-313.
20. Boerlin, P., Piffaretti J. C. (1991). “*Typing of human, animal, food, and environmental isolates of Listeria monocytogenes by multilocus enzyme electrophoresis*”. **Applied and Environmental Microbiology**, 57, 1624–1629.
21. Bortolussi R. (2008). “*Listeriosis: a primer*”. **CMAJ**, 179, 795–797.
22. Buchanan, R. L., Stahl, H. G., Whiting, R. C. (1989). “*Effects and interactions of temperature, pH, atmosphere, sodium chloride and sodium nitrite on the growth of Listeria monocytogenes*”. **J. Food Prot.**, 52, 844-851.
23. Bucher, M., Meyer, C., Grotzbach, B., Wacheck, S., Stolle A., Fredriksson-Ahomaa M. (2008). “*Epidemiological data on pathogenic Yersinia enterocolitica in Southern Germany during 2000-2006*”. **Foodborne Pathog. Dis.**, 5, 273-280.
24. Büla, C. J., Bille, J., Glauser, M. P. (1995). “*An epidemic of food-borne listeriosis in western Switzerland: description of 57 cases involving adults*”. **Clin Infect Dis**, 20, 66.
25. Bunčić, S. (1991). “*The incidence of Listeria Monocytogenes in slaughtered animals, in meat and in meat products in Yugoslavia*”. **Int. J. Food Microbiol.** , 112, 173-180.
26. Bunčić, S., Paunovic, L., Radisic, D. (1991). “*The fate of Listeria monocytogenes in fermented sausages and in vacuum-packaged frankfurthers*”. **J. Food Prot.** , 54, 413–417.
27. Busch, R. H., Barnes, D. M., Sautier, J. M. (1971). “*Pathogenesis and pathologic changes of experimentally induced listeriosis in newborn pigs*”. **Am. J. Vet. Res.**, 32, 1313-1320.
28. Camilli, A., Goldfine, H., Portnoy, D. A. (1991). “*Listeria monocytogenes mutants lacking phosphatidylinositol-specific phospholipase C are avirulent*”. **J. Exp. Med.**, 173, 751–754.
29. Camilli, A., Tilney, L. G., Portnoy, D. A. (1993). “*Dual roles of plcA in Listeria monocytogenes pathogenesis*”. **Mol. Microbiol.**, 8, 43–157.
30. Carpenter, S. L., Harrison, M. A. (1988). “*Survival of Listeria monocytogenes on processed chicken*”. Institute of Food Technologists Annual Meeting, New Orleans. Abstract 170.
31. Carpentier, B., Cerf, O. (2011). “*Review - Persistence of Listeria monocytogenes in food industry equipment and premises*”. **International J. Food Microbiol.** , 145(1), 1-8.
32. CDC (1999). “*Listeriosis-General Information*”.  
[http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/listeriosis\\_g.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/listeriosis_g.htm). Προσπέλαση την 24/05/2017.
33. CDC (2009). “*Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food - 10 states*”. **MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.** 2010, 59, 418.
34. CDC (2011). “*Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Whole Cantaloupes from Jensen Farms*”, Colorado, Final report.  
<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/index.html>. Προσπέλαση την 24/05/2017.
35. CDC (2012). “*Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Imported Frescolina Marte Brand Ricotta Salata Cheese*”.



- <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-09-12/index.html>. Προσπέλαση την 24/05/2017.
36. CDC (2013). “*Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Crave Brothers Farmstead Cheeses*”.
- <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-07-13/index.html>. Προσπέλαση την 24/05/2017.
37. CDC (2014a). “*Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Commercially Produced, Prepackaged Caramel Apples*”.
- <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/caramel-apples-12-14/index.html>. Προσπέλαση την 24/05/2017.
38. CDC (2014b). “*Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Roos Foods Dairy Products*”.
- <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-02-14/index.html>. Προσπέλαση την 24/05/2017.
39. CDC (2015a). “*Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Commercially Produced, Prepackaged Caramel Apples Made from Bidart Bros. Apples*”. (Final Update).
- <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/caramel-apples-12-14/>. Προσπέλαση την 24/05/2017.
40. CDC (2015b). “*Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Blue Bell Creameries Products*”. (Final Update).
- <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/ice-cream-03-15/>. Προσπέλαση την 24/05/2017.
41. Chae, M. S., Schraft, H. (2000). “*Comparative evaluation of adhesion and biofilm formation of different Listeria monocytogenes strains*”. **Int. J. Food. Microbiol.** , 62, 103–111.
42. Chao, G., Deng, Y., Zhou, X., Xu, Q., Qian, X., Zhou, L., Zhu, B. (2006). “*Prevalence of Listeria monocytogenes in delicatessen food products in China*”. **Food Control.** , 17, 971–974.
43. Charlton, K. M., Garcia, M. M. (1977). “*Spontaneous listeric encephalitis and neuritis in sheep, light microscopy studies*”. **Veterinary Pathology**, 14, 297-313.
44. Chasseignaux, E., Gerault, P., Toquin, M., Salvat, G., Colin, P., Ermel, G. (2002). “*Ecology of Listeria monocytogenes in the environment of raw poultry meat and raw pork meat processing plants*”. **FEMS Microbiol. Lett.** , 210, 271–275.
45. Chasseignaux, E., Toquin, M. T., Ragimbeau, C., Salvat, G., Colin, P., Ermel, G. (2001). “*Molecular epidemiology of Listeria monocytogenes isolates collected from the environment, raw meat and raw products in two poultry- and pork processing plants*”. **J. Appl. Microbiol.**, 91, 888–899.
46. Chen, B. Y., Pyla, R., Kim, T. J., Silva, J. L., Jung, Y. S. (2010). “*Prevalence and contamination patterns of Listeria monocytogenes in catfish processing environment and fresh fillets*”. **Food Microbiol.** , 27, 645–652.
47. Collins, M. D., Wallbanks, S., Lane, D. J., Shah, J., Nietupskin, R., Smida J., Dorsch, M., Stackebrandt, E. (1991). “*Phylogenetic Analysis of the Genus Listeria Based on Reverse Transcriptase Sequencing of 16S rRNA*”. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.** , 41, 240–246.
48. Cordano, A. M., Jacquet, C. H. (2009). “*Listeria monocytogenes isolated from vegetable salads sold at supermarkets in Santiago, Chile: Prevalence and strain characterisation*”. **International Journal of Food Microbiology**, 132, 176–179.

49. Cordano, A. M., Rocourt, J. (2001). "Occurrence of *Listeria monocytogenes* in food in Chile". *Int. J. Food Microbiol.*, 70, 175–178.
50. Cordy, D. R., Osebold J. W. (1959). "The neuropathogenesis of *Listeria encephalomyelitis* in sheep and mice". *Journal of Infectious Diseases*, 104, 164-73.
51. Cossart, P., Mengaud, J. (1989). "*Listeria monocytogenes*. A model system for the molecular study of intracellular parasitism". *Mol. Biol. Med.*, 6, 463–474.
52. Cossart, P., Vicente, M. F., Mengaud, J., Baquero, F., Perez-Diaz, J. C., Berche, P. (1989). "*Listeriolysin O* is essential for virulence of *Listeria monocytogenes*: direct evidence obtained by gene complementation". *Infect. Immun.*, 57, 3629–3636.
53. Dabiri, G. A., Sanger, J. M., Portnoy, D. A., Southwick, F. S. (1990). "*Listeria monocytogenes* moves rapidly through the host-cell cytoplasm by inducing directional actin assembly". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 6068–6072
54. De Castro, V., Escudero, J. M, Rodriguez, J. L., Muniozguren, N., Uribarri, J., Saez, D., Vazquez, J. (2012). "Listeriosis outbreak caused by Latin-style fresh cheese, Bizkaia, Spain, August 2012". *Euro surveillance: European Communicable Disease Bulletin* 17 (42).
55. DeValk, H., Vaillant, V., Jacquet, C., Rocourt, J., LeQuerrec, F., Stainer, F., Quelquejeu, N., Pierre, O., Pierre, V., Desenclos, J. C., Goulet, V. (2001). "Two consecutive nationwide outbreaks of listeriosis in France, October 1999-February 2000". *Am. J. Epidemiol.*, 154, 944-950.
56. DGCCRF (1996). "Surveillance des Produits de Charcuterie de 1993 à 1996". <http://www.finances.gouv.fr/DGCCRF>. Προσπέλαση την 28/05/2017.
57. Doyle, M. P., Meske, L. M., Marth, E. H. (1985). "Survival of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and storage of nonfat dry milk". *Journal of Food Protection*, 48, 761-762.
58. Drevets, D. A., Sawyer, R. T., Potter, T. A., Campbell, P.A. (1995). "*Listeria monocytogenes* infects human endothelial cells by two distinct mechanisms". *Infect. Immun.*, 63, 4268.
59. Duffy, E. A., Belk, K. E., Sofos, J. N., Bellinger, G. R., Pape, A., Smith G. C. (2001). "Extent of microbial contamination in United States pork retail products". *J. Food. Prot.*, 64, 172–178.
60. Eckburg, P. B., Montoya, J. G., Vosti, K. L. (2001). "Brain abscess due to *Listeria monocytogenes*: five cases and a review of the literature". *Medicine (Baltimore)*, 80, 223.
61. Epstein, J. H., Price, J. T. (2009). "The significant but understudied impact of pathogen transmission from humans to animals". *Mt. Sinai. J. Med.*, 76(5), 448-55.
62. European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2016). "The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015". *EFSA Journal*, 14(12), 4634.
63. Farber, J. M., Peterkin P. I. (1991). "*Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen". *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 55 (3), 476–511.
64. Farber, J.M, Coates, F., Daley, E. (1992). "Minimum water activity requirements for the growth of *Listeria monocytogenes*". *Letters in Applied Microbiology*, 15, 103–105.

65. Farber, J. M., Sanders, G. W., Spiers, J. I. (1990). "Growth of *Listeria Monocytogenes* in naturally contaminated raw milk". **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie Lebensmittelwiss. Technol.**, 23, 252-4.
66. Fedio, W. M., Schoonderwoerd, M., Shute, R. H., Jackson, H. (1990). "A case of bovine mastitis caused by *Listeria Monocytogenes*". **Canadian Veterinary Journal**, 31,733-5.
67. Felon, D. R., Wilson, J., Donachie, W. (1996). "The incidence and level of contamination of *L. Monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing". **J. Appl. Bacteriol.**, 81, 641-650.
68. Fox, E., Hunt, K., O'Brien, M., Jordan, K. (2011). "*Listeria monocytogenes* in Irish Farmhouse cheese processing environments". **Int. J. Food Microbiol.** 145, Supplement.
69. Fredriksson-Ahomaa, M., Korte, T., Korkeala, H. (2000). "Contamination of carcasses, offals and the environment with *yadA*-positive *Yersinia enterocolitica* in a pig slaughterhouse". **Journal of Food Protection**, 63, 31–35.
70. Fredriksson-Ahomaa, M., Gerhardt, M., Stolle, A. (2009). "High Bacterial contamination of pig tonsils at slaughter", **Meat Science**, 83, 334-336.
71. Fretz, R., Pichler, J., Sagel, U., Much, P., Ruppitsch, W., Pietzka, A. T., Stöger, A., Huhulescu, S., Heuberger, S., Appl, G., Werber, D., Stark, K., Prager, R., Fliieger, A., Karpíšková, R., Pfaff, G., Allenberger, F. (2010). "Update: Multinational listeriosis outbreak due to 'Quargel', a sour milk curd cheese, caused by two different *L. monocytogenes* serotype 1/2a strains, 2009-2010". **Euro surveillance: European Communicable Disease Bulletin** 15(16), S39-S45.
72. Gaillard, J. L., Berche, P., Mounier, J., Richard, S., Sansonetti, P. (1987). "In vitro model of penetration and intracellular growth of *Listeria monocytogenes* in the human enterocyte-like cell line Caco-2". **Infect. Immun.**, 55, 2822–2829.
73. Gaillard, J. L., Berche, P., Sansonetti, P. (1986). "Transposon mutagenesis as a tool to study the role of hemolysin in the virulence of *Listeria monocytogenes*". **Infect. Immun.**, 52, 50–55.
74. Galvão, N. N., Chiarini, E., Destro, M. T., De Aguiar Ferreira, M., Nero, L. A. (2012). "PFGE characterisation and adhesion ability of *Listeria monocytogenes* isolates obtained from bovine carcasses and beef processing facilities". **Meat Sci.**, 9, 635-643.
75. Gambarin, P., Magnabosco, C., Losio, M. N., Pavoni, E., Gattuso, A., Arcangeli, G., Favretti, L. (2012). "*Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat seafood and potential hazards for the consumers". **Int. J. Microbiol.** 2012 :497635
76. Gandhi, A. J., Perussia, B., Goldfine, H. (1993). "*Listeria monocytogenes* phosphatidylinositol (PI)-specific phospholipase C has low activity on glycosyl-PI-anchored proteins". **J. Bacteriol.**, 175, 8014–8017.
77. Gandhi, M., Chikindas, M. L. (2007). "*Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive". **Int. J. Food Microbiol**, 113, 1-15.
78. Garrido, V., Vitas, A. I., García-Jalón, I. (2009). "Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products: prevalence by brands and retail establishments for exposure assessment of listeriosis in Northern Spain". **Food Control**, 20, 986–991.
79. Gates, G. A., Blenden, D. C., Kintner, L. D. (1967). "*Listeric myelitis* in sheep". **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 150, 2004.
- Gaze, J. E., Brown, G. D., Gaskell, D. E., Banks, J. G. (1989). "Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in non-dairy menstua". **Technical Memorandum No. 523**.

Campden Food and Drink Research Association, Chipping Campden, Gloucestershire, UK.

- 80. Geoffroy, C., Gaillard, J. L. Alouf, J. E., Berche, P.** (1987). "Purification, characterization and toxicity of the sulphhydryl-activated hemolysin listeriolysin O from *Listeria monocytogenes*". **Infect. Immun.**, 55, 1641–1646.
- 81. Geoffroy, C., Raveneau, J., Beretti, J. L., Lecroisey, A., Vazquez-Boland, J. A., Alouf, J. E., Berche, P.** (1991). "Purification and characterization of an extracellular 29-kilodalton phospholipase C from *Listeria monocytogenes*". **Infect. Immun.**, 59, 2382–2388.
- 82. Gill, C.O., Jones, T.** (1995). "The presence of *Aeromonas*, *Listeria* and *Yersinia* in carcass processing equipment at two pig slaughtering plants". **Food Microbiology**, 12, 135–141.
- 83. Gill, D. A.** (1931). "Circling" disease of sheep in New Zealand". **Veterinary Journal**, 87, 60-74.
- 84. Gill, D. A.** (1933). "Circling" disease: a meningoencephalitis of sheep in New Zealand". **Veterinary Journal**, 89, 258-70.
- 85. Gill, D. A.** (1937). "Ovine bacterial encephalitis (Circling Disease) and the genus *Listerella*". **Australian Journal**, 13, 46-56.
- 86. Gillespie, I. A., Mook, P., Little, C. L., Grant, K. A., McLauchlin, J.** (2010). "Human listeriosis in England, 2001-2007: association with neighbourhood deprivation". **Euro Surveillance** 2010, 15, 7.
- 87. Gilot, P., Genicot, A., Andre, P.** (1996). "Serotyping and esterase typing for analysis of *Listeria monocytogenes* populations recovered from foodstuffs and from human patients with listeriosis in Belgium". **J. Clin. Microbiol.**, 34, 1007-1010.
- 88. Giovannacci, I., Ragimbeau, C., Queguiner, S., Salvat, G., Vendevre, J. L., Carlier, V., Ermel, G.** (1991). "*Listeria monocytogenes* in pork slaughtering and cutting plants. Use of RAPD, PFGE and PCR-REA for tracing and molecular epidemiology". **Int. J. Food Microbiol.** , 53, 127–140.
- 89. Gitter, M.** (1985). *Listeriosis in farm animals in Great Britain*. In: C.H Collins, J. M. (Eds.), *Grange Isolation and identification of microorganisms of medical and veterinary importance*. London: Academic Press.
- 90. Gitter, M., Bradley, R., Blampied, P. H.** (1980). "*Listeria Monocytogenes* infection in bovine mastitis". **Veterinary Record**, 107, 390-3.
- 91. Gitter, M., Terlecki, S., Turnbull, P. A.** (1965). "An outbreak of visceral and cerebral listeriosis in a flock of sheep in south east England". **Veterinary Record**, 77, 11-5.
- 92. Goldfine, H., Johnston, N. C., Knob, C.** (1993). "Nonspecific phospholipase C of *Listeria monocytogenes*: activity on phospholipids in Triton X-100-mixed micelles and in biological membranes". **J. Bacteriol.**, 175, 4298–4306.
- 93. Goldfine, H., Knob, C.** (1992). "Purification and characterization of *Listeria monocytogenes* phosphatidylinositol-specific phospholipase C". **Infect. Immun.**, 60, 4059–4067.
- 94. Gombas, D. E., Chen, Y., Clavero, R. S., Scott, V.N.** (2003). "Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods". **J. Food Prot.**, 66, 559-569.
- 95. Gomez, D., Pilar Iguacel, L., Rota, M., Carraminana, J. J., Arino, A., Yanguela, J.** (2015). "Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Meat Products and Meat Processing Plants in Spain", **Foods**, 4, 271-282.

96. Goulet, C., Rocourt, J., Rebiere, I., Jacquet, C., Moyses, C., Dehaumont, P., Salvat G., Veit, P. (1998). "Listeriosis outbreak associated with the consumption of rillettes in France in 1983". *J. Infect. Dis.*, 177, 155–160.
97. Goulet, V. (2007). "What can we do to prevent listeriosis in 2006?". *Clin. Infect. Dis.*, 44, 529.
98. Graham, R. (1939). "Listeria encephalitis or encephalomyelitis in domestic animals". *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 95, 289-92.
99. Gray, M. L, Killinger A. H. (1966). "Listeria monocytogenes and Listeric infections". *Bacteriology Reviews*, 30 2, 309-82.
100. Gray, M. J., Zadoks, R. N., Fortes, E. D., Dogan, B., Cai, S., Chen, Y., Scott, V. N., Combas, D. E, Boor, K. J. ,Wiedmann, M.(2004). "Listeria monocytogenes Isolates from Foods and Humans Form Distinct but Overlapping Populations". *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (10), 5833–5841.
101. Greenwood, H., Roberts, D., Burden, P. (1991). "The occurrence of Listeria species in milk and dairy products: a national survey in England and Wales". *Int. J. Food Microbiol.* , 12, 197–206.
102. Gründling, A., Burrack, L. S., Bouwer, H. G. A., Higgins, D. E. (2004). "Listeria monocytogenes regulates flagellar motility gene expression through MogR, a transcriptional repressor required for virulence". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*, 101 (33), 12316–12323.
103. Guillet, C., Join-Lambert, O., Le Monnier, A., Leclercq, A., Mechai, F., Mamzer-Bruneel, M., Bielecka, M. K., Scortti, M., Disson, O., Berche, P., Vazquez-Boland, J., Lortholary, O., Lecuit, M. (2010). "Human Listeriosis Caused by Listeria ivanovii". *Emerg. Infect. Dis.*, 16, 136-138.
104. Hamon, M., Bierne, H., Cossart, P. (2006). "Listeria Monocytogenes: a multifaceted model". *Nature Reviews Microbiology*, 4, 423-434.
105. Harcourt, R. A. (1966). "Listeria Monocytogenes in a piglet". *Vet. Rec.*, 78, 735.
106. Havell, E. A. (1986). "Synthesis and secretion of interferon by murine fibroblasts in response to intracellular Listeria monocytogenes". *Infect. Immun.*, 54, 787–792.
107. Hayashidani, H., Kanzaki, N., Kaneko, Y., Okatani, A., Taniguchi, T., Kaneko, K., Ogawa, M. (2002). "Occurrence of yersiniosis and listeriosis in wild boars in Japan". *J. Wildlife Dis.*, 38, 202-205.
108. Hayes, P. S., Graves, L. M., Ajello, G. W., Swaminathan, B., Weaver, R. E., Wenger, J. D., Schuchat, A., Broome, C. V. (1991). "Comparison of cold-enrichment and U.S. Department of Agriculture methods for isolating Listeria spp. from naturally contaminated foods". *Appl. Environ. Microbiol.* , 57, 2109–2113.
109. Hessen, L. (1957). "Listeriose hos gris". *Nord. Vet. Med.*, 9, 951-958.
110. Hof, H., Rocourt, J. (1992.) "Is any strain isolated detected in food a health risk". *Int. J. Food Microbiol.* , 16, 683–692.
111. Hohne, K., Loose, B., Seeliger, H. P. (1975). "Isolation of Listeria Monocytogenes in slaughter animals and bats of Togo (West Africa)". *Ann. Microb. Paris*, 126 A, 501-507.
112. Horter, D. C., Yoon, K. J., Zimmerman, J. J. (2003). "A review of porcine tonsils in immunity and disease". *Animal Health Researches*, 4, 143-155.
113. Hubalek, Z. (2003). "Emerging human infectious diseases: Anthroponoses, zoonoses, and sapronoses". *Emerg. Infect. Dis.*, 9(3), 403-4.
114. Inoue, S., Nakama, A., Arai, Y., Kokubo, Y., Maruyama, T., Saito, A., Yoshida, T., Terao, M., Yamamoto, S., Kumagai, S. (2000). "Prevalence and

- contamination levels of *Listeria monocytogenes* in retail foods in Japan”. **International Journal of Food Microbiology**, 59, 73–77.
115. Istvan, H. (1982). “A juh listeriosis bajlamosito tenyezoi Eszak Magyarorszagon”. **Magyar Allatorvosok Lapja**, 37, 819-23.
116. Ivanov, I. (1962). “Untersuchungen uber die Listeriose der schafe in Bulgarien”. **Monatshefte fur Veterinarmedizin**, 17, 729-36.
117. Jacquet, C., Catimel, B., Brosch, R., Buchrieser, C., Dehaumont, P., Goulet, V., Lepoutre, A., Veit, P., Rocourt, J. (1995). “Investigations related to the epidemic strain involved in the French listeriosis outbreak in 1992”. **Appl. Environ. Microbiol.**, 61, 2242-2246.
118. Jami, M., Ghanbari, M., Zunabovic, M., Domig, K. J., Kneifel, W. (2014). “*Listeria monocytogenes* in Aquatic Food Products-A Review”. **Comp. Rev Food Sci. Food Safety**, 13, 798-813.
119. Jay, J. (1996). “Prevalence of *Listeria* spp. in meat and poultry products”. **Food Control**, 7, 209–214.
120. Jay, J. M. (1996). Foodborne listeriosis, 478–499. In: Jay J. M. (ed.), *Modern Food Microbiology*. Chapman & Hall, New York. pp 661.
121. Jeffers, G. T., Bruce, J. L., McDonough, P. L., Scarlett, J., Boor, K. J., Wiedmann, M. (2001). “Comparative genetic characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from human and animal listeriosis cases”. **Microbiology**, 147 (Pt 5), 1095–1104.
122. Jemmi, T., Stephan, R. (2006). “*Listeria monocytogenes*: food-borne pathogen and hygiene indicator”. **Rev Sci Tech.**, 25(2), 571-80.
123. Johnson, J. L., Doyle M. P., Cassens, R.G, Schoeni, J. L. (1988). “Fate of *Listeria monocytogenes* in tissue of experimentally infected cattle and in hard salami.” **Applied and Environmental Microbiology**, 54(2), 497–501.
124. Jubb, K. V. F, Huxtable, C. R. (1992). Pathology of Domestic Animals. In: V. F. Jubb, P. C. Kennedy & N. Pahner (Eds.). Volume I, 4th edition, London: Academic Press, pp. 393-7.
125. Jungherr, E. (1937). “Ovine encephalomyelitis associated with *Listeella* infection”. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 91, 73-87.
126. Jurado, R. L., Farley, M. M., Pereira, E. R., Harvey, R. C., Schuchat, A., Wenger, J. D., Stephens, D. S. (1993). “Increased risk of meningitis and bacteremia due to *Listeria monocytogenes* in patients with human immunodeficiency virus infection”. **Clin. Infect. Dis**, 17, 224-7.
127. Kalmokoff, M. L., Austin, J. W., Wan, X. D., Sabders, G., Banerjee, S. , Farber, J. M. (2001). “Absorption, attachment and biofilm formation among isolates of *Listeria monocytogenes* using model conditions”. **J. Appl. Microbiol.**, 91, 725–734.
128. Kanuganti, S. R., Wesley, I. V., Reddy, P. G., McKean, J., Hurd, H. S. (2002). “Detection of *Listeria monocytogenes* in pigs and pork”. **J. Food Prot.**, 65, 1470–1474.
129. Karaioannoglou, P. G., Xenos, G. C. (1980). “Survival of *Listeria monocytogenes* in meatballs”. **Hellenic Veterinary Medicine**, 23, 111-118.
130. Kathariou, S. (2002). “*Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective”. **J. Food Prot.**, 65, 1811–1829.
131. Kathariou, S., Metz, P., Hof, H., Goebel, W. (1987). “Tn916-induced mutations in the hemolysin determinant affecting virulence of *Listeria monocytogenes*”. **J. Bacteriol.**, 169, 1291–1297.

132. **Kemenes, F., Antal, T., Vetesi, F.** (1971). “*Experimental listeriosis in pigs*”. **Magyar Allatorv. Lapja.** , 26, 39-42.
133. **Kennedy, P. C., Miller, R. B.** (1992). Pathology of Domestic Animals. Volume III. 4th edition, pp 405, K. V. F. Jubb, P. C. Kennedy & N. Palmer (Eds.). London: Academic Press.
134. **Kerlin, D. I., Graham, R.** (1945). “*Studies of listerellosis. VI. Isolation of Listerella Monocytogenes from the liver of a pig*”. **Proc. Soc. Exp. Med.**, 58, 351.
135. **Kessler, S. L., Dajani, A. S.** (1990). “*Listeria meningitis in infants and children*”. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, 9, 61.
136. **Kılıç, İ. H., Güler, A., Şirin, H.** (2016). “*A Case of Listeria Rhombencephalitis Mimicking Vertebrobasilar Stroke*”, **Turk. J. Neurol.**, 22, 199-201.
137. **Kuhn, M., Kathariou, S., Goebel, W.** (1988). “*Hemolysin supports survival but not entry of the intracellular bacterium Listeria monocytogenes*”. **Infect. Immun.**, 56, 79–82.
138. **Kummeneje, K., Mikkelsen, T.** (1975). “*Isolation of Listeria Monocytogenes types 4 from cases of keratoconjunctivitis in cattle and sheep*”. **Nordisk Veterinaer Medicin**, 27,144-9.
139. **Ladds, P. W., Dennis, S. M, Njoku, C. O.** (1974). “*Pathology of listeric infection in domestic animals*”. **The Veterinary Bulletin**, 44, 67-74. Commonwealth Bureau of Animal Health. Wallingford, Oxford.
140. **Lado, B., Yousef, A. E.** (2007). *Characteristics of Listeria monocytogenes important to food processors*. In: E. T. Ryser., E. H. Marth (eds.), *Listeria, listeriosis, and food safety* (3<sup>rd</sup> edition), CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 157–213.
141. **Lamont, R. F., Sobel, J., Mazaki-Tovi, S., Kusanovic, J. P., Vaisbuch, E., Kim, S. K., Uldbjerg, N., Romero, R.** (2011). “*Listeriosis in human pregnancy: a systematic review*”. **J. Perinat. Med.**, 39, 227.
142. **Lăpușan, A., Mihaiu, L., Mihaiu, M., Dan, S., Mihaiu, R., Cordiș, I., Dragomir, D.** (2012). “*The importance of pig tonsils removal for the final assessment of the carcasse’s hygiene quality*”. **Scientific works. C Series. Veterinary Medicine**, 58 (3), 356-362.
143. **Lavetter, A., Leedom, J. M., Mathies, A. W., Ivler, D., Wehrle, P. F.** (1971). “*Meningitis due to Listeria monocytogenes. A review of 25 cases*”. **N. Engl. J. Med.**, 285, 598.
144. **Lawrence, L. M., Gilmour, A.** (1995). “*Characterization of Listeria monocytogenes isolated from poultry products and from the poultryprocessing environment by random amplification of polymorphic DNA and multilocus enzyme electrophoresis*”. **Appl. Environ. Microbiol.** , 61, 2139-2144.
145. **Leasor, S. B., Foegeding, P. M.** (1988). “*Growth and inactivation of Listeria monocytogenes F5069 and Scott A in liquid whole egg*”. Institute of Food Technologists Annual Meeting, New Orleans. Abstract 168.
146. **Lei, X. H., Fiedler, F., Lan, Z., Kathariou, S.,** (2001). “*A novel serotype-specific gene cassette (gltA-gltB) is required for expression of teichoic acid-associated surface antigens in Listeria monocytogenes of serotype 4b*”. **J. Bacteriol.**, 183, 1133-1139.
147. **Leimeister-Wächter, M., Domann, E., Chakraborty, T.** (1991) “*Detection of a gene encoding a phosphatidylinositol-specific phospholipase C that is co-ordinately expressed with listeriolysin in Listeria monocytogenes*”. **Mol. Microbiol.**, 5, 361–366.

148. Leong, D., Alvarez-Ordóñez, A., Jordan, K. (2014). "Monitoring occurrence and persistence of *Listeria monocytogenes* in foods and food processing environments in the Republic of Ireland". *Front Microbiol.* , 5, 436.
149. Linnan, M. J., Mascola, L., Lou, X. D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D. W., Yonekura, M. L., Hayes, P., Weaver, R. (1988) "Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese". *N Engl J Med.*, 319, 823.
150. Lomonaco, S., Decastelli, L., Nucera, D., Gallina, S., Manila Bianchi, D., Civera, T. (2009). "Listeria monocytogenes in Gorgonzola: Subtypes, diversity and persistence over time". *Int. J. Food Microbiol.* , 128, 516- 520.
151. Lopez, A., Blinfell, R. (1989). "Neonatal porcine listeriosis". *Can. Vet. J.*, 30, 828-829.
152. Lorber, B. (2010) *Listeria monocytogenes*. In: G. L. Mandell, J. E. Bennett, R. Dolin (Eds.), *Principles and Practice of Infectious Diseases* (7th ed.), Churchill Livingstone, Philadelphia. pp.2707.
153. Lorber, B. (1997). "Listeriosis". *Clin. Infect. Dis.*, 24, 1.
154. Louria, D. B., Hensle, T., Armstrong, D., Collins, H. S., Blevins, A., Krugman, D., Buse, M. (1967). "Listeriosis complicating malignant disease: a new association". *Ann. Intern. Med.*, 67, 260-81.
155. Low, J. C., Renton, C. P. (1985). "Septicaemia, encephalitis and abortions in a housed flock of sheep caused by *Listeria Monocytogenes* type 1/2". *Veterinary Record*, 116, 147-50.
156. Lund, B., Knox, M. R., Cole, M. B. (1989). "Destruction of *Listeria monocytogenes* during microwave cooking of food". *Lancet*, 1, 218.
157. Lundén, J., Autio, T. J., Sjöberg, A. M., Korkeala, H. J. (2003b). "Persistent and nonpersistent *Listeria monocytogenes* contamination in meat and poultry processing plants". *J. Food. Prot.*, 66, 2062–2069.
158. Lundén, J., Autio, T., Annukka, A., Hellstrom, S., Korkeala, H. (2003a). "Adaptive and cross-adaptive responses of persistent and no-persistent *Listeria monocytogenes* strains to disinfectants". *Int. J. Food Microbiol.* , 82, 265-272.
159. Lundén, J. M., Miettinen, M. K., Autio, T. J., Korkeala, H. J. (2000). "Persistent *Listeria monocytogenes* strains show enhanced adherence to food contact surface after short contact times". *Journal of Food Protection*, 63, 1204–1207.
160. MacLeod, N. S. M., Watt, J. A., Harris, J. C. (1974.). "Listeria Monocytogenes type 5 as a cause of abortion in sheep". *Veterinary Record*, 95, 365-7.
161. Malik, S. V., Barbuddhe, S. B., Chaudhari, S. P. (2002). "Listeric infections in humans and animals in the Indian Subcontinent: a review". *Trop. Anim. Health. Prod.*, 34, 359-381.
162. Mann, E., Pinior, B., Wetzels, S. U., Metzler-Zebeli, B. U., Wagner, M., Schmitz-Esser, S. (2015). "The Metabolically Active Bacterial Microbiome of Tonsils and Mandibular Lymph Nodes of Slaughter Pigs". *Frontiers in Microbiology*, 6, 1362.
163. Manuel, C. S., Van Stelten, A., Wiedmann, M., Nightingale, K. K., Orsi, R. H. (2015). "Prevalence and Distribution of *Listeria monocytogenes* *inlA* Alleles Prone to Phase Variation and *inlA* Alleles with Premature Stop Codon Mutations among Human, Food, Animal, and Environmental Isolates". *Appl. Environ. Microbiol.* , 81(24), 8339–8345.



164. Marois, C., Cariolet, R., Morvan, H., Kobisch, M. (2008). "Transmission of pathogenic respiratory bacteria to specific pathogen free pigs at slaughter". **Veterinary Microbiology**, 129, 325-332
165. Marquis, H., Doshi, V., Portnoy, D. A. (1995). "The broad-range phospholipase C and a metalloprotease mediate listeriolysin O-independent escape of *Listeria monocytogenes* from a primary vacuole in human epithelial cells". **Infect. Immun.**, 63, 4531-4534.
166. Marsden, J. L. (1994). "Industry Perceptive on *Listeria Monocytogenes* in foods: Raw meat and poultry". **Dairy Food Environmental Sanitation**, 15, 133-153.
167. Marsden, J. L. (1994). "Industry perceptive on *Listeria Monocytogenes* in Foods: Raw Meat and Poultry". **Dairy Food and Environmental Sanitation**, 14, 83-86.
168. Marth, E. H., Ryser, T. E. (1990). Occurrence of *Listeria* in foods: milk and dairy foods. In: A. J. Miller (ed.): *Foodborne Listeriosis*. Topics in industrial microbiology, Society for industrial Microbiology, Amsterdam. pp. 151-164.
169. Martinez, I., Rorvik, L. M., Brox, V., Lassen, J., Seppol, M., Gram, L., Fonnesbech-Vogel, B. (2003). "Genetic variability among isolates of *Listeria monocytogenes* from food products, clinical samples and processing environments, estimated by RAPD typing". **Int J Food Microbiol**, 84, 285-297.
170. Mason, R. W., Brennan, R. G., Corboud A. (1980). "*Listeria monocytogenes* abortion in a mare". **Australian Veterinary Journal**, 56, 613.
171. McDonald, J. W. (1967). "An outbreak of abortion due to *Listeria monocytogenes* in an experimental flock of sheep". **Australian Veterinary Journal**, 53, 64-7.
172. McDonald, F., Sutherland A. D. (1993). "Effect of heat treatment on *Listeria monocytogenes* and Gram negative bacteria in sheep, cow, and goat milks". **J. Appl. Bacteriol.**, 75(4), 336-343.
173. McLaughlin, B. G., Greer, S. C., Singh, S. (1993). "*Listerial* abortion in llama". **Journal of Veterinary Diagnosis and Investigation**, 5, 105-6.
174. Mengaud, J., Braun-Breton, C., Cossart, P. (1991). "Identification of phosphatidylinositol-specific phospholipase C activity in *Listeria monocytogenes*: a novel type of virulence factor?". **Mol. Microbiol.**, 5, 367-372.
175. Mengaud, J., Vicente, M. F., Chenevert, J., Pereira, J. M., Geoffroy, C., Gicquel-Sanzey, B., Baquero, F., Perez-Diaz, J. C., Cossart, P. (1988). "Expression in *Escherichia coli* and sequence analysis of the listeriolysin O determinant of *Listeria monocytogenes*". **Infect. Immun.**, 56, 766-772.
176. Mengaud, J., Ohayon, H., Gounon, P., Mege, R. M., Cossart, P. (1996). "E-cadherin is the receptor for internalin, a surface protein required for entry of *L. monocytogenes* into epithelial cells". **Cell**, 84, 923.
177. Meyer, E. P., Gardner, J. M. (1970). "A case of listeriosis in piglets". **Aust.Vet. J.**, 46, 514.
178. Michel, E., Reich, K. A., Favier, R., Berche, P., Cossart, P. (1990). "Attenuated mutants of the intracellular bacterium *Listeria monocytogenes* obtained by single amino acid substitutions in listeriolysin O". **Mol. Microbiol.**, 4, 2167-2178.
179. Molello, J. A., Jensen, R. (1964). "Placental pathology IV. Placental lesions of sheep experimentally infected with *Listeria Monocytogenes*". **American Journal of Veterinary Research**, 25, 441-9.
180. Mora, J., White, M., Dunkel, I. J. (1998). "Listeriosis in pediatric oncology patients". **Cancer**, 83, 817.

181. Moragas, M., Martinez-Yelamos, S., Majos, C., Fernandez-Viladrich, P., Rubio, F., Arbizu, T. (2011). “*Rhombencephalitis: a series of 97 patients*”. **Medicine** (Baltimore), 90, 256-261.
182. Morgan, J. H. (1977). “*Infectious keratoconjunctivitis in cattle associated with Listeria Monocytogenes*”. **Veterinary Record**, 100, 113-4.
183. Mounier, J., Ryter, A., Coquis-Rondon, M., Sansonetti, P. J. (1990). “*Intracellular and cell-to-cell spread of Listeria monocytogenes involves interaction with F-actin in the enterocytelike cell line Caco-2*”. **Infect. Immun.**, 58, 1048–1058.
184. Mureddu, A., Mazza, R., Fois, F., Meloni, D., Bacciu, R.; Piras, F.; Mazzette, R. (2014). “*Listeria monocytogenes persistence in ready-to-eat sausages and in processing plants*”. **Ital. J. Food Saf.** , 3, 12–15.
185. Murray, E. G. D., Webb, R. A., Swann, M. B. R. (1926). “*A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus: Bacterium monocytogenes (n.sp.)*”. **J. Pathol. Bacteriol.** , 29, 407-39.
186. Mylonakis, E., Hohmann, E. L., Calderwood, S. B. (1998). “*Central nervous system infection with Listeria monocytogenes. 33 years' experience at a general hospital and review of 776 episodes from the literature*”. **Medicine** (Baltimore), 77, 313.
187. Mylonakis, E., Paliou, M., Hohmann, E. L., Calderwood, S. B., Wing, E. J. (2002). “*Listeriosis during pregnancy: a case series and review of 222 cases*”. **Medicine** (Baltimore), 81, 260.
188. Nakari, U. M., Rantala, L., Pihlajasaari, A., Toikkanen, S., Johansson, T., Hellsten, C., Raulo, S.M, Kuusi, M., Siitonen, A., Rimhanen-Finne, R. (2014). “*Investigation of increased listeriosis revealed two fishery production plants with persistent Listeria contamination in Finland in 2010*”. **Epidemiol. Infect.** , 142, 2261-2269.
189. Narucka, V., Westendorp, J. F. (1973). “*Het voorkomen van Listeria Monocytogenes by slachtvarkens*”. **Tijdschr. Diergeneesk.** , 98, 1208.
190. Nesbakken, T., Nerbrink, E., Rotterud, O. J., Borch, E. (1994). “*Reduction of Yersinia enterocolitica and Listeria spp. on carcasses by enclosure of the rectum during slaughter*”. **Int. J. Food.Microbiol.**, 23, 197-208.
191. Nesbakken, T., Kapperud, G., Caugant, D. A. (1996). “*Pathways of Listeria monocytogenes contamination in the meat processing industry*”. **Int. J. Food Microbiol.** , 31, 161–171.
192. Njoku, C. O., Dennis, S. M. (1973). “*Listeric abortion studies in sheep. IV. Histopathological comparisons of natural and experimental infection*”. **Cornell Veterinarian**, 63, 211-9.
193. Norrung, B., Andersen, J. K., Schlundt, J. (1999). “*Incidence and control of Listeria monocytogenes in foods in Denmark*”. **Int .J. Food Microbiol.**, 53, 195-203.
194. Norwood, D. E., Gilmour, A. (2000). “*The growth and resistance to sodium hypochlorite of Listeria monocytogenes in a steady-state multispecies biofilm*”. **J. Appl. Microbiol.**, 88, 512–515.
195. Ojeniyi, B., Christensen, J., Bisgaard, M. (2000). “*Comparative investigations of Listeria monocytogenes isolated from a turkey processing plant, turkey products, and from human cases of listeriosis in Denmark*”. **Epidemiol. Infect.** , 125, 303-308.
196. Ooi, S. T., Lorber, B. (2005). “*Gastroenteritis due to Listeria monocytogenes*”. **Clin. Infect. Dis.**, 40, 1327.

197. Osebold, J. W., Inouye, T. (1954b). "Pathogenesis of *Listeria Monocytogenes* infections in natural hosts. Sheep studies". **Journal of Infectious Diseases**, 95, 67-78.
198. Patterson, J. S. (1940b). "Studies on organisms of the genus *Listerella*". **Veterinary Journal**, 96, 327-32.
199. Pillai, C. P. (1962). "Listeriosis in a goat in the Sudan". **Veterinary Record**, 74, 15-7.
200. Pinner, R. W, Schuchat, A., Swaminathan, B., Hayes, P. S., Deaver, K. A., Weaver, R. E., Plikaytis, B. D., Reeves, M., Broome, C. V., Wenger, J. D. (1992). "Role of foods in sporadic listeriosis II: microbiologic and epidemiologic investigation". **Journal of the American Medicine Association**, 267, 2046-2050.
201. Pirie, J. H. H. (1927). "A new disease of veld rodents, "Tiger River disease"". **Publ. S. Afr. Inst. Med. Res.**, 3, 163-86.
202. Portnoy, D. A., Jacks, P. S., Hinrichs, D. J. (1988). "Role of hemolysin for the intracellular growth of *Listeria monocytogenes*". **J. Exp. Med.**, 167, 1459-1471.
203. Potel, J. (1952). "Zur granulomatosis infantiseptica". **Zentral Bakteriolog. Orig.**, 158, 329-31.
204. Radostits, O. M., Blood, D. C., Gay, E. E. (2000). Diseases caused by *Listeria* spp. In *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. In: W.B. Saunders, Philadelphia. pp. 736-740.
205. Radostits, O. M., Blood, D. C., Gay C. C., *Veterinary Medicine*, Eighth edition, London: Bailliere and Tindall, 1994, pp. 660-666.
206. Rahman, T. D., Sarma, K., Goswami, B. K., Upadhyaya, T. N., Choudhury, B. (1985). "Occurrence of listerial meningoencephalitis in pigs". **Indian Vet. J.**, 62, 7-9.
207. Ralovich, B. (1984). "Listeriosis research –present situation and perspective". Budapest, Akademiai Kiado.
208. Ralovich, B., Domjan-Kovacs, H. (1996). "Occurrence of *Listeria* and listeriosis in Hungary". **Acta Vet. Hung.**, 44, 277-285.
209. Rebhun, W. C., De Lahunta, A. (1982). "Diagnosis and treatment of bovine listeriosis". **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 180, 395-8.
210. Rei, M., De Aantrekker, E. D. (2004). "Recontamination as a source of pathogens in processed foods". **Int. J. Food Microbiol.**, 91, 1-11.
211. Reis, O. L., Sousa, S., Camejo, A., Villiers, V., Gouin, E., Cossart, P., Cabanes, D. (2010). "LapB, a novel *Listeria monocytogenes* LPXTG surface adhesin, required for entry into eukaryotic cells and virulence". **J. Infect. Dis.**, 202, 551.
212. Rocourt, J. (1996). "Risk factors for listeriosis". **Food. Control.**, 7, 192-202.
213. Rowan, N. J., Anderson, J. G. (1998). "Effects of above-optimum growth temperature and cell morphology on thermotolerance of *Listeria monocytogenes* suspended in bovine milk". **Appl. Environ. Microbiol.**, 64(6), 2065-2071.
214. Ryser, E. T., Marth, E. H., Doyle, M. P. (1985). "Survival of *Listeria monocytogenes* during manufacture and storage of cottage cheese". **Journal of Food Protection**, 48, 746-750.
215. Ryser, E. T., Marth, E. H., *Listeria, Listeriosis and Food safety*, Third edition, CRC press, 2007.
216. Salimnia, H. L., Patel, D., Lephart, P. R., Fairfax, M. R., Chandrasekar, P.H. (2010). "*Listeria grayi*: vancomycin-resistant, gram-positive rod causing bacteremia in a stem cell transplant recipient". **Transpl. Infect. Dis.**, 12, 526.

217. Salles, M. W. S., Middleton, D. M. (2000). "Lymphocyte subset in porcine tonsillar crypt epithelium". *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 77, 133–144.
218. Samelis, J., Metaxopoulos, J., Vlassi, M., Pappa, A. (1998). "Stability and safety of traditional Greek salami – a microbiological ecology study". *Int. J. Food Microbiol.* , 44, 69–82.
219. Sammarco, M. L., Ripabelli, G., Ruberto, A., Iannitto, G., Grasso, G.M. (1997). "Prevalence of salmonellae, listeriae and yersiniae in the slaughterhouse environment and on work surfaces, equipment, and workers". *Journal of Food Protection*, 60, 367–371.
220. Sanchez, G., Elizaquivel, P., Aznar, R. (2012). "A single method for recovery and concentration of enteric viruses and bacteria from fresh-cut vegetables". *Int. J. Food Microbiol.* , 152, 9–13.
221. Sarno, E., Fierz, L., Zweifel, C., Tasara, T., Stephan, R. (2015). "Characteristics of *Listeria Monocytogenes* isolated from tonsils of slaughtered fattening pigs in Switzerland". *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 11(1), 19–23.
222. Sauders, B. D., Sanchez, M. D., Rice, D. H., Corby, J., Stich, S., Fortes, E. D., Roof, S. E., Wiedmann, M. (2009). "Prevalence and molecular diversity of *Listeria monocytogenes* in retail establishments". *J. Food Prot.*, 72, 2337-2349.
223. Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M. A., Roy, S. L., Jones, J. L., Griffin, P. M. (2011). "Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens". *Emerg. Infect. Dis.*, 17, 7.
224. Schlech, W. F., Haldane, H., Mailman, T. L., Warhuus, M., Crouse, N., Haldane, D. (2005). "Does sporadic *Listeria gastroenteritis* exist? A 2-year population-based survey in Nova Scotia, Canada". *Clin. Infect. Dis.*, 41, 778.
225. Schlech, W. F., Lavigne, P. M., Bortolussi, R. A., Allen, A. C., Haldane, E. V., Wort, A. J., Hightower, A. W., Johnson, S. E., King, S. H., Nicholls, E. S., Broome, C. V. (1983). "Epidemic listeriosis: evidence for transmission by food". *New Engl. J. Med.*, 308, 203–206.
226. Schuchat, A., Deaver, K. A., Wenger, J. D., Plikaytis, B. D., Mascola, L., Pinner, R. W., Reingold, A. L., Broome, C.V. (1992). "Role of foods in sporadic listeriosis. I. Case-control study of dietary risk factors". The *Listeria Study Group*. *JAMA*, 267, 2041.
227. Schuchat, A., Robinson, K., Wenger, J.D., Harrison, L. H., Farley, M., Reingold, A. L., Lefkowitz, L., Perkins, B. A. (1997). "Bacterial meningitis in the United States in 1995". Active Surveillance Team. *N. Engl. J. Med.*, 337, 970.
228. Schuchat, A., Swaminathan, B., Broome, C. V. (1991). "Epidemiology of human listeriosis". *Clin. Microbiol. Rev.*, 4, 169–183.
229. Seastone, C. V. (1935). "Pathogenic organisms of the genus *Listerella*". *Journal of Experimental Medicine*, 62, 203-12.
230. Seeliger, H. P. R. (1961). *Listeriosis*. 2nd edition. Basel: Karger.
231. Seeman, J. T., Carrigan, M. J., Cockram, F. A., Carter, G. I. (1990). "An outbreak of listerial myelitis in sheep". *Australian Veterinary Journal*1, 67, 142-3.
232. Sergeant, E. S. G., Love, S. C. J., McInnes, A. (1991). "Abortions in sheep due to *Listeria ivanovii*". *Australian Veterinary Journal*, 68, 39.

233. Sharp, M. W. (1989). "Bovine Mastitis and *Listeria Monocytogenes*". **Veterinary Record**, 125,512.
234. Shum, D. T., Galsworthy, S. B. (1982). "Stimulation of monocyte production by an endogenous mediator induced by a component of *Listeria monocytogenes*", **Immunology**, 46, 343.
235. Skovgaard, N., Noarrung, B. (1989). "The incidence of *Listeria spp* in faeces of Danish pigs and in minced pork meat". **Int. J. Food Microbiol.** , 8, 59–63.
236. Slabospits'Kii, T. P. (1938). "Pro novii mikroorganizm, vidilenii vid porosyat". **Nauk. Zap. Kiev. Vet. Inst.**, 1, 39. **Vet. Bull.** , 12, 367.
237. Smith, G. A., Marquis, H., Jones, S., Johnston, N. C., Portnoy, D. A., Goldfine, H. (1995). "The two distinct phospholipases C of *Listeria monocytogenes* have overlapping roles in escape from a vacuole and cell-to-cell spread". **Infect. Immun.** , 63, 4231–4237.
237. Smith, R. E., Reynolds, I. M., Clark, G. W., Milbury, J. A. (1970). "Experimental ovine listeriosis IV.Pathogenesis of fetal infection". **Cornell Veterinarian**, 60, 450-62.
238. Smyth, R. L., Bamford, M. F. M. (1988). "Neonatal listeriosis: Experience in Suffolk". **J. Infect.** , 17, 65-70.
239. Southwick, F. S., Purich, D. L. (1996). "Intracellular pathogenesis of listeriosis". **N. Engl. J. Med.**, 334, 770.
240. Stamm, A. M., Dismukes, W. E., Simmons, B. P., Cobbs, C. G., Elliott, A., Budrich, P., Harmon, J. (1982). "Listeriosis in renal transplant recipients: report of an outbreak and review of 102 cases". **Rev. Infect. Dis.**, 4, 665-82.
241. Stockton, J. J., Neu, L., Carpenter, W. S., Gray, M. L. (1954). "The association of *Listeria monocytogenes* with abortion". **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 124, 102-5.
242. Sturgess, C. P. (1989). "Listerial abortion in the bitch". **Veterinary Record**, 124, 177.
243. Swaminathan, B., Gerner-Smidt, P. (2007). "The epidemiology of human Listeriosis". **Microbes Infect.** , 9(10), 1236-43.
244. Swanenburg, M., Van der Wolf, P. J., Urlings, H. A. P., Snijders, J. M. A., Van Knapen, F. (2001). "Salmonella in slaughter pigs: The effect of logistic slaughter procedures of pigs on the prevalence of Salmonella in pork". **International Journal of Food Microbiology**, 70, 231– 242.
245. Takahashi, H., Kuramoto, S., Miya, S., Kimura, B. (2011). "Desiccation survival of *Listeria monocytogenes* and other potential foodborne pathogens on stainless steel surfaces is affected by different food soils". **Food Control**, 22, 633-637.
246. Tappero, J. W., Schuchat, A., Deaver, K. A., Mascola, L., Wenger, J. D (1995). "Reduction in the incidence of human listeriosis in the United States. Effectiveness of prevention efforts?". The Listeriosis study group. **JAMA**, 273, 1118-1122.
247. Taylor, L. H., Latham, S. M., Woolhouse, M. E. (2001). "Risk factors for human disease emergence". **Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.**, 356 (1411), 983-9.
248. Theriot, J. A., Mitchison, T. J., Tilney, L. G., Portnoy, D. A. (1992). "The rate of actin-based motility of intracellular *Listeria monocytogenes* equals the rate of actin polymerization". **Nature**, 357, 257–260.

249. Theriot, J. A., Rosenblatt, J., Portnoy, D. A., Goldschmidt-Clermont, P. J., Mitchison, T. J. (1994). "Involvement of profilin in the actin-based motility of *L. monocytogenes* in cells and in cell-free extracts". *Cell*, 76, 505.
250. Thévenot, D., Delignette-Muller, M. L., Christieans, S., Vernozy-Rozand, C. (2005b). "Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 dried sausage processing plants and their products". *Int. J. Food Microbiol.* , 102, 85–94.
251. Thévenot, D., Delignette-Muller, M.L., Christieans, S., Leroy, S., Kodjo, A., Vernozy-Roland, C. (2006). "Serological and molecular ecology of *Listeria monocytogenes* isolates collected from 13 French pork meat salting-curing plants and their products". *Int. J. Food Microbiol.* , 112, 153–161.
252. Thévenot, D., Delignette-Muller, M. L., Denburg, A., Christieans, S., Vernozy-Rozand, C. (2006). "Serological and molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes* strains collected in 13 French salting plants and their products". *Int. J. Food Microbiol.* , 112(2), 153-61.
253. Tilney, L. G., Portnoy, D. A. (1989). "Actin filaments and the growth, movement, and spread of the intracellular bacterial parasite, *Listeria monocytogenes*". *J. Cell Biol.*, 109, 1597–1608.
254. Timoney, J. F., Gillespie, J. H., Scott F. W., Barlough, J. E., Haggan and Brunner's microbiology and infectious diseases of domestic animals, 8<sup>th</sup> ed, Ithaca, N.Y : Comstock Publishing Associates, 1988, pp. 241-246.
255. Tocomo, R., Krizman, K., Khoo, W. J., Phua, L. K., Kim, M., Yuk, H. G. (2014). "Listeria monocytogenes in Vacuum-Packed Smoked Fish Products: Occurrence, Routes of Contamination, and Potential Intervention Measures". *Comp. Rev. Food Sci. Food Safety*, 13, 1735-1739.
256. Tompkin, R. B. (2002). "Control of *Listeria monocytogenes* in the food processing environment". *J. Food Prot.*, 65, 709-725.
257. Twedt, R. M. (1984). *Thermal resistance of Listeria in milk*. Food Res. Inst. Conf., Madison, Wisconsin. USA.
258. Urbaneck, D. (1962a). "Zur neuropathogenese der listeriose. Histologische untersuchungen am *N. trigeminus* bei spontan an zerebraler form der listeriose erkrankten schafen". *Archives fur Experimentelle Veterinarmedizin*, 16, 61-80.
259. Van der Elzen, A. M. G, Snijders, J. M. A. (1993). "Critical points in meat production lines regarding the introduction of *Listeria monocytogenes*". *Vet Q*, 15, 143–145.
260. Vandergraaf, R., Borland, N. A, Browning, J. W. (1981). "An outbreak of listerial meningoencephalitis in sheep". *Australian Veterinary Journal*, 157, 94-6.
261. Varma, J. K., Samuel, M. C., Marcus, R., Hoekstra, R. M., Medus, C., Segler, S., Anderson, B. J., Jones, T. F., Shiferaw, B., Haubert, N., Megginson, M., McCarthy, P.V., Graves, L., Gilder, T. V., Angulo, F. J. (2007). "Listeria monocytogenes infection from foods prepared in a commercial establishment: a case-control study of potential sources of sporadic illness in the United States". *Clin. Infect. Dis.*, 4, 521.
262. Vatanyoopaisatn, S., Nazli, A., Dodd, C. E. R., Rees, C .E. D., Xaites, W. M. (2000). "Effect of flagella on initial attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel". *Appl. Environ. Microbiol.* , 66, 860–863.
263. Vazquez-Boland, J.A., Kocks, C., Dramsi, S., Ohayon, H., Geoffroy, C., Mengaud, J., Cossart, P. (1992). "Nucleotide sequence of the lecithinase operon of

- Listeria monocytogenes* and possible role of lecithinase in cell-to-cell spread”. **Infect. Immun.**, 60, 219–230.
264. Vishinsky, Y., Grinberg, A., Ozery, R. (1993). “*Listeria monocytogenes* udder infection and carcase contamination”. **Veterinary Record**, 133, 484.
265. Vivant, A. L., Garmyn, D., Piveteau, P. (2013). “*Listeria monocytogenes*, a down-to-earth pathogen”. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 3, 87.
266. Vojinovic, G. (1992). “The incidence of *Listeria Monocytogenes* in slaughtered healthy animals and minced meat”. **Acta Vet.** (Belgrad), 42, 329-336.
267. Vongkamjan, K., Roof, S., Stasiewicz, M. J., Wiedmann, M. (2013). “Persistent *Listeria monocytogenes* subtypes isolated from a smoked fish processing facility included both phage susceptible and resistant isolates”. **Food Microbiol.**, 35, 38-48.
268. Vorst, K. L., Todd, E. C., Rysert, E. T. (2006). “Transfer of *Listeria monocytogenes* during mechanical slicing of turkey breast, bologna, and salami”. **J. Food Prot.**, 69, 619-626.
269. Walker, J. K., Morgan, H., McLauchlin, J., Grant, K. A., Shallgross, J. A. (1994). “*Listeria innocua* isolated from a case of ovine meningoencephalitis”. **Veterinary Microbiology**, 42, 245-53.
270. Walker, J. K., Morgan, J. H. (1993). “Ovine ophthalmitis associated with *Listeria monocytogenes*”. **Veterinary Record**, 132,636.
271. Ward, T. J., Gorski, L., Borucki, M. K., Mandrell, R. E., Hutchins, J., Pupedis, K. (2004). “Intraspecific phylogeny and lineage group identification based on the *prfA* virulence gene cluster of *Listeria Monocytogenes*”. **J. Bacteriol.**, 186, 4994-5002
272. Watson, C. L. (1989). “Bovine Iritis”. **Veterinary Record**, 124, 411.
273. Watson, G. L., Evans, M. G. (1985). “Listeriosis in a rabbit”. **Veterinary Pathology**, 22, 191-3.
274. Watson, G. W., Fuller, T. J., Elms, J., Kluge, R. M. (1978). “*Listeria cerebritis*: relapse of infection in renal transplant patients”. **Arch. Intern. Med.**, 138, 83.
275. Welch, M. D., Iwamatsu, A., Mitchison, T. J. (1997). “Actin polymerization is induced by Arp2/3 protein complex at the surface of *Listeria monocytogenes*”. **Nature**, 385, 265.
286. Wesley, I. V., Larson, D. J., Harmon, K. M., Luchansky, J. B., Schwartz, A. R. (2002). “A case report of sporadic ovine listerial meningoencephalitis in Iowa with an overview of livestock and human cases”. **J. Vet. Diag. Invest.**, 14, 314-321.
287. Wesley, I. V., Larsen, S., Hurd, S. H., McKean, J. D., Griffith, Rivera, F., Nannapaneni, R., Cox, M., Johnson, M., Wagner, D., De Martino, M. (2007). “Low Prevalence of *Listeria Monocytogenes* in Cull Sows and Pork”. **Journal of Food Protection**, 71 (3), 2008.
288. Westrell, T., Ciampa, N., Boelaert, F., Helwigh, B., Korsgaard, H., Chriel, M., Ammon, A., Mäkela, P. (2009). “Zoonotic infections in Europe in 2007: a summary of the EFSA-ECDC annual report”. **Eurosurveillance**, 14, 1–2.
289. Wilesmith, J. W., Gitter, M. (1986). “Epidemiology of ovine listeriosis in Great Britain”. **Veterinary Record**, 119, 467-70.
290. Williams, S. K., Roof, S., Boyle, E. A., Burson, D., Thippareddi, H., Geornaras, I., Sofos, J. N., Wiedmann, M., Nightingale, K. (2011). “Molecular ecology of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in small and very small ready-to-eat meat processing plants”. **J. Food Prot.**, 74, 63–77.

**291. Zhu, Q., Hussain, M. A.** (2014). “*Prevalence of Listeria Species in Fresh Salad Vegetables and Ready to eat Foods Containing Fresh Produce Marketed in Canterbury, New Zealand*”. **Adv. Food Technol. Nutr. Sci. Open. J.**, 1 (1), 5-9.

### **ΕΛΛΗΝΙΚΗ**

**292. Καραϊωαννόγλου Π.** , *Υγιεινή του Κρέατος των Θηλαστικών*, Γ’ έκδοση, Εκδόσεις Αδελφών Κυριακίδη, 2008, σελ. 544.

**293. Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων, Τμήμα Επιδημιολογικής Επιτήρησης** (2011). Λιστερίωση (ICD-10 A32) : Περιγραφή Νοσήματος. [http://www.keelpno.gr/Portals/0/Αρχεία/Τροφιμογενή/Λιστερίωση/listeriosi\\_perigrafi\\_τ\\_ελικο.pdf](http://www.keelpno.gr/Portals/0/Αρχεία/Τροφιμογενή/Λιστερίωση/listeriosi_perigrafi_τ_ελικο.pdf) . Προσπέλαση την 13/05/2017