

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

**Διπλωματική εργασία στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών
Σπουδών 2013**

**Η παρουσία της *Yersinia enterocolitica* σε τρόφιμα ζωικής
προέλευσης**

του Λάσχου Α. Ευάγγελου
Πτυχιούχου ΤΕΙ Ιατρικών Εργαστηρίων

Λάρισα 2015

Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. ΓΚΟΒΑΡΗΣ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ

Καθηγητής, Υγιεινή Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Τμήμα Κτηνιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,

2. ΠΕΞΑΡΑ ΑΝΔΡΕΑΝΑ

Επίκουρος καθηγήτρια, Υγιεινή Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Τμήμα Κτηνιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

3. ΦΛΕΤΟΥΡΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

Αναπληρωτής Καθηγητής, Υγιεινή και Τεχνολογία του Γάλακτος και των Προϊόντων
του, Τμήμα Κτηνιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

Αφιερωμένη στους γονείς μου

Η παρουσία της *Yersinia enterocolitica* σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η *Yersinia enterocolitica* είναι ένα Gram αρνητικό βακτήριο του γένους *Yersinia*, της οικογένειας *Enterobacteriaceae*. Θεωρείται ένα σημαντικό τροφιμογενές παθογόνο βακτήριο και αποτελεί το αίτιο της ανθρώπινης ασθένειας *νερσινίωσης*. Οι κλινικές εκδηλώσεις της λοίμωξης περιλαμβάνουν γαστρεντερικές διαταραχές, διάρροια, εντεροκολίτιδα, φλεγμονή της σκωληκοειδούς απόφυσης, και λιγότερο συχνά, σηψαιμία και μετα-μολυσματικές αρθρίτιδες (σύνδρομο Reiter). Τα διάφορα στελέχη της *Y. enterocolitica* ταξινομούνται σε βιοτύπους και οροτύπους. Τα παθογόνα στελέχη για ανθρώπους ανήκουν κυρίως στους βιότυπους 1B, 2, 3, 4 και 5. Στην Ευρώπη οι λοιμώξεις από *Y. enterocolitica* προκαλούνται κυρίως από τον ορότυπο O:3 (βιότυπος 4), ενώ ο ορότυπος O:8 (βιότυπος 1B) είναι ο κυρίως μολυσματικός ορότυπος στις ΗΠΑ. Στην Ευρώπη επίσης άλλα στελέχη του βιότυπου 4 (ορότυπος O:3) αλλά και στελέχη του βιότυπου 2 (ορότυπος O:9) προκαλούν συχνά νόσο στον άνθρωπο.

Ο άνθρωπος μολύνεται από την *Y. enterocolitica* κυρίως μέσω της καταναλώσης μολυσμένου τροφίμου, ιδιαίτερα νωπού ή ατελώς θερμασμένου χοιρινού κρέατος, ενώ σπάνια θεωρείται η άμεση μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο με επαφή. Η *νερσινίωση* εκδηλώνεται κυρίως σε παιδιά κάτω των 5 ετών, και διαρκεί από 1 έως 3 εβδομάδες.

Η *Y. enterocolitica* και τα υπόλοιπα βακτήρια του γένους είναι ευρύτατα διαδεδομένα στη φύση και απομονώνονται συχνά από το έδαφος, το νερό, τα ζώα και μια ποικιλία τροφίμων. Ωστόσο, η *Y. enterocolitica* συνδέεται κυρίως με τους χοίρους, καθώς τα ζώα αυτά αποτελούν την κύρια δεξαμενή για τα παθογόνα για τον άνθρωπο στελέχη. Αρκετά κατοικίδια και άγρια ζώα, όπως σκύλοι, γάτες, αγελάδες, πρόβατα, και τρωκτικά θεωρούνται επίσης δεξαμενές του βακτηρίου.

Τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, ιδιαίτερα το χοιρινό κρέας και τα προϊόντα του, εμπλέκονται συχνά στην πρόκληση τροφιμογενών επιδημιών από *Y. enterocolitica*. Το νωπό γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα, η σκόνη γάλακτος, το σοκολατούχο γάλα και το παστεριωμένο γάλα-ως αποτέλεσμα επιμόλυνσης μετά την παστερίωση, είναι μεταξύ των τροφίμων που επίσης ενοχοποιούνται συχνά ως υπεύθυνα για την πρόκληση κρουσμάτων. Επίσης ψάρια, γαρίδες, καβούρια και στρείδια, πιθανόν μετά από επαφή, άμεση ή έμμεση, με μολυσμένο νερό έχουν ενοχοποιούνται επίσης. Η *Y. enterocolitica* έχει ιδιαίτερη σημασία για τα τρόφιμα, γιατί είναι από τα λίγα τροφιμογενή παθογόνα βακτήρια που μπορούν και αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες ψύξης (Swaminatham και συν., 1982).

Το 2010, η EFSA (European Food Safety Authority, Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων) κοινοποίησε ότι συνολικά το 2.5 % των δειγμάτων χοιρινού κρέατος που ελέγχθηκαν ήταν θετικά στην *Y. enterocolitica*, ενώ το 1.8 % των χοίρων που ελέγχθηκαν βρέθηκε επίσης θετικό. Το 2012, η ίδια αρχή επίσης, τονίζει ότι το κρέας και τα παραγόμενα από αυτό τρόφιμα είναι οι πιο συχνά αναφερόμενες αιτίες *νερσινίωσης* κατά την εξαιτία 2004 έως 2009. Ακολουθούν το γάλα, το τυρί και τα γαλακτοκομικά, και τρίτον τα ψάρια και τα προϊόντα τους.

Για το έτος 2013, η EFSA αναφέρει ότι το 6.4 % των δειγμάτων χοιρινού κρέατος που εξετάστηκαν βρέθηκαν θετικά σε *Yersinia*, και από αυτά το 6 % θετικά σε *Y. enterocolitica*. Σύμφωνα με το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) στις ΗΠΑ, τα πουλερικά και τα ιχθυηρά ήταν τα τρόφιμα που εμπλέκονταν σε μολύνσεις από *Y. enterocolitica* σε μεγαλύτερο ποσοστό (περίπου 20%) κατά τη δεκαετία 1998 έως 2008.

Σύμφωνα με το Ευρωπαϊκό Κέντρο Πρόληψης και Ελέγχου των Νόσων (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC), στην Ευρώπη το έτος 2007 από τα 8.874 επιβεβαιωμένα κρούσματα από *Y. enterocolitica* τα 4987 ήταν στη Γερμανία. Το 2011 η *υερσινίωση* ήταν η τέταρτη πιο συχνά αναφερόμενη ζωνο νόσος στην ΕΕ, παρόλο τη συνεχώς φθίνουσα τάση στο αριθμό των κατεγεγραμμένων κρουσμάτων που διαπιστώθηκε την πεντετία 2007-2011. Το 2011, 7.017 επιβεβαιωμένα κρούσματα καταγράφηκαν στην ΕΕ και αυτή ήταν η πρώτη φορά που ο αριθμός των κρουσμάτων από το παθογόνο είχε δείξει μια μικρή αύξηση από το 2006.

Για τη δεκαετία 1998 έως 2008 τα στοιχεία που παρουσίασε το CDC το 2011 για τις ΗΠΑ δείχνουν ότι ο συνολικός αριθμός των τροφιμογενών επιδημιών από *Y. enterocolitica* καταγράφει μια πτωτική πορεία. Για το διάστημα 1998 έως 2006 στις ΗΠΑ μιας επίσης πτωτική τάση της συχνότητας των συμβάντων από 0.8 σε 0.26 (ανά 100.000 πληθυσμού), με μέση τιμή 0.38 συμβάντα /100.000 πληθυσμού (CDC, 2011).

Συνεπώς, λόγω του κινδύνου για τη δημόσια υγεία από την τροφιμογενή λοίμωξη από *Y. enterocolitica*, η εφαρμογή ειδικών κανόνων υγιεινής είναι απολύτως απαραίτητη, κυρίως για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, σε όλα τα στάδια επεξεργασίας, από τη φάρμα στο τραπέζι. Η Ευρωπαϊκή Ένωση από χρόνια έχει εκδώσει σχετική νομοθεσία απαιτώντας διαδικασίες αυτοέλεγχου στις βιομηχανίες τροφίμων με ιδιαίτερη έμφαση στην εφαρμογή του συστήματος HACCP.

Λέξεις Κλειδιά: *Yersinia Enterocolitica*, Τροφιμογενή Παθογόνα Βακτήρια, Τρόφιμα Ζωικής Προέλευσης.

The presence of *Yersinia enterocolitica* in foods of animal origin

SUMMARY

Yersinia enterocolitica is a Gram negative bacterium belongs to the genus *Yersinia* of the family *Enterobacteriaceae*. It is considered an important food-born pathogen bacterium and the causative agent for the human illness *yersiniosis*. The clinical symptoms of the infection include gastrointestinal disorders, diarrhea, enterocolitis, appendicitis, and not often, septicemia and post-infective arthritis (Reiter's syndrome). *Y. enterocolitica* is the most heterogeneous species of the genus and is divided into distinct serotypes and biotypes. Most of the pathogenic strains belong to biotypes 1B, 2, 3, 4, and 5. *Y. enterocolitica* infection in Europe is caused mainly by serotype O:3 (biotype 4), while serotype O:8 (biotype 1B) is the most prevalent clinical type of *Y. enterocolitica* in USA. In Europe, also strains of biotype 4 (serotype O:3) and biotype 2 (serotype O:9) are commonly associated with human infections.

Human *yersiniosis* is primarily acquired through the gastrointestinal tract as a result of ingestion of contaminated foods, usually raw or inadequately cooked pork, while a person-to-person transmission is rare. *Yersiniosis* is more likely in the child less than 5 years of age and typically lasts one to three weeks without treatment.

Y. enterocolitica is widely spread in nature and are frequently isolated from the soil, water, animals, and a variety of foods. Pigs are considered the major reservoir of human pathogenic *Y. enterocolitica* in the world. Several domestic animals like dogs, cats, cows, sheep, and horses and several wild animals like rodents (mainly mice), monkeys, deer, and foxes have also been incriminated as potential reservoirs.

Foods of animal origin, particularly pork and pork products, are often implicated in foodborne outbreaks. Contaminated pasteurized milk, reconstituted powdered milk and contaminated chocolate milk have been also implicated in outbreaks caused by *Y. enterocolitica*. Fish, shrimps, crabs, and raw oysters from polluted water contaminated with pathogen have also been identified as the source of infection. *Y. enterocolitica* is one of the few pathogenic bacteria which can grow at refrigerating temperature (Swaminathan et al., 1982).

In 2010, the EFSA (European Food Safety Authority) report revealed that the percentages of the tested pork samples positive in *Y. enterocolitica* were 2.5%, while the 1.8% of tested pigs were also found positive. The surveillance report in 2012 demonstrated that the number of *yersiniosis* cases related to meat and foods of animal origin, showed an almost twofold increase during the period from 2004 to 2009. According to the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) report, during the decade 1998-2008 in USA the highest recorded rate (20%) of foodborne infections caused by poultry and fish samples.

In 2011 *yersiniosis* was the fourth most commonly reported zoonosis in the EU, even considering the continuous decreasing five-year trend (2007–2011). In 2011, 7,017 confirmed human cases were reported in the EU and this was the first time that the number of *yersiniosis* cases had shown a slight increase since 2006. In USA a decrease in reported outbreaks during 1998 to 2008 was also recorded (CDC, 2011).

Thus, due to high significance of *Y. enterocolitica* for public health, application of control measures, such as hygien rules and HACCP system in food processing lines is demanded.

Keyword: Yersinia Enterocolitica, Food-born Pathogen Bacterium, Food of Animal Origin

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	Σελ
Τίτλος-Στοιχεία διπλωματικής εργασίας-Εξώφυλλο	I
Η τριμελής επιτροπή	II
Αφιέρωση	III
Περίληψη	IV
Summary	VI
Περιεχόμενα	VIII
Ευχαριστίες	X
Κατάσταση πινάκων	XI
Κατάσταση διαγραμμάτων	XII
Κατάσταση εικόνων	XIII
Εισαγωγή	1
ΚΕΦ.1 Χαρακτηριστικά της <i>Y. enterocolitica</i>	7
1Α. Εισαγωγικά	7
1Β. Ταξινόμηση	9
1Γ. Ανάπτυξη	13
1Δ. Επιβίωση	19
ΚΕΦ.2 Προκαλούμενη νόσος (Υερσινίωση)	22
2Α. Υερσινίωση	22
2Β. Τρόποι μετάδοσης	23
2Γ. Παθογένεια	28
2Δ. Συμπτώματα	31
ΚΕΦ.3 Επιδημιολογία	39
3Α. Επιδημιολογία	39
3Β. Διάδοση και ρυθμός ανάπτυξης συμβάντων	40
3Γ. Επιδημική συμπεριφορά και μεταδοτικότητα	43
3Δ. Γεωγραφικά κατανομή	44
3Ε. Εποχιακή κατανομή	45
3ΣΤ. Ηλικία	47
3Ζ. Φύλο	47
3Η. Απασχόληση	49
3Θ. Φυλή και εθνικότητα	49

ΚΕΦ. 4	Μέθοδοι προσδιορισμού	51
ΚΕΦ. 5	Η <i>Y. enterocolitica</i> σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης	58
5Α.	Κρέας χοιρινό, βόειο, και προϊόντα αυτών	65
5Β.	Κρέας πουλερικών	68
5Γ.	Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα	70
5Δ.	Ιχθυηρά και αλιευτικά προϊόντα	72
ΚΕΦ. 6	Πρόληψη	75
	Συμπεράσματα	81
	Βιβλιογραφία	83

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ θερμά την επίκουρο καθηγήτρια της Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Α. Πεξαρά για την συνεχή, αμέριστη, και άμεση ανταπόκρισή της σε όλα τα θέματα που προέκυψαν κατά τη διάρκεια εκτέλεσης αυτής της εργασίας μέχρι την τελική της διαμόρφωση. Επίσης, ευχαριστώ τον κ. καθηγητή κ. Α. Γκόβαρη για τις χρήσιμες και πάντα ουσιαστικές συζητήσεις μας επί του θέματος μου.

Κατάσταση Πινάκων

A/A	Τίτλος	Κεφάλαιο	Σελίδα
1	Σχέση μεταξύ βιότυπου, Ο ορότυπου, και <i>pYV</i> μεταφορέα της <i>Y. enterocolitica</i>	1	10
2	Γενικά χαρακτηριστικά, βασικές δοκιμές ταυτοποίησης του βακτηρίου <i>Yersinia</i> .	1	12
3	Κλινικές εκδηλώσεις της υερσινίωσης	2	38
4	Αναφερόμενες περιπτώσεις υερσινίωσης σε ανθρώπους τα έτη από το 2004-2008, και οι κοινοποιημένες τιμές το 2008.	5	60
5	<i>Yersinia spp.</i> σε χοιρινό κρέας και προϊόντα αυτού, 2008.	5	61
6	Επιλεγμένες επιδημικές εξάρσεις της τελευταίας 20ετίας.	5	64
7	Πηγές, βιο/ορότυπος, περιπτώσεις, έτος και χώρα εντοπισμού μολύνσεων από <i>Y. enterocolitica</i> σε προϊόντα κρέατος.	5	67
8	Πηγές, βιο/ορότυπος, περιπτώσεις, έτος και χώρα εντοπισμού μολύνσεων από <i>Y. enterocolitica</i> σε γαλακτοκομικά προϊόντα.	5	71

Κατάσταση Διαγραμμάτων

A/A	Τίτλος	Κεφάλαιο	Σελίδα
1	Κατανομή του ολικού αριθμού ανθρωπίνων περιπτώσεων ανά αιτιολογικό παράγοντα σε επιβεβαιωμένες εξάρσεις στην ΕΕ, το 2008.	3	40
2	Μέσες τιμές ετήσιων συμβάντων από <i>Y. Enterocolitica</i> σε 10 πολιτείες των ΗΠΑ.	3	42
3	Αριθμός τροφογενών συμβάντων από <i>Y. enterocolitica</i> στις ΗΠΑ.	3	46
4	Εποχιακή κατανομή μολύνσεων από <i>Y. enterocolitica</i> στη Γερμανία, 2001-2008.	3	46
5	Αναφερόμενες μολύνσεις από <i>Y. enterocolitica</i> στη Γερμανία κατά ηλικία και φύλο, 2001-2008.	3	48
6	Αιτιολογικοί παράγοντες των τροφιμογενών εξάρσεων στην ΕΕ το 2008.	5	59

Κατάσταση Εικόνων

A/A	Τίτλος	Κεφάλαιο	Σελίδα
1	Ο μικροοργανισμός <i>Y. enterocolitica</i> με χρήση της τεχνικής χρώσης με Flagella.	1	11
2	Η <i>Y. enterocolitica</i> σε διάφορα υλικά καλλιέργειας.	1	14
3	Λεπτομέρειες της <i>Y. enterocolitica</i> σε CIN άγαρ.	1	15
4	Τρόποι μετάδοσης της <i>Y. enterocolitica</i>	2	24
5	Φυσιοπαθολογική πορεία μόλυνσης από <i>Y. enterocolitica</i> .	2	29
6	Η <i>Y. enterocolitica</i> σε CIN άγαρ.	5	52
7	Απλοποιημένο Φαινοτυπικό σχήμα διαφοροποίησης της <i>Y. enterocolitica</i> από παρόμοια προς αυτήν είδη.	5	52

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γένος *Yersinia* περιλαμβάνει 11 είδη. Μεταξύ των ειδών αυτών η *Y. enterocolitica*, η *Y. pseudotuberculosis*, η *Y. pestis* και η *Y. ruckeri* είναι παθογόνα. Σε επίπεδο DNA, οι *Y. pseudotuberculosis* και *Y. pestis* σχετίζονται πολύ, και έχει προταθεί ότι η *Y. pestis* είναι ένα είδος που προήλθε εξελικτικά από την *Y. pseudotuberculosis* (Skurnik και συν., 2000; Achtman και συν., 1999). Και παρόλο που οι ταξινομικά σχετιζόμενες *Y. pestis* και *Y. ruckeri* ήταν γνωστές από τον 18^ο αιώνα, η πρώτη επίσημη μόλυνση από *Y. enterocolitica* αναφέρεται στις ΗΠΑ το 1939 στη Νέα Υόρκη (Schleifstein and Coleman, 1939). Η *Y. pseudotuberculosis* περιστασιακά προκαλεί μεσεντερική λεμφαδενίτιδα και σηψαιμία και εμπλέκεται σε νόσους αυτοάνοσης αιτιολογίας (Robbins-Browne, 2001). Η *Y. pestis* προκαλεί νόσο σε διάφορα ζώα, είναι γενετικά παρόμοια με την *Y. pseudotuberculosis*, αλλά δεν μεταδίδεται από τα τρόφιμα. Η *Y. ruckeri* προκαλεί νόσο στα ψάρια.

Με βάση τη ζύμωση επιλεγμένων οργανικών υποστρωμάτων, η *Y. enterocolitica* κατατάσσεται σε πέντε βιοομάδες, τις 1A, 1B, 2, 3, 4, και 5. Στα στελέχη τα παθογόνα για τους ανθρώπους και τα οικόσιτα ζώα ανήκουν κυρίως οι βιότυποι 1B, 2, 3, 4 και 5. Ο βιότυπος που συνδέεται συχνότερα με τον άνθρωπο παγκοσμίως είναι ο βιότυπος 4.

Η *Y. enterocolitica* είναι ένα ψυχρότροφο παθογόνο το οποίο προκαλεί οξεία γαστρεντερίτιδα (Laukkanen και συν., 2010) και περιστασιακά πιο σοβαρή ασθένεια σε ανθρώπους. Σε κάποιες χώρες η συχνότητα εμφάνισης συμπτωμάτων από *Y. enterocolitica* προσεγγίζει αυτήν της *Salmonella* ως τροφιμογενές παθογόνο, και λόγω της ικανότητάς του να αναπτύσσεται σε θερμοκρασία ψύξης (Annamalai και Venkitanarayanan, 2005), προκαλεί μια αυξανόμενη ανησυχία στο πεδίο της ασφάλειας των τροφίμων. Ως παθογόνο βακτήριο που παρουσιάζει αξιοσημείωτη ικανότητα να προσαρμόζεται και να επιβιώνει σε διάφορες συνθήκες περιβάλλοντος και ξενιστές, είναι το είδος που κυριαρχεί στον άνθρωπο. Μεταδίδεται μέσω των τροφίμων και του νερού, ενώ είναι δυνατή και η μόλυνση και από άτομο σε άτομο. Η *Y. enterocolitica* έχει ιδιαίτερη σημασία για τα τρόφιμα, γιατί είναι από τα λίγα παθογόνα του εντέρου που μπορούν και αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες ψύξης (Swaminatham και συν., 1982).

Η *Y. enterocolitica* δε θεωρείται καλός ανταγωνιστής παρουσία άλλων βακτηρίων, γεγονός που φαίνεται και από το ότι ο ρυθμός ανάπτυξής του είναι μικρότερος στα νωπά κρέατα από ό,τι στα μαγειρεμένα (Sciemann, 1989). Οι σημαντικότεροι παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη του είναι:

α) η θερμοκρασία: αναπτύσσεται σε ένα εύρος θερμοκρασιών 0-44°C, με βέλτιστη ανάπτυξη να παρατηρείται στους 28-30°C (Sutherland και Varnam, 1977), ενώ ο χρόνος διπλασιασμού στην ιδανική θερμοκρασία είναι περίπου 34 min, και 40 ώρες στους 1°C (Sciemann, 1989).

β) το pH: η ελάχιστη τιμή pH για ανάπτυξη είναι στο εύρος 4.2-4.8 και εξαρτάται από την θερμοκρασία και το μέσο οξίνισης (Stern και συν., 1980a). Όταν στελέχη της *Y. enterocolitica* επωάζονται στους 4°C, αναπτύσσονται βραδέως σε τιμές pH 5.2-5.4, αλλά ταχύτατα σε τιμές 5.6-7.6 (Seelye και Yearbury 1979). Η μέγιστη τιμή pH για ανάπτυξη είναι περίπου 10.0, ενώ η βέλτιστη ανάπτυξη παρατηρείται σε τιμές 7.2-7.4.

γ) η ατμόσφαιρα: η ανάπτυξη επιβραδύνεται σε συσκευασία υπό κενό, σε συσκευασία 100% N₂ και σε μίγμα αερίων CO₂/N₂, αλλά η ανασταλτική επίδραση είναι περισσότερο έντονη σε θερμοκρασίες ψύξης.

δ) η ενεργότητα του ύδατος (a_w): η *Y. enterocolitica* δεν αναπτύσσεται σε τιμές a_w < 0.945, και

ε) το NaCl: η ανάπτυξη της *Y. enterocolitica* αναστέλλεται σε επίπεδα NaCl 5-7%.

Σχετικά με την επιβίωση του βακτηρίου στη θερμική επεξεργασία τα στελέχη της *Y. enterocolitica* παρουσιάζουν διαφορές στην ευαισθησία και, κατά κανόνα, τα περισσότερα στελέχη δεν επιβιώνουν μετά από θέρμανση στους 60°C για 3 min (Hanna και συν., 1977). Γενικά, η *Y. enterocolitica* και η *Y. pseudotuberculosis* θεωρούνται θερμοευαίσθητα βακτήρια και η παστερίωση των τροφίμων εξαλείφει το κίνδυνο (Robbins-Browne, 2001). Από την άλλη πλευρά, η *Y. enterocolitica* είναι ευπαθής όταν δέχεται ακτινοβολία, και μάλιστα υπό την επίδραση της ιονίζουσας και UV ακτινοβολίας (Butler και συν., 1987; Dion και συν., 1994). Έχουν υπολογιστεί τιμές D περίπου 0.1-0.2 kGy στους 25°C, και 0.4 στους -30°C.

Σημαντικό για την παθογένεια στα περισσότερα στελέχη της *Y. enterocolitica* είναι η ικανότητα αυτών να παράγουν μια θερμοάντοχη εντεροτοξίνη (*Yst*, *Yst-a*), η παραγωγή της οποίας ελέγχεται από χρωμοσωμικό γονίδιο. Η δομή της εντεροτοξίνης αυτής είναι ανάλογη με αυτή των τοξινών που παράγονται από εντεροτοξινογόνα στελέχη *E. coli* και των non-O1 οροτύπων του *Vibrio cholerae*. Τα πολυπεπίδια αυτά προσκολλούνται στα κύτταρα του εντέρου και προκαλούν αλλαγές που οδηγούν σε διαταραχές της

απορρόφησης υγρών και ηλεκτρολυτών, με αποτέλεσμα την διάρροια (Delor και συν., 1990).

Ορισμένα στελέχη της *Y. enterocolitica* μπορεί να συνθέσουν εντεροτοξίνη *Yst* ή άλλες εντεροτοξίνες σε ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών (4–37°C) (Robbins-Browne, 2001). Καθώς οι τοξίνες αυτές είναι σχετικά σταθερές στην επίδραση των οξέων, μπορούν να περάσουν ανέπαφες από τα οξέα του στομάχου και να προκαλέσουν νόσο αν προσληφθούν με τα τρόφιμα στα οποία έχουν προσχηματιστεί. Σε τρόφιμα που ενοφθαλμίστηκαν με κύτταρα *Y. enterocolitica* διαπιστώθηκε ότι η μέγιστη παραγωγή τοξίνης παρατηρείται σε θερμοκρασία 25°C (Schiemann, 1988). Συνεπώς, οι συνθήκες συντήρησης που απαιτούνται κατά την παραγωγή των τροφίμων, συνευθύνονται πολλές φορές και για την αλλοίωση αυτών, καθιστώντας όμως την πιθανότητα πρόσληψης της προσχηματισμένης *Yst* εξαιρετικά μικρή.

Η μόλυνση του ανθρώπου από *Y. enterocolitica* περιγράφεται ως μια αυτοπεριοριζόμενη γαστρεντερίτιδα που εκδηλώνεται κυρίως με διάρροια, αλλά μπορεί να προκύψουν επιπλοκές αυτοάνοσης κυρίως αιτιολογίας σε ευπαθή άτομα. Καλείται *υερσινίωση* και είναι από τις πλέον κοινές εντερικές νόσους στην Ευρώπη μαζί με την καμπυλοβακτηρίωση και τη σαλμονέλωση (EFSA 2015). Η ευπάθεια σχετίζεται κυρίως με την ηλικία και την κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος.

Δεν είναι γνωστή η απαιτούμενη δόση για την πρόκληση νόσου στον άνθρωπο, αλλά εκτιμάται ότι ξεπερνάει τα 10^4 cfu. Η οξύτητα του γαστρικού υγρού προσφέρει σημαντική προστασία από τη μόλυνση, και οποιαδήποτε διαταραχή στην έκκριση του μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της απαιτούμενης δόσης (de Koning-Ward και Robins-Browne, 1995). Επίσης, ο χρόνος επώασης ποικίλει μεταξύ 1 και 11 ημερών και συνηθέστερα είναι 7 ημέρες.

Οι περισσότερες συμπτωματικές μολύνσεις παρατηρούνται στα παιδιά ηλικίας κάτω από 5 ετών. Εκδηλώνονται με υδαρή έως βλεννώδη διάρροια, σε συνδυασμό με χαμηλό πυρετό και κοιλιακό άλγος (Hoogkamp-Korstanje και Stolk-Engelaar, 1995). Η κυριότερη επιπλοκή είναι η αντιδραστική αρθρίτιδα (Leirisalo-Repo, 1987), που εκδηλώνεται περίπου 1-2 εβδομάδες μετά την διάρροια και διαρκεί συνήθως λιγότερο από 3 μήνες.

Σε παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας και σε ενήλικες εκδηλώνονται με συμπτώματα που μοιάζουν με σκωληκοειδίτιδα. Συνυπάρχει πυρετός, με ή χωρίς διάρροια (Cover και

Aber, 1989). Σε σπάνιες περιπτώσεις, η μόλυνση εντοπίζεται εκτός του εντέρου (σηπτική αρθρίτιδα, οστεομυελίτιδα, λοιμώξεις του ουροποιητικού, πνευμονία κ.ά.). Βακτηραιμία εκδηλώνεται κυρίως σε ανοσοκατασταλμένα άτομα και μπορεί να οδηγήσει σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις μέχρι και ενδοκαρδίτιδα και μηνιγγίτιδα (Foberg και συν., 1986). Η βακτηραιμία μπορεί να είναι και αποτέλεσμα μετάγγισης αίματος, όταν χορηγηθεί αίμα από αιμοδότες με υποκλινική βακτηραιμία. Τα βακτήρια που βρίσκονται, ακόμη και σε μικρούς πληθυσμούς, στο μεταγγιζόμενο αίμα μπορούν να αναπτυχθούν στην διάρκεια της συντήρησής του σε θερμοκρασίες ψύξης (Gottlieb, 1993).

Η νόσος διαρκεί από μερικές ημέρες έως 3 εβδομάδες, ωστόσο, σε ορισμένους ασθενείς εξελίσσεται σε χρόνια εντερίτιδα που μπορεί να διαρκέσει αρκετούς μήνες (Saebo και Lassen, 1992). Τέλος, η θνησιμότητα είναι ιδιαίτερα χαμηλή (0-0,5%), ενώ στην περίπτωση της βακτηραιμίας, η θνησιμότητα μπορεί να αυξηθεί σημαντικά (30-60%).

Τρόφιμα στα οποία έχουν βρεθεί στελέχη της *Y. enterocolitica* είναι διάφορα είδη κρέατος (χοιρινό, μοσχαρίσιο, πρόβειο κ.ά.), τα αλιεύματα και το νωπό γάλα. Λόγω της παρουσίας των ορότυπων που συνδέονται με τη ανθρώπινη νόσο στο χοίρο, το τρόφιμο που συνδέεται συχνότερα είναι το χοιρινό κρέας και τα προϊόντα του. Στους χοίρους η μόλυνση από *Y. enterocolitica* εντοπίζεται συχνότερα στις αμυγδαλές αλλά και στη γλώσσα, στο απευθυσμένο και στον εντερικό λεμφικό ιστό. Από τα σημεία αυτά μπορεί εύκολα να επιμολυνθεί το σφάγιο κατά τη σφαγή των χοίρων και τον παραπέρα χειρισμό του (Schiemann, 1980). Επιδημιολογικές έρευνες έδειξαν ότι για τα περισσότερα κρούσματα η κυριότερη αιτία ήταν η κατανάλωση ατελώς ψημένου χοιρινού κρέατος (Tauhe και συν., 1987). Μόλυνση συχνά έχει προκληθεί και μετά από χειρισμό χοιρινών εντέρων (Robbins-Browne, 2001).

Ωστόσο, συχνά σε κρούσματα εμπλέκονται και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, στα οποία η παρουσία της *Y. enterocolitica* οφείλεται κυρίως στην επιμόλυνση μετά την παστερίωση, καθώς ο μικροοργανισμός καταστρέφεται κατά την παστερίωση (Robbins-Browne, 2001), αλλά η ικανότητά της να αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες ψύξης καθιστά περισσότερο επικίνδυνα τα τρόφιμα που επιμολύνονται κατά την παρασκευή τους και διατηρούνται υπό ψύξη (Aulisio και συν., 1982, Aulisio και συν., 1983).

Η *Y. enterocolitica* απαντάται σε όλες τις κλιματικές ζώνες και παρόλο που για δεκαετίες χαρακτηριστικοί βιότυποι/ορολογικές ομάδες συνδέθηκαν με συγκεκριμένες

γεωγραφικές περιοχές, οι έρευνες που πραγματοποιήθηκαν στα τέλη της δεκαετίας του 1980 φανέρωσαν ότι *Y. enterocolitica* O:3 και O:9 κυρίως απομονώνονται στην Ευρώπη, ενώ ο ορότυπος O:8 στις ΗΠΑ. Παρόλα αυτά, ένα πλήρως μολυσματικό *Y. enterocolitica* O:8 στελέχος απομονώθηκε στη Γερμανία από κλινικό υλικό απομονωμένο από ένα αγόρι τεσσάρων ετών, ενώ η πρώτη περίπτωση απομόνωσης του O:8 στελέχους εντοπίζεται στην Πολωνία. Στην Ελλάδα, παρά τα ελλιπή στατιστικά στοιχεία μεταξύ των απομονωθέντων ειδών *Yersinia* και του νομού απομόνωσης, ο μεγαλύτερος αριθμός στελεχών έχει απομονωθεί στο νομό Εύβοιας κατά τους χειμερινούς μήνες (Κεχαγιά, 2007).

Οι μέθοδοι προσδιορισμού των ειδών της *Y. enterocolitica* πέραν των κλασσικών τεχνικών καλλιέργειας περιλαμβάνει και πιο σύγχρονες τεχνικές όπως η PCR, η ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA), η ηλεκτροφόρηση πηκτώματος σε παλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο (Pulse-Field Gel Electrophoresis-PFGE) η οποία επιτρέπει την απομόνωση μεγαλύτερων τμημάτων DNA από τις συμβατικές μεθόδους ηλεκτροφόρησης, και τέλος τη μέθοδο φασματομετρίας μάζας MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry) μέσω της ανάπτυξης μιας βάσης δεδομένων φασμάτων μάζας η οποία εφαρμόστηκε από τους Stephan και συν. (2011).

Τα μέτρα πρόληψης της μόλυνσης από την *Y. enterocolitica* είναι τα γενικά μέτρα πρόληψης των τροφολοιμώξεων. Ιδιαίτερη σημασία για την αποτροπή της μόλυνσης σε ατομικό-οικιακό επίπεδο έχει:

1. η μη κατανάλωση ατελώς ψημένου χοιρινού κρέατος και γενικότερα κρέατος,
2. η κατανάλωση μόνο παστεριωμένου γάλακτος και προϊόντων του,
3. η τήρηση των κανόνων υγιεινής κατά την παρασκευή των τροφίμων και το προσεκτικό πλύσιμο των χεριών μετά από την επαφή με τα ζώα ή το χειρισμό νωπών προϊόντων, ιδιαίτερα χοιρινού κρέατος και εντέρων χοίρου,
4. η προσοχή στην επιμόλυνση των τροφών που δεν θα υποστούν θερμική επεξεργασία, και η εφαρμογή ενός συστήματος HACCP (ανάλυσης κινδύνων και κρίσιμων σημείων ελέγχου) σε επίπεδο επεξεργασίας και παρασκευής του.

Έτσι, λαμβάνοντας υπόψη την ποικιλία των βιότυπων της *Y. enterocolitica*, τους τρόπους μετάδοσής της, το πλήθος των προσβαλλόμενων τροφίμων ευρείας κατανάλωσης, των συμπτωμάτων εκδήλωσης της νόσου-από τις περισσότερες ευαίσθητες

μικρές ηλικιακές ομάδες μέχρι τις μεγαλύτερες-επιβάλλεται η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, ελληνικής και διεθνούς, σχετικά με τη παρουσία του βακτηρίου στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, των χαρακτηριστικών του μικροοργανισμού, τον τρόπο της μόλυνσης του ανθρώπου, την πηγή, το μέγεθος και τη συχνότητα των καταγεγραμμένων κρουσμάτων ώστε να εκτιμηθεί η σοβαρότητα της παρουσίας του στα διάφορα είδη τροφίμων και κατ' επέκταση η διασφάλιση της Δημόσιας Υγείας μέσω της εφαρμογής των απαραίτητων μέτρων πρόληψης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ *Y. enterocolitica*

1Α. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ

Το βακτήριο *Y. enterocolitica* είναι ευρέως διαδεδομένο αφού συχνά απομονώνονται από το έδαφος, το νερό, τα ζώα και μια ποικιλία τροφίμων. Αποτελεί μια ετερογενή βιοχημική ομάδα που μπορεί να επιβιώσει και αναπτυχθεί σε συνθήκες ψύξης. Η ικανότητα τους να πολλαπλασιάζονται σε συνθήκες ψύξης είναι αξιοσημείωτης σημασίας στην υγιεινή των τροφίμων.

Το βακτήριο *Y. enterocolitica* περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Scleifstein και Coleman το 1939 και 1943, αντίστοιχα, και αρχικά ονομάστηκε *Bacterium enterocoliticum* (Buchrieser και συν., 1994; Heesemann και συν., 1984). Κατά τη διάρκεια των επομένων ετών λίγες μόνο απομονώσεις του βακτηρίου αναφέρθηκαν. Στην Ευρώπη, ο μικροοργανισμός απομονώθηκε από δυο ασθενείς που πέθαναν από γενικευμένη λοίμωξη με αποστήματα του ήπατος το 1949 (Hill και συν., 1983). Το 1964 απομονώθηκε από έναν ασθενή που υποβλήθηκε σε χειρουργική επέμβαση λόγω τελικής ειλεΐτιδας και τον ίδιο χρόνο προτάθηκε η ονομασία *Y. enterocolitica* (Schiemann, 1980).

Στην Ελλάδα, *Y. enterocolitica* απομονώθηκε για πρώτη φορά από την Αρσένη και συν. (1974), ύστερα από μια αποτυχημένη πρώτη προσπάθεια δυο χρόνια νωρίτερα από τους Πατεράκη και Παπαοικονόμου (1972) και έκτοτε αποτέλεσε αντικείμενο μελέτης από πολλούς επιστήμονες του χώρου. Η μόλυνση από *Y. enterocolitica* μπορεί να προκαλέσει μια ποικιλία συμπτωμάτων εξαρτωμένων από την ηλικία του μολυσμένου προσώπου. Μόλυνση από *Y. enterocolitica* πιο συχνά συμβαίνει σε νέα παιδιά κάτω των 5 ετών (Fredriksson-Ahomaa και συν., 2010), όπως και οι περιπτώσεις υερσινίωσης συχνά συμβαίνουν σε παιδιά (El Qouqa και συν., 2011).

Η εμφάνιση της υερσινίωσης είναι επίσης πιθανό να σχετίζεται με αλλαγές που συντελέστηκαν στις μονάδες εκτροφής ζώων, την τεχνολογία τροφίμων, και τη βιομηχανία τροφίμων. Μέγιστης σημασίας είναι οι αλλαγές στην βιομηχανία κρέατος, όπου η παραγωγή κρέατος έχει μετακινηθεί από τα μικρής κλίμακας σφαγεία, με περιορισμένους τρόπους διανομής, σε μεγάλες εγκαταστάσεις που επεξεργάζονται χιλιάδες χοίρους καθημερινά και διανέμουν τα προϊόντα τους σε εθνικό και διεθνές

επίπεδο. Το μέγεθος των μονάδων εκτροφής έχει αυξηθεί, και οι κτηνοτροφικές μέθοδοι διαχείρισης πόρων έχουν επίσης γίνει πιο εντατικές. Έτσι, ενώ αρκετές μοντέρνες τεχνικές σφαγής μειώνουν τον κίνδυνο μόλυνσης του κρέατος, ευκαιρίες για μετάδοση του οργανισμού από ζώο σε ζώο και μόλυνση μεταξύ των σφάγιων και των προϊόντων κρέατος υφίσταται σε κλίμακα τέτοια που δεν ήταν γνωστή πριν από μερικές δεκαετίες (Fredriksson-Ahomaa και συν., 2010).

Επιπλέον, τα πλεονεκτήματα στην συσκευασία και ψύξη επιτρέπουν τώρα στην βιομηχανία και τους καταναλωτές να αποθηκεύουν τρόφιμα πολύ μεγαλύτερες περιόδους, είναι ένας σημαντικός παράγοντας όταν σχετίζεται με ένα ψυχρότροφο παθογόνο όπως η *Y. enterocolitica*.

1B. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Το είδος *Y. enterocolitica* ανήκει στο βασίλειο των *Bacteria*, στο φύλο των *Proteobacteria*, στην κλάση των *Gamma Proteobacteria*, την τάξη των *Enterobacteriales*, την οικογένεια των *Enterobacteriaceae*, του γένους *Yersinia*. Η λέξη *Yersinia* προέρχεται από το όνομα του Γάλλου μικροβιολόγου A. J. E. Yersin, ο οποίος πρώτος το 1894 απομόνωσε το μικροοργανισμό που προκαλούσε την πανώλη.

Το γένος *Yersinia* περιλαμβάνει τα ακόλουθα 11 αποδεδειγμένα είδη: *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii*, *Y. rodheii*, *Y. aldovae* και *Y. ruckeri*. Μεταξύ των ειδών αυτών η *Y. enterocolitica*, η *Y. pseudotuberculosis*, η *Y. pestis* και η *Y. ruckeri* είναι παθογόνα. Η *Y. enterocolitica* είναι το είδος που κυριαρχεί στον άνθρωπο. Παθογόνος για τον άνθρωπο είναι και η *Y. pseudotuberculosis* που περιστασιακά προκαλεί μεσεντερική λεμφαδενίτιδα και σηψαιμία και εμπλέκεται σε νόσους αυτοάνοσης αιτιολογίας (Robbins-Browne, 2001).

Η *Y. pestis* προκαλεί νόσο σε διάφορα ζώα, είναι γενετικά παρόμοια με την *Y. pseudotuberculosis*, αλλά δεν μεταδίδεται από τα τρόφιμα. Η *Y. ruckeri* προκαλεί νόσο στα ψάρια. Το γένος *Yersinia* περιλαμβάνει βακτήρια Gram αρνητικά, αρνητικής αντίδρασης οξειδάσης και προαιρετικώς αναερόβια (Robbins-Browne, 2001) (Πίνακας 1).

Μεταξύ των διαφόρων στελεχών που ανήκουν στο κάθε είδος παρατηρείται μεγάλη ποικιλομορφία στα βιοχημικά χαρακτηριστικά. Οι διαφορές αυτές χρησιμοποιήθηκαν από πολλούς ερευνητές για την παραπέρα ταξινόμηση σε βιότυπους (Nilehn, 1969; Wauters, 1970; Knapp και Thal 1973; Mehlman και συν., 1978).

Για την *Y. enterocolitica* η ταξινόμηση αυτή στηρίζεται κυρίως στην ικανότητα της να μεταβολίζει ορισμένα οργανικά συστατικά. Τα παθογόνα στελέχη για ανθρώπους και οικόσιτα ζώα ανήκουν κυρίως στους βιότυπους 1B, 2, 3, 4 και 5. Ο βιότυπος που συνδέεται συχνότερα με τον άνθρωπο παγκοσμίως είναι ο βιότυπος 4. Επιπλέον, ορολογικά η *Y. enterocolitica* ταξινομείται σε ορότυπους με βάση τα σωματικά αντιγόνα (O) (Wauters και συν., 1970; Wauters και συν., 1971; Wauters και συν., 1972). Ο ορότυπος O:3 απομονώνεται συχνότερα από τον άνθρωπο. Τα περισσότερα από τα στελέχη αυτά ανήκουν στο βιότυπο 4. Άλλοι ορότυποι που συχνά απομονώνονται από

τον άνθρωπο, και κυρίως στην Βόρεια Ευρώπη, περιλαμβάνουν τα O:9 (βιότυπος 2) και

Πίνακας 1. Σχέση μεταξύ βιότυπου, O ορότυπου, και *pYV* μεταφορέα της *Y. enterocolitica* (Tennant και συν., 2003).

Βιότυπος	Ορότυπος
1A	O:4; O:5; O:6,30; O:6,31; O:7,8; O:7,13; O:10; O:14; O:16; O:21; O:22; O:25; O:36; O:37; O:41,42; O:46; O:47; O:57; NT ^a
1B	O:4,32 ^b ; O:8 ^b ; O:13 ^a ,13 ^b ; O:16; O:18 ^b ; O:20 ^b ; O:21 ^b ; O:25; O:41,42; NT
2	O:5,27 ^a ; O:9 ^b ; O:27
3	O:1,2,3 ^b ; O:3 ^b ; O:5,27 ^b
4	O:3 ^b
5	O:2,3 ^b

^a NT: Non typable

^B Ορότυποι που περιλαμβάνουν γένη που περιέχουν το *pYV*.
O:5,27 (βιότυπος 2 ή 3).

Επιπλέον έχουν προσδιοριστεί τουλάχιστον 18 βλεφαριδικά αντιγόνα (H) που συμβολίζονται με πεζά γράμματα (a,b, b,c, b,c,e,f,k, m κ.λπ.). Ωστόσο, σπάνια η ταξινόμηση στηρίζεται ταυτόχρονα στα σωματικά και βλεφαριδικά αντιγόνα (Wauters και συν., 1991). Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται και άλλα κριτήρια και μέθοδοι (κυρίως μοριακές) για την ταξινόμηση (Iteman και συν., 1996).

Από τους έξι βιότυπους, ο βιότυπος 1A είναι ο πιο ετερογενής και περικλείει ένα ευρύ φάσμα οροτύπων, εκ των οποίων οι ορότυποι O:5, O:6,30, O:6,31, O:7,8, O:10, όπως και τα O-άτυπα είδη είναι τα πιο συχνά απομονωμένα (Tennant και συν., 2003). Οι βιότυποι 1B και 2-5 χαρακτηρίζονται ως παθογονικοί, αφού φέρουν τους λεγόμενους δείκτες «παθογονικότητας», όπως την εντεροτοξίνη Yst (*Yersinia stable toxin*), το Myf αντιγόνο, την Inw πρωτεΐνη εισβολής (invasion), και την Ail συγκολλητίνη.

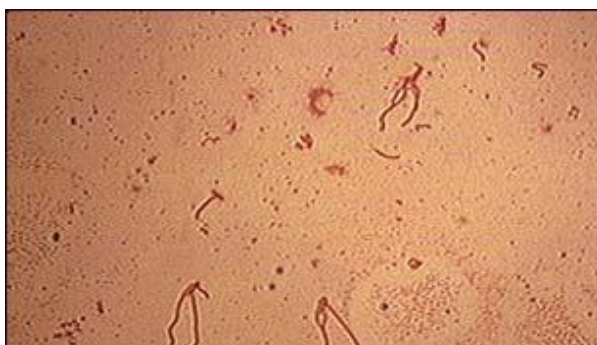
Βασισόμενος σε νεότερα στοιχεία ο Neubauer και συν., (2000) πρότειναν το διαχωρισμό των βακτηρίων *Y. enterocolitica* σε 76 ορολογικές ομάδες με βάση τη δομή του σωματικού O αντιγόνου. Σύμφωνα με αυτήν την προτεινόμενη κατάταξη τα *Y. enterocolitica* subsp. *paleoartica* περιλαμβάνουν είδη Ευρωπαϊκής προέλευσης που ανήκουν στους ακόλουθους βιο-ορότυπους: 4/O:3, 2/O:9,2 and 3/O:5,27, 1A/O:7,8, 1A/O:6,30,

and 1A/O:5, ενώ τα *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica* περιλαμβάνουν είδη Αμερικανικής προέλευσης του βιότυπου 1B και των ορότυπων 1A/O:7,8. Τα είδη *Y. enterocolitica* που συχνότερα είναι η αιτία ασθένειας σε ανθρώπους ανήκουν στους ορότυπους 1B/O:8, 2/O:5,27, 2/O:9, 3/O:3, και 4/O:3, αλλά σπανιότερα στον 3/O:5,27 και άλλους ορότυπους του βιότυπου 1B (Πίνακας 1).

Μελέτες της μορφής του βακτηρίου με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αποκάλυψαν την ύπαρξη περίτριχων βλεφαρίδων, σε όλους τους βιοχημικούς και ορολογικούς τύπους στη θερμοκρασία των 25 °C, ακόμη και στα βραδέως κινούμενα στελέχη των βιοτύπων 4 και 5 (Εικόνα 1). Αντιθέτως, στα ζωηρά κινούμενα στελέχη των βιοτύπων 1-3 παρατηρείται μεγάλος αριθμός βλεφαρίδων, ο αριθμός των οποίων ποικίλει από 1 έως 18 ανά κύτταρο, συνήθως όμως βρίσκονται από 2-6 βλεφαρίδες ανά κύτταρο. Το μήκος και το πλάτος τους κυμαίνεται από 2.82-2.85μ και 0.27-0.29μ, αντιστοίχως. Σημαντική είναι η παρατήρηση της μερικής ή πλήρους απώλειας των βλεφαρίδων μετά από επώαση στους 37 °C για 48 ώρες.

Η κινητικότητα του μικροβίου παρουσιάζει την ιδιομορφία της κίνησης στους 25 °C και της ακινησίας στους 37 °C, όταν εξετάζεται στο σύνηθες υλικό κινητικότητας εντός σωληναρίου που περιέχει ημίρρευστο άγαρ. Μέθοδος με σαφή αποτελέσματα για τα ταχέως κινούμενα στελέχη, ενώ για τα βραδέως κινούμενα τα στοιχεία είναι λιγότερο σαφή αυτής καθ' εαυτής της ανάπτυξης του μικροβίου και την παθητική διάχυση στο άγαρ, όπου και οι δυο εκλαμβάνονται ως κίνηση. Παρόλα αυτά, έτσι δύναται να πιστοποιηθεί η κίνηση των περισσοτέρων στελεχών της *Y. enterocolitica*, συμπεριλαμβανομένων και των βραδέως κινούμενων στελεχών των βιοτύπων 4 και 5.

Οι βιοχημικοί χαρακτήρες της *Y. enterocolitica* συνοψίζονται στον Πίνακα 2, όπου αναγράφεται η αρνητική αντίδραση της οξειδάσης, η θετική αντίδραση της



Εικόνα 1. Ο μικροοργανισμός *Y. enterocolitica* με χρήση της τεχνικής χρώσης με Flagella.

καταλάσης και η αρνητική της παραγωγής H_2S . Τα περισσότερα στελέχη διασπούν την ουρία συνήθως εντός 5 ωρών και ακόμη πιο ισχυρά στη θερμοκρασία των 37 °C, ενώ μετά από

24ωρη επώαση, η διάσπαση λαμβάνει χώρα και είναι ευκρινής και στις δύο θερμοκρασίες, δηλαδή των 25 °C και των 37 °C.

Η συμπεριφορά των διαφόρων στελεχών ως προς την παραγωγή οξέος από τα σάκχαρα σαλικίνη, ξυλόζη, τεχалоζή, σορβιτόλη, σουκρόζη και σορβόζη σε συσχέτισμό με τις ανωτέρω αναφερόμενες (και κάποιες επιπλέον) δοκιμές οδηγεί στη διάκριση των 330 στελεχών της *Y. enterocolitica* στους 5 βιότυπους (Πίνακας 2).

Πίνακας 2. Γενικά χαρακτηριστικά, και βασικές δοκιμές ταυτοποίησης του βακτηρίου *Yesrinia*.

Γενική περιγραφή-χαρακτηριστικά			
Gram-αρνητικά ραβδία			
Κινητικότητα (στους 22 έως 30°C): θετική			
Αναπαραγωγή χωρίς σπόρια			
Καταλάση: θετική			
Οξειδάση: αρνητική			
Παραγωγή H ₂ S: αρνητική			
Προαιρετικώς αναερόβιο			
Βασικές δοκιμασίες ταυτοποίησης			
Ανάπτυξη σε MacConkey	+	Αποκαρβοξυλάση λυσίνης	-
Παραγωγή ινδόλης	d	Υδρολάση αργινίνης	-
Κόκκινο του μεθυλίου	+	Αποκαρβξυλάση ορνιθίνης	-
Voges-Proskauer	-	Κινητικότητα (36 °C)	-
Κιτρικά (Simmons)	-	D-glucose acid/gas	+/-
Υδρόθειο (TSI)	-	Ζύμωση D-μανιτόλης	+
Υδρόλυση ουρίας	D	Υδρόλυση εσκούλινης	d
Ζύμωση σουκρόζης	+	Κατανάλωση οξικών	d
Ζύμωση λακτόζης	-	Δοκιμασία ONPG	+
Ζύμωση D-σορβιτόλης	+	Κελλοβιόζη	D
+ θετικό (>90% of strains are positive)			
D πιο θετικό (51 - 89%)			
d πιο αρνητικό (11 - 50%)			
- αρνητικό (0 - 10%)			

Τέλος, τα περισσότερα στελέχη ανάγουν τα νιτρικά άλατα, και στις δύο θερμοκρασίες, ενώ τα λίγα στελέχη που δεν συμπεριφέρονται ανάλογα ανήκουν στον βιότυπο 5. Τα ίδια ισχύουν και για τις δοκιμές V-P, της β-γαλακτοσιδάσης, της αποκαρβοξυλίωσης της ορνιθίνης, οι οποίες είναι κατά κανόνα θετικές. Παραγωγή οξέος προκαλείται από ζύμωση των σακχάρων, όπως η D-γλυκόζη, η D-μαννόζη, η D-σελλοβιόζη, και η D-μαννιτόλη, ταχέως εντός 1-3 ημερών και στις δύο θερμοκρασίες των 25 °C και των 37°C. Πολύ πιο αργή είναι η ζύμωση των L-αραβινόζης, D-γαλακτόζης, μαλτόζης, και γλυκερόλης, που ποικίλει σε διάρκεια (από 1 έως 30 ημέρες), όπως και σε θερμοκρασία. Ακόμη και για τόση μεγάλη περίοδο επώασης δεν προκαλείται ζύμωση

στα σάκχαρα L-ραμινόζη, D-μελιβιόζη, D-ραφφινόζη, ινουλίνη, αδονιτόλη και ερυθριτόλη. Έτσι, με βάση τη ζύμωση επιλεγμένων οργανικών υποστρωμάτων, η *Y. enterocolitica* κατατάσσεται στις πέντε βιοομάδες: 1A, 1B, 2, 3, 4, και 5, όπως συνοπτικά αποτυπώνεται στον Πίνακα 3.

Γίνεται έτσι φανερό ότι οι σημαντικές διαφορές στα βιοχημικά χαρακτηριστικά μεταξύ των έξι βιότυπων της *Y. enterocolitica* έχουν σχέση και με την παθογονικότητα αυτών, με τον βιότυπο 4 να συνδέεται συχνότερα με τον άνθρωπο (Wauters και συν., 1972, 1987). Πέραν της διαφοροποίησης της βασιζόμενης σε φυσικοχημικές και βιοχημικές δοκιμασίες, περισσότεροι από 50 ορότυποι έχουν διαφοροποιηθεί από την αντιγονική ποικιλία των λιπο-πολυσακχαριτών των κυτταρικών τοιχωμάτων. Ο αριθμός αυτός σύμφωνα με τον Itelman και συν. (1996) έφθανε τους 60-70 με βάση τα σωματικά αντιγόνα (O), έντεκα (11) εκ των οποίων συνδέονται με κλινική νόσο στον άνθρωπο. Από τον άνθρωπο απομονώνεται συχνότερα ο ορότυπος O:3, ενώ επιπλέον έχουν προσδιοριστεί δέκα οκτώ (18) βλεφαριδικά αντιγόνα (H). Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται και άλλα κριτήρια και μέθοδοι (κυρίως μοριακές) για την ταξινόμηση.

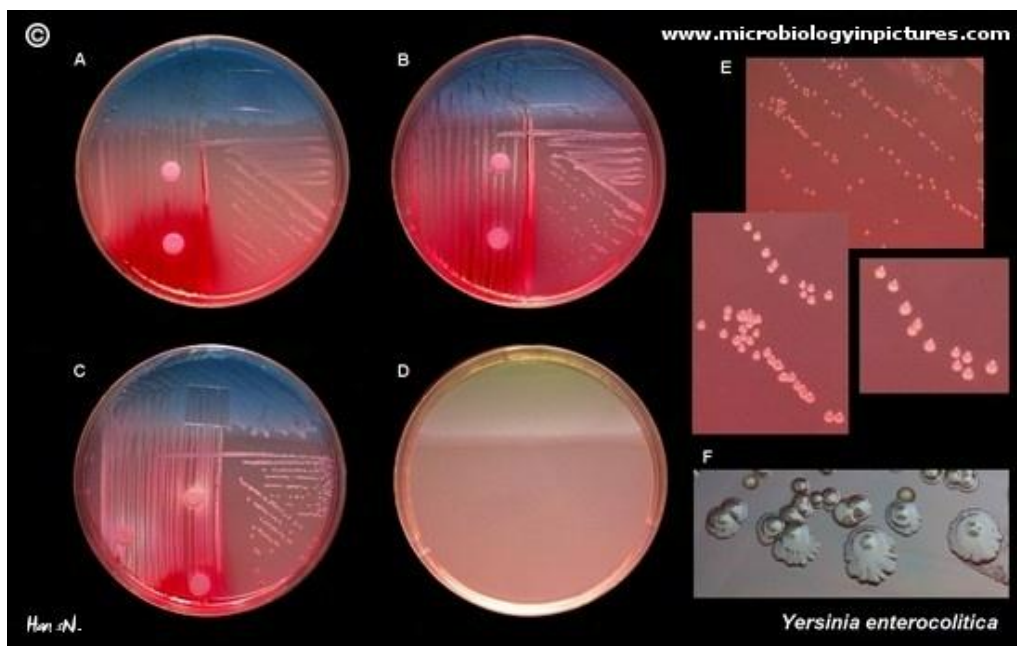
1Γ. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΤΗΝ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ

Η *Y. enterocolitica* είναι ένα Gram-αρνητικό βακτηρίδιο, που διατάσσεται μεμονωμένα, κατά αλυσίδες ή κατά σωρούς. Σε πρόσφατες καλλιέργειες μετά από επώαση στους 22-25 °C, κυριαρχούν οι κοκκιώδης μορφές, ενώ στις πιο παλιές καλλιέργειες, και ειδικά στις επωαζόμενες στους 37 °C, όπως επίσης και σε ποικίλα εκλεκτικά υλικά, όπως το SS άγαρ, το δεσοχολικό κιτρικό άγαρ (DCA), το LSU άγαρ ή το ENDO άγαρ, παρατηρείται μεγάλη τάση πολυμορφισμού (Εικόνα 2). Το μέγεθος του μικροβίου όπως λαμβάνεται από φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου κυμαίνεται από 0.99-3.54μ στο μήκος, και από 0.52-1.27μ στο πλάτος.

Η *Y. enterocolitica* δύσκολα αναπτύσσεται παρουσία άλλων βακτηρίων (Schiemann, 1989), ενώ αναπτύσσεται σε ένα εύρος θερμοκρασιών, με βέλτιστη ανάπτυξη να παρατηρείται στους 28-30°C (Sutherland and Varnam, 1977). Η ελάχιστη τιμή pH που αναπτύσσεται το βακτήριο κυμαίνεται μεταξύ 4.2-4.8, με μέγιστη τιμή pH περίπου 10, και ιδανική ανάπτυξη παρατηρείται σε τιμές 7.2-7.4 (Stern και συν., 1980a).

Απαγορευτικές για την ανάπτυξη της *Y. enterocolitica* είναι τιμές ενεργότητας νερού $a_w < 0.945$, επίπεδα NaCl 5-7%, ενώ επιβραδύνεται σε συσκευασία υπό κενό, σε συσκευασία 100% N₂ και σε μίγμα αέριων CO₂/N₂.

Ως προς τα καλλιεργητικά του χαρακτηριστικά, πρόκειται για ένα δυνητικώς αναερόβιο μικρόβιο, που αναπτύσσεται καλώς στα συνήθη θρεπτικά υλικά, στο θρεπτικό άγαρ ή το αιματούχο άγαρ, ή εντός θρεπτικού ζωμού χωρίς την προσθήκη κάποιας ιδιαίτερης ουσίας που υποβοηθά την ανάπτυξή του. Οι αποικίες της *Y. enterocolitica* μετά από 24 ώρες αερόβιας επώασης σε Heart Infusion Agar, έχουν μέγεθος 1.0mm, είναι κυρτές, με κυκλική περιφέρεια, ημιδιαφανείς, λεπτές, στιλπνές, βουτυρώδης έως πολύ ελαφρώς εύθρυπτες (Gravwohl's, 1970).



Εικόνα 2. Η *Y. enterocolitica* σε διάφορα υλικά καλλιέργειας.

Η επιτυχής απομόνωση του μικροβίου από μικτή εντερική χλωρίδα εξαρτάται οπωσδήποτε από αρκετούς παράγοντες, όπως η εκλογή του κατάλληλου θρεπτικού υλικού, η θερμοκρασία επώασης, ο αριθμός των υπάρχοντων μικροβιακών κυττάρων της *Y. enterocolitica*, συγκριτικά με τον αριθμό άλλων τέτοιων στο δείγμα, όπως επίσης και η σύνθεση της μικτής χλωρίδας. Αντιθέτως, η απομόνωση του μικροβίου σε καθαρές καλλιέργειες από περιοχές όπου δεν υφίσταται μικτή χλωρίδα, π.χ. από αίμα και από

μεσεντερικούς λεμφαδένες, δεν παρουσιάζει δυσκολίες, διότι η ανάπτυξή του γίνεται ανεμπόδιστα στα συνήθη μη εκλεκτικά υλικά.

Αριστη θερμοκρασία ανάπτυξης της *Y. enterocolitica*, κατά τους Knapp και Thal (1963), είναι αυτή των 30-37 °C., ενώ οι Mollaret και συν. (1964) δεν παρατηρούν αξιόλογες διαφορές ανάπτυξης στους 18 °C, 28 °C, και 37 °C. Ικανοποιητική ανάπτυξη σημειώθηκε επίσης και στους 4 °C, με τον Wauters (1970) να παρατηρεί τη μακρά επιβίωση της *Y. enterocolitica* (γύρω στα 2 1/2 χρόνια), εκμεταλλευόμενος τις ιδιαίτερες εμπλουτιστικές ιδιότητες του υγρού εναιωρήματος των Banxgang et Eliot προς αυτό, αναφορικά με άλλα μικρόβια.

Γενικώς, η *Y. enterocolitica* είναι ένα βραδέως αναπτυσσόμενο μικρόβιο και για αυτό το λόγο απαιτείται τουλάχιστο 48ωρη επώαση, για να αναγνωριστούν οι αποικίες της σε μικτή χλωρίδα. Ακόμη και οι καθαρές καλλιέργειες του μικροβίου απαιτούν χρόνο άνω των 24 ωρών για καταστούν ορατές, τόσο στη θερμοκρασία των 25 °C όσο και σε αυτήν των 37 °C.

Οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά την ανάπτυξή του είναι οι ακόλουθοι:



Εικόνα 3. Λεπτομέρειες της *Y. enterocolitica* σε CIN άγαρ.

A. Η θερμοκρασία.

Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι από 28 έως 29 °C, αλλά είναι ικανό να αναπτύσσεται σε ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών. Επιστημονικώς έχουν προταθεί διάφορες περιοχές κρίσιμων θερμοκρασιών: από 0 έως 45 °C (Bresolin και συν., 2006), και από -1 έως 40 °C (Bottone, 1997) ή κατά τους Gill και Reichel (1989) από -2 έως 42 °C. Έχει επίσης αναφερθεί ότι κάποια στελέχη *Yersinia* μπορούν να αναπτυχθούν σε

θερμοκρασίες χαμηλές τόσο που αγγίζουν τους -5°C , παρόλο που η ανάπτυξη είναι πολύ αργή κάτω από τους 0°C .

Εξαιτίας της ψυχροτροφικής του φύσης, ψυχρές συνθήκες δεν εμποδίζουν την ανάπτυξη, αλλά μόνο την καθυστερούν. Μελέτες έχουν δείξει ότι σε θερμοκρασίες κάτω των 3°C , η *Y. enterocolitica* μπορεί να πολλαπλασιάσει τον πληθυσμό της κατά 2 λογαριθμικές μονάδες μέσα σε 4 ημέρες. Επιπλέον η *Y. enterocolitica* πολλαπλασιάζεται σε ψυχρό περιβάλλον πολύ γρηγορότερα από τη *Listeria monocytogenes*, το άλλο σημαντικό ψυχρότροφο παθογόνο τροφικής προέλευσης (Kowalik και συν., 2012). Τέτοιου είδους οργανισμοί πρέπει να διαφοροποιήσουν τη σύνθεση των λιπιδίων και αλλάξουν τα ποσοστά πρωτεϊνών στην κυτταρική μεμβράνη ώστε να διατηρήσουν βασικές λειτουργίες όπως η λήψη τροφής, η άντληση ιόντων και η μεταφορά ηλεκτρονίων (Goverde και συν., 1994).

Αποτελέσματα έδειξαν ότι, σε τρόφιμο με ουδέτερο pH αποθηκευμένο στους 5°C , οι αριθμούμενες *Y. enterocolitica* μπορεί να αυξηθούν από 10/mL σε $2.8 \times 10^7/\text{mL}$ σε 5 ημέρες. Η παραγωγή τοξίνης από αυτό το παθογόνο επηρεάζεται από την θερμοκρασία ανάπτυξης και τη σύσταση των επιμέρους τροφίμων. Τοξιγονική *Y. enterocolitica* παράγει θερμοάντοχη εντεροτοξίνη σε γάλα στους 25°C , αλλά όχι στους 4°C . Τα περισσότερα κύτταρα *Y. enterocolitica* θα θανατωθούν ή τραυματιστούν όταν αποθηκεύονται υπό συνθήκες κατάψυξης στους -20°C . Όταν αλεσμένο βοδινό ενοφθαλμισμένο με *Y. enterocolitica* αποθηκεύτηκε στους -20°C για 30 ημέρες, περίπου το 83% αυτών των κυττάρων καταστράφηκαν και το 24% όσων επιβίωσαν ήταν σχεδόν θανατηφόρα τραυματισμένα (Swaminathan και συν., 1982).

B. pH

Το μικρότερο pH ανάπτυξης που έχει αναφερθεί είναι μεταξύ 4.2 και 4.4 (Stern και συν., 1980a), ενώ σε μέσο στο οποίο το pH είχε ρυθμιστεί με HCl, η ανάπτυξη έλαβε χώρα σε pH 4.18 και στους 22°C . Η παρουσία οργανικών οξέων μειώνει την ικανότητα του *Y. enterocolitica* να πολλαπλασιάζεται σε χαμηλό pH. Το οξικό οξύ είναι το περισσότερο ανασταλτικό ανά mole από το γαλακτικό και το κιτρικό οξύ στο ίδιο pH. Η κατασταλτική δράση κατά της ανάπτυξης των βακτηριών ακολουθεί τη σειρά: οξικό

οξύ> γαλακτικό οξύ> κιτρικό οξύ> θειικό οξύ. Εξαιτίας της ισχυρής επίδρασης του γαλακτικού οξέος σε αυτά τα βακτήρια, δεν τα συναντούμε συνήθως σε προϊόντα γάλακτος που έχουν υποστεί ζύμωση. Έτσι, ακόμη και αν *Y. enterocolitica* είναι παρόντα στα ακατέργαστα υλικά προοριζόμενα προς ζύμωση, η ανάπτυξή τους γενικώς αναστέλλεται και ολικώς αδρανοποιείται λόγω της ανάπτυξης βακτηρίων γαλακτικού οξέος και της παραγωγής των μεταβολιτών τους. Πειραματικές αλλαγές του pH σε δείγματα τροφίμων σε pH 4, 5, και 6 έδειξαν ο αριθμός των βιώσιμων κύτταρων μειώθηκε αλλά το 95% από επιβιώσαντα κύτταρα διατήρησαν το πλασμίδιο μολυσματικότητας και δικά τους χαρακτηριστικά μολυσματικότητας (Bhaduri, 2011). Ωστόσο, κανένα κύτταρο που περιείχε πλασμίδιο δεν επιβίωσε σε pH κάτω από 3.

Γ. Ενεργότητα νερού (water activity, a_w)

Η ελάχιστη ενεργότητα ύδατος στην οποία παρατήρηθηκε ανάπτυξη είναι 0.96. Αυτό το βακτήριο είναι ικανό να μεγαλώνει σε 5% αλάτι, αλλά όχι σε 7% αλάτι. Όταν ο Stern και συν., (1980a) δοκίμασαν τέσσερα στελέχη της *Y. enterocolitica*, ανέφεραν ότι σε τιμή a_w 0.945 και 7% αλάτι ήταν βακτηριοκτόνα σε όλα τα τέσσερα εξεταζόμενα στελέχη, όταν επωάστηκαν στους 3 °C, αλλά στους 25 °C παρατηρήθηκαν τόσο βακτηριοκτόνα όσο και βακτηριοστατικά φαινόμενα. Σε 9% αλάτι και στους 25 °C, όλα τα τέσσερα στελέχη θανατώθηκαν. Αλλαγή της συγκέντρωσης του άλατος σε τρόφιμα σε 0.5, 2, και 5% μείωσε τον αριθμό των βιώσιμων κυττάρων, αλλά 96% των κυττάρων που επιβίωσαν διατήρησαν τα μολυσματικά τους χαρακτηριστικά, φανερώνοντας ότι δεν υπάρχει επίδραση του NaCl (0.5, 2, και 5%) στην σταθερότητα του pYV.

Δ. Συντηρητικά/Απολυμαντικά

Η ανάπτυξη της *Y. enterocolitica* επιβραδύνεται με σορβικό κάλιο στα 5000 ppm σε pH 6.5 με τρόπο εξαρτώμενο από τη δόση. Σε pH 5.5 συγκεντρώσεις πάνω από 1000 ppm ουσιαστικά αποκλείει την ανάπτυξη ή προκαλεί αδρανοποίηση εξαρτώμενη από τη δόση. Νιτρώδες νάτριο σε συγκέντρωση των 150 ppm επιβραδύνει την ανάπτυξη σε αλλαντικά τύπου μπολόνια. Επεξεργασία με όζον (1.4 και 1.9 ppm) και με οξονισμένο

νερό (έκθεση 1 λεπτού) μειώνει την παθογονική επιφόρτιση. Συσκευασία υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα σε 100% N₂ και CO₂/N₂ μίγμα αερίων αναστέλλει την ανάπτυξη του *Y. enterocolitica* σε θερμοκρασίες ψύξης (Bari και συν., 2011).

1Α. ΕΠΙΒΙΩΣΗ

Τα στελέχη της *Y. enterocolitica* θεωρούνται θερμοευαίσθητα βακτήρια και δεν επιβιώνουν μετά από θερμική επεξεργασία, και για τα περισσότερα αυτό σημαίνει θέρμανση στους 60°C για 3 min (Hanna και συν., 1977). Νωπά ή μη επαρκώς μαγειρεμένα τρόφιμα και επιμολύνσεις, που συμβαίνουν όταν τα μαγειρεμένα υλικά έρχονται σε επαφή με νωπά ή μολυσμένα υλικά, έχουν ήδη αναφερθεί ως οι κύριες αιτίες της μόλυνσης.

Η *Y. enterocolitica*, ενώ μπορεί να επιβιώσει σε παγωμένα τρόφιμα για μεγάλα διαστήματα, ανήκει στα μη θερμοανθεκτικά βακτήρια, με τιμή D στους 62.8 °C για 15 εντεροτοξιγενείς και 6 μη εντεροτοξιγενείς καλλιέργειες να κυμαίνεται από 0.7 έως 17.8 sec σε ολικό στείρο γάλα δείχνοντας ότι δεν επιβιώνει στην παστερίωση (Francis και συν., 1980).

Ο οργανισμός δεν επιβιώνει επίσης στις θερμοκρασίες μαγειρέματος, βρασίματος, ψησίματος, και τηγανίσματος. Θερμική επεξεργασία γάλακτος και προϊόντων κρέατος στους 60 °C για 1-3 min αδρανοποιεί αποτελεσματικά την *Y. enterocolitica*. Στο ζεματιστό νερό οι τιμές D προσδιορίζονται σε 96, 27, και 11 sec στους 58, 60, και 62 °C, αντιστοίχως (Lee και συν., 1980). Οι Lovett και συν. (1982) από δείγματα στείρου νωπού γάλακτος μέτρησαν τιμές D στους 62.8 °C από 0.24 έως 0.96 min σε τρεις αποικίες *Y. enterocolitica*. Πάντως, εάν το αρχικό φορτίο σε *Y. enterocolitica* είναι πολύ μεγάλο, η ολική καταστροφή μπορεί να μη συμβεί κατά τη διάρκεια της παστερίωσης, ενώ ένας σχεδόν θανατηφόρος τραυματισμός μπορεί να επιτευχθεί όταν τα κύτταρα υποστούν θέρμανση στους 47 °C για 12 έως 70 min.

Η *Y. enterocolitica* επίσης είναι ευπαθής στην επίδραση της ιονίζουσας και UV ακτινοβολίας (Butler και συν., 1987; Dion και συν., 1994). Έχουν υπολογιστεί τιμές D περίπου 0.1-0.2 kGy στους 25°C, και 0.4 στους -30°C. Αργότερα, οι Sommers και συν. (2001 119) μελετώντας την ανθεκτικότητα της *Y. enterocolitica* στην ιονίζουσα ακτινοβολία συμπέραναν ότι εξαλείφεται από δείγματα νωπού χοιρινού κρέατος με αντιστρόφως ανάλογη σχέση με τη θερμοκρασία του προϊόντος. Τα δείγματα ενοφθαλμίστηκαν με μείγμα τεσσάρων ειδών του βακτηρίου (με 70Kd ιογενές πλασμίδιο) υπό συνθήκες κενού και σε θερμοκρασίες ψύξης, και εκτέθηκαν σε δόσεις ακτινοβολίας 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, και 1.0 kGy. Οι τιμή D₁₀ αυξήθηκε κατά 0.19, 0.19, 0.21, 0.40, 0.38, και 0.55 kGy όταν η θερμοκρασία του προϊόντος μειώθηκε στους +5, 0, -5, -

10, -15, -20 και -76 °C, αντιστοίχως. Επιπλέον προσοχή πρέπει να δίνεται στην ακτινοβολία μερικώς ή ανομοιογενώς παγωμένο χοιρινό, αφού μπορεί να προκαλέσει ανεπιθύμητα μικροβιολογικά και οργανοληπτικά αποτελέσματα.

Όταν οι Butler και συν. (1987 120) μελέτησαν την ευαισθησία της *Y. enterocolitica* ορότυπου O:3στη UV ακτινοβολία στα 254 nm κατέληξαν ότι για μια μείωση της τάξης 3-log απαιτείται δόση 2.7 mWs/cm². Λαμβάνοντας ως βάση σύγκρισης την *E. coli*, προέκυψε ότι ο προαναφερόμενος ορότυπος είναι πιο ευαίσθητος στο UV σε σχέση με άλλα παθογόνα υπεύθυνα για εξάρσεις ασθενειών υδατογενούς προέλευσης και μπορούν εύκολα να αδρανοποιηθούν από τις περισσότερες εμπορικά διαθέσιμες πηγές UV.

Όταν *Y. enterocolitica* σε νωπό χοιρινό και παράγωγα προϊόντα εκτέθηκαν σε γ-ακτινοβολία στους 0 και στους -40 °C σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα με pH 7.0, δεν είχαν διαφορετική απόκριση, έδειξαν ευαισθησία και ένα φαινόμενο ακολουθίας (tailing phenomenon) στην καμπύλη επιβίωσης (Kamat και συν., 1997). Στο νωπό χοιρινό κρέας χρειαζόταν μια μεγαλύτερη δόση στα 6 kGy σε σύγκριση με τα 4 και 3 kGy προϊόντων όπως το σαλάμι και το βρασμένο χοιρομέρι, αντιστοίχως, όταν σκοπίμως επιμολύνθηκαν με *Y. enterocolitica* (10⁶ cfu/g).

Η ανάπτυξη της *Y. enterocolitica* επηρεάζεται δραστικά από την ατμόσφαιρα. Υπό αναερόβιες συνθήκες, η *Y. enterocolitica* είναι ανίκανη να αναπτυχθεί σε μοσχαρίσιο κρέας σε pH 5.4–5.8, ενώ ανάπτυξη συμβαίνει σε pH 6. Ατμόσφαιρα με 100% CO₂ επίσης αναστέλλει την ανάπτυξη (Conte-Junior και συν., 2010).

Κάποια είδη *Y. enterocolitica* είναι ικανά να αναπτύσσονται στο νερό σε χαμηλές θερμοκρασίες (4°C). Όταν δείγμα αποστειρωμένου νερού βρύσης (pH 6.5) μολυνθεί με το βακτήριο αυτό και χλωριωθεί σύμφωνα με συνήθεις πρακτικές επεξεργασίας του νερού με συγκέντρωση χλωρίου περίπου 0.05mg/L, δίνει «καθαρό» προϊόν μετά από επαφή για 30 min. Μείωση της τάξης του 0.3log για *Y. enterocolitica* και *E. Coli* που εκτέθηκαν σε 0.2mg/L Cl₂ πραγματοποιήθηκε μετά από έκθεση για 20-180 και 20-25 sec, αντιστοίχως, εξαρτώμενη από το βακτηριακό είδος, το πλασμιδιακό περιεχόμενο (η *Y. enterocolitica* O:3 περικλείοντας ένα ιογενές πλασμίδιο 40-50MDa εμφανίζει αυξημένη ανθεκτικότητα στο χλώριο), και τη θερμοκρασία (Cheyne και Mae, 2008).

Παρόλα αυτά, ο Fredriksson-Ahomaa και συν. (2012) παρατήρησαν ότι, κατά την συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MA) (30% CO₂/70% O₂) και στους 6 °C για 12 d, δειγμάτων μυών κρέατος από μπούτι χοίρου (*Musculus masseter*) και δειγμάτων

από οπίσθιο πόδι (*M. semimembranosus*), *Y. enterocolitica* 4/O:3 είχε αναπτυχθεί παρουσία ενός μεγάλου αριθμού LAB (Lactic Acid Bacteria).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΗ ΝΟΣΟΣ

2Α. ΥΕΡΣΙΝΙΩΣΗ

Η υερσινίωση είναι μια ασθένεια που προκαλείται από το ένα βακτήριο του γένους *Yersinia*. Στις ΗΠΑ, οι περισσότερες ασθένειες προκαλούνται από ένα είδος, τη *Y. enterocolitica*, η μόλυνση από την οποία εκδηλώνεται με ένα εύρος συμπτωμάτων εξαρτώμενα και από την ηλικία του προσβαλλόμενου ατόμου. Η μόλυνση από *Y. enterocolitica* συμβαίνει πιο συχνά σε νεαρά παιδιά, με πιο συνήθη συμπτώματα να είναι ο πυρετός, ο κοιλιακός πόνος, και η διάρροια, που όχι σπάνια περιέχει αίμα. Τα συμπτώματα τυπικώς εμφανίζονται με από 4 έως 7 ημέρες από την έκθεση στον οργανισμό και μπορεί να διαρκέσει 1 έως 3 εβδομάδες ή και περισσότερο. Σε μεγαλύτερα παιδιά και ενήλικες, κοιλιακό άλγος και πυρετός μπορεί να είναι τα επικρατέστερα συμπτώματα, και τα οποία μπορεί να αποδοθούν σε σκωληκοειδίτιδα. Σε μικρό ποσοστό περιπτώσεων, πιθανόν να προκληθούν επιπλοκές όπως εξάνθημα δέρματος, πόνοι στις αρθρώσεις, ή εξάπλωση του βακτηρίου στο αίμα (CDC, 2010).

Οι αιτιολογικοί παράγοντες της υερσινίωσης περιλαμβάνουν ποικίλους ορότυπους και βιότυπους. Οι κυρίαρχοι *Yersinia* spp. οι σχετιζόμενοι με κλινικά συμπτώματα στην Ευρώπη για την *Y. enterocolitica* είναι οι ορότυποι O:3, O:8, O:9, και O:5,27 (Bottone, 1999). Το 2008 στην ΕΕ αναφέρθηκε ένα σύνολο 8,346 πιστοποιημένων περιπτώσεων υερσινίωσης, με τον αριθμό που αντιστοιχεί στον άνθρωπο να μειώνεται από το 2004. Το ποσοστό αναφορών ήταν επίσης χαμηλότερο το 2008 (1.8 ανά 100,000 πληθυσμού) από ότι το 2007 (2.8 ανά 100,000 πληθυσμού), και διατηρήθηκε στο ίδιο επίπεδο (1.8 ανά 100,000 πληθυσμού) και το 2013 (EFSA, 2015). Η *Y. enterocolitica* είναι το πιο κοινό είδος στις αναφερόμενες περιπτώσεις σε άνθρωπο στα κράτη μέλη και έχει απομονωθεί στο 91,9 % του συνόλου των πιστοποιημένων περιπτώσεων. Στην Ελλάδα τα μόνα αναφερόμενα στοιχεία είναι οι 39 περιπτώσεις το 2004 (EFSA, 2010).

2B. ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ

Η μόλυνση από *Y. enterocolitica* αρχίζουν με την κατανάλωση μολυσμένου φαγητού ή νερού. Η *Y. enterocolitica* συνήθως προκαλεί διάρροιες, ενώ η *Y. pseudotuberculosis* προκαλεί ήπια εντερικά συμπτώματα που μπορεί να συνοδεύονται από μεσεντερική λεμφαδενίτιδα και μερικές φορές από διασυστημική διάδοση.

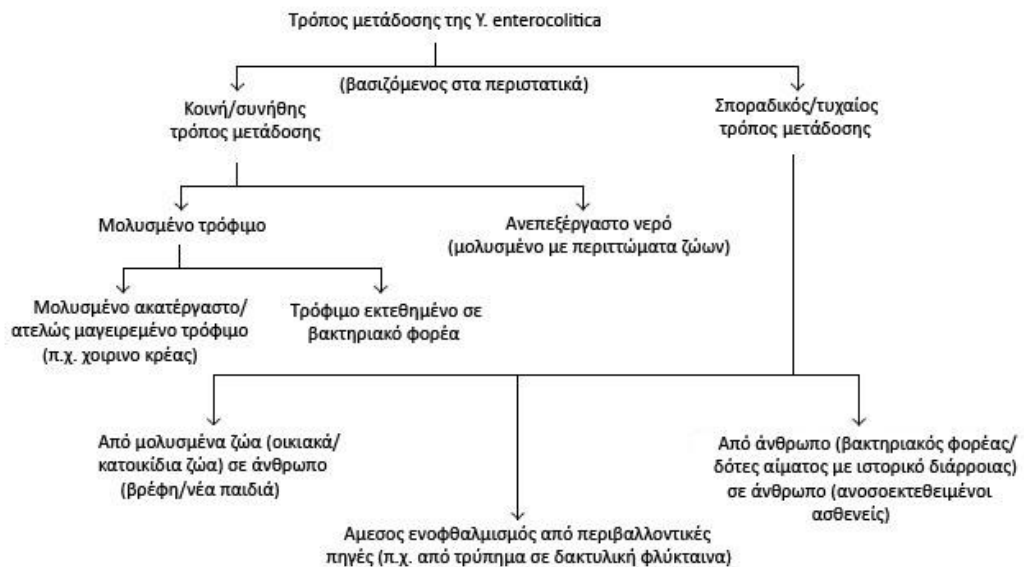
Η *Y. enterocolitica* στα ζώα μεταδίδεται κυρίως μέσω της στοματο-εντερικής οδού μετά από κατανάλωση μολυσμένου φαγητού και νερού, ενώ οι παρατηρούμενες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ζώων φάρμας και της άγριας πανίδας ενισχύουν ακόμη περισσότερο τη μετάδοσης της ασθένειας. Παράγοντες όπως το μολυσμένο έδαφος, η βοσκή, το νερό, τα τρωκτικά και τα πουλιά, αλλά και η συμμετοχή των εντόμων, αν και ασαφής, έχουν ιδιαίτερη βαρύτητα (Bengis και συν., 2002). Επίσης, διάδοση μπορεί να γίνει μέσω των ασθενειών που μεταδίδονται στα προϊόντα από τα σφαγιασθέντα ζώα, ενός μολυσμένου αναπαραγωγικού συστήματος, και μιας άμεσης κάθετης μετάδοσης (Hubbert, 1972). Τέλος, πρέπει να ληφθεί υπόψη και η μετάδοση που λαμβάνει χώρα σε δεύτερο χρόνο, δηλαδή μέσω της τροφής αυτών των ζώων ή πτηνών από άλλα μολυσμένα έντομα και θηλαστικά.

Είναι φανερό ότι η μετάδοση της *Y. enterocolitica* περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα παραγόντων, αρχής γενομένης από την πρωταρχική του θέση ως το σημαντικό τροφιμογενές παθογόνο βακτήριο. Ακολουθεί η άμεση ή έμμεση επαφή με μολυσμένα ζώα, μολυσμένο αίμα, ενώ σπάνια είναι η μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο. Στην περίπτωση μιας σπάνιας εξω-εντερικής ασθένειας, η άμεση μετάδοση είναι ο προτεινόμενος τρόπος μετάδοσης αυτού του κλασσικού εντερικού παθογόνου.

Έτσι, το *Y. enterocolitica* απομονώνεται συχνά από το έδαφος, το νερό, τα ζώα (Aleksic και συν., 1987), ενώ στελέχη της *Y. enterocolitica* έχουν απομονωθεί από διάφορα είδη κρεάτων, τα στρείδια, τα ψάρια, και το νωπό γάλα. Το 1974 οι Kruger και Klemens απομόνωσαν 2 στελέχη *Y. enterocolitica* σε μη χλωριωμένο νερό υδατοδεξαμενής στο Βερολίνο. Παράλληλα, η ευρεία διάδοση του βακτηρίου στο περιβάλλον, ιδιαίτερα στους χοίρους (Kappeurd, 1991), συμβάλλει καθοριστικά στη μόλυνση των τροφίμων και την αύξηση της συχνότητας πρόκλησης της λοίμωξης, ενισχυόμενες από τη μη τήρηση των κανόνων υγιεινής από τους χειριστές των τροφίμων,

την

ανεπαρκή



Εικόνα 4. Τρόποι μετάδοσης της *Y. enterocolitica* (μετάφραση από Yeasmin και συν., 2011).

θερμική επεξεργασία και τις μη ενδεδειγμένες συνθήκες συντήρησης.

Σχηματικά, οι τρόποι μετάδοσης της *Y. enterocolitica* παρουσιάζονται στην Εικόνα 5, και αναλύονται ακολούθως.

A. Τροφιμογενής μετάδοση

Η *Y. enterocolitica* είναι ένα σημαντικό τροφικής προέλευσης εντεροπαθογόνο που προκαλεί ασθένειες και ευκαιριακά τροφιμογενείς επιδημικές εξάρσεις στον άνθρωπο. Στις ΗΠΑ η συχνότητα παρατήρησης της υερσινίωσης και των επιδημιολογικών εξάρσεων είναι χαμηλότερη συγκριτικά με αυτή πολλών ευρωπαϊκών χωρών. Έχει απομονωθεί από πολλά τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένου του βοδινού και χοιρινού κρέατος, μαλακών τυριών, ακατέργαστου γάλακτος, παστεριωμένου γάλακτος, ψαριών, ακατέργαστων στρειδιών, γαρίδων, καβουριών, σοκολατούχου γάλακτος, γαλοπούλας, σκόνης γάλακτος, βλαστάρια φασολιών, και τοφού (μαλακό τυρί από γάλα σόγιας) (Bottone, 1997).

Έτσι, παρόλο που ο οργανισμός έχει απομονωθεί από πολλά τρόφιμα, έχουν καταγραφεί σχετικά λίγες επιδημικές εξάρσεις αποδιδόμενες στην *Y. enterocolitica* σε ανεπτυγμένες χώρες, για παράδειγμα, την Ιαπωνία (2004) και την Ολλανδία (2006)· όπως και σε αναπτυσσόμενες χώρες, όπως το Μπαγκλαντές (1983) και το Ιράκ (2008). Η επιβίωση της *Yersinia* στα προαναφερόμενα τρόφιμα διευκολύνεται από ανθεκτικότητα του βακτηρίου, το οποίο είναι ικανό να πολλαπλασιάζεται σε αντίξοες συνθήκες όπως στις θερμοκρασίες κατάψυξης των εμπορικών καταστημάτων και μεταφορών.

B. Μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο

Η μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο είναι σπάνια. Ωστόσο, μόλυνση από τρόφιμο από μολυσμένο χειριστή του τροφίμου και νοσοκομειακές μολύνσεις έχουν καταγραφεί. Το Ιούλιο του 2006, μια τέτοιου είδους μετάδοση παρατηρήθηκε σε μια οικογενειακή επιδημιολογική έξαρση από *Y. enterocolitica* βιο-ορότυπου 2/O:9 στην Ιαπωνία. Η πιθανή πηγή αυτής της μόλυνσης ήταν ένας μολυσμένος φορέας που υπέφερε από διάρροια (Moriki και συν., 2010). Επιπροσθέτως, η επιδημική έξαρση μιας διαρροϊκής ασθένειας οφειλόμενη στο *Y. enterocolitica* βιο-ορότυπου 1/O:5 αναφέρθηκε σε νοσηλεύομενους ασθενείς, το οποίο ήταν μια ένδειξη ενός τέτοιου τύπου νοσοκομειακής εξάρσης *Y. enterocolitica*.

Γ. Μετάδοση από ζώο σε άνθρωπο και υδατικής προέλευσης.

Περιστασιακώς μόλυνση από *Y. enterocolitica* συμβαίνει μετά από άμεση ή έμμεση επαφή με τα μολυσμένα ζώα. Έχει απομονωθεί από εντερικό σύστημα και τα περιττώματα αρκετών ζώων, περιλαμβανομένων των τρωκτικών (κουνελιών), κατοικίδιων ζώων (π.χ. πρόβατα, βόδια, γάτες, χοίροι και σκύλοι), και άλλα ζώα (ελάφια, ρακούν, και άλογα) και νερό μολυσμένο από αυτά τα ζώα. Ο χοίρος εμφανίζεται να είναι η κύρια παρακαταθήκη των στελεχών που προκαλούν μόλυνση στους ανθρώπους. Τα κόπρανα των χοίρων είναι ένας δυναμικός τρόπος άμεσης μετάδοσης στους κτηνοτρόφους. Καθώς η *Y. enterocolitica* έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται υπό ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες, είναι καλώς προσαρμοσμένη προς επιβίωση σε

ψυχρότερες ζώνες θερμοκρασίας όπως και σε αερόφιλα περιβάλλοντα περιλαμβανόμενων των υδατικών περιβαλλόντων (Yeasmin και συν., 2011).

Η υερσινίωση μεταδίδεται κυρίως μέσω της στοματο-εντερικής οδού μετά από κατανάλωση επιμολυσμένου φαγητού και νερού, στους χώρους εκτροφής ή ποτίσματος, και η μετάδοσή της μοιάζει με αυτήν της *Y. pseudotuberculosis*. Η δημιουργία νέων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των ζώων φάρμας και της άγριας πανίδας είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας μετάδοσης της ασθένειας. Επιπλέον, είναι αποδεκτό ότι μολυσμένο έδαφος, πράσινες σοδειές, βοσκή και πηγές νερού αποτελούν σημαντικές εστίες μόλυνσης για τα ζώα φάρμας και τα άγρια ζώα, τα τρωκτικά και τα πουλιά, ενώ ο ρόλος των εντόμων ως ενδιάμεσοι ξενιστές παραμένει ασαφής (Bengis και συν., 2002).

Επίσης, πιθανή είναι η διάδοση μέσω γάλακτος λόγω υερσινείας μαστίτιδας, η αφροδίσια μετάδοση μέσω σπέρματος από ένα μολυσμένο αναπαραγωγικό σύστημα, όπως και η καταγεγραμμένη διαπλακουντιακή μετάδοση στο έμβρυο σε ορισμένα είδη. Η κάθετη μετάδοση είναι ένας πιθανός τρόπος διασποράς, όπως στην περίπτωση της γαλοπούλας που αποδεικνύεται από την ανίχνευση μολυσμένων αυγών (Hubbert, 1972).

Τέλος, έχει προταθεί ότι πουλιά τρεφόμενα με έντομα και θηλαστικά μπορεί να προσαρτούν την ασθένεια από αυτούς τους οργανισμούς που πιθανόν κατανάλωσαν περιττώματα μολυσμένων τρωκτικών και πουλιών. Για αυτό τα περιττώματα των άγριων ζώων πρέπει να θεωρούνται ως μία εν δυνάμει πηγή της *Yersinia* spp..

Δ. Άμεση μετάδοση

Η *Y. enterocolitica* σπανίως προκαλεί εξω-εντερική ασθένεια. Σε περίπτωση όμως μιας τέτοιας ασθένειας, η άμεση μετάδοση είναι ο προτεινόμενος τρόπος μετάδοσης αυτού του κλασσικού εντερικού παθογόνου (Menzies, 2010). Τον Ιανουάριο του 2009, ένας Αфро-αμερικανός 54 ετών εργάτης οικοδομών με χρόνια ηπατίτιδα C ανέπτυξε μια μασχαλιαία φλύκταινα λόγω του *Y. enterocolitica* που ακολούθησε ένα τραύμα στο δάκτυλό του. Η φλύκταινα στο δάκτυλο, εμφανιζόμενη ως συνέπεια τραυματικού τρυπήματος, φανέρωσε την πιθανότητα ότι άμεσος ενοφθαλμισμός *Y. enterocolitica* από περιβαλλοντική πηγή μπορεί να ήταν ο τρόπος μετάδοσης. Έτσι, προτείνεται μια

εναλλακτική, μη τροφικής προέλευσης, ~~παρέα~~ μετάδοση του *Y. enterocolitica*. Ένας παρόμοιος τρόπος μετάδοσης προτάθηκε και για έναν ασθενή με μασχαλαία φλύκταινα λόγω της *Y. enterocolitica* ο οποίος κατά την απασχόλησή του ως κρεοπώλης συχνά υφίστατο ~~σε~~ κοψίματα στα χέρια.

E. Μετάδοση σχετιζόμενη με μεταγγίσεις αίματος.

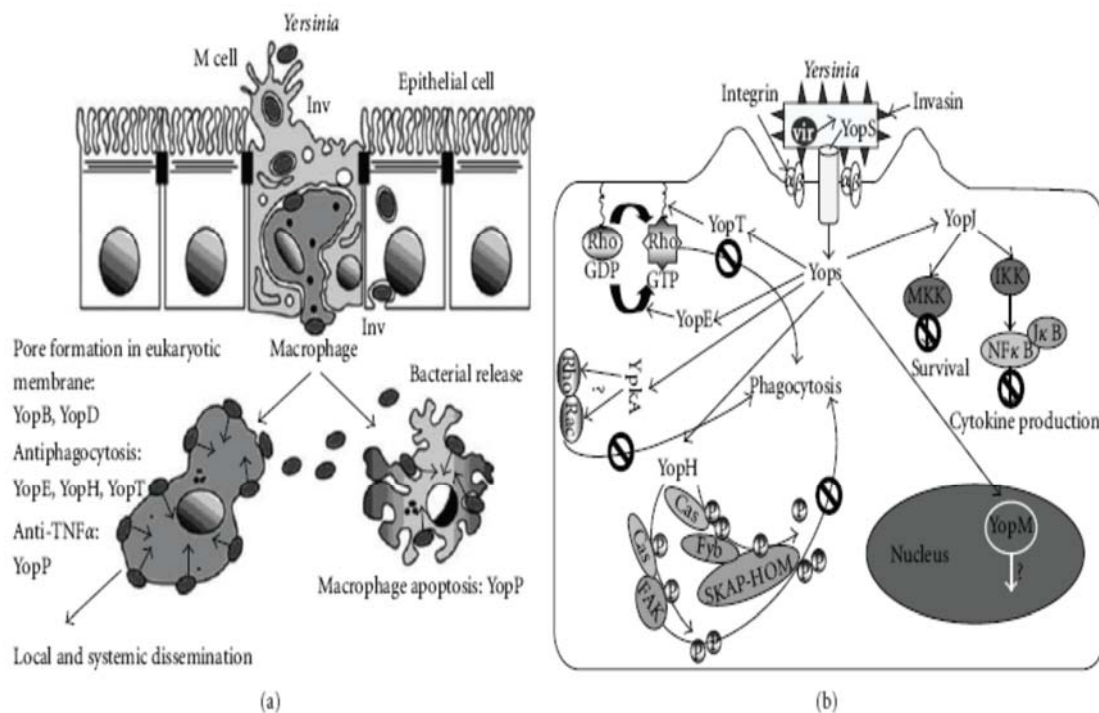
Η *Y. enterocolitica* μπορεί να μεταδοθεί μέσω μολυσμένου αίματος, και μια από τις πρώτες αναγνωρισμένες αιτίες της μετά από μετάγγιση ανασκοπούν σφαιρικά ο Jacobs και συν. (1989). Μετά την πρώτη καταγεγραμμένη ίδιας αιτιολογίας περίπτωση στην Ολλανδία το 1975, περισσότερες από 60 επιπλέον περιπτώσεις έχουν καταγραφεί βιβλιογραφικά παγκοσμίως. Το μικρόβιο σποραδικά προερχόταν από δότες αίματος, από υγιείς δότες ή δότες με ιστορικό διάρροιας· τέτοιο μολυσμένο αίμα μερικές φορές προκαλούσε βακτηραιμία από *Yersinia* και θάνατο των ληπτών. Πρόκειται για ένα αποτέλεσμα με υψηλά ποσοστά θνησιμότητας. Χαρακτηριστική είναι η δυστυχής κατάληξη από σηπτικό σοκ ενός 71-χρόνου ασθενή μετά από μετάγγιση αίματος με μολυσμένα ερυθροκύτταρα για επιμένουσα αναιμία. *Y. enterocolitica* βιο-ορότυπου 4/O:3 απομονώθηκε τόσο από δείγμα αίματος ασθενή όσο και από τα μεταγγισμένα ερυθρά αιμοσφαίρια. Υψηλοί τίτλοι αντισωμάτων κατά του *Y. enterocolitica* ανιχνεύθηκαν στο πλάσμα του δότη ένα μήνα μετά την δωρεά, ενώ ο ίδιος τότε δήλωσε κοιλιακή αδιαθεσία 3.5 μήνες νωρίτερα αλλά χωρίς κλινικά σημάδια εντερικής μόλυνσης την ώρα της δωρεάς. (Guinet και συν., 2011).

2Γ. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η παθογένεια της *Y. enterocolitica* δεν ακόμη πλήρως αποσαφηνισμένη. Τα περισσότερα απομονωμένα στελέχη *Y. enterocolitica* από τροφές ή κλινικά υλικά έχουν και τις δύο παθογονικές ιδιότητες. Πρώτον, την ικανότητα να διαπερνούν το εντερικό τοίχωμα, η οποία ελέγχεται από γονίδια ενός ιογενούς πλασμιδίου 70 kD (pYV/pCD): το οποίο είναι απών στα μη ιογενή στελέχη και, δεύτερον, είναι η παραγωγή θερμοάντοχης εντεροτοξίνης ελεγχόμενης από χρωμοσωμικά γονίδια (*ystA*, *ystB*, and *ystC*) (Robins-Browne και συν., 1985). Σύμφωνα με τους Sabina και συν. (2011) η παθογένεια θα μπορούσε να διακριθεί στα ακόλουθα στάδια της: προσαρμογής, προσκόλλησης, εισβολής και τοπικής και συστημικής διασποράς.

Αυτό το υψηλά συντηρημένο πλασμίδιο μολυσματικότητας 70 kD (pYV/pCD) αναφέρεται και από τους Cornelis και συν. (1998a) να κωδικοποιεί κάποιες πρωτεΐνες της εξωτερικής μεμβράνης (πολυπεπίδια) τα οποία εκφράζονται στους 37 °C αλλά όχι στους 25 °C. Έτσι, το πλασμίδιο αυτό κωδικοποιεί την YadA συγκολλητίνη (δηλ. μια πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης που επιτρέπει την προσκόλληση στα κύτταρα ξενιστές), τις Yop εξωτερικές πρωτεΐνες, που παραλύουν το ανοσοποιητικό σύστημα, και τις Ysc πρωτεΐνες που συνθέτουν το εκκριτικό σύστημα (Cornelis και συν., 2002). Έχει ήδη πιστοποιηθεί ότι τα παθογονικά είδη που φέρουν το πλασμίδιο pYV έχουν κοινές ιδιότητες, όπως: ασβέστιο-εξαρτώμενη ανάπτυξη, ικανότητα απορρόφησης του κόκκινου του Κονγκό, μη ευαισθησία στη βακτηριοκτόνο δράση του ανθρώπινου ορού, και αυτο-συγκόλληση.

Παράλληλα, για τα είδη του βιότυπου 1A της *Y. enterocolitica*, έχει αναφερθεί απουσία του pYV πλασμιδίου το οποίο κωδικοποιεί παράγοντες μολυσματικότητας περιλαμβάνοντας τα Yersinia adhesin A (YadA) και Ysc-Yop type III secretion system (TTSS), όπως επίσης και χρωμοσωμικώς παραγόμενα γονίδια μολυσματικότητας περιλαμβάνοντας τα Ail, MyfA, YstA, Ysa, και το High Pathogenicity Island (HPI) σχετιζόμενο με το σύστημα πρόσληψης σιδήρου (Bhagat και συν., 2007: Cornelis και συν., 2002: Fredriksson-Ahomaa και συν., 2003a).



Εικόνα 5. Φυσιοπαθολογική πορεία μόλυνσης από *Y. enterocolitica* (Sansoneetti, 2002).

Η *Y. enterocolitica* διαπερνά το εντερικό επιθήλιο, στις Παυέριες πλάκες (Peyer's patches). Η ινβασίνη (Inv-asin), μια πρωτεΐνη 103kd της εξωτερικής μεμβράνης της *Y. pseudotuberculosis* δεσμεύει τις β1 ιντεγκρίνες οι οποίες επίσης εκφράζονται κατακόρυφα στα Μ κύτταρα. Όπως υποστηρίζουν ο Clark και συν. (1998) οι Inv-αρνητικές μεταλλάξεις ακόμα συγκολλούνται και διαπερνούν τα Μ κύτταρα, αλλά σε ένα μικρότερο βαθμό από τα στελέχη του άγριου τύπου, και το δυναμικό αποικιοποίησης στις Παυέριες πλάκες είναι αισθητώς μειωμένο (Εικόνα 5).

Παράλληλα, και άλλες πρωτεΐνες επιφανείας των *Yersinia* όπως οι Ail, PsaA, και YadA μπορεί να είναι υπεύθυνες για τμηματική διάτρηση από μεταλλαγμένα στο inv στελέχη. Όταν ο θόλος προσεγγιστεί, τα *Yersinia* επιβιώνουν της επίθεσης από ενδημικά μακροφάγα εκφράζοντας μια αντι-φαγοκυτταρική στρατηγική προκαλούμενη από την έγχυση, μέσω μιας κωδικοποιούμενης από πλασμίδιο σεκρετόνης τύπου III, τριών πρωτεϊνικών παραγόντων, YopH, T, και E, οι οποίες διαρρηγνύουν την κυττοσκελετική δομή (Εικόνα 5) (Cornelis, 1998b).

Η YopH, μια φωσφατάση τυροσίνης, αποφωσφορυλιώνει την παξιλλίνη (paxillin), η p130cas, και η Focal Adhesion Kinase (FAK) εμπλέκονται στο δομικό σύνολο των κυττοσκελετικών συμπλόκων απαραίτητων για τη φαγοκυττάρωση. Η YopT

προκαλεί τον απο-πολυμερισμό των ινιδίων ακτίνης επιφέροντας ανακατανομή της RhoA GTPάσης. Η YopE εκφράζει μια GAP (Guanine Activating Protein) λειτουργία η οποία αναστέλλει τις μικρές GTPases της οικογένειας Rho που συμμετέχουν στη φαγοκυττάρωση. Τα *Yersinia*, για αυτό το λόγο, παραμένουν ουσιαστικά εξωκυτταρικά στις μολυσμένες Παυέριες πλάκες και τις μεσεντερικές λεμφικές απολήξεις. Αυτό επιτρέπει την εξωκυτταρική τους επιβίωση και την πιθανή Inν-μεσολαβούσα είσοδο στα επιθηλιακά κύτταρα.

Ο Schulte και συν. (2000) υποστηρίζουν ότι τα εντεροπαθογόνα βακτήρια *Yersinia* πυροδοτούν την παραγωγή της προ-μολυσματικής χημοκίνης IL-8, μιας σημαντικής χημοκίνης για τη στρατολόγηση των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων (PMN). Τα *Yersinia* είναι ανθεκτικά στη φαγοκυττάρωση από PMN, και η στρατολόγηση αυτών των κυττάρων φαίνεται να είναι μέρος της παθογόνου στρατηγικής τους ώστε να επιτύχουν μόλυνση με το να επιτρέπουν το παθογόνο να έχει πρόσβαση στο, και να διασπείρεται μέσα, στο ιστό ξενιστή (Black και Bliska, 2000). Έτσι, τα *Yersinia* με την έκφραση της πρωτεΐνης της εξωτερικής μεμβράνης ινβασίνης (Inν) πυροδοτεί την παραγωγή της παραγωγή της IL-8 στα επιθηλιακά κύτταρα. Η ενεργοποίηση μέσω της ινβασίνης του υποκινητή (promoter) IL-8 βρέθηκε να μεσολαβεί μέσω ενός νωρίτερα ταυτοποιημένου στοιχείου NF-kB. Αυτό το NF-kB σημείο δέσμευσης, δεσμεύει κατά προτίμηση ομοδιμερή Rel p65-p65 όπως και κάποια ετεροδιμερή p50-p65 ως απόκριση της διέγερσης από την ινβασίνη. Αυτή η ενεργοποίηση σχετίζεται με αποδόμηση του IκBa και την αναστολή του NF-kB μέσω ειδικών αναστολέων που μπλοκάρουν την, δια της ενεργοποίησης του IκB, έκκριση της παρακινούμενης από την ινβασίνη IL-8, και για πρώτη φορά δίνουν εικόνα της μοριακής βάσης της παραγωγής της IL-8 μετά από πυροδότηση από εντεροπαθογόνα βακτήρια.

2Α. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ

Το *Y. enterocolitica* έχει ενοχοποιηθεί από μεγάλο αριθμό συγγραφέων ως ο αιτιολογικός παράγοντας διαφόρων κλινικών συμπτωμάτων. Ως πύλη εισόδου του μικροβίου προφανώς είναι το πεπτικό σύστημα και η συνηθέστερη εντόπιση της εξ αυτού προκαλούμενης φλεγμονής είναι στο έντερο, και ειδικότερα στον ειλεό, τη σκωληκοειδή απόφυση, τα μεσεντέρια λεμφογάγγλια, το ήπαρ και το σπλήνα. Δύναται όμως να εντοπισθεί και σε άλλους ιστούς και όργανα, όπως οι μήνιγγες, το δέρμα, οι αρθρώσεις, και τα μάτια.

Το βακτήριο *Y. enterocolitica* προκαλεί την ασθένεια με το όνομα *υερσινίωση*. Μεταδίδεται, όπως έχει ήδη εκτενώς αναφερθεί ανωτέρω, μέσω των τροφίμων και του νερού, ενώ είναι δυνατή επίσης η μόλυνση και από άτομο σε άτομο. Η *Y. enterocolitica* έχει ιδιαίτερη σημασία για τα τρόφιμα γιατί είναι από τα λίγα παθογόνα του εντέρου που μπορούν και αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες ψύξης (Swaminatham και συν., 1982).

Η *Y. enterocolitica* αφού εισέλθει στο ανθρώπινο σώμα μέσω της πεπτικής πορείας, πολλαπλασιάζεται στον εντερικό σωλήνα και προσκολλείται στη βλεννώδη επιφάνεια του λεπτού εντέρου. Η κλινική εικόνα της υερσινίωσης είναι πολύ διαφοροποιημένη. Τα συμπτώματα γίνονται αντιληπτά μετά από 4-7 ημέρες από την μόλυνση και ίσως να επιμένει για πάνω από 4 εβδομάδες (CDC, 2010).

Η τροφιμογενής λοίμωξη πιο συχνά προέρχεται από την κατανάλωση τροφίμων. Με την αύξηση της συγκέντρωσης της κυκλικής μονοφωσφορικής γαουνοσίνης (cGMP:cyclic guanosine monophosphate) στα κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου, υπέρογκες ποσότητες νερού εκλύονται στον εντερικό σωλήνα και αναπτύσσεται η διάρροια. Πυρετός, στομαχικές διαταραχές, έμετος, και αιματουρία καταγράφηκαν ως συμπτώματα από τους Huoninen και συν. (2010).

Μεταξύ των επικρατέστερων συμπτωμάτων στους ανθρώπους, ιδιαιτέρως στα νέα παιδιά είναι πυρετός, κοιλιακό άλγος, και διάρροια, η οποία συχνά είναι αιμοραγική (Anonymous, EFSA 2009). Σε μεγαλύτερα παιδιά και ηλικιωμένους, οι επιπτώσεις της υερσινίωσης είναι σοβαρές και περιλαμβάνουν οξείες μολύνσεις, ψευδο-σκωληκοειδίτιδα, και εξωεντερικές μακράς διάρκειας ανωμαλίες όπως ευερέθιστη αρθρίτιδα και δερματικά εξανθήματα (Fredriksson-Ahomaa and Korkeala, 2003a &

2003b). Δευτερεύουσες ανοσολογικές συνέπειες, όπως η ευερέθιστη αρθρίτιδα, δεν είναι σπάνιες, ειδικά σε HLA-B27-θετικά άτομα.

Γενικώς, τα συμπτώματα είναι αυτοπεριοριζόμενα και εξαφανίζονται μετά από κάποιες ημέρες. Μεσεντερική λεμφαδενίτιδα και μόλυνση λεπτού εντέρου και του τυφλού έχουν επίσης αναφερθεί. Μερικές φορές (ιδιαίτερα σε παιδιά κάτω των 7 ετών) τα συμπτώματα μπορεί λανθασμένα να αποδοθούν σε σκωληκοειδίτιδα. Σε ακραίες περιπτώσεις, *Y. enterocolitica* μπορεί να προκαλέσει βακτηραιμία και σήψη οδηγώντας στο θάνατο.

Τα στελέχη του *Y. enterocolitica* που ανήκουν αρκετούς κοινούς ορότυπους μπορούν να προκαλέσουν ασθένεια σε ανθρώπους. Τα περισσότερα από τα στελέχη που σχετίζονται με την υερσινίωση ανήκουν στους ακόλουθους βιο-ορότυπους: 1B/O:8; 2/O:5,27; 2/O:9; 3/O:3; 4/O:3. Αυτοί οι βιο-ορότυποι έχει δειχθεί ότι έχουν διαφορετικές γεωγραφικές κατανομές. Στελέχη ευρέως ευθυνόμενα για την ανθρώπινη υερσινίωση στην Ευρώπη, την Ιαπωνία, τον Καναδά, και τις ΗΠΑ ανήκουν στο βιο-ορότυπο 4/O:33. Στελέχη από πέντε βιοτύπους (1B, 2, 3, 4, and 5) δύνανται να μεταφέρουν το pYV, το οποία απαιτείται για την πλήρη έκφραση της μόλυνσης, και αρκετά χρωμοσωμικώς κωδικοποιούμενους καθοριστικούς παράγοντες. Τα στελέχη του βιότυπου 1A στερούνται των σχετικών με τη μόλυνση δεικτών των pYV-φερόμενων στελεχών και θεωρούνται ότι είναι μη παθογονικά (Tennant και συν., 2003).

Παρακάτω παρουσιάζονται, κατά σειρά σπουδαιότητας οι διάφορες κλινικές εκδηλώσεις με πιθανό αίτιο το παθογόνο μικρόβιο *Y. enterocolitica*:

A. Εντερίτιδα-εντεροκολίτιδα

Είναι κατά κανόνα η πιο συχνή κλινική μορφή. Παρατηρείται σε όλες τις ηλικίες, από λίγες εβδομάδες μέχρι 85 ετών, με σαφώς υψηλότερη συχνότητα στα παιδιά· με τα 2/3 των περιπτώσεων να είναι κάτω των 7 ετών, το 1/2 αυτών κάτω των 2 ετών, και το 1/3 κάτω του 1 έτους. Η νόσος αρχίζει με διαρροϊκές κενώσεις οι οποίες αποτελούν και το επικρατές σύμπτωμα. Συνοδεύεται, έτσι, από σοβαρές απώλειες ύδατος και ηλεκτρολυτών, και κάποιες φορές με κοιλιακά άλγη και μετεωρισμό. Εμετοί σπανίως παρατηρούνται, ενώ η συνολική εικόνα του ασθενούς εξαρτάται από τη βαρύτητα της νόσου. Παρά όμως τη εκδηλωμένη κλινική ομοιότητα των συμπτωμάτων με αυτά της

εντερίτιδας της προερχόμενης από σαλμονέλλα, σιγκέλλα ή παθογόνα κολοβακτηρίδια, η εντερίτιδα από *Y. enterocolitica* τα εμφανίζει ηπιότερα και σε πιο αργή πορεία (Cover και Aber , 1989).

Όταν η νόσος αφεθεί χωρίς την απαιτούμενη θεραπεία, σε ορισμένες περιπτώσεις, γιατρέυεται αυτομάτως, με βραδείς ρυθμούς σε 12-15 ημέρες, κάποιες φορές όμως παρατείνεται επί αρκετές εβδομάδες, κατά τη διάρκεια των οποίων επιμένει η διάρροια. Αντίθετα, η αντιμετώπισή της με αντιβιοτικά, κυρίως με χλωροαμφαινικόλη ή στρεπτομυκίνη per os, η νόσος γιατρέυεται ταχέως.

Β. Οξεία σύνδρομο του δεξιού λαγόνιου βόθρου

Σε αυτά τα σύνδρομα περιλαμβάνονται η οξεία σκωληκοειδίτιδα, η μεσεντερική λεμφαδενίτιδα και η τελική ειλεΐτιδα. Εμφανίζουν παρόμοια κλινική εικόνα η οποία συνίσταται καταρχήν από οξύ κοιλιακό άλγος εντοπιζόμενο στο δεξιό λαγόνιο βόθρο ή περιομφαλικά και στη συνέχεια στον ανώτερο βόθρο. Η θερμοκρασία ποικίλει από λίγα δέκατα έως 39 °C, ενώ σπάνια παρατηρείται λευκοκυττάρωση με πολυμορφωπήνωση (Cover και Aber , 1989).

Γ. Οζώδες ερύθημα

Το οζώδες ερύθημα πρωτίστως παρατηρήθηκε το 1964, και έπεται συνήθως μιας προδρόμου φάσεως, ποικίλης διάρκειας από 2-3 ημέρες έως και τρεις εβδομάδες, και διαφόρων ενοχλημάτων συνήθως διάρροιας (60% των περιπτώσεων), πυρετού και ακαθόριστων κοιλιακών αλγών, με σπανιότερα τις αρθραλγίες ή τις μυαλγίες. Το εξάνθημα μετά από 1-3 διαδοχικές εκθύσεις εξαφανίζεται εντός 1-3 εβδομάδων. Η εξέλιξή του δεν επηρεάζεται από τη λήψη αντιβιοτικών και ιαίνεται αυτομάτως, χωρίς επιπλοκές.

Δ. Σηψαιμία

Η βακτηριακή σήψη έχει γίνει η πιο συχνή μολυσματική επιπλοκή της μετάγγισης. Παρόλο που η *Y. enterocolitica* είναι ένα κοινό εντεροπαθογόνο συνήθως προκαλώντας

σχετικώς ήπια ασθένεια, είναι ωστόσο μια προεξέχουσα αιτία απειλής της ζωής από μετα-μεταγγισιακή μόλυνση. Ο Guinet και συν. (2011) μελέτησαν συστηματικά και λεπτομερώς 55 δημοσιευμένες περιπτώσεις, για τις οποίες κατέθεσαν τους μηχανισμούς που υπόκειται η μόλυνση των σκευασμάτων ερυθρών αιμοσφαιρίων από *Y. enterocolitica*. Τα συμπτώματα είναι ένα ταχέως αυξανόμενο σηπτικό σοκ μερικές φορές προάγγελος ατυπικών συμπτωμάτων, όπως εκτεταμένη διάρροια, με το συνολικό ποσοστό θνησιμότητας να φθάνει το 54.5%. Αυξημένη επαγρύπνηση της προμήθειας αίματος μπορεί να βοηθήσει ώστε να απομακρυνθεί αυτός κίνδυνος μετάγγισης, παρόλο που οικονομικές στρατηγικές είναι δύσκολο να ορισθούν για αυτό το πολύ σοβαρό αλλά σπάνιο γεγονός. Γενικώς, πρόκειται για καταστάσεις βαριές με υψηλή θνητότητα (50%) παρά τη θεραπεία με αντιβιοτικά. Ο Bottone (1999) αναφέρει 49 αποδεδειγμένες περιπτώσεις βακτηριαμίας σχετιζόμενες με την *Y. enterocolitica* μετά από μετάγγιση αίματος. Αναφέρονται οι ακόλουθες μορφές σηψαιμίας:

- α. Σηψαιμία ηλικιωμένων, κηρωτικών και διαβητικών.
- β. Σηψαιμία επι αιματολογικών νοσημάτων (θαλασσαιμία, απλαστική αναιμία, λευχαιμία).
- γ. Σηψαιμοπυαιμικές μορφές, με πυώδεις μεταστατικές εντοπίσεις σε διάφορα όργανα.
- δ. Σηψαιμία κατά τη διάρκεια μεταγγίσεων, αιμοδιαλύσεων, περιτοναϊκών διαλύσεων ή θεραπείας με ανοσοκατασταλτικά.

E. Δερματική ή δερμογαγγλιακή μορφή

Το *Y. enterocolitica* έχει απομονωθεί κατά καιρούς από διάφορες δερματικές βλάβες όπως και λεμφαδένες του δέρματος δορυφορικών αδενίτιδων μιας δερματικής βλάβης. Έτσι απομονώθηκε από χρόνιο κοκκιώδες έλκος της κάτω γνάθου, από αυχενικής αδενίτιδας, δορυφόρου ελκών του προσώπου, από κοκκιώδη βλάβη της πρόσθιας μασχालιάς γραμμής, και τέλος από φλύκταινες πυώδους δερματίτιδας (Mollaret, 1970).

ΣΤ. Αρθρίτιδες

Πέρα των παρατηρούμενων αρθραλγιών οι οποίες παρατηρούνται ως συνωδά συμπτώματα στα οξεία κοιλιακά σύνδρομα και κατά τη διάρκεια οξώδους ερυθήματος, οφειλόμενα στο *Y. enterocolitica*, έχουν παρατηρηθεί και αληθείς αρθρίτιδες προερχόμενες από αυτό. Η χορήγηση τετρακυκλίνης είχε καλά αποτελέσματα, τα δε αντισώματα εξαφανίστηκαν μετά από 2 μήνες.

Επιπλοκές εμφανίζονται σε ευπαθή άτομα, όπως η αντιδραστική αρθρίτιδα (Leirisalo -Repo, 1987), που εκδηλώνεται 1-2 εβδομάδες μετά τη διάρροια και διαρκεί λιγότερο από 3 μήνες. Δεν είναι γνωστή η απαιτούμενη δόση για την πρόκληση νόσου στον άνθρωπο, αλλά εκτιμάται ότι ξεπερνάει τα 10^4 cfu. Η οξύτητα του γαστρικού υγρού προστατεύει από τη μόλυνση και η διαταραχή στην έκκριση του μπορεί να μειώσει την απαιτούμενη δόση. Ο χρόνος επώασης ποικίλει μεταξύ μιας και έντεκα ημερών, και συνηθεστέρα είναι 7 ημέρες.

Έχουν αναφερθεί επίσης περιπτώσεις οι οποίες δίνουν την εικόνα μιας οξείας πολυαρθρίτιδας όπου μετά μια πρόδρομη φάση διάρκειας 10 ημερών κατά μέσο όρο, κατά την οποία παρατηρούνται, πυρετός, κοιλιακά άλγη και διαρροϊκές κενώσεις, ακολουθεί η προσβολή των αρθρώσεων (Ahvonen και συν., 1969). Προσβάλλονται κατά σειρά οι αρθρώσεις των δακτύλων των άκρων, των γονάτων, των αστραγάλων, και των δακτύλων των κάτω άκρων. Έπονται οι αρθρώσεις των καρπών, ισχίων, αγκώνων, ώμων κ.α. Συνήθως προσβάλλονται 2-3 αρθρώσεις ταυτοχρόνως, διαδοχικά εντός ημερών έως και 2-3 εβδομάδων. Χαρακτηριστικό είναι οι αρνητικές ακτινολογικές εξετάσεις, η δοκιμή ανίχνευσης του ρευματοειδούς παράγοντα, η αντίδραση Waaler-Rose και ο τίτλος της αντιστρεπτολυσίνης.

Άμεσα συνδεδεμένο με μια μόλυνση από *Yersinia* spp είναι και το σύνδρομο Reiter, το οποίο είναι ένα σπάνιο είδος αρθρίτιδας που ονομάζεται επίσης και αντιδραστική αρθρίτιδα. Πιστεύεται ότι οφείλεται στην αντίδραση προς ορισμένες λοιμώξεις του αναπαραγωγικού και του πεπτικού συστήματος

Z. Σπανιότερες εκδηλώσεις

Σπανιότερες εκδηλώσεις περιλαμβάνουν:

- α. Οφθαλμο-αρθρο-ουριθρικό σύνδρομο
- β. Οστεΐτιδα
- γ. Οφθαλμικές εκδηλώσεις, όπως πανοφθαλμία εμφανισθείσα κατά τη διάρκεια σηψαιμίας.

Νεότερα στοιχεία συνταυτίζονται της απόψεως ότι οι περισσότερες συμπτωματικές μολύνσεις παρατηρούνται στα παιδιά ηλικίας κάτω από 5 ετών και εκδηλώνονται με υδαρή έως βλεννώδη διάρροια, σε συνδυασμό με χαμηλό πυρετό και κοιλιακό άλγος (Hoogkamp-Korstanje και Stolk-Engelaar, 1995). Σε παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας και σε ενήλικες εκδηλώνονται με συμπτώματα που μοιάζουν με αυτά της σκωληκοειδίτιδας. Συνυπάρχει πυρετός, με ή χωρίς διάρροια (Cover και Aber , 1989). Σε σπάνιες περιπτώσεις, η μόλυνση εντοπίζεται εκτός του εντέρου (σηπτική αρθρίτιδα, οστεομυελίτιδα, λοιμώξεις του ουροποιητικού, πνευμονία κ.ά.). Η νόσος διαρκεί από μερικές ημέρες έως 3 εβδομάδες· ωστόσο, σε ορισμένους ασθενείς εξελίσσεται σε χρόνια εντερίτιδα που μπορεί να διαρκέσει αρκετούς μήνες (Saebo και Lassen, 1992). Η θνησιμότητα είναι χαμηλή (0-0,5%). Ερευνητές έχουν επίσης επεκτείνει το φάσμα των μη γαστρεντερικών κλινικών εκδηλώσεων της νόσου ώστε να περιλαμβάνει δερματικές μολύνσεις, ενδοκαρδίτιδα, πνευμονία, φαρυγγίτιδα, και μηνιγγίτιδα (Bottone, 2015).

Η. Σύνδρομο Reiter

Το σύνδρομο Reiter είναι ένα σπάνιο είδος αντιδραστικής αρθρίτιδας, γνωστό επίσης και ως ουρηθρική αρθρίτιδα, αφροδίσια αρθρίτιδα και εντερική πολυαρθρίτιδα. Πήρε το όνομα του από τον γιατρό γερμανικής καταγωγής Χανς Ράιτερ (Hans Conrad Julius Reiter) για τη συμβολή του στην αναγνώριση και περιγραφή της νόσου (Bauer και συν., 1942). Τα συμπτώματα του συνδρόμου περιλαμβάνουν φλεγμονώδη αρθρίτιδα των μεγάλων αρθρώσεων, φλεγμονές των οφθαλμών με μορφή επιπεφυκίτιδας ή ραγοειδίτιδας, ουρηθρίτιδα στους άνδρες και τραχηλίτιδα στις γυναίκες (Banares και συν., 1998). Τα πιο κοινά συστήματα που εμπλέκονται είναι οι οφθαλμοί, το ουροποιητικό σύστημα, τα χέρια και πόδια.

Η νόσος προσβάλλει συχνότερα άτομα ηλικίας 20-40 ετών (Keat και συν., 1983) είναι πιο συχνή στους άνδρες παρά στις γυναίκες, και εμφανίζεται πιο συχνά σε ανθρώπους της λευκής φυλής (Deesomchok και συν., 1993). Αυτό συμβαίνει λόγω της υψηλής συχνότητας του HLA-B27 γονιδίου στο λευκό πληθυσμό. Η διάγνωση μπορεί να γίνει με εξέταση αίματος για τον γενετικό δείκτη HLA-B27. Περίπου το 80% των ατόμων με σύνδρομο Reiter έχουν το γονίδιο HLA-B27. Μόνο το 6% των ανθρώπων που δεν έχουν το σύνδρομο έχουν το γονίδιο HLA-B27 (Pachero-Tena και συν., 1999).

Άλλα στοιχεία που μπορούν να βοηθήσουν στη διάγνωση είναι η ανάδειξη των φλεγμονωδών παραμέτρων (TKE, CRP) και ένα αυξημένο αριθμό λευκοκυττάρων στο αρθρικό υγρό. Εκτιμάται ότι ο συνδυασμός της αυξημένης CRP, ουροποιογεννητικού συμπτώματα, μεταταρσιοφαλαγγική κοινή συμμετοχή, και HLA-B27 θετικότητα μπορεί να προβλέψει τη διάγνωση της αντιδραστικής αρθρίτιδας με 69% ευαισθησία και ειδικότητα 93,5% (Kvien και συν., 1996). Η θεραπεία βασίζεται στη χρήση αζιθρομυκίνης, τετρακυκλίνες, ή ένας συνδυασμός αυτών (Clegg και συν., 1999).

Μια αποτύπωση των κλινικών εκδηλώσεων της υερσινίωσης παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 3. Κλινικές εκδηλώσεις της υερσινίωσης (από Κεχαγιά, 2007).

Γαστρεντερικές (τροφομογενής επιδημίες και νοσοκομειακές διάρροιες)
Εντεροκολίτιδα, σε μικρά παιδιά, με συνοδό βακτηραιμία
Σύνδρομο ψευδούς σκωληκοειδίτιδας, σε παιδιά >5 ετών και ενήλικες
Οξεία μεσεντέρια λεμφαδενίτιδα
Τελική ειλεΐτιδα
Σηψαιμία
Σε ανοσοκαταστελόμενους, με υπερφόρτωση σιδήρου ή από αγωγή με Desferrioxamine
Μεταγγιζόμενοι
Μεταστατικές φλεγμονές (ως επιπλοκή της σηψαιμίας)
Εντοπισμένα αποστήματα στο έντερο, νεφρούς, σπλήνα, και πνεύμονες
Δερματικές φλεγμονές, κυτταρίτιδα, φλύκταινες
Μηνιγγίτιδα
Πανοφθαλμίτιδα
Ενδοκαρδίτιδα, λοιμώδεις μυκωτικό ανεύρυσμα
Οστεομυελίτιδα
Μεταλοιμώδεις επιπλοκές
Αρθρίτιδα
Μυοκαρδίτιδα
Σπειραματονεφρίτιδα
Οζώδες ερύθημα
Σύνδρομο Reiter
Φαρυγγίτιδα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

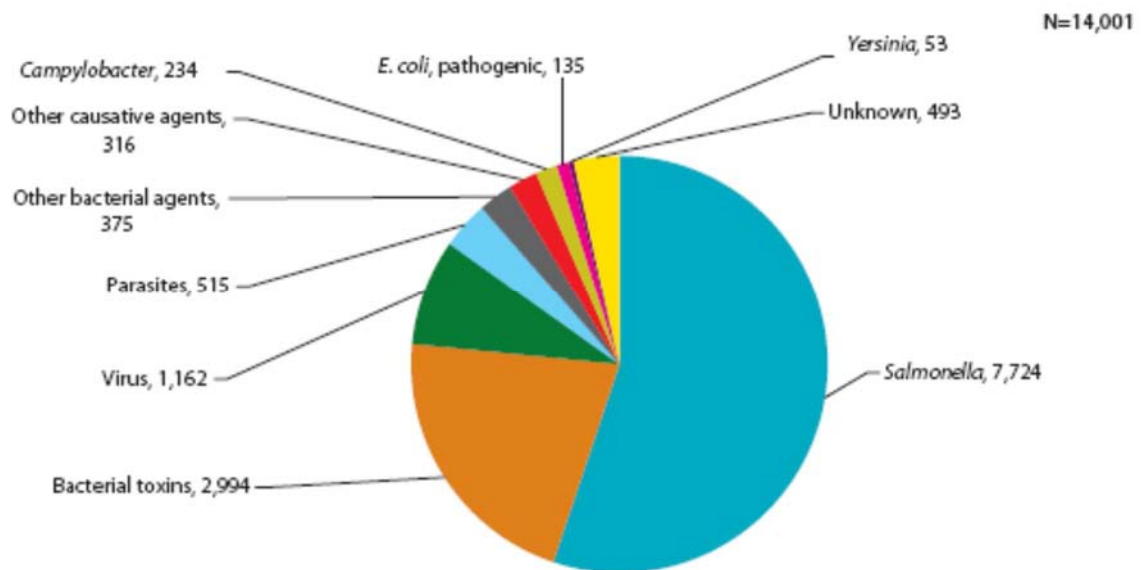
3Α. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η *Y. enterocolitica* για πρώτη φορά συσχετίστηκε με ανθρώπινη ασθένεια το 1939. Έκτοτε, και μέχρι το 1960, η *Y. enterocolitica* έχει ταυτοποιηθεί ως μία συχνή και σημαντική αιτία ασθένειας σε ανθρώπους σε ανεπτυγμένες χώρες, και ειδικά στις εύκρατες. Αν και οι ήδη αναφερθείσες δυνητικές επιπλοκές της υερσινίωσης είναι σοβαρές, η επικείμενη επιβάρυνση της δημόσιας υγείας είναι ακόμη μεγαλύτερου μεγέθους από ότι ο ακριβής αριθμός των αναφερόμενων συμβάντων θα δήλωνε (EFSA 2007).

Παγκοσμίως, οι μεγάλες εξάρσεις υερσινίωσης έχουν δείξει ότι η *Y. enterocolitica* είναι ένα τροφιμογενές παθογόνο, με πολύ πιθανή την εμπλοκή του χοιρινού κρέατος ως πηγής μόλυνσης, και στην Ευρώπη συγκεκριμένα οι περισσότερες περιπτώσεις να είναι σποραδικές. Έμμεσες αποδείξεις καταδεικνύουν ότι τρόφιμα, και ιδιαίτερα το χοιρινό κρέας, είναι ένας σημαντικός σύνδεσμος ανάμεσα στο χοίρο ως ξενιστή και τις ανθρώπινες μολύνσεις. Σε μελέτες ασθενών-μαρτύρων (case-controlled studies), έχει περιγραφεί μια συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης νωπού ή ατελώς μαγειρεμένου χοιρινού κρέατος και του ρυθμού εμφάνισης συμβάντων (Tauxe και συν., 1987; Ostroff και συν., 1994).

Για να προσδιοριστούν οι παρακαταθήκες των μολύνσεων, τα μέσα μετάδοσης, και οι σχέσεις μεταξύ κλινικών περιπτώσεων, έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετές μέθοδοι βασιζόμενες στο DNA για να αποτυπώσουν τα είδη της *Y. enterocolitica*. Ωστόσο, η μεγάλη γενετική ομοιότητα ανάμεσα στα είδη *Y. enterocolitica* και τους κυρίαρχους γενότυπους μεταξύ των ειδών έχουν περιορίσει το πλεονέκτημα αυτών των μεθόδων στις επιδημιολογικές μελέτες. Έτσι, πολλοί παράγοντες σχετιζόμενοι με την επιδημιολογία της *Y. enterocolitica*, όπως πηγές και πορείες μετάδοσης της υερσινίωσης, παραμένουν θολοί.

Δεν έχει πλήρως αποδειχθεί ότι οι άνθρωποι λειτουργούν ως ξενιστές της *Y. enterocolitica*. Απομονώνεται σε μικρά ποσοστά από ασυμπτωματικά άτομα. Ωστόσο, θεωρείται ότι το ζωικό βασίλειο είναι μια σημαντική δεξαμενή, με κάποια μέλη του ζωικού βασιλείου να περικλείουν μοναδικούς ορότυπους της *Y. enterocolitica* οι οποίοι δεν έχουν εμπλακεί σε ανθρώπινες μολύνσεις.



Διάγραμμα 1. Κατανομή του ολικού αριθμού ανθρωπίνων περιπτώσεων ανά αιτιολογικό παράγοντα σε επιβεβαιωμένες εξάρσεις στην ΕΕ, το 2008 (EFSA, 2010).

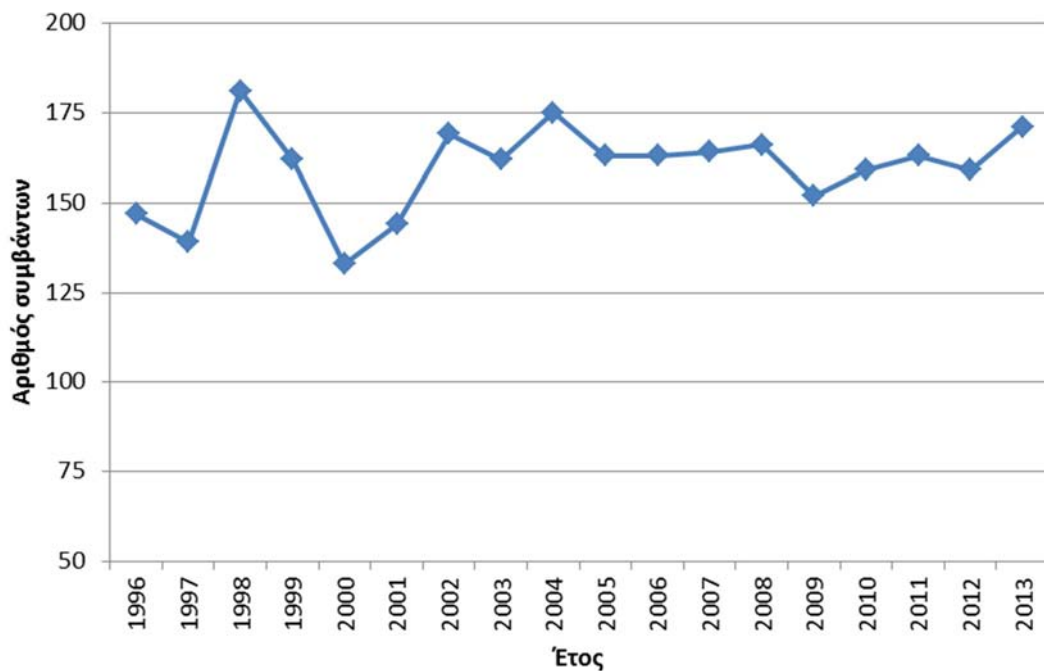
Ο τύπος των εξάρσεων επίσης αναφέρεται και ως οικιακή εξάρση, όπου μέλη ενός μόνο νοικοκυριού επηρεάζονται, ή γενικά εξάρση όπου μέλη περισσότερων του ενός νοικοκυριού επηρεάζονται. Από τα 890 πιστοποιημένες εξάρσεις το 2008, το 51.2% ήταν γενικές εξάρσεις, 43.7% ήταν οικιακές εξάρσεις, και 5.1% άγνωστης ταυτότητας.

3B. ΔΙΑΔΟΣΗ ΚΑΙ ΡΥΘΜΟΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΣΥΜΒΑΝΤΩΝ

Οι μολύνσεις από *Y. enterocolitica* αναγνωρίστηκαν τη δεκαετία του 1970 όταν η παγκόσμια ανησυχία αυξήθηκε και μια ευρεία διασπορά συνέβηκε με πραγματικά επακόλουθη αύξηση της συχνότητας των συμβάντων (Anon., 1976; Ostroff, 1995). Σε χώρες τις Βόρειας Ευρώπης, όπως το Βέλγιο, η Φινλανδία, η Γερμανία και η Σουηδία, η *Y. enterocolitica* ξεπερνά τη *Shigella* και ανταγωνίζεται τη *Salmonella* ως αιτία της οξείας βακτηριακής γαστρεντερίτιδας. Προσφάτως, αναφορές καταγεγραμμένες το 2004 δείχνουν ότι η συχνότητα των συμβάντων ποικίλει ουσιαστικά από χώρα σε χώρα, από <0.1 ανά 100.000 στη Γαλλία μέχρι 13.6 ανά 100.000 στη Λιθουανία (EFSA, 2006b). Για την Ελλάδα η αντίστοιχη τιμή είναι 0.4 ανά 100.000, ενώ το 2012 ήταν 0.30 ανά 100.000 (EFSA, 2015).

Έχει επίσης αναφερθεί ότι η συχνότητα των συμβάντων σε μια χώρα μπορεί να αλλάζει με την πάροδο του χρόνου, όπως για παράδειγμα το Βέλγιο όπου για τα έτη 1967 έως 1970 παρατηρήθηκε αύξηση (Vandepitte και Wauters, 1979), ενώ από 2004 έως το 2012 υπήρξε μείωση από 4.8 σε 3.2 ανά 100.000 (EFSA, 2015), όπως και για τα έτη 1986 και 1996 μειώθηκε από 14.1 σε 7.1 ανά 100.000 (Verhaegen και συν., 1998). Παρόλο που αρχικά μέρος της αύξησης είχε αποδοθεί σε βελτιώσεις στη διάγνωση και την καταγραφή, αλλά τελικά φάνηκε ότι δεν απείχαν πολύ από την πραγματικότητα (Εικόνα 6).

Σε άλλες Ευρωπαϊκές χώρες, ο ορότυπος O:3 ήταν επικρατών ορότυπος, αντιστοιχώντας στο 79% των ειδών από το 1967 στο 1996, παρόλη την παρατηρούμενη μείωση με το χρόνο. Παράγοντες που έπαιξαν ένα σημαντικό ρόλο σε αυτή την αύξηση περιελάμβαναν αλλαγές στις πρακτικές εκτροφής των χοιρών, στις μεθόδους σφαγής οι οποίες περιλάμβαναν τεμαχισμένες αμυγδαλές στο νωπό χοιρινό κρέας, και στις παραδοσιακές διατροφικές συνήθειες στο Βέλγιο οι οποίες περιέχουν τακτική κατανάλωση ατελώς βρασμένου ή νωπού χοιρινού κρέατος (Tuaxhe και συν., 1987). Από τότε και μετά, αλλαγές στις πρακτικές σφαγής μείωσε τη μόλυνση του νωπού κρέατος με ιστούς αμυγδαλών, και η εκπαιδευτική εκστρατεία σχετικά με τους κινδύνους του νωπού χοιρινού οδήγησαν σε αυτή την ύφεση. Ανάλογες παρατηρήσεις καταγράφηκαν και στο FoodNet από 1996 έως το 2005 (CDC, 2006).



Διάγραμμα 2. Μέσες τιμές ετήσιων κρουσμάτων από *Y. Enterocolitica* σε 10 πολιτείες των ΗΠΑ.

Για το διάστημα 1998 έως 2006 στις ΗΠΑ η CDC καταγράφει μια πτωτική τάση της συχνότητας των συμβάντων από 0.8 σε 0.26 (ανά 100.000 πληθυσμού) (μέση τιμή 0.38 συμβάντα /100.000 πληθυσμού). Για τη δεκαετία 1998 έως 2008 τα στοιχεία που παρουσίασε η CDC για τις ΗΠΑ δείχνουν ότι ο συνολικός αριθμός των εξάρσεων καταγράφει μια πτωτική πορεία, παρόλο που οι αριθμοί αυτών με >5, >25 και >100 ασθενή άτομα παρέμεινε σχεδόν σταθερός στα περίπου 500, 250 και 50, αντιστοίχως. Για το διάστημα 1998 έως 2006 στις ΗΠΑ η CDC καταγράφει μιας επίσης πτωτική τάση της συχνότητας των συμβάντων από 0.8 σε 0.26 (ανά 100.000 πληθυσμού) (μέση τιμή 0.38 συμβάντα /100.000 πληθυσμού) (Lutter, 2011). Τα αναφερόμενα ποσοστά θνησιμότητας στις ΗΠΑ μέχρι το 2008 κυμαίνονται κάτω από το 2 % (Lutter, 2011; Scallan και συν., 2011).

3Γ. ΕΠΙΔΗΜΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΚΑΙ ΜΕΤΑΔΟΤΙΚΟΤΗΤΑ

Επιδημικές εξάρσεις υερσινίωσης αποδιδόμενες σε συγκεκριμένες πηγές είναι σπάνιες, αλλά διαφωτιστικό εάν ληφθεί υπόψη ότι παρόλο που τα τελευταία χρόνια τόσο η κλινική επαγρύπνηση όσο και η εποπτεία της δημόσιας υγείας κατά της ασθένειας αυτής ήταν αποδοτική και βελτιωμένη σε κάποιες χώρες, αναφέρθηκαν μόνο λίγες εξάρσεις. Το 2004 στην Ευρώπη, αναφέρθηκε ένα σύνολο 51 εξάρσεων υερσινίωσης, επηρεάζοντας 282 άτομα. Εκτός μιας (58 άτομα από *Y. pseudotuberculosis*), οι υπόλοιπες εξάρσεις επηρέασαν κατά μέσο όρο 2.5 άτομα η καθεμιά, και προερχόταν από την Αυστρία, τη Τσεχία, τη Δανία, τη Γερμανία, και την Πορτογαλία, με μία και μοναδική πηγή (νωπό βοδινό κρέας) βρέθηκε σε μόνο μία χώρα (EFSA, 2006a).

Τα τρόφιμα είναι το πιο κοινό μέσο μετάδοσης σε εξάρσεις από μόλυνση με *Y. enterocolitica*. Αυτό φαίνεται και από τη σχετική έκθεση της EFSA (2012) όπου το κρέας και τα παραγόμενα από αυτό τρόφιμα είναι περίπου στο διπλάσιο οι πιο συχνά αναφερόμενες αιτίες υερσινίωσης κατά την εξαετία 2004 έως 2009. Ακολουθούν το γάλα, το τυρί και τα γαλακτοκομικά, και τρίτον τα ψάρια και τα προϊόντα τους. Το γάλα εμπορίου είναι πολύ πιθανό να μολύνεται μετά την παστερίωσή του. Κατά το ίδιο χρονικό διάστημα παρατηρείται επίσης μία σταθεροποίηση στο αριθμό των δειγμάτων όλων των κατηγοριών τροφίμων, υποστηρίζοντας την ανωτέρω άποψη για ένα σταθερά ενήμερο, αποδοτικό και βελτιωμένο σύστημα παρακολούθησης εντός της ΕΕ.

Είναι αξιοπρόσεκτο ότι επιβεβαιωμένη μετάδοση από άτομο σε άτομο δεν συμβαίνει με την υερσινίωση, παρόλο που σπάνια νοσοκομειακές εξάρσεις υποδεικνύουν ότι μια τέτοια μετάδοση μπορεί να συμβαίνει, και έτσι οι συνήθειες προφυλάξεις εντερίτιδας είναι ενδεδειγμένες. Ομοίως, σε αναφερόμενες εξάρσεις από γάλα σκόνη προτείνεται ότι η πηγή μόλυνσης είναι ένας χειριστής του τροφίμου και οι συνήθειες σχετικές προφυλάξεις.

3Α. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ

Παρά το γεγονός ότι η *Y. enterocolitica* απαντάται σε όλες τις κλιματικές ζώνες, για αρκετά χρόνια οι χαρακτηριστικοί βιότυποι/ορολογικές ομάδες συνδέθηκαν με συγκεκριμένες γεωγραφικές περιοχές. Έρευνες που διεξήχθησαν στα τέλη της δεκαετίας του 1980 έδειξαν ότι *Y. enterocolitica* O:3 και O:9 κυρίως απομονώνονται στην Ευρώπη και ο ορότυπος O:8 στις ΗΠΑ. Έτσι, είναι πιθανό ότι η απαρεμπόδιστη ροή των ακατέργαστων υλικών, τροφών, προϊόντων, σε συνδυασμό με το αυξανόμενο τουριστικό ενδιαφέρον ήταν υπεύθυνα για την αύξηση των περιπτώσεων ασθενειών προκαλούμενων από την *Y. enterocolitica* O:8 σε κλιματικές ζώνες όπου αυτός ο μικροοργανισμός δεν είχε ακόμα απομονωθεί.

Οι πρώτες αναφορές τροφιμογενών λοιμώξεων προκαλούμενες από αυτόν τον ορότυπο καταγράφηκαν στην Ιαπωνία το 2004. Η έξαρση συνέβηκε σε ένα σχολείο που καταναλώθηκε σαλάτα που περιείχε μήλα, αγγούρια, ζαμπόν, πατάτες, καρότα, και μαγιονέζα (Sakai και συν., 2005).

Στην Ευρώπη, ένα πλήρως μολυσματικό *Y. enterocolitica* O:8 στέλεχος ήταν το πιο πιθανό να απομονώθηκε για πρώτη φορά στη Γερμανία. Αυτό το στέλεχος προήλθε από κλινικό υλικό απομονωμένο από ένα αγόρι τεσσάρων ετών. Στην Πολωνία, η πρώτη περίπτωση απομόνωσης του O:8 στελέχους της *Y. enterocolitica* από κλινικό υλικό δειγματοληψίας από γυναίκα 38 ετών αναφέρθηκε το 2004. Τα επόμενα χρόνια αποκάλυψαν μια σημαντική αύξηση στα ποσοστά περιπτώσεων προκαλούμενες από αυτόν τον ορότυπο *Y. enterocolitica* στην ίδια χώρα (Rastawicki και συν., 2009). Αυτό είναι πολύ ανησυχητικό, αφού τα βακτήρια που ανήκουν στον βιότυπο 1B και ορολογικής ομάδας O:8 λογίζονται ως τα πιο επικίνδυνα και πιο μολυσματικά στους ανθρώπους. Μπορούν να προκαλέσουν έλκος στην βλεννογόνο του γαστρεντερικού συστήματος και ίσως οδηγήσουν και στο θάνατο.

Σύμφωνα με στοιχεία του ECDC το 2007 στη Ευρώπη αναφέρθηκαν 8874 επιβεβαιωμένα κρούσματα από *Y. enterocolitica* εκ των οποίων 4987 ήταν στη Γερμανία.

Η γεωγραφική κατανομή της *Y. enterocolitica* είναι ποικίλη με περισσότερους από 50 διακριτούς ορότυπους, μερικοί εκ των οποίων είναι παθογονικοί. Ο O:8 είναι ο κυρίως μολυσματικός ορότυπος στις ΗΠΑ, ακολουθούμενος από τους O:3, O:5,27, O:13a, 13b, O:20, O:9 (Bottone, 1997: Kwaga και συν., 1992). Ο ορότυπος O:3 είναι ο πιο συχνά απομονωμένος τύπος σε ανθρώπους στην Ευρώπη (Fredriksson-Ahomaa και

συν., 2010). Στην Κίνα, ο ορότυπος O:3 βρίσκεται κυρίως σε μολύνσεις ακολουθούμενες από O:9, και O:8 (Wang και συν., 2008). Επιπλέον, διάφοροι ορότυποι επιδεικνύουν γεωγραφική ειδικότητα: για παράδειγμα, ο κυρίαρχος ορότυπος σε Αυστραλία, Ευρώπη και Καναδά είναι ο O:3 (Martínez και συν., 2011), στην Ιαπωνία ο O:8 (Sakai και συν., 2005) και στην Σκανδιναβία, Ολλανδία ο O:9 (Grahek-Ogden και συν., 2007).

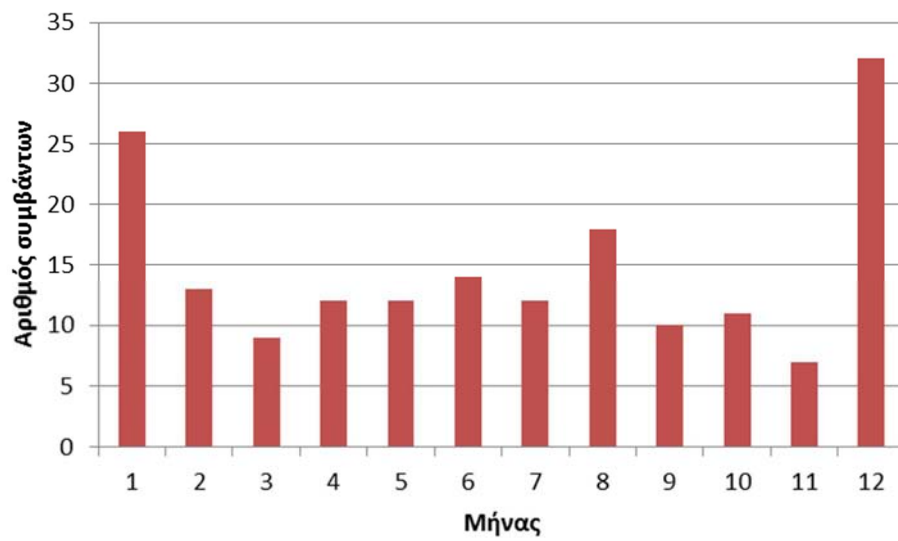
Στην Ελλάδα, παρά της μικρής στατιστικής συσχέτισης μεταξύ των απομονωθέντων ειδών *Yersinia* και του νομού απομόνωσης, ο μεγαλύτερος αριθμός στελεχών (46, ποσοστό 55.42% των δειγμάτων) απομονώθηκε στο νομό Εύβοιας. Αυτό πιθανό να οφείλεται στο μεγάλο αριθμό δειγμάτων και την εποχή συλλογής τους (χειμερινοί μήνες) (Κεχαγιά, 2007).

3Ε. ΕΠΟΧΙΑΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ

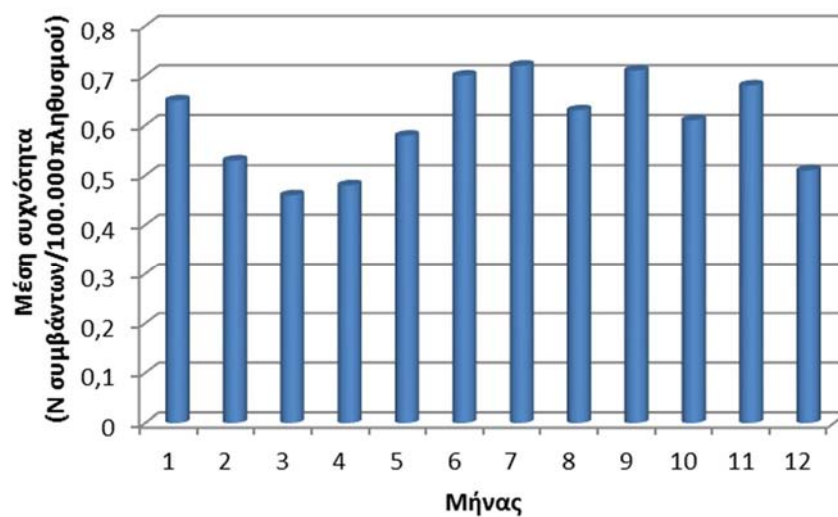
Ένα σύνολο περιπτώσεων κατά τη διάρκεια των ψυχρών μηνών του φθινοπώρου και του χειμώνα έχει αναφερθεί σε κάποιες Ευρωπαϊκές χώρες, όπως το Βέλγιο (Van Noyen και συν., 1987). Μια παρόμοια εποχικότητα παρατηρήθηκε για τη συχνότητα με την οποία η *Y. enterocolitica* απομονώθηκε από χοίρους και χοιρινό κρέας, ώστε η εποχικότητα των μολύνσεων στον πληθυσμό των χοίρων θα μπορούσε να οδηγήσει στην εποχικότητα της μόλυνσης στους ανθρώπους (Tsubokura και συν., 1976).

Η σχέση της *Y. enterocolitica* με ψυχρότερες εποχές και εύκρατα κλίματα ίσως συνδέεται με την ικανότητα του οργανισμού να πολλαπλασιάζεται σε χαμηλές θερμοκρασίες, όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο το σχετικό με την ανάπτυξή του. Στις ΗΠΑ, μελέτη των Metchock και συν. (1991) στις αρχές της δεκαετίας του 1990 κατέγραψαν μια απότομη αύξηση στο αριθμό των συμβάντων στους χειμερινούς μήνες (Δεκέμβριο, Ιανουάριο, και Φεβρουάριο).

Προσφάτως, αυτή η απότομη χειμερινή κορύφωση σε όμοιες περιπτώσεις επαναλαμβάνεται ετησίως. Ωστόσο, στην Αυστραλία ερευνητικά δεδομένα έδειξαν ότι περίοδος κορύφωσης της απομόνωσης της *Y. enterocolitica* από παιδιά είναι τους θερμούς μήνες από το Δεκέμβριο έως το Μάρτιο (Marriott και συν., 1985).



Διάγραμμα 3. Αριθμός τροφογενών κρουσμάτων από *Y. enterocolitica* στις ΗΠΑ (FoodNet Sites, 2004).



Διάγραμμα 4. Εποχιακή κατανομή μολύνσεων από *Y. enterocolitica* στη Γερμανία, 2001-2008 (μέσες τιμές; από Rosner συν., 2010 77).

3ΣΤ. ΗΛΙΚΙΑ

Παρόλο, που η *Y. enterocolitica* προκαλεί έναν αριθμό κλινικών συνδρόμων τα οποία ποικίλουν με την ηλικία, το φύλο, και την υγεία του ξενιστή, τα παιδιά εμφανίζονται να προσβάλλονται προνομιακά. Οι μελέτες φανερώνουν ότι τα ποσοστά που κατέχουν τα παιδιά ηλικίας από 1 έως 5 ετών προσεγγίζουν το 47% των (Mollaret 1971), ενώ στις ηλικίες από πριν 1 έτος μέχρι τα 85 έτη το 80% είναι παιδιά κάτω των 10 ετών (και 20% μέσα στον 1 έτος ζωής) (Vandepitte and Wauters, 1979). Στις ΗΠΑ, παρατηρείται μια αυξητική τάση πηγαίνοντας από ηλικίες ατόμων <1 έτους, 1-4 έτη, 5-59 έτη, και >60 έτη ανά 100.000 από 25, 2.7, 0.4, και 0.5, αντιστοίχως (Ray και συν., 2004 FoodNet).

Η ασθένεια η περισσότερη σχετιζόμενη με την *Y. enterocolitica* σε παιδιά κάτω των 5 ετών είναι μία εμπύρετη διάρροια, ενώ αυτά άνω των 5 ετών είναι πιθανό να αναπτύξουν συμπτώματα που μιμούνται αυτά της οξείας σκωληκοειδίτιδας. Μια σημαντική διαφορά σε συμβάντα σχετιζόμενα με την ηλικία σημειώνονται όταν ασθενείς με εντερίτιδα συγκρίνονται με εκείνους με το σύνδρομο ομοιάζον στη σκωληκοειδίτιδα (Szita και συν., 1973). Τέλος, σε νοσοκομειακές εξάρσεις, έχει παρατηρηθεί ότι οι ηλικιωμένοι και οι πολύ νέοι μολυνόταν πιο συχνά και αυτό ίσως ήταν προδιάθεση σχετική με την ηλικία και τη φυσική κατάσταση, συμπεριλαμβάνοντας και την ανοσοσυστατική κατάσταση (Ratnam και συν., 1982).

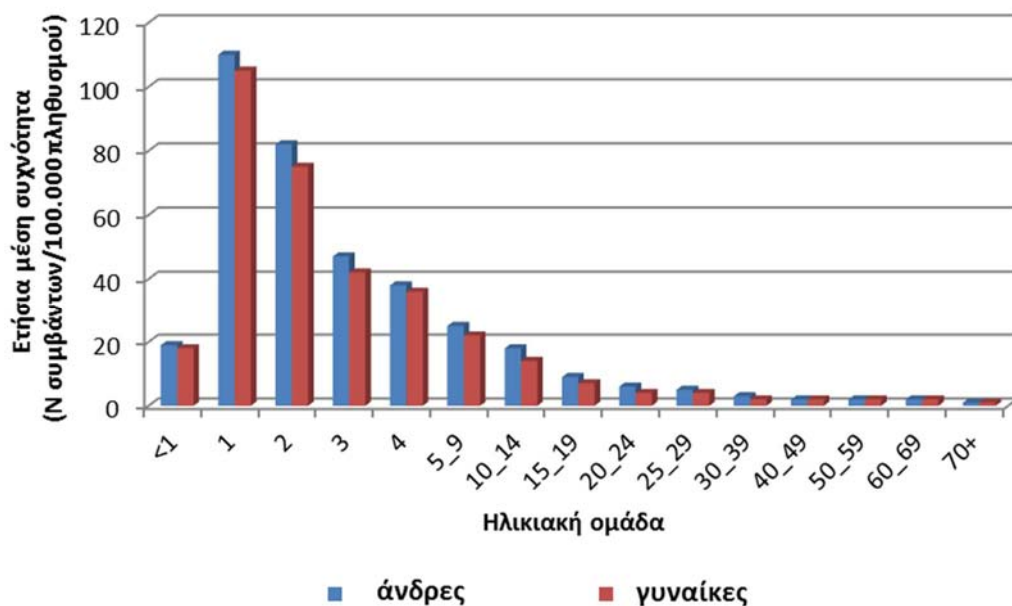
3Ζ. ΦΥΛΟ

Σε γενικές γραμμές, τα ποσοστά δεν διαφέρουν με το φύλο, παρά το γεγονός ότι στις περισσότερες μελέτες οι άνδρες ελαφρώς ξεπερνούν στον αριθμό τις γυναίκες σε όλες τις ηλικιακές ομάδες με διάρροια από *Y. enterocolitica*. Έτσι, η κατανομή κατά φύλο σε Βέλγους ασθενείς με *Y. enterocolitica* έδειξε περισσότερους άνδρες (54.7%) σε σχέση με τις γυναίκες (Van Noyen και συν., 1987). Εποπτικά στοιχεία στη Νέα Ζηλανδία για το έτος 2005 έδειξαν υψηλότερο αριθμό συμβάντων σε άνδρες (11.8 ανά 100,000) απ' ότι σε γυναίκες 9.4 ανά 100.000). Στο FoodNet, τα ποσοστά για το έτος 2004 ήταν 0.47 ανά 100,000 στους άνδρες και 0.39 στις γυναίκες, παρόλο που αυτά τα ποσοστά αναστρέφονται τα άλλα χρόνια (CDC 2006).

Επίσης, δεν έχει παρατηρηθεί σχέση στην κατά φύλο συχνότητα κατανομής ευρέσεως του εν λόγω βακτηρίου, και ούτε προτίμηση σε άντρες ή γυναίκες. Η Nilhén (1969) παρατήρησε ότι επί 150 περιπτώσεις υερσινίωσης του ανθρώπου οι 63 ήταν άντρες και οι 87 γυναίκες. Αναφέρεται δε η σημαντική υπεροχή του γυναικείου φύλου στους ασθενείς που εμφανίζουν κλινικώς οξώδες ερύθημα, όπου εκ των 17 ασθενών οι 15 είναι γυναίκες. Αντιθέτως στις άλλες παθολογικές καταστάσεις δεν παρατηρείται κάποια επικράτηση κατά φύλο.

Η έλλειψη διαφορών στην συχνότητα εμφάνισης κατά φύλο, αποτελεί ένα ακόμη στοιχείο κατά της απόψεως της άμεσου μολύνσεως του ανθρώπου από τα ζώα. Δεδομένου ότι οι άντρες ασχολούνται περισσότερο με την περιποίηση και φροντίδα των ζώων θα έπρεπε να εμφανίζουν και συχνότερα τη νόσο. Επίσης, η κατά ηλικία κατανομή παρουσιάζει επικράτηση της νόσου κατά την παιδική ηλικία. Αλλά, παρόλη την ποικιλία στην συχνότητα, η πλειονότητα των απομονωθέντων στελεχών προέρχεται από παιδιά και νεαρούς ενήλικες (Nilhén και συν., 1968).

Αυτό που είναι εξαιρετικά ενδιαφέρον είναι ότι στη Γερμανία συχνότερα διαγνώσθηκε σε παιδιά ηλικίας μικρότερης των 5 ετών. Επιπλέον, ο Okwori και συν. (2007) κατέγραψε μια πιο συνήθη ύπαρξη αυτών των βακτηρίων σε κόπρανα παιδιών από ότι ενηλίκων.



Διάγραμμα 5. Αναφερόμενες μολύνσεις από *Y. enterocolitica* στη Γερμανία κατά ηλικία και φύλο, 2001-2008 (από Rosner συν., 2010).

3Η. ΑΠΑΣΧΟΛΗΣΗ

Από τη στιγμή που ο οργανισμός απομονώνεται συχνότερα σε δείγματα χοίρων στα σφαγεία, μπορεί πιο εύκολα να μεταδοθεί στους εργαζόμενους σε όλα τα στάδια κατά τη διάρκεια της σφαγής και της επεξεργασίας. Αυτό επιβεβαιώνεται και από οροπειδημιολογικές μελέτες απ' τις οποίες προκύπτει ότι η επαγγελματική απασχόληση με χοίρους είναι ένας παράγοντας κινδύνου (Nesbakken 1991).

Η μεταδοτικότητα του μικροβίου όταν έχει να κάνει με τη διασπορά αυτού, τόσο μεταξύ ατόμων που διαμένουν στο ίδιο οικογενειακό περιβάλλον, όσο και εντός νοσοκομείων, φαίνεται να είναι εύκολη και ταχεία. Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις υερσινίωσης δύο αδελφών που εμφάνιζαν εμέτους και διάρροια διάρκειας τριών ημερών. Σε άλλο χρόνο έγινε η παρατήρηση ότι η αρχή εντεροκολίτιδος κάποιου ασθενούς συνέπιπτε χρονικά με την ελαφρά εντερίτιδα τριών αδελφών, καθώς και άλλων τεσσάρων παιδιών γειτονικής οικογένειας.

Ως προς το νοσοκομειακό επιδημικό χαρακτήρα, αξίζει να αναφερθούν οι 7 περιπτώσεις μολύνσεως από *Y. enterocolitica* που περιγράφηκαν από τον Toivanen και συν. (1973) και σημειώθηκαν σε δύο θαλάμους Φινλανδικού νοσοκομείου, και οι προκλήθηκαν πιθανώς από μία κοινή πηγή μόλυνσης. Αυτή ήταν ένα κορίτσι 9 ετών, το οποίο εισήχθη στο θάλαμο Α του νοσοκομείου πάσχον από οξεία σκωληκοειδίτιδα. Την επομένη της εισαγωγής του διακομίστηκε στο θάλαμο Β. Από αυτό απομονώθηκε στέλεχος *Y. enterocolitica* ορότυπου 9 σε δείγμα κοπράνων, και ανιχνεύθηκαν συγκολλητίνες στον ορό του. Μετά από 10 μέρες περίπου (5 περιπτώσεις) και 20 μέρες (1 περίπτωση), παρατηρήθηκαν κρούσματα οξέος κοιλιακού συνδρόμου ποικίλης εντάσεως σε 5 νοσοκόμες και 1 καθαρίστρια, και των δύο θαλάμων, με την ίδια διάγνωση (της υερσινίωσης).

3Θ. ΦΥΛΗ ΚΑΙ ΕΘΝΙΚΟΤΗΤΑ

Η φυλή και η εθνικότητα είναι σημαντικές διότι αντανακλούν διαφορές σε ειδικές εκθέσεις. Για παράδειγμα στις ΗΠΑ, συχνότητα εμφάνισης της υερσινίωσης είναι

χαμηλή ανάμεσα στους λευκούς (0.5 ανά 10^6), όταν ανάμεσα στους Αφρο-αμερικανούς αυτή είναι υψηλότερη (3.4 ανά 10^6) (Ray και συν., 2004). Τα υψηλότερα ποσοστά από όλους έχουν παρατηρηθεί στα Αφροαμερικάνα βρέφη μεταξύ των οποίων η συχνότητα εμφάνισης (επιβεβαιωμένη με καλλιέργεια) ήταν 143 ανά 100.000. Μια χειμερινή αύξηση σε αυτή την κατηγορία πληθυσμού πιθανόν να οφείλεται στην εποχιακή κατανάλωση chitterlings (φαγητό από εντόσθια χοίρου). Χαμηλότερα είναι τα ποσοστά μολύνσεων στο μουσουλμανικό πληθυσμό ο οποίος αποφεύγει το χοιρινό (Tauke και συν., 1987).

Στη Νέα Ζηλανδία, τα υψηλότερα ποσοστά μόλυνσης (20.8 ανά 100, 000) αναφέρθηκαν μεταξύ εκείνων με εθνικό υπόβαθρο άλλο από αυτό των Ευρωπαίων, των Μαορί και άλλων Φυλών του Ειρηνικού, ακολουθούμενοι από αυτούς με Ευρωπαϊκή εθνικότητα (9.1 ανά 100,000), και καταλήγοντας στους Μαορί (4.9 ανά 100,000) και τις Φυλές του Ειρηνικού (ESR 2006).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Οι μέθοδοι προσδιορισμού της *Y. enterocolitica* χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με την αρχή της κάθε μεθόδου. Αυτές περιλαμβάνουν τις καλλιεργητικές μεθόδους, τις προτυποποιημένες, τις μοριακές και τις ορολογικές μεθόδους.

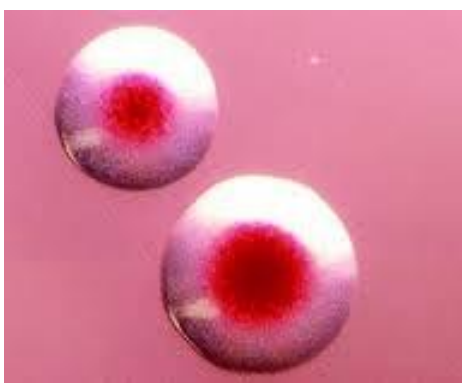
Έχουν αναφερθεί ποικίλες μέθοδοι καλλιέργειας για την ανίχνευση και το χαρακτηρισμό της *Y. enterocolitica* για δείγματα τόσο τροφίμων, όσο και ζώων και περιβαλλοντικά. Αρκετές από αυτές τις μεθόδους οδηγούν στην απομόνωση μη παθογόνων ειδών *Y. enterocolitica*, αλλά καμία πορεία απομόνωσης από μόνη της δεν χαρακτηρίζεται βέλτιστη για την ανάκτηση όλων των παθογόνων στον άνθρωπο ειδών της από τα τρόφιμα (De Boer, 2003). Οι μέθοδοι αυτές περιλαμβάνουν τα στάδια: α) του εμπλουτισμού, β) του υλικού επίστρωσης, και γ) του χαρακτηρισμού μέσω χημικών, βιοχημικών και βιοτυπικών δοκιμασιών (EFSA, 2007).

Ο τύπος του περιβάλλοντος από το οποίο τα βακτήρια απομονώνονται και η παρουσία άλλων μικροοργανισμών είναι οι πιο σημαντικοί παράγοντες για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica*. Καλλιέργειες αίματος και κοπράνων εκτελούνται συχνά κατά τη διάρκεια κλινικών μελετών. Εάν η *Y. enterocolitica* είναι κυρίαρχη και σχηματίζει μεγάλους πληθυσμούς, η ανίχνευσή της δεν παρουσιάζει γενικώς κανένα πρόβλημα, αλλά τέτοιες αναλύσεις δεν εκτελούνται από όλα τα εργαστήρια σταθερά.

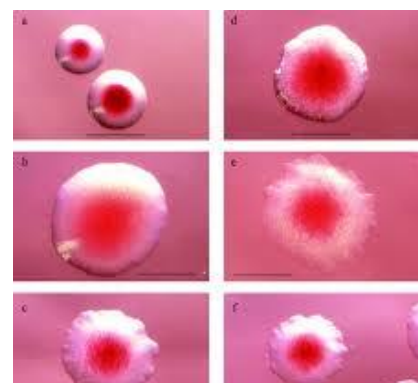
Η ανίχνευση της *Y. enterocolitica* στα τρόφιμα είναι ένα εντελώς διαφορετικό θέμα. Τα βακτήρια αυτά δεν είναι απαιτητικά και αναπτύσσονται καλά σε συνήθη μέσα καλλιέργειας *Enterobacteriaceae* (MacConkey, SS, Hektoen), αλλά ακολουθώντας τυποποιημένη επώαση στους 37 °C για 24 ώρες σχηματίζουν μικρές αποικίες οι οποίες εύκολα μπορούν να παραληφθούν στην παρουσία άλλων βακτηρίων αυτής της οικογένειας (συχνά σχηματίζοντας μεγάλες, βλενώδης αποικίες). Είναι έτσι συνήθως συνιστώμενη η επώαση στους 22 °C, και όχι στους 37 °C, αφού αυτό αναστέλλει την ανάπτυξη άλλων βακτηρίων. Παρόλο που η ελάττωση της θερμοκρασίας ευνοεί την ανάπτυξη του ψυχρότροφου *Y. enterocolitica*, εάν ένα μέσο δεν είναι επαρκώς εκλεκτικό, μπορεί να διεγείρει την ανάπτυξη άλλων ειδών *Yersinia* και διαφορετικών βακτηρίων παρόντων στο δείγμα του τροφίμου (Fredriksson-Ahomaa και συν., 2003a).

Μόλις το 25% των στελεχών που ανήκαν στον παθογονικό βιο-ορότυπο της *Y. enterocolitica* ανιχνεύθηκαν μόνο μετά από ψυχρό εμπλουτισμό. Ωστόσο, ο ψυχρός εμπλουτισμός αυξάνει επίσης και τον αριθμό στελεχών που εμφανίζουν βιότυπο 1Α και στελέχη προσομοιάζοντα των *Y. enterocolitica*. Ο εκλεκτικός εμπλουτισμός είναι μια εναλλακτική λύση έναντι του ψυχρού εμπλουτισμού, αλλά αυτή η μέθοδος είναι πιο χρήσιμη στις επιδημικές εξάρσεις (outbreaks), γιατί επιτρέπει την γρήγορη επιβεβαίωση της *Y. enterocolitica*. Σε τέτοιες περιπτώσεις, 9 ml ITC (irgasan, ticarcillin, and potassium chlorate) μέσου εμπλουτίζεται με 1ml υλικού ψυχρού εμπλουτισμού και η επώαση επιτελείται στους 25-30 °C για 48 ώρες (Anonymous, ISO 10273:2003).

Πρέπει επίσης να έχουμε στο μυαλό μας ότι το τρόφιμο είναι ένα πολύ ειδικό περιβάλλον για την ανάπτυξη ενός παθογόνου μικροοργανισμού. Κάθε τύπος θερμικής κατεργασίας, προσθήκης αλατιού, ζάχαρης, κλπ., μπορεί να προκαλέσουν σχεδόν θανατηφόρα ζημιά στα κύτταρα, κάτι το οποίο παρεμποδίζει σημαντικά την ανίχνευσή τους αμέσως μετά την παρασκευή τους. Όταν οι Restaino και συν. (1980) έθεσαν *Y. enterocolitica* O:3, O:8, και O:17 σε παράγοντες έντασης (stress) σε 0.1M phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.0, στους 47 °C for 70, 60, και 12 λεπτά, πάνω από 99% του ζωντανού κυτταρικού πληθυσμού εμφάνισε σχεδόν θανατηφόρα ζημιά. Αυτά τα «τραυματισμένα» κύτταρα ήταν ικανά να σχηματίσουν αποικίες σε υλικό BHI, ενώ δεν έχουν τέτοια ικανότητα σε άγαρ τρυπτικής σόγιας με χολικά άλατα. Εντούτοις, υπό συνθήκες κατάψυξης, ακόμα και τα σχεδόν θανάσιμα τραυματισμένα *Y. enterocolitica*



Εικόνα 6. Η *Y. enterocolitica* σε CIN άγαρ.



Εικόνα 7. Απλοποιημένο Φαινοτυπικό σχήμα διαφοροποίησης της *Y. enterocolitica* από παρόμοια προς αυτήν είδη.

κύτταρα από τρόφιμα και σχετιζόμενα προϊόντα ήταν ικανά να επανέλθουν και να πολλαπλασιαστούν σε επίπεδο τέτοιο ώστε να αποτελέσουν κίνδυνο για τη δημόσια υγεία.

Το άγαρ *Salmonella-Shigella-deoxycholate calcium chloride* (SSDC) είναι ένα από τα ευρέως χρησιμοποιούμενα υλικά, αρχικά αξιοποιούμενο για πιο αποτελεσματική απομόνωση της *Y. enterocolitica* σε προϊόντα χοιρινού κρέατος. Επιπλέον, καλύτερα ποσοστά ανάκαμψης του *Y. enterocolitica* από το άγαρ SSDC ή McConkey σημειώθηκαν με το άγαρ Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin (CIN) από τους Head και συν. (1982). Το CIN άγαρ αναστέλλει την ανάπτυξη αρκετών άλλων οργανισμών της οικογένειας *Enterobacteriaceae* προς όφελος των πιο αργά αναπτυσσόμενων ειδών *Yersinia*. Η *Y. enterocolitica* σχηματίζει διακριτές αποικίες με έντονο κόκκινο χρώμα (*bull's eye*) με έντονα όρια περιβαλλόμενα από μια ημιδιαφανή ζώνη στο CIN άγαρ, ενώ κάποια ανταγωνιστικά μέλη (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*) είναι ικανά να αναπτυχθούν στο ίδιο άγαρ και να παράγουν λίγο μεγαλύτερες αλλά παρόμοιες αποικίες από το *Yersinia* (Εικόνα 6 και 7). Αυτό προκαλεί μια πιθανή πηγή λάθους όταν περιορισμένοι αριθμοί υποτιθέμενων αποικιών επιλέγονται για ταυτοποίηση.

Σε συμφωνία με τη μέθοδο ISO 10273 του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (ISO) προσδιορίζονται τρία βήματα για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* σε τρόφιμα, υλικά τροφοδοσίας, και περιβαλλοντικά δείγματα. Το πρώτο βήμα περιλαμβάνει πολλαπλασιασμό σε εκλεκτικό υγρό μέσο, επιδιώκοντας βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξης σε υλικά όπως οι ζωμοί PBS (peptone, sorbitol, and bile salts) και ITC (irgasan, ticarcillin, and potassium chlorate). Το επόμενο στάδιο περιέχει την καλλιέργεια σε στερεά διαφοροποιητικά μέσα όπως: άγαρ CIN και SSDC. Στο τρίτο στάδιο, εκτελούνται βιοχημικές και ορολογικές δοκιμασίες ταυτοποίησης. Δυσκολίες στην απομόνωση παθογονικών στελεχών σχετίζονται με το γεγονός ότι πολύ συχνά υπάρχουν επίσης μη παθογονικά στελέχη στα υλικά δοκιμασίας· επιπλέον, στα τυπικά μέσα (CIN, SSDC) οι αποικίες των μη παθογονικών στελεχών δεν διαφέρουν από αυτές των παθογόνων στελεχών. Έτσι η δυσκολία ανάγεται στην επιλογή της κατάλληλης αποικίας για τις περαιτέρω δοκιμασίες ταυτοποίησης.

Η Bhaduri και συν. (2005) εξέτασαν την παρουσία της *Y. enterocolitica* σε χοίρους εργαζόμενοι σε ένα μεγάλο σύνολο 2793 περιττωματικών δειγμάτων. Τα δείγματα συλλέχθηκαν από χοίρους στο τελικό στάδιο σφαγής από 77 σημεία παραγωγής

σε 15 ανατολικές και μέσο-ανατολικές παραγωγικές πολιτείες μέσα σε ένα χρονικό διάστημα 27 εβδομάδων στις ΗΠΑ. Η επικράτηση του *ail*-θετικού *Y. enterocolitica* προσδιορίστηκε σε δείγματα χρησιμοποιώντας τόσο την τεχνική PCR φθορίζουσας 5' νουκλεάσης όσο και τη μέθοδο της καλλιέργειας. Η μέση τιμή επικράτησης ήταν 13.10% (366 από τα 2,793 ελεγμένα κοπρανώδη δείγματα) όταν και τα δύο PCR- και καλλιέργειας-θετικά αποτελέσματα συνδυάστηκαν. Η τεχνική PCR έδειξε μια μέση συχνότητα μόλυνσης 12.35% (345/2,793) συγκρινόμενη με την 4.08% (114/2,793) της μεθόδου καλλιέργειας. Από τα 345 PCR-θετικά δείγματα, τα 252 ήταν αρνητικής-καλλιέργειας, ενώ από τα 114 θετικής καλλιέργειας δείγματα, τα 21 βρέθηκαν PCR-αρνητικά. Μεταξύ των 77 περιοχών, η τεχνική PCR αποκάλυψε ένα σημαντικό ($P < 0.05$) υψηλό ποσοστό θετικών δειγμάτων (46.75%, $n = 36$ μέρη) για το παθογόνο (*ail* αλληλουχία) σε σχέση με τη μέθοδο της καλλιέργειας (22.08%, $n = 17$ μέρη) τονίζοντας έτσι την υψηλή ευαισθησία της πρώτης μεθόδου.

Δεδομένου ότι οι φαινοτυπικές μέθοδοι μελετούν την παρουσία ή την απουσία βιολογικών και μεταβολικών δραστηριοτήτων για το χαρακτηρισμό των βακτηρίων, γενοτυπικές μέθοδοι προσδίδουν πιο σαφή χαρακτηρισμό των βακτηρίων σε επίπεδο νουκλεϊκού οξέος. Εκτός από τις καλλιέργειες σε τρυβλία, υπάρχει ένας αριθμός μοριακών μεθόδων που εφαρμόζονται για την ανίχνευση αυτών των παθογόνων στα τρόφιμα. Αρκετές δοκιμασίες *αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR)* έχουν αναπτυχθεί σχετικά με την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* σε δείγματα τροφίμων (Howard και συν., 2006). Αρκετά από αυτά τα δείγματα χρησιμοποιούν εκκινητές (primers) στοχεύοντας τα γονίδια *yadA* ή *virF* που εντοπίζονται στο πλασμίδιο pYV. Εξαιτίας πιθανής απώλειας πλασμιδίων, έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι PCR για φυσικά δείγματα που στοχεύουν σε χρωμοσωμικά γονίδια μολυσματικότητας. Τα γονίδια *ail*, *inv* και *yst*, εντοπιζόμενα στο χρωμόσωμα των παθογόνων *Y. enterocolitica* στελεχών, είναι οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι χρωμοσωμικοί στόχοι (Fredriksson-Ahomaa και συν., 2006).

Οι μέθοδοι που βασίζονται στον *υβριδισμό DNA* και *αντίδραση PCR* είναι έτσι οι πιο κοινώς χρησιμοποιούμενες. Μελέτες έχουν δείξει σημαντικές διαφορές στο επίπεδο ανίχνευσης αυτών των βακτηρίων εξαρτώμενες από τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο. Η τεχνική PCR είναι πιο ευαίσθητη σε σύγκριση με τις καλλιέργειες σε τρυβλία και έχει δείχθει ότι η *Y. enterocolitica*, παρόλο την παρουσία της σε υλικά δοκιμασίας, δεν

σχηματίζει πάντα αποικίες σε στερεά υλικά (Bari και συν., 2011). Οι εργασίες των Vázleroná και Steinhäuseroná (2006) με την μέθοδο PCR έδειξε ότι από 2982 δείγματα ληφθέντα από χοίρους, 120 βρέθηκαν μολυσμένα από *Y. enterocolitica*, ενώ κατά την ταυτόχρονη καλλιέργειά τους σε τρυβλία και έλεγχο με τυπικές βιοχημικές δοκιμές, έδωσαν 111 θετικά αποτελέσματα.

Οι Rossmannith και Wagner (2010) στο κεφάλαιο του βιβλίου σχετικά με την προετοιμασία δειγμάτων για την ανίχνευση τροφιμογενών παθογόνων με μοριακές βιολογικές μεθόδους τονίζουν ότι το σημείο κλειδί για μια επιτυχή ευρεία εφαρμογή των μεθόδων αυτών-όπως η PCR στην ανάλυση τροφίμων-είναι η ικανοποιητική προπαρασκευή του δείγματος.

Κρέας πουλερικών εξετάστηκε με την ίδια μέθοδο και από 929 ελεγμένα δείγματα, 19 δείγματα ανιχνεύθηκαν με *Y. enterocolitica*, όπου με την κλασσική μέθοδο ανιχνεύθηκαν μόλις 17 δείγματα. Η πολλαπλή αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (*multiplex PCR*) έχει εφαρμοστεί και για την ανίχνευση και διαφοροποίηση της *Y. enterocolitica* με ορότυπο O:3 και άλλα παθογονικά *Y. enterocolitica*, λαμβανόμενα με *rfbC*, *inv*, *ail*, *virF* *yst*, και εκκινητές (Lambertz και συν., 2005). Προσφάτως, αναπτύχθηκαν μέθοδοι όπως η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (*Real-time PCR*, *qPCR*) για τα σχετιζόμενα με τη μολυσματικότητα γονίδια, και συγκεκριμένα το *ail*, για την ανίχνευση παθογόνων *Y. enterocolitica* (Mäde και συν., 2008: Lambertz και συν., 2008).

Δοκιμές με *real-time PCR*, ειδικά αυτές που χρησιμοποιούν TaqMan ανιχνευτές (*probes*), παρέχουν μεγαλύτερη ειδικότητα και απαιτούν λιγότερο χρόνο (λόγω του μειωμένου χρόνου των κύκλων) και εργασία να ολοκληρωθούν σε σύγκριση με τις συμβατικές PCR (Fredriksson-Ahomaa και συν., 2006). Ο Lambertz και συν. (2008) ανέπτυξαν και αξιολόγησαν μια μικροδιάταξη βασιζόμενη σε ανιχνευτή TaqMan *real-time PCR* για την ανίχνευση αυτού του παθογόνου. Η ολοκληρωμένη μέθοδος περιλαμβάνει ολονύκτιο εμπλουτισμό, εκχύλιση DNA, και πολλαπλασιασμό με *real-time PCR*. Το επιλεγμένο ζεύγος εκκινητή-ανιχνευτή σχεδιάστηκε να χρησιμοποιεί ένα απλικόνιο 163 bp από το εντοπιζόμενο στο χρωμόσωμα γονίδιο *ail*. Η εφαρμογή του εμπλουτισμού σε 10 g διαφόρων δειγμάτων τροφίμων (γάλακτος, βοδινού κιμά, παγωμένων καπνιστών λουκάνικων, ψαριού και καρότων), είχε εύρος ευαισθησίας από

0.5 μέχρι 55 μονάδες σχηματιζόμενων αποικιών (cfu) *Y. enterocolitica*, με παράλληλη καλή ακρίβεια, συνοχή, και αποτελεσματικότητα του PCR πολλαπλασιασμού.

Επιπρόσθετα, η ίδια μέθοδος δοκιμάστηκε σε φυσικώς μολυσμένα τρόφιμα· συνολικά 18 από τα 125 δείγματα ήταν θετικά στο γονίδιο *ail*. Αυτή η πρότυπη μέθοδος δύναται να ολοκληρωθεί εντός μιας έως δύο ημερών (Lambertz και συν., 2008). Άλλες μελέτες δείχνουν ότι τα ποσοστά ανίχνευσης των *ail*-θετικών *Y. enterocolitica* σε 200 γλώσσες χοίρων ήταν 88% και 35% για τις μεθόδους PCR και καλλιέργειας, αντιστοίχως. Όταν 100 δείγματα ακατέργαστου χοιρινού κρέατος μελετήθηκε, 7 ήταν θετικά με PCR και όλα ήταν αρνητικά στη μέθοδο της καλλιέργειας. Το όραμα των μικροβιολόγων τροφίμων που χρησιμοποιούν PCR είναι να μπορέσουν να εφαρμόσουν αυτή τη μέθοδο για άμεση ανίχνευση των βακτηρίων σε δείγματα, παρόλο που γνωρίζουν ότι η παρουσία ανασταλτικών ουσιών στα τρόφιμα μπορεί να παρεμποδίσει τον γενετικό πολλαπλασιασμό και απαιτείται μια αποτελεσματική απομάκρυνση.

Ορολογικές δοκιμασίες συχνά περιλαμβάνονται στις κλινικές έρευνες. Οι Thibodeau και συν. (2001) και οι Sonnevend και συν. (2005) ανέπτυξαν μια ανοσοενζυμική μέθοδο (*ELISA*) για την ανίχνευση μεταφορέων της *Y. enterocolitica* σε χοίρους με πρωτεΐνες Yop ως αντιγόνα. Παράλληλα, οι Dahouk και συν. (2005) εφάρμοσαν την τεχνική της ανοσοαποτύπωσης κατά *Western* (*Western immunoblotting*) με πρωτεΐνες Yop ως αντιγόνα, οι οποίες λόγω της αντιγονικής συγγένειας μεταξύ των στελεχών που ανήκουν σε διαφορετικές ορολογικές ομάδες και διαφορετικά είδη, η ταυτοποίηση με ορολογικές δοκιμασίες πιθανόν να είναι δύσκολες.

Με την ηλεκτροφόρηση πηκτώματος σε παλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο (*Pulse-Field Gel Electrophoresis-PFGE*) οι ερευνητές έχουν τη δυνατότητα να απομονώνουν μεγαλύτερα τμήματα DNA από τις συμβατικές μεθόδους ηλεκτροφόρησης, με την εφαρμογή σε μήτρα πηκτής ενός ηλεκτρικού πεδίου που περιοδικά αλλάζει κατεύθυνση. Ο Buchrieser και συν. (1994) για να εξετάσουν 60 στελέχη *Y. enterocolitica* από πέντε ορο-ομάδες (O:3; O:9; O:8; O:5; και O:5,27) και οκτώ μη-*Y. enterocolitica* στελέχη, παραληφθέντα από διάφορες πηγές (ανθρώπους, ζώα, τρόφιμα και το περιβάλλον) στην Ευρώπη, την Αργεντινή, και τις ΗΠΑ εφάρμοσαν αυτή τη μέθοδο σε συνδυασμό με τη μέθοδο CHEF (contour clamped homogeneous electric field electrophoresis) χρησιμοποιώντας *NotI* and *XbaI* ως περιοριστικά ένζυμα. Έτσι, η PFGE-CHEF και οι τρόποι υβριδισμού με γονιδιακούς ανιχνευτές μολυσματικότητας βρέθηκαν να είναι μια

αναπαραγωγή, διαχωριστική μέθοδος για την αποτύπωση στελεχών που ανήκουν στην ίδια ορο-ομάδα και την παροχή πληροφοριών σχετικά με το δυναμικό μολυσματικότητας τους.

Οι Stephan και συν. (2011) εφάρμοσαν μια γρήγορη και αξιόπιστη μέθοδο για την ταυτοποίηση στελεχών του είδους *Y. enterocolitica* μέσα στο γένος *Yersinia* και τη διαφοροποίηση των παθογονικών από τους μη παθογονικούς βιότυπους. Για την επίτευξη αυτού του στόχου εφάρμοσαν τη μέθοδο φασματομετρίας μάζας MALDI-TOF MS (*matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry*) αναπτύσσοντας μια βάσης δεδομένων φασμάτων μάζας που περιείχε 19 *Y. enterocolitica* (μη παθογονικού βιότυπου 1A και παθογονικών βιότυπων 2 και 4) όπως και 24 μη-*Y. enterocolitica* στελεχών, που ανήκαν σε 11 άλλα διαφορετικά *Yersinia* spp. Τα φάσματα μάζας συγκεκριμένου βιοδείκτη αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας 117 είδη από ποικίλους βιο-ορότυπους *Y. enterocolitica* σε ένα τυφλό πείραμα. Με αυτόν τον τρόπο, όλα τα είδη ταυτοποιήθηκαν σωστά, και για όλα τα είδη η ταυτοποίηση η βασιζόμενη στη φασματομετρία μάζας έδωσε τα ίδια αποτελέσματα συγκρινόμενη με ένα χαρακτηρισμό προερχόμενο από συνδυασμό βιο-αποτύπωσης (biotyping) και ορο-αποτύπωσης (serotyping).

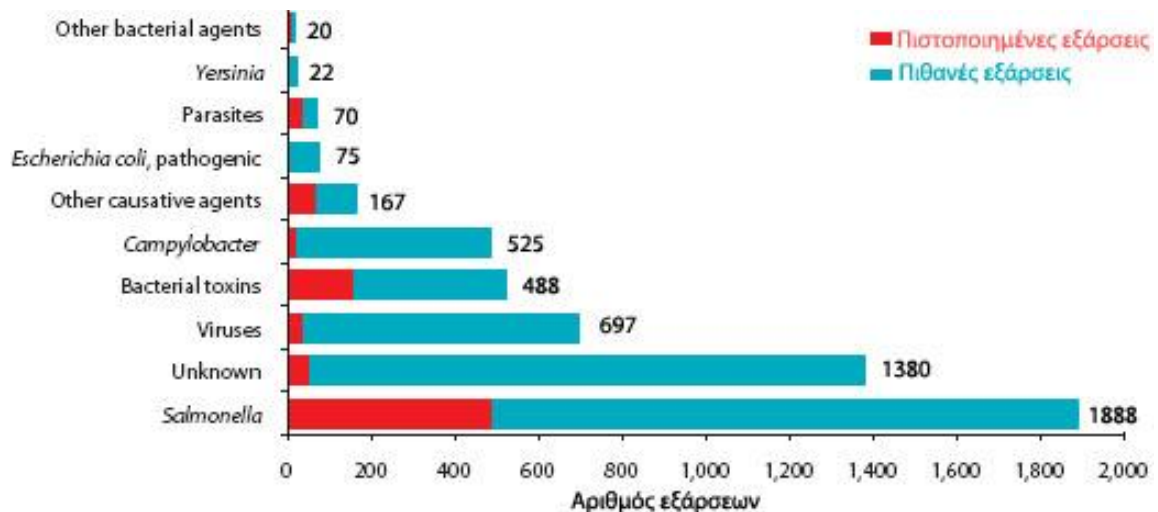
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

Η *Y. ENTEROCOLITICA* ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ ΖΩΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Από τη στιγμή που η *Y. enterocolitica* έχει απομονωθεί σε ένα μεγάλο αριθμό πρωτογενών υλικών παρασκευής τροφίμων ή άμεσης κατανάλωσης αυτών από ζώα (μετά από κάποια κατεργασία) είναι φυσικό να εντοπίζεται και στα παρασκευασμένα τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Η απομόνωσή της έχει καταγραφεί σε βοδινό και κυρίως χοιρινό κρέας, μαλακά τυριά, ακατέργαστο γάλα, παστεριωμένο γάλα, ψάρια, ακατέργαστα στρείδια, γαρίδες, καβούρια, σοκολατούχο γάλα, γαλοπούλα, σκόνη γάλακτος, βλαστάρια φασολιών, και τοφού (μαλακό τυρί από γάλα σόγιας), αλλά και σε νερό και πάγο (Gerokomou και συν., 2011).

Η *Y. enterocolitica* έχει συσχετισθεί στενά με ένα μεγάλο σύνολο *Yersinia spp.* με καμία αναφορά στη δημόσια υγεία. Στην *Y. enterocolitica*, η πλειονότητα των στελεχών από τρόφιμα και περιβαλλοντικές πηγές είναι μη παθογονικού τύπου. Είναι για αυτό κρίσιμο οι μελέτες να διαχωρίζουν μεταξύ των στελεχών των παθογονικών για τον άνθρωπο. Η βιο-αποτύπωση των στελεχών είναι σημαντική στο να προσδιοριστεί αν τα στελέχη είναι ή όχι παθογονικά στον άνθρωπο. Στην Ευρώπη, η πλειονότητα των παθογονικών *Y. enterocolitica* ανήκουν στον βióτυπο 4 (ορότυπος O:3) ή λιγότερο συχνά στο βióτυπο 2 (ορότυπος O:9) (EFSA, 2010). Η σημασία αυτή αποδεικνύεται και από την κατάταξή της στους δέκα κυριότερους παράγοντες τροφιμογενών εξάρσεων από την EFSA (2010) για τα έτη 2007 και 2008, καταλαμβάνοντας την ένατη θέση (Διάγραμμα 5).

Η έκθεση της EFSA (2015) για το έτος 2013 αποκαλύπτει ότι το βακτήριο *Y. enterocolitica* είναι το τρίτο πιο συχνά απαντούμενο γαστρεντερικό παθογόνο σε ανθρώπους στην ΕΕ από το 2005, μετά από το *Cambylobacter* και τη *Salmonella*, με 6,471 επιβεβαιωμένες περιπτώσεις και ποσοστό αναφοράς που αγγίζει το 2% ανά 100,000 πληθυσμού. Το ποσοστό αυτό μειώθηκε από το 2.8% το 2012, όπως επίσης υπήρχε και ένας φθίνων ρυθμός της πενταετίας 2009-2013 στην ΕΕ. Τα υψηλότερα ποσοστά παρατηρήθηκαν σε κράτη-μέλη της ΒΑ Ευρώπης, με την *Y. enterocolitica* να είναι το επικρατών είδος στις ανθρώπινες περιπτώσεις.



Διάγραμμα 6. Αιτιολογικοί παράγοντες των τροφιμογενών εξάρσεων στην ΕΕ το 2008 (EFSA, 2010).

Για το έτος 2008 τα εννιά (9) κράτη-μέλη της ΕΕ ανέφεραν στοιχεία σχετικά με την *Yersinia spp.*, ήταν η Αυστρία, το Βέλγιο, η Δανία, η Εσθονία, η Ιταλία, η Πορτογαλία, η Ρουμανία, η Σλοβακία και το Ηνωμένο Βασίλειο (EFSA, 2010). Το ίδιο έτος αναφέρθηκαν 8,346 πιστοποιημένες περιπτώσεις υερσινίωσης στην ΕΕ, μειωμένες πάντως σε σύγκριση με αυτές του έτους 2004. Μειωμένες ήταν επίσης και οι αναφερόμενες τιμές ανά 100,000 πληθυσμού, όπως χαρακτηριστικά φαίνεται στον Πίνακα 6. Η *Y. enterocolitica* ήταν το πιο κοινό είδος που αναφέρθηκε στις ανθρώπινες περιπτώσεις από τα κράτη-μέλη και απομονώθηκε από το 91.9% όλων των πιστοποιημένων περιπτώσεων.

Τα αποτελέσματα των πιο σημαντικών πηγών μόλυνσης από *Yersinia* σε ανθρώπους περιλαμβάνει τους χοίρους, το χοιρινό κρέας και τα προϊόντα αυτού. Συνολικά, το 2.5 % και 1.8 % των δειγμάτων χοιρινού κρέατος που ελέγχθηκαν ήταν θετικά σε *Yersinia spp.* και *Y. enterocolitica*, αντιστοίχως, ενώ το 1.8 % των χοίρων που ελέγχθηκαν βρέθηκε θετικό και στα δύο, *Yersinia spp.* και *Y. enterocolitica* (Πίνακας 7).

Πίνακας 4. Αναφερόμενες περιπτώσεις υερσινίωσης σε ανθρώπους τα έτη από το 2004-2008, και οι κοινοποιημένες τιμές το 2008 (EFSA, 2010).

Country	Report type ²	2008			2007	2006	2005	2004
		Cases	Confirmed cases	Confirmed cases/100,000	Confirmed cases			Cases
Austria	C	93	93	1.1	142	158	143	110
Belgium	C	273	273	2.6	248	264	303	326
Bulgaria ³	A	10	10	0.1	8	5		
Cyprus	U	0	0	0	0			
Czech Republic	C	557	557	5.4	576	534	498	498
Denmark	C	331	331	6.0	274	215	241	227
Estonia	C	42	42	3.1	76	42	31	15
Finland	C	608	608	11.5	480	795	638	686
France	C	213	213	0.3	195	158	171	249
Germany	C	4,352	4,352	5.3	4,987	5,161	5,624	6,182
Greece	-	-	-	-	-		0	39
Hungary	C	40	40	0.4	55	38	41	68
Ireland	C	3	3	0.1	6	1	3	6
Italy	- ⁴	-	-		-	0		0
Latvia	C	56	50	2.2	41	92	51	25
Lithuania	A	536	536	15.9	569	411	501	470
Luxembourg	C	17	17	3.5	11	5	1	-
Malta	U	0	0	0	0		0	
Netherlands	-	-	-	-	-			
Poland	C	204	204	0.5	182	110	132	84
Portugal	- ⁴	-	-	-	-			3
Romania ³	C	9	9	<0.1	-			
Slovakia	C	70	68	1.3	71	82	63	78
Slovenia	C	31	31	1.5	32	80	0	38
Spain	C	315	315	0.7	381	375	318	231
Sweden	C	546	546	5.9	567	558	684	804
United Kingdom	C	48	48	0.1	86	58	65	74
EU Totals	-	8,354	8,346	1.8	8,988	9,142	9,508	10,213
Iceland	- ⁴	-	-	-	-			
Liechtenstein	U	0	0	0	-			
Norway	C	50	50	1.1	71	86	125	

1. Number of confirmed cases for 2005-2008 and number of total cases for 2004.
2. A: aggregated data report; C: case-based report; -: no report; U: unspecified.
3. EU membership began in 2007.
4. No surveillance system exists.

Πίνακας 5. *Yersinia* spp. σε χοιρινό κρέας και προϊόντα αυτού, 2008 (EFSA, 2010).

Country	Description	Sample weight	N	Yersinia spp.	Y. enterocolitica	Y. enterocolitica serotypes/biotypes (no. of isolates)
				% pos	% pos	
At slaughter						
Romania	Fresh	10 g	3,093	0	0	
At retail						
Austria	Meat products	25 g	62	1.6	1.6	Biotype 1A (1)
Portugal	Minced meat	25 g	75	2.7	2.7	O:9 (2)
Romania	Minced meat	10 g	28	0	0	
United Kingdom ¹	Fresh	swab	654	11.5	9.2	Biotype 1A (58); biotype 3 (2); O:5 (6); O:5,27 (2); O:9 (1)
Sampling level not stated						
Germany	Fresh	25 g	160	3.1	3.1	
	Meat products	25 g	205	2.0	2.0	O:3 (2); O:9 (2)
	Minced meat	25 g	58	1.7	1.7	
	Fresh, monitoring	25 g	134	0.7	0.7	
Italy	Fresh	25 g	115	5.2	3.5	
	Meat preparation	25 g	94	12.8	5.3	
	Meat products	25 g	45	17.8	6.7	
Spain	Fresh	25 g	91	4.4	2.2	
Total (7 MSs)			4,814	2.5	1.8	

Note: Data are only presented for sample size ≥ 25 .

1. In the United Kingdom, samples may be positive for more than one serotype.

Έτσι, ως ένα σημαντικό τροφικής προέλευσης ανθρώπινο εντεροπαθογόνο προκαλεί ασθένειες και ευκαιριακά τροφιμογενείς επιδημικές εξάρσεις. Στις ΗΠΑ η συχνότητα παρατήρησης της υερσινίωσης και των επιδημιολογικών εξάρσεων είναι χαμηλότερη συγκριτικά με αυτή πολλών ευρωπαϊκών χωρών. Από τη στιγμή που το *Y. enterocolitica* εντοπίζεται στο γαστρεντερικό σύστημα των ζώων, η μόλυνση του κρέατος μπορεί να προκύψει από εσφαλμένο τρόπο σφαγής και κατά τον εκσπλαχνισμό.

Επιπλέον, δευτερογενής μόλυνση μπορεί να συμβεί και κατά τη διάρκεια της παραγωγής τροφίμων και όπως προκύπτει από τα στοιχεία που δόθηκαν από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), το 25% των τροφιμογενών νόσων προέρχονται από δια-επιμόλυνση λόγω της παραβίασης των κριτηρίων των Ορθών Παρασκευαστικών Πρακτικών (ΟΠΠ: Good Manufacturing Practices-GMP) και των Ορθών Πρακτικών Υγιεινής (ΟΠΥ: Good Hygiene Practices-GHP). Οι συγκεκριμένες μολύνσεις χαρακτηρίζονται ιδιαίτεως κρίσιμες, διότι αυτά τα βακτήρια μπορεί να πολλαπλασιαστούν και στις βιομεμβράνες (Kim και συν., 2008).

Ένα βιοημένιο (bio-film) που συχνά χρησιμοποιείται στις μονάδες παραγωγής ή επεξεργασίας τροφίμων είναι δύσκολο να απομακρυνθεί μετά την τοποθέτησή του με τις τυπικές μεθόδους πλυσίματος και απολύμανσης· έτσι, παθογονικοί μικροοργανισμοί μπορεί περιοδικά να απελευθερωθούν από το βιοημένιο και δευτερογενώς να μολύνουν ένα προϊόν.

Έχουν καταγραφεί περιπτώσεις υερσινίωσης οφειλόμενες στην κατανάλωση φυτικών προϊόντων τα οποία πολύ πιθανό να παρασκευάστηκαν από ακατέργαστα υλικά οργανικά λίπανσης (Beuchat, 2002). Οι εγκυμονούντες κίνδυνοι από αυτά τα βακτήρια που εντοπίζονται σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης έχουν αυξηθεί τα τελευταία χρόνια εξαιτίας του υψηλού αριθμού και της ευρείας διαθεσιμότητας ελαχίστως επεξεργασμένων προϊόντων, σπέρματος σιταριού, ή παγωμένων (στερεών σε μορφή κολώνας) συμπυκνωμένων χυμών φρούτων οι οποίοι δεν έχουν επεξεργαστεί θερμικά. Αυτά τα προϊόντα περιέχουν σχεδόν όλους τους μικροοργανισμούς που είναι παρόντες στα ακατέργαστα υλικά που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή τους.

Επιπροσθέτως, ανάλογη μόλυνση μπορεί να συμβεί κατά τη διάρκεια της συγκομιδής και επεξεργασίας. Ο χρόνος ζωής αυτών των προϊόντων είναι συνήθως μικρός και απαιτούν αποθήκευση υπό συνθήκες κατάψυξης. Η χαμηλή θερμοκρασία αναστέλλει αρκούντως την ανάπτυξη των *Enterobacteriaceae* εκτός από το *Yersinia*, το οποίο, λόγω της ικανότητάς του να αναπτύσσεται υπό ψύξη, επικρατεί σε αυτό το περιβάλλον και μπορεί να γίνει κυρίαρχο με την πάροδο του χρόνου (Jiang και συν., 2000).

Η Κεχαγιά (2007) συγκεντρώνοντας ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων (συνολικά 835) από ζώα εκτροφής του ελλαδικού χώρου κατά τη στιγμή της σφαγής τους απομόνωσε Υερσινίες σε 9.94 % αυτών. Το 93.98 % των στελεχών που απομονώθηκαν από ζώα προς κατανάλωση ανήκαν σε χοίρους και όρνιθες, με ποσοστά απομόνωσης 89.1% και 13.25%, αντιστοίχως. Ήταν όλοι φορείς του παθογονικού χρωμοσωματικού *yst* γονιδίου, ενώ το 60.24% έφερε το παθογόνο πλασμίδιο pYV. Ο ορότυπος/βιότυπος O:3/4 ήταν ο πιο συχνά ευρισκόμενος, και η αντίστοιχου τύπου *Y. enterocolitica* απομονώθηκε μόνο στους χοίρους, ενώ η *Y. enterocolitica* non O:3, non O:9 βρέθηκε και στους χοίρους και στις όρνιθες, αλλά με μεγαλύτερη συχνότητα (61.11%) στις όρνιθες σε σχέση με τους χοίρους (38.89%).

Τα ζώα επί μακρόν έχουν θεωρηθεί ύποπτα ως παρακαταθήκες του *Y. enterocolitica* και γι' αυτό το λόγο πηγές της ανθρώπινης μόλυνσης (Bottone, 1997). Πολυάριθμες μελέτες έχουν διεξαχθεί με σκοπό την απομόνωση ειδών του *Y. enterocolitica* από μια ποικιλία ζώων. Ωστόσο, τα περισσότερα είδη που απομονώθηκαν από ζωικές πηγές διέφεραν τόσο βιοχημικά όσο και ορολογικά από τα είδη τα απομονωμένα από άτομα με νεφρική ανεπάρκεια (Fredriksson-Ahomaa και συν., 2006). Στην ίδια κατεύθυνση είναι οι προτάσεις των Grattarola και συν. (2007), Wesley και συν. (2008), και James και συν. (1997), οι οποίοι υποστηρίζουν ότι τα *Yersinia* spp., όμοια με τα άλλα βακτήρια της οικογένειας *Enterobacteriaceae*, είναι διαδεδομένα στο περιβάλλον λόγω της παρουσίας τους σε ζώα συντροφιάς (σκύλους, γάτες), άγρια (τρωκτικά, πουλιά, αγριόχοιρους), και κατοικίδια (χοίρους, πρόβατα, πουλερικά).

Επιπλέον, πηγάδια, ποτάμια και λίμνες είναι ευάλωτα στη μόλυνση από περιττώματα άγριων ή κατοικίδιων ζώων, ή από τη διαρροή σηπτικών δεξαμενών ή ανοικτών αφοδευτηρίων σε παραπλήσιες περιοχές. Το νερό είναι μια πιθανή πηγή της *Y. enterocolitica*, και τα περισσότερα από τα απομονωμένα και χαρακτηρισμένα στελέχη της σε αυτό ανήκουν στον βιότυπο 1A ή άλλα μη παθογόνα είδη *Yersinia*. Η κατανάλωση μη επεξεργασμένου νερού έχει οριστεί ως παράγοντας κινδύνου για μόλυνση από *Y. enterocolitica* στις ΗΠΑ, αφού εξάρσεις από μόλυνση με *Y. enterocolitica* βιότυπου 1B συνδέθηκαν με μολυσμένο νερό από πηγάδια και ποταμούς, τόσο από κατανάλωση όσο και από την παρασκευή φαγητού (Keet, 1974; Tacket και συν., 1985; Thompson and Gravel, 1986). Αντίστοιχες περιπτώσεις μολύνσεων στην Ευρώπη είναι πολύ λίγες (Christensen 1979).

Όλα τα παραπάνω εμπλουτίζονται και από τα στοιχεία του **Πίνακα 7**, στον οποίο περιέχονται τρόφιμα υπεύθυνα για παρατηρημένες επιδημιολογικές εξάρσεις του κοντινού παρελθόντος, από όπου συμπεραίνεται ότι επικίνδυνα είναι και τα τρόφιμα που επιμολύνονται κατά την παρασκευή τους και διατηρούνται υπό ψύξη, καθώς ο μικροοργανισμός μπορεί και αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες ψύξης.

Πίνακας 6. Επιλεγμένες επιδημικές εξάρσεις της τελευταίας 20ετίας από Zadernowska και συν. (2014).

A/A	Τρόφιμο	Χώρα	Έτος	Περιπτώσεις	Βιο-ορότυπος
1	Σαλάτες	Ιαπωνία	2004	42	O:8
2	Παστεριωμένο γάλα	Βερμόντ, ΗΠΑ	1995	10	O:8
3	Νερό προς αραίωση buttermilk	Ινδία	1997	25	4/O:3
4	Άγνωστο	Φινλανδία	2003	12	4/O:3
5	Κοκορέτσι	Τεννεσί, ΗΠΑ	2001	12	4/O:3
6	Σπιτική χριστουγεννιάτικη χοιρινή πηκτή	Νορβηγία	2005	4	4/O:3
7	Ψημένο χοιρινό	Αυστραλία	2009	3	Άγνωστο
8	Σπιτική χριστουγεννιάτικη χοιρινή πηκτή/μπριζόλα	Νορβηγία	2005/2006	11	2/O:9
9	Μίγμα έτοιμων σαλατών	Νορβηγία	2011	21	2/O:9
10	Παστεριωμένο γάλα αγελάδας	Πενσυλβανία, ΗΠΑ	2011	16	Άγνωστο

5Α. ΚΡΕΑΣ ΧΟΙΡΙΝΟ, ΒΟΕΙΟ ΚΑΙ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΑΥΤΩΝ

Οι χοίροι ενοχοποιούνται ως μία σημαντική δεξαμενή των οροτύπων του *Y. enterocolitica* που εμπλέκονται σε ανθρώπινες μολύνσεις παρόλο που μια ξεκάθαρη σύνδεση μεταξύ του απομονωμένου από χοίρους *Y. enterocolitica* και της ανθρώπινης ασθένειας παραμένει προς επαλήθευση. Η συχνότητα εμφάνισης του *Y. enterocolitica* σε χοίρους ποικίλει όχι μόνο από χώρα σε χώρα, αλλά επίσης και μέσα στην ίδια τη χώρα. Είδη *Y. enterocolitica* που ανήκουν σε βιο-ορότυπους σχετιζόμενους με την ανθρώπινη ασθένεια έχουν συχνά απομονωθεί από αμυγδαλές, γλώσσες, και περιττωματικά δείγματα σφαγιασμένων χοίρων (Martínez και συν., 2011). Κατά μέσο όρο, το 4.8 % δειγμάτων χοιρινού κρέατος βρέθηκε θετικό σε *Y. enterocolitica* στην έκθεση ομάδας κρατων-μελών και μια υψηλή διάδοση αναφέρθηκε από δύο κράτη-μέλη σε παρτίδες χοιρινών σφάγιων (EFSA and ECDC, 2011).

Και αυτό γιατί κατά τη διάρκεια του τεμαχισμού, περεταίρω επεξεργασίας και διανομής του φρέσκου χοιρινού κρέατος και των εντοσθίων, η μόλυνση από *Yersinia* μπορεί να επεκταθεί ακόμη περισσότερο. Ωστόσο, *Y. enterocolitica* παθογονική σε άνθρωπο σπάνια έχει απομονωθεί από προϊόντα χοιρινού κρέατος στο στάδιο της λιανικής πώλησης, με μόνη εξαίρεση τις νωπές γλώσσες. Επιπλέον η διακίνηση μολυσμένου χοιρινού κρέατος σε κρεοπωλεία θεωρήθηκε ως η πηγή μόλυνσης σε μοσχάριςιο κιμά (Andersen και συν., 1991).

Η συχνότητα απομόνωσης του *Y. enterocolitica* από αμυγδαλές και γλώσσες χοίρων είναι γενικώς μεγαλύτερη από τη συχνότητα απομόνωσης από κόπρανα ή κοπρανώδη υλικά. Σε αρκετές χώρες, ο βιο-ορότυπος 4/O:3 του *Y. enterocolitica* έχειδειχθεί ότι είναι ο κυρίαρχος βιο-ορότυπος σε ασυμπτωματικούς χοίρους. Ο ορότυπος O:3 της *Y. enterocolitica* έχει σχεδόν αποκλειστικά απομονωθεί από χοίρους σε κάποιες ευρωπαϊκές χώρες, όπως η Δανία, το Βέλγιο, η Φινλανδία, η Γερμανία, η Σουηδία και η Ελβετία (Fredriksson-Ahomaa και συν., 2007: Fredriksson-Ahomaa και συν., 2000a, 2001, 2003c: Gürtler και συν., 2005). Κάποιοι ερευνητές συμπεραίνουν ότι το είδος O:3 είναι ένας φυσιολογικός κάτοικος της στοματικής κοιλότητας των χοίρων και ότι επίσης εμπλέκεται στην ανθρώπινη μόλυνση.

Ακολουθώντας την έκκριση από το σώμα, αυτά τα βακτήρια μπορούν να επιβιώσουν για μεγάλο χρονικό διάστημα στο περιβάλλον στηριζόμενα στις χαμηλές διατροφικές τους απαιτήσεις και στη σχετικώς υψηλή αντίσταση σε δυσμενής συνθήκες.

Γενικώς, οι χοίροι λογίζονται ως η κύρια δεξαμενή και η κύρια αιτία της διάδοσης του παθογονικού *Y. enterocolitica*, αφού όπως παραπάνω αναφέρθηκε τα βακτήρια αυτά συχνά απομονώνονται από τη γλώσσα και το γαστρεντερικό σύστημα αυτών. Μια σημαντική επικάλυψη στους φαινότυπους και τους γενότυπους από ανθρώπινα και χοιρινά είδη έχει αναφερθεί από τους Fredriksson-Ahomaa και συν. (2006) και Falcao και συν. (2006). Οι πρώτοι δε έδειξαν ότι οι χοίροι ήταν μια σημαντική πηγή της ανθρώπινης μόλυνσης από *Y. enterocolitica* 4/O:3 στη Γερμανία και τη Φινλανδία.

Εν τούτοις, μελέτες που διεξήχθησαν από τον Baumgartner και συν. (2007) στην Ελβετία δεν επιβεβαίωσαν την υπόθεση ότι το χοιρινό κρέας είναι η κύρια πηγή μόλυνσης από αυτά τα βακτήρια. Ταυτόχρονα μελετήθηκε η αντιβιοτική αντίσταση 386 ειδών *Y. enterocolitica* απομονωμένων από ασθενείς, χοιρινό κρέας, και περιττώματα χοίρων. Η αντίσταση σε 16 κοινώς χορηγούμενα αντιβιοτικά και δύο υποκινητές ανάπτυξης που χρησιμοποιούνται στη ζωική παραγωγή (carbadox and olaquinox) επίσης ερευνήθηκε. Έτσι, παρόλη τη χρήση υποκινητών ανάπτυξης για πάνω από 25 χρόνια στην Ελβετία, όλα τα είδη ήταν ευαίσθητα στα δυο αυτά αντιβιοτικά, αποκαλύπτοντας έτσι μια σημαντική διαφορά στην αντιβιοτική αντίσταση των ζωικών ειδών και των ειδών που είχαν απομονωθεί από τους ανθρώπους.

Λόγω της παρουσίας των ορότυπων που συνδέονται με την ανθρωπινή νόσο στο χοίρο, το τρόφιμο που συνδέεται συχνότερα είναι το χοιρινό κρέας και τα προϊόντα του, με κυριότερη αιτία την κατανάλωση ατελώς ψημένου κρέατος, και η σπιτική χριστουγεννιάτικη χοιρινή πηχτή (Robbins-Browne, 2001).

Επιμόλυνση από εντόσθια και χοιρινό κρέας μπορεί να συμβεί άμεσα ή έμμεσα μέσω του εξοπλισμού, του αέρα και των χειριστών του τροφίμου στα σφαγεία, τα καταστήματα λιανικής, και τα νοικοκυριά. Έτσι, η κατανάλωση νωπού χοιρινού κρέατος παίζει ένα περιορισμένο ρόλο στην ανάπτυξη της υερσινίωσης αφού αυτό δεν είναι κάτι το σύνηθες στις ανεπτυγμένες χώρες. Παράδειγμα αποτελεί η πώληση ενός εδέσματος, στη Γερμανία, που αποτελείται από κιμά χοιρινού κρέατος με πιπέρι και κρεμμύδια στα κρεοπωλεία (Fredriksson-Ahomaa και συν., 2000b και 2004).

Για το έτος 2013, από τα συνολικώς 1700 δείγματα χοιρινού κρέατος που εξετάστηκαν το 6.4 % βρέθηκαν θετικά σε *Yersinia*. Από αυτά *Y. enterocolitica* βρέθηκε σε 102 (6 %) των θετικών δειγμάτων. Παραπλήσιο είναι και το ποσοστό στο λιανεμπόριο, όπου από 478 δείγματα που εξετάστηκαν το 5.4 % βρέθηκε θετικό σε *Yersinia*, και κυρίως *Y. enterocolitica* (EFSA, 2015). Οι Walker και Brooks (1993) διαπίστωσαν την

παρουσία του σε 12 από τα 37 (32%) δείγματα νωπού κρέατος και σε 3 στα 108 (3%) δείγματα μαγειρεμένου κρέατος που συλλέχθηκαν σε μια περίοδο δέκα μηνών στην Αγγλία.

Στα τρόφιμα ανιχνεύθηκαν κυρίως οι ορότυποι O:3 και O:9, και οι δύο κυρίως σε χοιρινό κρέας, με τον O:3 να είναι ο κυρίαρχος. Για το 2013, σε σύνολο 46 δειγμάτων που ελέγχθηκαν, το 10.9 % βρέθηκε θετικό σε *Yersinia* σε σύγκριση με το 15 % του 2012. Τα ποσοστά αναλογίας θετικών δειγμάτων για τα έτη 2012 και 2013 για χοιρινό και βοδινό κρέας βρέθηκαν 7.8 % και 6.3%, και 15 % και 10.8%, αντιστοίχως, αλλά σε διαφορετικές ομάδες χωρών.

Στις ΗΠΑ το τρίτο μέσο καταγεγραμμένο ποσοστό μολύνσεων τροφιμογενών μολύνσεων κατά τη δεκαετία 1998 έως 2008 καταλαμβάνει το μοσχάρι κρέας προσεγγίζοντας το 13%, ακολουθούμενο από το χοιρινό με περίπου 8% (CDC, 2013).

Η έκθεση της EFSA για το 2005 σχετικά με την *Yersinia* spp. επικεντρώνεται σε χοιρινό κρέας και προϊόντα αυτού, από στοιχεία που κατατέθηκαν από τέσσερα κράτη μέλη και από 25 τουλάχιστον δείγματα. Η αναλογία των θετικών δειγμάτων σε νωπό χοιρινό κρέας λιανικής πώλησης κυμάνθηκε από 0 έως 16.7 %, με την υψηλότερη

Πίνακας 7. Πηγές, βιο/ορότυπος, περιπτώσεις, έτος και χώρα εντοπισμού μολύνσεων από *Y. enterocolitica* σε προϊόντα κρέατος.

A/A	Χώρα	Έτος	Περιπτώσεις	Βιο/ορό- τυπος	Πηγή	Αναφορά
1	Ουγγαρία	1983	8	O:3	Χοιρινό	Marjai et al., 1987
2	Γεωργία, ΗΠΑ	1988	15	O:3; O: 1,2,3	Κοκορέτσι	Lee et al., 1990
3	Τενεσσί, ΗΠΑ	2001-02	12	4/O:3	Κοκορέτσι	Jones et al., 2003
4	Νορβηγία	2005-06	11	2/O:9	Ψημένη χοιρινή μπριζόλα	Grahek-Ogden et al., 2007
5	Αυστραλία	2009	3	-	Ψημένο χοιρινό	Bell et al., 2010
6	Ιταλία	2005	161	-	Αλεσμένο κρέας ¹	EFSA (2006-94)
7	Ισπανία	2005	67	-	Νωπό κρέας ²	EFSA (2006-94)
8	Βέλγιο	2005	155	-	Νωπό αλεσμένο κρέας ³	EFSA (2006-94)

τιμή να προέρχεται από τη Γερμανία. Για τα δείγματα προϊόντων του κρέατος, η αναλογία των θετικών δειγμάτων κυμαινόταν από 0 έως 5.6 %. Στην Ιταλία αναφέρθηκε η υψηλότερη αναλογία σε προϊόντα κρέατος που συλλέχθηκαν στο στάδιο της επεξεργασίας.

Σε δείγματα νωπού βόειου κρέατος από τρία κράτη μέλη για το έτος 2005, η αναλογία θετικών δειγμάτων κυμάνθηκε από 0 έως 4.4 % (EFSA 2006-94). Από αυτά η Ισπανία ανέφερε την υψηλότερη αναλογία σε δείγματα νωπού βόειου κρέατος από το λιανικό εμπόριο. Πρόσφατα, η μελέτη ενός μεγάλου αριθμού δειγμάτων (649) από διαφορετικές υπεραγορές τροφίμων της Γαλλίας από τον Ensault και συν. (2013) αποκάλυψε ότι το 5.1% (32) ήταν θετικά σε *Y. enterocolitica*, ενώ απομονώθηκαν μόνο στελέχη που είχαν το βιότυπο 1A. Η επικράτηση αυτού του βιότυπου σε δείγματα χοιρινού και βόειου κρέατος ήταν 5.2%, ενώ μεταξύ των χοιρινών δειγμάτων, οι γλώσσες έδειξαν την υψηλότερη επικράτηση (12.5%), ακολουθούμενες από τα δείγματα κιμά με 6.9%. Το γονίδιο *ystB* το συνδεδεμένο με τη μολυσματικότητα να απαντάται στο 64 % και 91 % των δειγμάτων, αντιστοίχως.

5B. ΚΡΕΑΣ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ

Το κρέας πουλερικών, το οποίο ενθουσιωδώς καταναλώνεται σε πολλές χώρες λόγω των διαιτητικών του ιδιοτήτων, υποδηλώνεται ως μία ενδεχόμενη πηγή αυτών των παθογόνων βακτηρίων (Capita και συν., 2002; Soltan Dallal και συν., 2010; Aliyu και συν., 2012). Η εξέταση 190 δειγμάτων κρέατος πουλερικών και 189 δειγμάτων βοδινού κρέατος από τον Sharifi και συν. (2011) εντόπισε 42 δείγματα πουλερικών και 18 δείγματα κρέατος να είναι θετικά στο *Yersinia*. Ευδιάκριτη ήταν η επικράτηση της *Y. enterocolitica* με την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης κοντά στο 80%, και την ελαφρώς εντονότερη ύπαρξη στο κρέας κοτόπουλου συγκριτικά με το βοδινό.

Η *Y. enterocolitica* έχει συχνά ανιχνευθεί σε κρέας γαλοπούλας (Highsmith και συν., 1977, Tzelepi και συν., 1999) και προϊόντα πουλερικών, και κυρίως σε υψηλούς τίτλους όταν αυτά είναι συσκευασμένα υπό κενό με pH πάνω από 6 και υπό χαμηλή θερμοκρασία (Swaminathan και συν., 1982). Η ανάπτυξη αυτού του παθογόνου

ενισχύεται σε μαγειρεμένα κρέατα ή σε χαμηλές θερμοκρασίες όπου οι ανταγωνιστικοί μικροοργανισμοί είναι αδρανοποιημένοι.

Στη Γερμανία, *Y. enterocolitica* βιότυπου 4 (ορότυπος O:3) και βιότυπου 2 (ορότυπος O:9) απομονώθηκε από πουλερικά, και πιθανώς να είναι η μοναδική φορά που απομόνωση αυτών των παθογόνικών βιοτύπων έχει αναφερθεί από αυτά χωρίς να υπάρχει εμφανής δυνατότητα για δι-επιμόλυνση από χοίρους ή άλλα ζώα (Stengel, 1985).

Στις ΗΠΑ το υψηλότερο μέσο καταγεγραμμένο ποσοστό μολύνσεων τροφιμογενών μολύνσεων κατά τη δεκαετία 1998 έως 2008 καταλαμβάνουν τα πουλερικά (μαζί με τα ιχθυηρά) προσεγγίζοντας το 20% (CDC, 2013).

Για το έτος 2005 η EFSA (2006-94) παρουσίασε στοιχεία έρευνας τεσσάρων ερευνών από δύο κράτη-μέλη, από τα οποία η Ισπανία κατείχε την πρώτη θέση στα θετικά ευρήματα σε νωπό κρέας πουλερικών λιανικής πώλησης από 7.6 έως 20.5 % στις μονάδες επεξεργασίας.

Ο Mauro και συν. (2008) μελέτησαν την παρουσία της *Y. enterocolitica* σε νωπά προϊόντα κρέατος, μεταξύ των οποίων και σαράντα δείγματα κοτόπουλου, με τη μέθοδο εμπλουτισμού στους 4 °C μετά από επώαση 2 εβδομάδων χρησιμοποιώντας φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα. Παρόλο που σε κανένα δείγμα δεν εντοπίστηκε το βακτήριο, οι συγγραφείς τονίζουν ότι οι καταναλωτές νωπών προϊόντων κρέατος πρέπει να τα αντιμετωπίζουν ως ένα πιθανό κίνδυνο υγείας. Πρόσφατα, η μελέτη ενός μεγάλου αριθμού δειγμάτων (649), από διαφορετικές υπεραγορές τροφίμων της Γαλλίας, από τον Ensault και συν. (2013) αποκάλυψε ότι το 5.1 % (32) ήταν θετικά σε *Y. enterocolitica*, ενώ απομονώθηκαν μόνο στελέχη που είχαν το βιότυπο 1A. Η επικράτηση αυτού του βιότυπου σε δείγματα κρέατος πουλερικών ήταν 5.9 %, και το γονίδιο *ystB* το συνδεδεμένο με τη μολυσματικότητα να απαντάται στο 58 % των δειγμάτων.

5Γ. ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

Στελέχη της *Y.enterocolitica* μπορούν να βρεθούν στο νωπό, μη παστεριωμένο, γάλα και νερό το οποίο δεν έχει υποστεί σχετική επεξεργασία, και χρησιμοποιείται άμεσα ή έμμεσα. Επίσης συχνά γαλακτοκομικά προϊόντα εμπλέκονται σε κρούσματα, ως αποτέλεσμα επιμόλυνσης μετά την παστερίωση, όπως σοκολατούχου γάλακτος, σκόνης γάλακτος (Highsmith και συν., 1977, Tzelepi και συν., 1999). Από τη στιγμή που η *Y.enterocolitica* δεν είναι θερμοάντοχη και το παστεριωμένο γάλα αποτελεί ένα ιδανικό μέσο ανάπτυξης για αυτό το ψυχρότροφο βακτήριο, μια επιμόλυνση μετά την παστερίωση, για παράδειγμα με την προσθήκη μολυσμένων συστατικών ή μόλυνση προερχόμενη από το εξωτερικό των φιαλών, ή μόλυνση του τελικού προϊόντος με νωπό γάλα, θα ήταν δυνατοί τρόποι επιμόλυνσης (EFSA, 2007). Μόνο η Γερμανία προσδιόρισε *Y. enterocolitica* σε δείγματα νωπού γάλακτος για το έτος 2005 (EFSA 2006-94).

Οι Hamama και συν. (1992) εξέτασαν ένα σύνολο 227 δειγμάτων γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων στο Μαρόκο για την παρουσία *Y.enterocolitica*, καταλήγοντας σε ένα συνολικό ποσοστό μόλυνσης 6.6 %. Αναλυτικά, *Yersinia spp.* ανακτήθηκαν σε 11 από 30 δείγματα νωπού γάλακτος (36.6 %), σε ένα από 20 δείγματα παστεριωμένου γάλακτος (5 %), σε 15 από 63 δείγματα γάλακτος παραδοσιακής ζύμωσης (23.8 %), επτά από 94 τυριά και ένα από τα 20 δείγματα κρέμας (5 %).

Η παρουσία *Y.enterocolitica* και άλλων ειδών *Yersinia* σε προϊόντα τροφίμων στη Βραζιλία (Σάο Πάολο) από μονάδες γαλακτοκομικών ειδών και το λιανικό εμπόριο, περιελάμβανε εκτός των άλλων δείγματα νωπού και παστεριωμένου γάλακτος (Tassinari και συν., 1994). *Yersinia spp.* Απομονώθηκε από νωπό γάλα (45.2 %), από παστεριωμένο γάλα (14.3 %), και από κρέας και προϊόντα αυτού (40.0 %), υποδεικνύοντάς τα ως πιθανές πηγές μόλυνσης από *Yersinia spp.*. Οι Walker και Brooks (1993) διαπίστωσαν την παρουσία *Yersinia* σε ένα από τα 97 (1%) δείγματα γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων που συλλέχθηκαν σε μια περίοδο δέκα μηνών στην Αγγλία.

Μελέτες διεξήχθησαν και στη Σουηδία με σκοπό να ελεγχθεί εάν τα πρόβατα θα μπορούσαν να αποτελέσουν δεξαμενή του παθογόνου *Y. enterocolitica* σε ανθρώπους. Παρόλο που ανιχνεύθηκαν βακτήρια σε ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων, δεν βρέθηκαν παθογονικά είδη για τον άνθρωπο. Έμφαση, ωστόσο, δίνεται στην σημαντική αναλογία

των ειδών που ανήκουν στο βιότυπο 1Α ο οποίος είχε πρόσφατα θεωρηθεί ως μη παθογονικός παρά τον αυξανόμενο αριθμό των επιστημονικών αναφορών που πρότειναν ότι τα είδη αυτού του βιοτύπου ίσως να είναι παθογονικά στον άνθρωπο (Söderqvist και συν., 2012; Rosner και συν., 2010).

Η *Y. enterocolitica* έχει απομονωθεί από νωπό γάλα σε πολλές χώρες, όπως η Αυστραλία, ο Καναδάς, η Τσεχοσλοβακία, και οι ΗΠΑ. Έχει επίσης απομονωθεί και κάποιες φορές από παστεριωμένο γάλα, κυρίως λόγω βλάβης στην διαδικασία παστερίωσης που οδηγεί σε ανεπαρκή επεξεργασία ή μετέπειτα μόλυνση, ή μπορεί να οφείλεται σε μόλυνση από θερμοάντοχα στελέχη *Y. enterocolitica*. Ωστόσο, θερμοάντοχα στελέχη δεν έχουν ακόμα αναφερθεί. Οι Stern και συν. (1980b) παρατήρησαν ότι η *Y. enterocolitica* μπορεί να αναπτυχθεί σε πλήρες γάλα στους 3 °C. Σημαντικό είναι ότι η μείωση των ψυχρότροφων βακτηρίων στο γάλα μετά την παστερίωση θα κατασττούσε ένα ταπεινό ανταγωνιστή και ευκαιριακό παθογόνο όπως η *Y. enterocolitica* να αναπτυχθεί καλύτερα σε παστεριωμένο από ότι στο νωπό γάλα. Έτσι, η παρουσία αυτού του παθογόνου σε παστεριωμένο γάλα πρέπει να είναι αιτία ανησυχίας (Swaminathan και συν., 1982), αφού έχει απομονωθεί στην πέτσα τυριών στον Καναδά σε ποσοστό 9.2 %.

Πίνακας 8. Πηγές, βιο/ορότυπος, περιπτώσεις, έτος και χώρα εντοπισμού μολύνσεων από *Y. enterocolitica* σε γαλακτοκομικά προϊόντα.

A/A	Χώρα	Έτος	Περιπτώσεις	Βιο/ορό- τυπος	Πηγή	Αναφορά
1	Καναδάς	1976	138	O:5, 27	Μη παστεριωμένο γάλα	deGrace et al., 1976; Kasatiya 1976
2	Νέα Υόρκη, ΗΠΑ	1976	38	O:8	Σοκολατούχο γάλα	Black et al., 1978
3	Ιαπωνία	1980	1,051	O:3	Γάλα	Maruyama 1987
4	Νέα Υόρκη, ΗΠΑ	1981	239	O:8	Γάλα σκόνη	Shayegami et al, 1983
5	Νότιες ΗΠΑ	1982	172	O:3	Παστεριωμένο γάλα	Tacket et al., 1984; Toma et al., 1984
6	Σουηδία	1988	61	O:3	Γάλα, κρέμα	Alsterlund et al., 1995
7	Βερμόντ, ΗΠΑ	1995	10	O:3	Παστεριωμένο γάλα	Ackers et al., 2000
8	Πενσυλβάνια, ΗΠΑ	2011	16	-	Αγελαδινό παστεριωμένο γάλα	Anonymous, 2011

Οι Hanifian και Khani (2012) εξέτασαν ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων, αποτελούμενο από 354 χύμα νωπά γάλατα και 200 από παραδοσιακά τυριά που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές του ανατολικού Αζερμπαϊτζάν (2008-2010), για την παρουσία του βακτηρίου της *Y. enterocolitica*. Μετά από εμπλουτισμό σε PSBB και την ανίχνευση του *ail* γονιδίου με PCR, έλεγχο των θετικών PCR δειγμάτων, και ταυτοποίηση σε δεύτερη φάση με *ail*-PCR, 8.66 % των ολικών δειγμάτων, περιλαμβάνοντας 7.62 % νωπά γάλατα και 10.5 % νωπά τυριά, βρέθηκαν *ail*-θετικά. Επιπρόσθετος εμπλουτισμός και επιβεβαίωση με *ail*-PCR σε δεύτερη φάση έδωσε ποσοστά 2.88 %, 2.26 % και 4 %, αντιστοίχως, χαρακτηρίζοντας αυτή τη μεθοδολογία ως περισσότερο ευαίσθητη και ικανή για την ανίχνευση των μολυσματικών στελεχών της *Y. enterocolitica* συγκρινόμενη με την συμβατική μέθοδο καλλιέργειας.

5Δ. ΙΧΘΥΗΡΑ ΚΑΙ ΑΛΙΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

Από τη στιγμή που στελέχη της *Y. enterocolitica* έχουν βρεθεί αλιεύματα και ιχθυηρά, οι μολύνσεις που μεταδίδονται από την κατανάλωση μολυσμένων θαλασσινών είναι μια σημαντική πηγή νοσηρότητας για τον άνθρωπο. Η *Y. enterocolitica*, λόγω της ψυχρότροφης φύσης της, λογίζεται ως ένα δυνητικά εμφανιζόμενο τροφιμογενές παθογόνο. Έτσι, ενώ ψάρια και προϊόντα αυτών βρίσκονται ψηλά στη λίστα των τροφίμων που σχετίζονται με εξάρσεις τροφιμογενών μολύνσεων, ένα μεγάλο μέρος αυτών προκαλείται από βιοτοξίνες, ισταμίνη ή ιούς. Σε κάθε περίπτωση, τα ιχθυηρά αποτελούν ένα πιθανό μέσο για τα περισσότερα από τα γνωστά παθογονικά βακτήρια (Huss, 1995; Huss, 1997).

Μελέτες σε ψάρια έχουν δείξει ότι η συχνότητα εμφάνισης της *Yersinia spp.* κυμαίνεται από 0-22 % (De Boer και συν., 1992; Hundson και συν., 1992; Khare και συν., 1996). Όταν ο Davies και συν. (2001) εξέτασαν νωπά ψάρια προερχόμενα από τη Γαλλία, τη Μεγάλη Βρετανία, και την Πορτογαλλία, για την παρούσα παθογόνων μικροβίων, μεταξύ των οποίων και η *Y. enterocolitica*, αυτή εντοπίστηκε μόνο σε δείγματα σολωμού (*Salmo salar*) και πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) από τη Μεγάλη Βρετανία στην υψηλή

συχνότητα του 23%. Η δυνητική όμως παθογένεια θεωρήθηκε ασαφής. Ο Khare και συν. (1996) κατέληξαν ότι όλα τα απομονωμένα στελέχη τους από ψάρια δεν ήταν παθογονικά. Απ' την άλλη πλευρά, ο Velázquez και συν. (1996) διαπίστωσαν ότι κάποια στελέχη ήταν δυνητικά παθογονικά, αντιπροσωπεύοντας κίνδυνο για τη δημόσια υγεία.

Η αποθήκευση ψαριών, ιχθυηρών προϊόντων, κρέατος, προϊόντων κρέατος, γάλακτος, και γαλακτοκομικών προϊόντων μολυσμένων με *Y. enterocolitica* στους 0-4 °C μπορεί να οδηγήσει σε έντονο πολλαπλασιασμό αυτών των βακτηρίων σύμφωνα με τον Tudor και συν. (2008). Ακόμη, έχουν ανιχνευθεί ζωντανά βακτήρια *Y. enterocolitica* σε προϊόντα με pH 4 αποθηκευμένα για 21 ημέρες στους 5 °C, και έχουν εύκολα επιβιώσει από διαδικασία ψύξης και αποθήκευσης στους -18 °C. Έχει παρατηρηθεί ότι η πλειονότητα τέτοιων μολύνσεων είναι εποχιακές και ο αριθμός τους τείνει να αυξηθεί τους χειμερινούς μήνες και σε ψυχρότερες κλιματικές ζώνες (Smego και συν., 1999).

Έχει απομονωθεί από πολλά τρόφιμα με βάση τα ψάρια, τα ακατέργαστα στρείδια, τις γαρίδες, τα καβούρια. Ο μικροοργανισμός έχει απομονωθεί επίσης από τα νερά θαλασσών, ποταμών, λιμνών, πηγαδιών και πόσιμα (Highsmith και συν., 1977, Tzelepi και συν., 1999), αλλά και μολυσμένα νερά, εξηγώντας έτσι πως εισέρχεται σε αυτά τα είδη.

Στις ΗΠΑ το υψηλότερο μέσο καταγεγραμμένο ποσοστό μολύνσεων τροφιμογενών μολύνσεων κατά τη δεκαετία 1998 έως 2008 καταλαμβάνουν τα ιχθυηρά (μαζί με τα πουλερικά) προσεγγίζοντας το 20% (CDC, 2013).

Ο Khare και οι συν. (1996) εξέτασαν 15 προϊόντα ψαριών και ψάρια λιανικής πώλησης στην Ινδία για *Yersinia* spp. εφαρμόζοντας έξι ευρέως αποδεκτά πρωτόκολλα απομόνωσης, και βρήκαν έξι στελέχη *Y. enterocolitica*. Κανένα από τα στελέχη αυτά δεν περιείχε το πλασμίδιο μολυσματικότητας όπως αποδείχτηκε από το βιότυπό τους (5 και 1) και την αδυναμία τους να δεσμεύσουν το CV (Crystal Violet). Η ανάκτηση των στελεχών της *Yersinia* από τα δείγματα ιχθυηρών έγινε σε τρυβλία με CIN άγαρ μετά από εμπλουτισμό και η ταυτοποίηση με διάφορους βιοχημικούς χαρακτήρες (αρνητικές αντιδράσεις στα κιτρικά, μελιβιόζη, ραφινόζη, και ραμνόζη, και θετική στη σουκρόζη) κυμαινόταν από 6×10^3 - 3×10^6 cfu g⁻¹. Μεταξύ των εννέα φρέσκων δειγμάτων ψαριών και οστρακόδερμων, μόνο τρεις ποικιλίες δηλαδή το καστανόψαρο (14.28%), στρείδι και

καβούρι (20% το καθένα) φιλοξένησαν μη παθογονικούς τύπους της *Y. enterocolitica*. Το ίδιο ίσχυσε και για τα ξηρά δείγματα αντζούγιας και γαρίδας.

Ο Hudson και συν. (1992) κατά τη μελέτη της συχνότητας εμφάνισης της *Y. enterocolitica* σε έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα κρέατος, ψαριών (25) και οστρακόδερμων (25), στη Νέα Ζηλανδία δεν εντόπισαν κανένα θετικό δείγμα. Όμως, οι Walker και Brooks (1993) διαπίστωσαν την παρουσία του σε ένα από τα 61 (2%) δείγματα ψαριών που συλλέχθηκαν σε μια περίοδο δέκα μηνών στην Αγγλία.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΠΡΟΛΗΨΗ

Η πρόληψη κατά μιας μόλυνσης από *Y. enterocolitica* πρέπει να λαμβάνει υπόψη τα βασικά χαρακτηριστικά του και τη συμπεριφορά του σε διάφορα μέσα και συνθήκες. Έτσι, η μειωμένη του ανταγωνιστικότητα παρουσία άλλων βακτηρίων (Schiemann, 1989), η ανάπτυξή του σε ένα εύρος θερμοκρασιών (με βέλτιστο από 28-30°C; Sutherland and Varnam, 1977), η ελάχιστη τιμή pH που αναπτύσσεται το βακτήριο (μεταξύ 4.2-4.8, με μεγίστη τιμή pH περίπου 10, και ιδανική ανάπτυξη παρατηρείται σε τιμές 7.2-7.4; Stern και συν., 1980a), οι απαγορευτικές τιμές ενεργότητας νερού $a_w < 0,945$, τα επίπεδα NaCl 5-7% είναι παράμετροι οι οποίοι πρέπει να ληφθούν υπόψη στα μέτρα αντιμετώπισης της διάδοσης και ανάπτυξής του οργανισμού. Ταυτόχρονα, επιβράδυνση παρατηρείται όταν τα προϊόντα τοποθετούνται σε συσκευασία υπό κενό, σε συσκευασία 100% N₂ και σε μίγμα αέριων CO₂/N₂.

Η επιβίωση των στελεχών της *Y. enterocolitica* μετά από θερμική επεξεργασία θεωρείται σχεδόν αδύνατη λόγω της θερμοευαισθησίας αυτών των βακτηρίων. Τα περισσότερα στελέχη δεν επιβιώνουν μετά από θέρμανση στους 60°C για 3 min (Hanna και συν., 1977). Νωπά ή μη επαρκώς μαγειρεμένα τρόφιμα και επιμολύνσεις, που συμβαίνουν όταν τα μαγειρεμένα υλικά έρχονται σε επαφή με νωπά ή μολυσμένα υλικά, έχουν ήδη αναφερθεί ως οι κύριες αιτίες της μόλυνσης. Έτσι, λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω γίνεται κατανοητό πόσο σημαντική είναι η λήψη μέτρων πρόληψης.

Η μείωση των τροφιμογενών νοσημάτων μπορεί καλύτερα να επιτευχθεί, εκτός των άλλων, μέσω: α) την επιμόρφωση και εκπαίδευση στη βιομηχανία του προσωπικού όλων των βαθμίδων, των καταναλωτών και των επαγγελματιών υγείας, και β) εφαρμογή των αρχών HACCP (Hazard Analysis of Critical Control Points) σε όλα τα σημεία από την παραγωγή στην κατανάλωση. Έτσι, είναι απαιτούμενη η πιστή εφαρμογή των κανόνων HACCP και στην καθημερινότητα του κάθε καταναλωτή, χωρίς αποκλίσεις και με υπευθυνότητα όπως αυτή εφαρμόζεται από κάθε μονάδα παραγωγής που σέβεται τους πελάτες της. Αυτά περιλαμβάνουν τα ακόλουθα:

Ατομικά μέτρα πρόληψης

Σύμφωνα με τον ΕΦΕΤ (2009a) σε ατομικό επίπεδο ουσιαστικό είναι να ακολουθούνται οι κανόνες:

- Αυστηρή τήρηση των κανόνων υγιεινής κατά τον χειρισμό των τροφίμων, όπως και των χώρων παρασκευής των φαγητών.
- Χωριστή τοποθέτηση του χοιρινού κρέατος και των άλλων κρεάτων από προϊόντα και άλλα τρόφιμα κατά τη διάρκεια των αγορών και της αποθήκευσης τους.
- Πλύση των χεριών, των επιφανειών τεμαχισμού, μαχαιριών και σκευών κουζίνας μετά από χειρισμό αμαγείρευτου χοιρινού κρέατος.
- Πολύ καλό μαγείρεμα των κρεάτων, με έλεγχο ότι αυτό είναι ομοιόμορφα μαγειρεμένο έως το εσωτερικό του, και αποφυγή κατανάλωσης ωμού ή ατελώς ψημένου χοιρινού κρέατος.
- Όταν αναθερμαίνεται το φαγητό, αυτό πρέπει να είναι καυτό, και αυτό όχι να συμβαίνει πάνω από μία φορά.
- Έλεγχος της συντήρησης σε κατάλληλη θερμοκρασία, τόσο των νωπών όσο και μαγειρεμένων τροφίμων (όχι παραμονή πάνω από δυο ώρες σε θερμοκρασία δωματίου).

Επίσης ο ΕΦΕΤ (2009b) για την αποφυγή της διασταυρούμενης επιμόλυνσης συνιστά :

- χρήση ξεχωριστών περιεκτών για ωμό και μαγειρεμένο κρέας
- χρήση διαφορετικών μαχαιριών για πουλερικά και κόκκινο κρέας, καθώς και μεταξύ μαγειρεμένων και νωπών κρεάτων.
- σχολαστικό πλύσιμο των χεριών πριν και μετά τον τεμαχισμό του κρέατος.
- Φροντίδα των παιδιών από άλλο άτομο εκτός αυτού που παρασκευάζει φαγητό από εντόσθια χοίρου ή ανάλογα προϊόντα.
- Μεγάλη προσοχή πρέπει να δίνεται στην ενασχόληση με ζώα, οπότε και το πλύσιμο των χεριών κρίνεται απαραίτητο μετά από κάθε επαφή με ζώα φάρμας, κατοικίδια, περιττώματα ζώων, και γενικά περιβάλλοντα ζώων (Long, 2008).

Δημόσια μέτρα πρόληψης

Σε ένα ανώτερο επίπεδο, πέραν της ατομικής και οικογενειακής υγιεινής, μια άλλη σειρά παραγόντων πρέπει να ληφθεί υπόψη, και εμπεριέχεται στον Κανονισμός (ΕΚ) αριθμ. 854/2004 για τον καθορισμό ειδικών διατάξεων για την οργάνωση των επίσημων ελέγχων στα προϊόντα ζωικής προέλευσης που προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο. Σε αυτόν τον κανονισμό αναφέρονται αναλυτικά όλες οι ειδικές απαιτήσεις για τα σφαγεία, τις συνθήκες υγιεινής εντός αυτών, τον τεμαχισμό, την αφαίρεση οστών, την αποθήκευση και μεταφορά ανάλογα με το είδος του σφάγιου. Επίσης, αναφέρονται οι απαιτήσεις για το νωπό γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, με ιδιαίτερη έμφαση να δίνεται στην παστερίωση στους 71.8 °C για 18 sec η οποία δεν επιτρέπει την επιβίωση της *Y. enterocolitica*. Απαραίτητη είναι η τήρηση των κανόνων Ορθής Υγιεινής Πρακτικής (Good Hygiene Practices, GHP) και Ορθής Βιομηχανικής Πρακτικής (Good Manufacturing Practices, GMP) πρακτικής κατά την παρασκευή των τροφίμων, και η εφαρμογή των Κανονισμών (ΕΚ) 853/2004 για τον καθορισμό ειδικών κανόνων υγιεινής για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, 852/2004 για την υγιεινή των τροφίμων, και 2073/2005 περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα, όπως τροποποιήθηκαν και ισχύουν.

Σύμφωνα με τον ΕΦΕΤ (2003, 139/9-12-2003), απαιτείται πλήρης ανάπτυξη και τεκμηρίωση του συστήματος HACCP από τις επιχειρήσεις εκείνες που διαθέτουν θαλάμους αποθήκευσης (σε συνθήκες περιβάλλοντος, ψύξης ή κατάψυξης) με χωρητικότητα μεγαλύτερη από 50 m³ και η ποσότητα των αποθηκευμένων προϊόντων τους υπερβαίνει τους 10 τόνους. Όλες οι υπόλοιπες επιχειρήσεις υποχρεούνται στην ανάπτυξη και τήρηση του συστήματος HACCP όπως περιγράφεται στον «Οδηγό Υγιεινής Νο 9». Οι αλυσίδες επιχειρήσεων τροφίμων θα πρέπει να παρακολουθούν τους χρόνους παραμονής των ανοικτών συσκευασιών (σήμανση ανοικτών συσκευασιών) και έχουν αναρτημένη την πλαστικοποιημένη αφίσα του ΕΦΕΤ.

Στο Υπ. Αριθμ. 1219 ΦΕΚ της 4/10/2000 περιέχεται η υπουργική απόφαση με την οποία συμμορφώνεται η ελληνική νομοθεσία με την οδηγία 93/43/ΕΟΚ της 14/6/1993 για την υγιεινή τροφίμων. Ως αρμόδιος φορέας για τον έλεγχο της τήρησης των γενικών κανόνων υγιεινής των τροφίμων, καθώς της συμμόρφωσης των επιχειρήσεων, ορίζεται

το ΝΠΔΔ "Ενιαίος Φορέας Ελέγχου Τροφίμων-ΕΦΕΤ". Η απόφαση αφορά όλες τις επιχειρήσεις οι οποίες παρασκευάζουν, μεταποιούν, παράγουν, μεταφέρουν, διανέμουν, διακινούν ή διαθέτουν τρόφιμο οι οποίες υποχρεώνονται πλέον να εφαρμόζουν και να διατηρούν μια μόνιμη διαδικασία ελέγχου βάσει του συστήματος HACCP.

Τα εν λόγω συστήματα εκτός του ότι επιβάλλονται από τη διεθνή και την εθνική πλέον νομοθεσία, σκοπό έχουν να εντοπίσουν και να προβάλλουν τα σημεία εκείνα που είναι κρίσιμο να ελεγχθούν για την απάλειψη των κινδύνων και συνεπώς να προσελκύσουν την ιδιαίτερη προσοχή και βαρύτητα που τους αξίζει. Η χρησιμοποίηση ενός τέτοιου συστήματος αυξάνει αποδεδειγμένα την αποτελεσματικότητα ως προς τον έλεγχο της υγιεινής του τροφίμου και συνεπάγεται ένα υψηλό βαθμό εμπιστοσύνης ως προς την καταλληλότητα του για ανθρώπινη κατανάλωση (EC, 2005). Το σύστημα που θα δημιουργηθεί σε μια επιχείρηση τροφίμων πρέπει να πληροί τις ακόλουθες απαιτήσεις-αρχές του HACCP .

- Αναγνώριση κινδύνων
- Προσδιορισμός Κρίσιμων Σημείων Ελέγχου
- Καθορισμός Κρισίμων Ορίων
- Εγκατάσταση Συστήματος Παρακολούθησης
- Εγκατάσταση Διορθωτικών ενεργειών και προληπτικών μέτρων ελέγχου

Απαίτηση της νομοθεσίας αποτελούν μόνο αυτές οι πέντε αρχές. Παρόλα αυτά το HACCP για τη δημιουργία ενός συγκροτημένου συστήματος διαδικασιών ελέγχου περιλαμβάνει άλλες δύο αρχές μετά την εγκατάσταση του συστήματος:

- Εγκατάσταση διαδικασιών επαλήθευσης
- Εγκατάσταση τεκμηρίωσης

Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι η υπουργική απόφαση φωτογραφίζει τα συστήματα διασφάλισης ποιότητας κατά ISO 9000 σαν τη βασική πλατφόρμα, μέσω της οποίας θα λειτουργήσει αποτελεσματικότερα και πιο ολοκληρωμένα ένα σύστημα HACCP .

Επιπλέον σχεδιασμός απαιτείται σε ειδικές περιπτώσεις για την αποτροπή της μόλυνσης, όπως στην καθημερινή φροντίδα παιδιών, το σχολείο και τα προγράμματα κοινωνικής ενημέρωσης (HealthLinkBC, 2013):

Καθημερινή φροντίδα παιδιών

Από τη στιγμή που η υερσινίωση μπορεί να μεταδίδεται από άτομο σε άτομο μέσω περιττωματικής-στοματικής οδού, είναι σημαντικό να παρακολουθούμε προσεκτικά συνεχώς ασθενείς υερσινίωσης σε καθημερινή βάση. Γενικές συστάσεις της AAZV (2013) εκτός των άλλων περιλαμβάνουν:

- Τα παιδιά που έχουν μολυνθεί με *Yersinia* και έχουν διάρροια πρέπει να αποκλείονται από τις καθημερινές τους δραστηριότητες μέχρι να σταματήσει η διάρροια.
- Τα παιδιά που έχουν μολυνθεί με *Yersinia* και δεν έχουν διάρροια και δεν είναι άρρωστα, μπορεί να αποκλειστούν ή να παραμείνουν υπό πρόγραμμα παρακολούθησης με τις αναγκαίες προφυλάξεις.
- Από τη στιγμή που το περισσότερο προσωπικό των προγραμμάτων φροντίδας παιδιών (π.χ. παιδικοί σταθμοί) θεωρείται και διαχειριστής φαγητού, αυτοί με *Yersinia* στα κόπρανά τους (συμπτωματική ή όχι) μπορούν να παραμένουν στη θέση τους, αλλά δεν πρέπει να παρασκευάζουν το φαγητό ή να ταΐζουν παιδιά μέχρι την εξάλειψη της διάρροιας και την καταγραφή ενός αρνητικού δείγματος κοπράνων (ληφθέν τουλάχιστον 48 ώρες μετά την ολοκλήρωση της αντιβιοτικής θεραπείας, αν αυτή έχει δοθεί) (CDC 2010).

Σχολείο

Στην περίπτωση των σχολείων οι γενικές συστάσεις περιλαμβάνουν:

- Οι μαθητές ή το προσωπικό που έχουν μολυνθεί με *Yersinia* και έχουν διάρροια πρέπει να αποκλείονται από τις καθημερινές τους δραστηριότητες μέχρι η διάρροιά τους εξαλειφτεί.
- Οι μαθητές ή το προσωπικό που έχουν μολυνθεί με *Yersinia* και δεν χειρίζονται φαγητό, δεν έχουν διάρροια και διαφορετικά δεν είναι άρρωστοι, μπορεί να παραμείνουν αφού ληφθούν οι αναγκαίες προφυλάξεις.
- Οι μαθητές ή το προσωπικό που διαχειρίζονται φαγητό και έχουν μόλυνση από *Yersinia* (συμπτωματική ή όχι) δεν μπορούν να παρασκευάζουν το φαγητό μέχρι την

εξάλειψη της διάρροιας και την καταγραφή ενός αρνητικού δείγματος κοπράνων (ληφθέν τουλάχιστον 48 ώρες μετά την ολοκλήρωση της αντιβιοτικής θεραπείας, αν αυτή έχει δοθεί).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το βακτηριακό γένος *Yersinia* περιλαμβάνει τρία κύρια είδη γνωστά ότι προκαλούν μόλυνση στον άνθρωπο: την *Y. enterocolitica*, την *Y. pseudotuberculosis* and *Y. pestis* (plague). Η τελευταία σημαντική έξαρση σε ανθρώπους από *Y. pestis* στην Ευρώπη ήταν το 1720, και σήμερα πιστεύεται ότι δεν υπάρχει πλέον σε αυτήν, σε αντίθεση με τα άλλα δύο είδη. Η υερσινίωση που προκαλείται από την *Y. enterocolitica* πολύ συχνά προκαλεί διάρροια, και εμφανίζεται κυρίως σε νεαρά παιδιά κάτω των 5 ετών.

Τα συμπτώματα τυπικώς αναπτύσσονται στις 4 έως 7 ημέρες μετά την έκθεση στον οργανισμό και μπορεί να διαρκέσει από 1 έως 3 εβδομάδες (ή και περισσότερο). Σε μεγαλύτερα παιδιά και ενήλικες, κοιλιακό άλγος στη δεξιά πλευρά και πυρετός μπορεί να είναι τα κυρίαρχα συμπτώματα και για αυτό όχι σπάνια μπερδεύεται με σκωληκοειδίτιδα. Επιπλοκές όπως εξάνθημα, πόνος στις αρθρώσεις και/ή βακτηραιμία μπορεί να συμβούν.

Η μόλυνση πολύ συχνά προκαλείται μετά από κατανάλωση μολυσμένου φαγητού, κυρίως νωπού ή ατελώς μαγειρεμένου χοιρινού κρέατος. Η ικανότητα του οργανισμού να αναπτύσσεται στους 4 °C, ή και χαμηλότερα, μετατρέπει το κατεψυγμένο φαγητό σχετικώς μακράς διάρκειας ζωής σε μια πιθανή πηγή μόλυνσης. Η κατανάλωση μολυσμένου μη παστεριωμένου γάλακτος ή ανεπεξέργαστου νερού μπορεί επίσης να μεταδώσει την *Y. enterocolitica*, ενώ σπάνια αυτό συμβαίνει με άμεση επαφή με μολυσμένα ζώα ή ανθρώπους.

Οι χοίροι έχουν χαρακτηριστεί ως οι κύριες δεξαμένες για οτις ανθρώπινους παθογονικούς τύπους της *Y. enterocolitica*, παρόλο που και άλλα είδη ζώων, όπως τα μοσχάρια, τα πρόβατα, τα ελάφια, τα μικρά τρωκτικά, οι γάτες και οι σκύλοι μπορούν να μεταφέρουν παθογονικούς βιότυπους. Η συχνότητα μετάδοσης εξαρτάται από παράγοντες όπως η εποχικότητα, η ηλικία και το φύλο, το γένος και η εθνικότητα, και η απασχόληση. Χαρακτηριστική είναι η πτωτική τάση του μέσου αριθμού των συμβάντων στον πληθυσμό, π.χ. περίπου 1.8 ανά 100.000 πληθυσμού στην Ευρώπη από το 2007 έως το 2011.

Η *Y. enterocolitica* συνδέεται στενά με ένα μεγάλο πλήθος *Yersinia* spp. χωρίς ιδιαίτερη σημασία για τη δημόσια υγεία. Μέσα όμως στην οικογένεια της *Y. enterocolitica*, η πλειονότητα των απομονωμένων βιοτύπων από τρόφιμα και περιβαλλοντικές πηγές ανήκει σε μη παθογονικούς τύπους. Για αυτό είναι κρίσιμο οι μελέτες να μπορούν να διαχωρίζουν μεταξύ των ειδών των παθογονικών για τον άνθρωπο. Ο προσδιορισμός του βιότυπου των στελεχών είναι σημαντικός για να κρίνουμε εάν αυτά είναι παθογονικά στους ανθρώπους, και αυτή η μέθοδος είναι ιδανική για οροαποτύπωση. Η παθογονικότητα μπορεί να προσδιοριστεί επίσης και με μια σειρά μεθόδων PCR, ELISA, MALDI-TOF, κ.α. Στην Ευρώπη, η πλειονότητα των παθογονικών για τον άνθρωπο *Y. enterocolitica* ανήκουν στο βιότυπο 4 (ορότυπος O:3) ή το λιγότερο συχνό βιότυπο 2 (ορότυπος O:9).

Σημαντική πρέπει να είναι η ετοιμότητα των αρχών σχετικά με την εφαρμογή των μέτρων πρόληψης, καταγραφής και εξάλειψης του οργανισμού, αρχίζοντας από τους χώρους εκτροφής των ζώων και σφαγείων, τη συσκευασία, την αποθήκευση, τη μεταφορά ακολουθώντας πιστά τις αρχές του συστήματος HACCP έως το ράφι λιανικής πώλησης. Από εκεί αρχίζουν και οι ευθύνες του καταναλωτή/παρασκευαστή φαγητού, ο οποίος πρέπει να διασφαλίζει την ιδανικότερη μεταχείριση των προϊόντων μέχρι το τραπέζι, δίνοντας επιπλέον προσοχή στους απαραίτητους κανόνες υγιεινής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Achtman, M. et al., 1999. “*Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*”. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 96:14043-14048.
2. Ahvonen, P., Sievers, K., and Aho, K., 1969. Arthritis associated with *Yersinia enterocolitica* infection, Acta Rheum. Scand., 15, 232-253.
3. Aleksic, S., A. Steigerwalt J. Bockemuhl, G. Huntley-Carter, and D. J. Brenner., 1987. *Yersinia rohdei* sp. nov. isolated from human and dog feces and surface water. Int. J. Syst. Bacteriol. 37:327-332.
4. Aliyu R.M.; Egwu E.O.; Abubakar M.B.; Adamu A.Y.; Salihu M.D.; Dabai A.I.; Tambuwal F.M., 2012. Bacteriological quality of commercially prepared and self compounded poultry feeds in Sokoto metropolis, Sokoto, Nigeria. Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol., 3, 345-350.
5. American Association of Zoo Veterinarians Manual/Yersiniosis, www.aazv.org, Infectious Disease Committee, **2013**.
6. Andersen, J. K., Sorensen, R. and Glensbjerg, M., 1991. “Aspects of the epidemiology of *Yersinia enterocolitica*: a review.” *Int. J. Food Microbiol.*, 13 (3): 231-237.
7. Annamalai, T., and Venkitanarayanan, K., 2005. “Expression of major cold shock proteins and genes by *Yersinia enterocolitica* in synthetic medium and foods,” *Journal of Food Protection*, vol. 68, no. 11, pp. 2454-2458.
8. Anonymous, 2009. “Trend and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union 2007,” EFSA (European Food Safety Authority) Journal, vol. 223, p. 189.
9. Anonymous, 2011. “*Yersinia enterocolitica* infections associated with pasteurized milk.” *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, 60, 1428.
10. Anonymous.1976. “Worldwide spread of infections with *Yersinia enterocolitica*.” *WHO Chronicle*, 30, 494-496.
11. Anonymous.2003. *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs—Horizontal Method for the Detection of Presumptive Pathogenic Yersinia enterocolitica*; EN ISO 10273:2003, International Organization for Standardization: Geneva.

12. Aulisio, C. C. G., Lanier, J. M., and Chappel, M. A., 1982. “*Yersinia enterocolitica* O:13 associated with outbreaks in three southern states.” J. Food Prot. 45:1263.
13. Aulisio, C. C. G., Stanfield, J. T., Weagant, S. D., and Hill, W. E., 1983. “Yersiniosis associated with tofu consumption: Serological, biochemical and pathogenicity studies of *Yersinia enterocolitica* isolates.” J. Food Prot. 46:226-230.
14. Banares, A., Hernandez-Garcia, C., Fernandez-Gutierrez, B., and Jover, J. A., 1998. “Eye involvement in the spondyloarthropathies.” Rheum Dis Clin North Am, 24:771-84.
15. Bari, L.; Hossain, A.; Isshiki, K.; Ukuku, D., 2011. Behavior of *Yersinia enterocolitica* in foods. J. Pathog., ID420732.
16. Bauer, W. and Engleman, E. P., 1942. “A syndrome of unknown etiology characterized by urethritis, conjunctivitis and arthritis (so-called Reiter’s disease).” Trans. Assoc. Am. Phys., 57, 307-13.
17. Baumgartner, A.; Kuffer, M.; Suter, D.; Jemmi, T.; Rohner, P., 2007. Antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* strains from human patients, pigs and retail pork in Switzerland. Int. J. Food Microbiol., 115, 110-114.
18. Bell, R.; Bright, A.; Butow, B.; Combs, B.; Franklin, N.; Fullerton, K.; Gibbs, R.; Gradie, D.; Gregory, J.; Gunn, J.; Harlock, M.; Heilbronn, C.; Hogg, G.; Kardamidas, K.; Kirk, M.; Knope, K.; Lalor, K.; Leader, R.; McCallum, .L; McKercher, C.; Miller, M.; Moffatt, C.; Munnoch, S.; Pingault, N.; Raupach, J.; Roper, K.; Shadbolt, C.; Stafford, R.; Stephens, N., 2010. “Monitoring the incidence and causes of diseases potentially transmitted by food in Australia-Annual report of the Ozfoodnet Network.” Commun. Dis. Intell. Q. Rep., 34, 396–426.
19. Bengis, R.G., Kock, R.A., and Fischer, J., 2002. “Infectious animal diseases: the wildlife/livestock interface.” *Revue Scientifi que et Technique*, 21, 53-63.
20. Beuchat, L.R., 2002. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. Food Control, 7, 223-228.
21. Bhaduri S., Wesley I.V., and Bush, E. J., 2005. “Prevalence of Pathogenic *Yersinia enterocolitica* Strains in Pigs in the United States.” Applied and Environmental Microbiology, p. 7117 7121.

22. Bhaduri, S., 2011. "Effect of salt and acidic pH on the stability of virulence plasmid (pYV) in *Yersinia enterocolitica* and expression of virulence-associated characteristics," *Food Microbiology*, vol. 28, no. 1, pp. 171-173.
23. Bhagat, N. and Viridi, J. S., 2007. "Distribution of virulence-associated genes in *Yersinia enterocolitica* biovar 1A correlates with clonal groups and not the source of isolation," *FEMS Microbiology Letters*, vol. 266, no. 2, pp. 177-183.
24. Black, D. S., and Bliska, J. B., 2000. "The RhoGAP activity of the *Yersinia pseudotuberculosis* cytotoxin YopE is required for antiphagocytic function and virulence," *Molecular Microbiology*, vol. 37, no. 3, pp. 515-527.
25. Bottone, E. J., 1997. "*Yersinia enterocolitica*: the charisma continues," *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 10, no. 2, pp. 257-276.
26. Bottone, E. J., 1999. "*Yersinia enterocolitica*: overview and epidemiologic correlates." *Microbes and Infection*, 1, 323-333.
27. Bottone, E. J., 2015. "*Yersinia enterocolitica*: Revisitation of an Enduring Human Pathogen." *Clinical Microbiology Newsletter* 37:1.
28. Bresolin, G.; Neuhaus, N.; Scherer, S.; Fuchs, T., 2006. Transcriptional analysis of long-term adaptation of *Yersinia enterocolitica* to low-temperature growth. *J. Bacteriol.*, 188, 2945-2958.
29. Buchrieser, C., 1994. Weagant, S. D., and Kaspar, C. W... Molecular characterization of *Yersinia enterocolitica* by pulsed-field gel electrophoresis and hybridization of DNA fragments to ail and pYV probes. *Applied and Environmental Microbiology*, 60:4371-4379.
30. Butler, R. C., Lund, V., and Carlson, D. A., 1987. "Susceptibility of *Cambylobacter jejuni* and *Yersinia enterocolitica* to UV radiation." *Applied and Environment Microbiology*, 53, 375-378.
31. Capita, R.; Alonso-Calleja, C.; Prieto, M.; Garcia-Fernandez, M.; Moreno, B., 2002. Incidence and pathogenicity of *Yersinia* spp. isolates from poultry in Spain. *Food Microbiol.*, 19, 295-301.
32. CDC, MMWR. "Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks-United States, 1998-2008." *Surveillance Summaries*, vol.62, No. 2, June28, 2013.
33. CDC. (2006a). *FoodNet Surveillance Report for 2004 (Final Report)*.

34. CDC. (2006b). Preliminary FoodNet data on the incidence of infections with pathogens commonly transmitted through food-10 states, United States, 2005. *MMWR*, 55, 392–395.
35. Cheyne, J. H., and Mae, B. “Detecting pathogenic *Yersinia enterocolitica* in surface water from the Grand River watershed: an evaluation and comparison of methods, M.S. thesis, University of Waterloo, Ontario, Canada, 2008, [http://uwspace.uwaterloo.ca/bitstream/10012/3714/1/Bo Cheyne Thesis FINAL.pdf](http://uwspace.uwaterloo.ca/bitstream/10012/3714/1/Bo%20Cheyne%20Thesis%20FINAL.pdf).
36. Christensen, S. G., 1979. “Isolation of *Yersinia enterocolitica* O:3 from a well suspected as the source of yersiniosis in a baby.” *Acta Vet. Scand.* 20 (1): 154-156.
37. Clark, M. A., Hirst, B. H. and Jepson, M. A., 1998. “M-cell surface $\beta 1$ integrin expression and invasin-mediated targeting of *Yersinia pseudotuberculosis* to mouse Peyer’s patch M cells,” *Infection and Immunity*, vol. 66, no. 3, pp. 1237-1243.
38. Clegg, D. O., Reda, D. J., Abdellatif, M., 1999. “Comparison of sulfasalazine and placebo for the treatment of axial and peripheral articular manifestations of the seronegative spondylarthropathies: a Department of Veterans Affairs cooperative study.” *Arthritis Rheum*, 42:2325-9.
39. Conte-Junior, C. A., Macedo, B. T., Lopes, M. M., et al., 2010. “Effect of modified atmosphere packaging on the growth/survival of *Yersinia enterocolitica* and natural flora on fresh poultry sausage,” in *Book Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, A. Mendaz-Villas, Ed., pp. 1217–1223.
40. Cornelis, G. R., 1998b “The *Yersinia* deadly kiss,” *Journal of Bacteriology*, 180, no. 21, pp. 5495-5504.
41. Cornelis, G. R., Boland, A., Boyd, A. P. et al., 1998a. “The virulence plasmid of *Yersinia*, an antihost genome,” *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 62, no. 4, pp. 1315-1352.
42. Cornelis, G.R., 2002. The *Yersinia* Ysc–Yop ‘Type III’ weaponry. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 3, 742-752.
43. Cover, T.L. and Aber, R.C., 1989. *Yersinia enterocolitica*. *N. Engl. J. Med.*, 321, 16-24.

44. Dahouk , S. A. , Nockler , K. , Tomaso , H. et al., 2005. “Seroprevalence of brucellosis, tularemia, and yersiniosis in wild boars (*Sus scrofa*) from North-Eastern Germany.” *Journal of Veterinary Medicine B.*, 52, 444-455.
45. Davies, A. R., Capell, C., Jehanno, D., Nychas, G. J. E., and Kirby, R. M., 2001. “Incidence of foodborne pathogens on European fish.” *Food Control*, 12, 67-71.
46. De Boer, E., 2003. “Isolation of *Yersinia enterocolitica* in foods.” In: Corry, J.E.L., Curtis, G.D.W. and Baird, R.M. "*Handbook of Culture Media for Food Microbiology*", Elsevier, p. 215-228.
47. De Boer, E., Seldam, W. M., and Oosterom, J., 1986. “Characterization of *Yersinia enterocolitica* and related species isolated from foods and porcine tonsils in the Netherlands.” *International Journal of Food Microbiology*, 3, 217-224.
48. De Koning-Ward, T. F., and Robins-Browne, R. M., 1995. “Contribution of urease to acid tolerance in *Yersinia enterocolitica*.” *Infect Immun.*, Oct; 63(10):3790-5.
49. Deesomchok, U., and Tumrasvin, T., 1993. “Clinical comparison of patients with ankylosing spondylitis, Reiter’s syndrome and psoriatic arthritis.” *J Med Assoc Thai*, 76:61-70.
50. Delor, I., Kaeckenbeeck, A., Wauters, G., and Cornelis, G. R., 1990. “Nucleotide sequence of *yst*, the *Yersinia enterocolitica* gene encoding the heat-stable enterotoxin, and prevalence of the gene among pathogenic and nonpathogenic yersiniae.” *Infect Immun.*, Sep;58(9):2983–2988.
51. Dion, P., Charbonneau, R., and Thibault, C., 1994. “Effect of ionizing dose rate on the radioresistance of some food pathogenic bacteria.” *Can J Microbiol.*, May;40(5):369-74.
52. EC-HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL. “Guidance document on the implementation of procedures based on the HACCP principles, and on the facilitation of the implementation of the HACCP principles in certain food businesses.” Brussels, 16 November, **2005**.
53. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2011. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009, *EFSA Journal*, 9(3):2090, 378 pp.

54. EFSA, 2006. "Trends and source of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistance in the European Union in 2004." European Food Safety Authority. *EFSA J*, 310, 1–275.
55. EFSA, 2006. "The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2005." *EFSA Journal* 2006;13(1):3991.94, 2-288.
56. EFSA, 2007. "Scientific Opinion of the Panel on BIOHAZ on a request from EFSA on monitoring and Identification of human enteropathogenic *Yersinia* spp.", *The EFSA Journal* 595, 1-30.
57. EFSA, 2010. "Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union in 2008." *EFSA Journal*; 2010 8(1):1496, 1/368.
58. EFSA, 2015. "The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013." *EFSA Journal* 2015;13(1):3991.
59. El Qouqa, I. A., Jarou, M. A. E., Samaha, A. S. A., Afifi, A. S. A., and Al Jarousha, A. M. K., 2011. "*Yersinia enterocolitica* infection among children aged less than 12 years: a case-control study," *International Journal of Infectious Diseases*, vol. 15, no. 1, pp. e48–e53.
60. Esnault, E., Labbé, A., Houdayer, C., and Denis, M., 2013. "*Yersinia enterocolitica* prevalence, on fresh pork, poultry and beef meat at retail level, in France." *Safepork 2013 Proceedings*, 72.
61. ESR, I. o. E. S. a. R. (2006). *Notifiable and other diseases in New Zealand; Annual Report 2005*.
62. Falcao, J. P., Falcão, D. P., Pitondo-Silva, A., Malaspina, A. C., Brocchi, M., 2006. Molecular typing and virulence markers of *Yersinia enterocolitica* strains from human, animal and food origins isolated between 1968 and 2000 in Brazil. *J. Med. Microbiol.*, 55, 1539-1548.
63. Foberg, U., Frydén, A., Kihlström, E., Persson, K., and Weiland, O., 1986. "*Yersinia enterocolitica* septicemia: clinical and microbiological aspects." *Scand J Infect Dis.*, 18(4):269–279.

64. Francis, D. W., Spaulding, P. L., and Lovett, J., 1980. "Enterotoxin production and thermal resistance of *Yersinia enterocolitica* in milk." *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 40, no. 1, pp. 174-176.
65. Fredriksson-Ahomaa, M., and Korkeala, H., 2003a. "Low occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in clinical, food, and environmental samples: a methodological problem," *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 16, no. 2, pp. 220-229.
66. Fredriksson-Ahomaa, M., and Korkeala, H., 2003b. "Molecular epidemiology of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3," *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 529, pp. 295-302.
67. Fredriksson-Ahomaa, M., Björkroth, J., Hielm, S., and Korkeala, H., 2000. "Prevalence and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig tonsils from different slaughterhouses," *Food Microbiology*, vol. 17, no. 1, pp. 93-101.
68. Fredriksson-Ahomaa, M., Koch, U., Klemm, C., Bucher, M., and Stolle, A., 2004. "Different genotypes of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 strains widely distributed in butcher shops in the Munich area." *International Journal of Food Microbiology*, 95, no. 1, pp. 89-94.
69. Fredriksson-Ahomaa, M., Korte, T., and Korkeala, H., 2000. "Contamination of carcasses, offals, and the environment with yadApositive *Yersinia enterocolitica* in a pig slaughterhouse," *Journal of Food Protection*, vol. 63, no. 1, pp. 31-35.
70. Fredriksson-Ahomaa, M., Korte, T., and Korkeala, H., 2001. "Transmission of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 to pets via contaminated pork," *Letters in Applied Microbiology*, vol. 32, no. 6, pp. 375-378.
71. Fredriksson-Ahomaa, M., Meyer, C., Bonke, R., Stüber, E., and Wacheck, S., 2010. "Characterization of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 isolates from tonsils of Bavarian slaughter pigs," *Letters in Applied Microbiology*, vol. 50, no. 4, pp. 412-418.
72. Fredriksson-Ahomaa, M., Murros-Konttinen, A., Säde, E., Puolanne, E., Björkroth, J., 2012. High number of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in cold-stored modified atmosphere-packed pig cheek meat. *International Journal of Food Microbiology*, 155, 69-72.
73. Fredriksson-Ahomaa, M., Niskanen, T., Bucher, M., Korte, T., Stolle, A., and Korkeala, H., 2003c. "Different *Yersinia enterocolitica* 4:O3 genotypes found in pig

- tonsils in Southern Germany and Finland,” *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 26, no. 1, pp. 132-137.
74. Fredriksson-Ahomaa, M., Stolle, A., and Korkeala, H., 2006. “Molecular epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infections,” *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, vol. 47, no. 3, pp. 315-329.
 75. Fredriksson-Ahomaa, M., Stolle, A., and Stephan, R., 2007. “Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pigs slaughtered at a Swiss abattoir,” *International Journal of Food Microbiology*, vol. 119, no. 3, pp. 207-212.
 76. Gerokomou, V., Voidarou C., Vatopoulos, A., Velonakis, E., Rozos, G., Alexopoulos A., Plessas, S., Stavropoulou, E., Bezirtzoglou, E., Demertzis, P.G., and Akrida-Demertzi, K., 2011. “Physical, chemical and microbiological quality of ice used to cool drinks and foods in Greece and its public health implications.” *Anaerobe*, 17, 351-353.
 77. Gill, C. O., and Reichel, M. P., 1989. “Growth of the cold-tolerant pathogens *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* on high-pH beef packaged under vacuum or carbon dioxide,” *Food Microbiology*, vol. 6, no. 4, pp. 223-230.
 78. Gottlieb, K., Leya, J., Kruss, D.M., Mobarhan, S. and Iber, F.L., 1993. “Intraluminal fungal colonization of gastrostomy tubes.” *Gastrointest Endosc.*, 39, 413–415.
 79. Goverde, R.L.; Kusters, J.G.; Huis in ’t Veld, J.H., 1994. Growth rate and physiology of *Yersinia enterocolitica*; influence of temperature and presence of the virulence plasmid. *J. Appl. Bacteriol.*, 77, 96-104.
 80. Grahek-Ogden, D., Schimmer, B., Cudjoe, K. S., Nygård, K., and Kapperud, G., 2007. “Outbreak of *Yersinia enterocolitica* serogroup O:9 infection and processed pork, Norway,” *Emerging Infectious Diseases*, vol. 13, no. 5, pp. 754-756.
 81. Grahek-Ogden, D.; Schimmer, B.; Cudjoe, K.S.; Nygard, K.; Kapperud, G., 2007. “Outbreak of *Yersinia enterocolitica* serogroup O:9 infection and processed pork, Norway.” *Emerg. Infect. Dis.*, 13, 754-756.
 82. Granwohl’s. 1970. *Clinical laboratory methods and diagnosis*, vol.2, 7th edition, Saint Louis.

83. Grattarola, C.; Gennero, M.S.; Bergagna, S.; Zoppi, S.; Chiavacci, L.; Dondo, A., 2007. Correlation between *Yersinia* spp. found in faeces and *Brucella suis* infection in wild boars. *Epidémiol. Santé Anim.*, 51, 43-47.
84. Guinet, F., Carniel, E., and Leclercq, A., 2011. "Transfusion- transmitted *Yersinia enterocolitica* sepsis." *Clin. Infect. Dis.* 53:583-591.
85. Guinet, F., Carniel, E., and Leclercq, A., 2011. Transfusion-Transmitted *Yersinia enterocolitica* Sepsis. *Clinical Infectious Diseases*, 53(6):583–591.
86. Gürtler, M., Alter, T., Kasimir, S., Linnebur, M., and Fehlhaber, K., 2005. "Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in fattening pigs," *Journal of Food Protection*, vol. 68, no. 4, pp. 850-854.
87. Hamama A, el Marrakchi A, and el Othmani F., 1992. "Occurrence of *Yersinia enterocolitica* in milk and dairy products in Morocco." *International Journal on Food Microbiology*, May; 16(1):69-77.
88. Hanifian, S., and Khani, S., 2012. "Prevalence of virulent *Yersinia enterocolitica* in bulk raw milk and retail cheese in northern-west of Iran." *International Journal of Food Microbiology*, 155, 89–92.
89. Hanna, M. O., Stewart, J. C., Carpenter, Z. L., and Vanderzant, T., 1977. Heat resistance of *Yersinia enterocolitica* in skim milk. *J. Food Sci.*, 42, 1134-1136.
90. Hayashidani, H., Ishiyama, Y., Okatani, T. A. et al., 2003. "Molecular genetic typing of *Yersinia enterocolitica* serovar O:8 isolated in Japan," *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 529, pp. 363-365.
91. Head, C.B.; Whitty, D.A.; Ratnam, S., 1982. Comparative study of selective media for recovery of *Yersinia enterocolitica*. *J. Clin. Microbiol.*, 16, 615-621.
92. Heesemann, J., Algermissen, B., and Laufs, R., 1984. Genetically manipulated virulence of *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* 46:105-110.
93. Highsmith, A. K., Feely, J. C., Skaliy, P., Well, J. C., and Wood, B. T., 1977. Isolation of *Yersinia enterocolitica* from well water and growth in distilled water. *Appl. Environm. Microbiol.*, 34(6), 745-750.
94. Hill, W.E., W.L. Payne, and C.C.G. Aulisio., 1983. Detection and enumeration of virulent *Yersinia enterocolitica* in food by DNA colony hybridization. *Applied and Environmental Microbiology*, 46:636-641.

95. Hoogkamp-Korstanje, J.A.A., and Stolk-Engelaar, V.M.M., 1995. *Yersinia enterocolitica* infection in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 14, 771-775.
96. Howard, S.L.; Gaunt, M.W.; Hinds, J.; Witney, A.A.; Stabler, R.; Wren, B.W., 2006. Application of comparative phylogenomics to study the evolution of *Yersinia enterocolitica* and to identify genetic differences relating to pathogenicity. *J. Bacteriol.*, 188, 3645-3653.
97. <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/yersinia/2010>
98. Hubbert, W. T., 1972. "Yersiniosis in mammals and birds in the United States." *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 21, 458-463.
99. Hudson, J. A., Mott, S. J., Delacy, K. M., and Edridge, A. L., 1992. "Incidence and coincidence of *Listeria* spp., motile aeromonads and *Yersinia enterocolitica* on ready-to-eat fleshfoods." *International Journal of Food Microbiology*, 16, 99-108.
100. Huovinen, E.; Sihvonen, L.M; Virtanen, M.J.; Haukka, K.; Siitonen, A.; Kuusi, M., 2010. Symptoms and sources of *Yersinia enterocolitica*-infection: A case-control study. *BMC Infect. Dis.*, 10, 122.
101. Huss, H. H., 1995. "Assurance of seafood quality." *FAO Fisheries Technical Paper* No. 334. Rome: FAO.
102. Huss, H. H., 1997. "Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood." *Food Control*, 8, 91-98.
103. Iteman, I., Guiyoule, A., and Carniel, E., 1996. Comparison of three molecular methods for typing and sybtyping pathogenic *Yersinia enterocolitica* strains. *J. Med. Microbiol.*, 45, 48-56.
104. Jacobs, J., Jamaer, D., Vandeven, J., Wouters, M., Vermynen, C., and Vandepitte, J., 1989. "*Yersinia enterocolitica* in donor blood: a case report and review," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 27, no. 5, pp. 1119-1121.
105. James, S.; Tan, M.D., 1997. Human zoonotic infections transmitted by dogs and cats. *Arch. Intern. Med.*, 157, 1933-1943.
106. Jiang, G.C.; Kang, D.H.; Fung, D.Y.C., 2000. Enrichment procedures and plating media for isolation of *Yersinia enterocolitica*. *J. Food Prot.*, 63, 1483-1486.
107. Johannessen, G.S., Kapperud, G., Kruse, H., 1999. "Occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Norwegian pork products determined by a PCR method and

- traditional culturing method.” *International Journal of Food Microbiology* 54, 75–80.
108. Jones, T.F., 2003. “From pig to pacifier: Chitterling-associated yersiniosis outbreak among black infants.” *Emerg. Infect. Dis.*, 9, 1007–1009.
 109. Kamat, A. S., Khare, S., Doctor, T., and Nair, P. M., 1997. “Control of *Yersinia enterocolitica* in raw pork and pork products by γ -irradiation.” *International Journal of Food Microbiology*, 36, 69-76.
 110. Kappeurd, G., 1991. *Yersinia enterocolitica* in food hygiene. *Int. J. Food Microbiol.*, 12, 53-64.
 111. Keat A. 1983. “Reiter’s syndrome and reactive arthritis in perspective.” *N Engl J Med*, 309:1606-15.
 112. Keet, E. E., 1974. “*Yersinia enterocolitica* septicemia. Source of infection and incubation period identified.” *N.Y. State J. Med.* 74 (12): 2226-30.
 113. Khare, S. S., Kamat, A. S., Doctor, T. R., and Nair, P. M., 1996. “Incidence of *Yersinia enterocolitica* and related species in some fish, meat and meat products in India.” *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72, 187-195.
 114. Kim, T.J.; Young, B.M.; Young, G.M., 2008. Effect of flagellar mutations on *Yersinia enterocolitica* biofilm formation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 5466-5474.
 115. Knapp, W. and Thal, E., 1963. Untersuchungen über die Kulturellbiochemischen, serologischen, experimentellen und immunologischen Eigenschaften einer Volrating “*Pasteurella X*” benannten Bacterionart. *Zbl. Bact. J. Abt. Ref.* 190, 472-484.
 116. Knapp, W., and E. Thal., 1973. «Differentiation of *Yersinia enterocolitica* by biochemical reactions.” *Contrib. Microbiol. Immunol.*, 2: 10-16.
 117. Kowalik, J.; Lobacz, A.; Tarczyska, A.S.; Ziajka, S., 2012. Graphic validation of growth models for *Listeria monocytogenes* in the milk during storage. *Milchwissenschaft*, 67, 38-42.
 118. Kruger, W. and Klemens, W., 1974. *Yersinia enterocolitica* infections as a cause of diarrhoeal diseases, *Ztschr. Ger. Hyg.*, 20, 184-186.
 119. Kvien, T. K., Glennas, A., and Melby, K., 1996. “Prediction of diagnosis in acute and subacuteoligoarthritis of unknown origin.” *Br J Rheumatol*, 35:359–63.

120. Kwaga, J., Iversen, J. O., and Misra, V., 1992. "Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* by polymerase chain reaction and digoxigenin-labeled polynucleotide probes," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 30, no. 10, pp. 2668-2673.
121. Lambertz, S.T.; Danielsson-Tham, M.L., 2005. Identification and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* isolates by PCR and pulsed-field gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 3674-3681.
122. Lambertz, S.T.; Nilsson, C.; Hallanvuori, S.; Lindblad, M., 2008. Real-time PCR method for detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 6060-6067.
123. Laukkanen, R., Hakkinen, M., Lundén, J., Fredriksson-Ahomaa, M., Johansson, T., and Korkeala, H., 2010. "Evaluation of isolation methods for pathogenic *Yersinia enterocolitica* from pig intestinal content," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 108, no. 3, pp. 956-964.
124. Lee, L.A.; Gerber, A.R.; Lonsway, D.R.; Smith, J.D.; Carter, G.P.; Puhr, N.D.; Parrish, C.M.; Sikes, R.K.; Finton, R.J.; Tauxe, R.V., 1990. "*Yersinia enterocolitica* O:3 infections in infants and children, associated with the household preparation of chitterlings." *N. Engl. J. Med.*, 322, 984-987.
125. Lee, W. H., Harris, M. E., and McClain, D., 1980. "Two modified selenite media for the recovery of *Yersinia enterocolitica* from meats." *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 39, no.1, pp. 205-209.
126. Leirisalo-Repo, M., 1987. *Yersinia* and arthritis. Acute clinical picture and long-term prognosis. *Contrib. Microbiol. Immunol.*, 9, 145-154.
127. Long, C., 2008. "Yersiniosis in FoodNet 1996-2007", CDC, vol.2, 4, Fall.
128. Lovett, J., Bradshaw, J. G., and Peeler, J. T., 1982. "Thermal inactivation of *Yersinia enterocolitica* in milk," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 44, no. 2, pp. 517-519.
129. Lutter, R., **2011**. "Food-Borne Illness Outbreaks: Data Disclosure, Performance, and Recommendations for Reform." American Enterprise Institute, 1150 Seventeenth Street, N.W., Washington, D.C. 20036, 202.862.5800, www.aei.org, vol.2.
130. Mäde, D.; Reiting, R.; Strauch, E.; Ketteritzsch, K.; Wicke, A., 2008. A real-time PCR for Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food combined with an universal internal amplification control system. *J. Con. Prot. Food Saf.*, 3, 141-151.

131. Marriott, D., Taylor, S., and Dorman, D., 1985. "*Yersinia enterocolitica* infection in children. *Med J Aust*, 143, 489-492.
132. Martínez, P. O., Fredriksson-Ahomaa, M., Pallotti, A., Rosmini, R., Houf, K., and Korkeala, H., 2011. "Variation in the prevalence of enteropathogenic *Yersinia* in slaughter pigs from Belgium, Italy, and Spain," *Foodborne Pathogens and Disease*, vol. 8, no. 3, pp. 445-450.
133. Mauro, A., Lagana, P., Bruno, G., Micali, M., Minutoli, E., and Delia, S., 2008. 'Isolation of *Yersinia enterocolitica* biotype 1 A from raw meat products." *J prev med hyg.*, 49, 75-78.
134. Mehlman, I., C. Aulisio, and A. Sanders., 1978. "Problems in the recovery and identification of *Yersinia* from food." *J. Assoc. Official Anal. Chem.*, 61:761-771.
135. Menzies, B. E., 2010. "Axillary abscess due to *Yersinia enterocolitica*," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 48, no. 9, pp. 3438-3439.
136. Metchock, B., Lonsway, D., Carter, G., Lee, L., and McGowan, J., 1991. "*Yersinia enterocolitica*: A frequent seasonal stool isolate from children at an urban hospital in the southeast United States." *Journal of Clinical Microbiology*, 29(12), 2868–2869.
137. Mollaret, H. H., 1970. L' infection humaine a "*Yersinia enterocolitica*" en 1970 a la lumière de 642 récents, *Path. Biol.*, 19, 189-205.
138. Mollaret, H. H., Chevalier, A., and Deplance, M. C., 1964. Contribution l'étude d'un nouveau de germes proches du bacille de *Malasseze et Vignol*. I. Caracteres cultureux et biochimiques. *Ann. Inst. Pasteur*, 107, 121-127.
139. Mollaret, H., 1971. "L'infection humaine `a *Yersinia enterocolitica* en 1970 `a la lumin`ere de 642 cas r´ecents." *Pathologies Biologiques*, 19, 189–205.
140. Moriki, S., Nobata, A., Shibata, H. et al., 2010. "Familial outbreak of *Yersinia enterocolitica* serotype O9 biotype 2," *Journal of Infection and Chemotherapy*, vol. 16, no. 1, pp. 56-58.
141. Nesbakken, T., Kapperud, G., Lassen, J., and Skjerve, E., 1991. "*Yersinia enterocolitica* O:3 antibodies in slaughterhouse employees, veterinarians, and military recruits." *Contributions to Microbiology and Immunology*, 12, 32–39.

142. Neubauer, H.; Aleksic, S.; Hensel, A.; Finke, E.J.; Meyer, H., 2000. *Yersinia enterocolitica* 16S rRNA gene types belong to the same genospecies but form three homology groups. *Int. J. Med. Microbiol.*, 290, 61-64.
143. Niléhn, B., 1968. Sjöstrom, B., Damgaard, D., and Kindmark, C.. *Y. enterocolitica* in patients with symptoms of infection disease. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 74, 101-113.
144. Niléhn, B., 1969. Studies on *Yersinia enterocolitica* with special reference to material diagnosis at occurrence in human acute enteric diseases, *Acta Path. Microbiol. Scand.*, supp. 206, pp 5-48.
145. Okwori, A.E.J.; Agada, G.O.A.; Olabod, A.O.; Okpe, E.S.; Okopi, J., 2007. The prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* among diarrhea patients in Jos; Nigeria. *Afr. J. Biotechnol.*, 6, 1031-1034.
146. Ostroff, S. M., Kapperud, G., Hutwagner, L. C. et al., 1994. "Sources of sporadic *Yersinia enterocolitica* infections in Norway: a prospective case-control study," *Epidemiology and Infection*, vol. 112, no. 1, pp. 133-141, .
147. Ostroff, S., 1995. "*Yersinia* as an emerging infection: Epidemiologic aspects of yersinosis." *Contributions to Microbiology and Immunology*, 13, 5-10.
148. Pacheco-Tena, C., Burgos-Vargas, R., Vazquez-Mellado, J., Cazarin, J., and Perez-Diaz, J. A., 1999. "A proposal for the classification of patients for clinical and experimental studies on reactive arthritis." *J Rheumatol*, 26:1338-46.
149. Rastawicki W; Szych, J.; Gierczyński, R.; Rokoszet, N., 2009. A dramatic increase of *Yersinia enterocolitica* serogroup O:8 infections in Poland. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 28, 535-537.
150. Ratnam, S., Mercer, E., Picco, B., Parsons, S., and Butler, R., 1982. "A nosocomial outbreak of diarrheal disease due to *Yersinia enterocolitica* serotype O:5, biotype 1." *J Infect Dis*, 145, 242-247.
151. Ray, S., Ahuja, S., Blake, P., Farley, M., Samuel, M., Fiorentino, T., et al., 2004. "Population-based surveillance for *Yersinia enterocolitica* infections in FoodNet sites, 1996-1999: Higher risk of disease in infants and minority populations." *Clin Infect Dis*, 38((Suppl 3)), S181-S189.
152. Restaino, L.; Jeter, W.S.; Hill, W.M., 1980. Thermal injury of *Yersinia enterocolitica*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 40, 939-949.

153. Robbins-Browne, R., 2001. *Yersinia enterocolitica* In: Food Microbiology: fundamentals and frontiers, (Eds) Doyle, M.P., Beuchat, L.R. and Montville, T.D., pp. 215-247.
154. Robins-Browne, R. M., Tzipori, S., Gonis, G., Hayes, J., Withers, M., and Prpic, J. K., 1985. "The pathogenesis of *Yersinia enterocolitica* infection in gnotobiotic piglets," *Journal of Medical Microbiology*, vol. 19, no. 3, pp. 297–308.
155. Rosner, M.B., Stark, K., and Werber, D., 2010. Epidemiology of reported *Yersinia enterocolitica* infections in Germany, 2001-2008. *BMC Public Health*, 10, 337.
156. Rossmannith, P., and Wagner, M., 2010. Sample preparation for the detection of foodborne pathogens by molecular biological methods (Book Chapter). Tracing Pathogens in the Food Chain, 237-262.
157. Sabina, Y., Rahman, A., Ray, R. C., and Montet, D., 2011. "*Yersinia enterocolitica*: Mode of Transmission, Molecular Insights of Virulence, and Pathogenesis of Infection." *Journal of Pathogens*, Article ID 429069, 10 pages, Volume.
158. Saebo, A., and Lassen, J., 1992. Acute and chronic gastrointestinal manifestation associated with *Yersinia enterocolitica* infection. A Norwegian 10 year follow-up study on 458 hospitalized patients. *Ann. Surg.* 215, 250-255.
159. Sakai, T., Nakayama, A., Hashida, M., Yamamoto, Y., Takebe, H., and Imai, S., 2005. "Outbreak of food poisoning by *Yersinia enterocolitica* serotype O:8 in Nara Prefecture: the first case report in Japan," *Japanese Journal of Infectious Diseases*, vol. 58, no. 4, pp. 257-258.
160. Sansonetti, P., 2002. "Host-pathogen interactions: the seduction of molecular cross talk," *Gut*, vol. 50, no. 3, pp. iii2–iii8.
161. Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M.-A., Roy, S. L., Jones, J. L., and Griffin, P. M., **2011**. "Foodborne Illness Acquired in the United States-Major Pathogens." *Emerging Infectious Diseases*, www.cdc.gov/eid, Vol. 17, No. 1, January.
162. Schiemann, D. A., 1980. "Isolation of toxigenic *Yersinia enterocolitica* from retail pork products." *Journal of Food Proteins*, 43, 360-365.
163. Schiemann, D. A., 1989. "*Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*." In: M.P. Doyle (ed.), *Food-born Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker, New York, N.Y., pp.601-672.

164. Schiemann, D. A.. “The pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* for piglets.” Can. J. Vet. Res. 52:325-330, **1988**.
165. Schlefstein, I. J., and Coleman, M. B., 1939. „An unidentified microorganism resembling *B. lignieri* and *Past. pseudotuberculosis*, and pathogenic for man.” NY J Med., 39:1479.
166. Schulte, R., Grassl, G. A., Preger, S., Fessele, S., Jacobi, C. A., Schaller, M. , Nelson, P. J., and Autenrieth, I. B., 2000. “*Yersinia enterocolitica* invasin protein triggers IL-8 production in epithelial cells via activation of Rel p65-p65 homodimers.” The FASEB Journal, Vol. 14.
167. Seelye, R. J., and Yearbury, B.J., 1979. “Isolation of *Yersinia enterocolitica*-resembling organisms and *Alteromonas putrefaciens* from vacuum-packed chilled beef cuts.” J Appl Bacteriol., Jun;46(3):493–499.
168. Sharifi Yazdi, M. K., Soltan-Dallal, M. M., Zali, M. R., Avadisians, S., and Bakhtiari, R., 2011. “Incidence and antibiotic susceptibilities of *Yersinia enterocolitica* and other *Yersinia* species recovered from meat and chicken in Tehran; Iran.” Afr. J. Microbiol. Res., 5, 2649-2653.
169. Skurnik, M., Peippo, A., and Ervela, E., 2000. “Characterization of the O-antigen gene clusters of *Yersinia pseudotuberculosis* and the cryptic O-antigen gene cluster of *Yersinia pestis* shows that the plague bacillus is most closely related to and has evolved from *Y. pseudotuberculosis* serotype O:1b.” Molecular Microbiology, 37, 316-330.
170. Smego, R. A., Frean, J., and Koornhof, H. J., 1999. “Yersiniosis I: Microbiological and clinicoepidemiological aspects of plague and non-plague *Yersinia* infections.” Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 18, 1-15.
171. Söderqvist, K., Boqvist, S., Wauters, G., Vågsholm, I., and Thisted-Lambertz, S., 2012. “*Yersinia enterocolitica* in sheep-A high frequency of biotype 1A.” Acta Vet. Scand., doi: 10.1186/1751-0147-54-39.
172. Soltan Dallal, M. M., Doyle, M., Rezadehbashi, M., Dabiri, H., Sanaei, M., Modarresi, S., Bakhtiari, R., Sharifiy, K., Taremi. M., Zali, M.R., and Sharifi-Yazdi, M. K., 2010. “Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* serotypes, *Campylobacter* and *Yersinia* spp. isolated from retail chicken and beef, Tehran, Iran.” Food Control, 21, 388-392.

173. Sommers, C. H., Niemira, B. A., Tunick, M., and Boyd, G., 2002. "Effect of temperature on the radiation resistance of virulente *Yersinia enterocolitica*". *Meat Science*, 61, 323-328.
174. Sonnevend, A., Czirók, E., and Pál, T., 2005. "Yersinia Yop-specific IgA antibodies in Hungarian blood donors." *Folia Microbiologica (Praha)*, 50(3), 269-272.
175. Stengel, G., 1985. "*Yersinia enterocolitica*: Vorkommen und Bedeutung in Lebensmitteln." *Fleischwirtsch* 65 (12): 1490-1495.
- 176.** Stephan, R., Cernela, N., Ziegler, D., Pflüger, V., Tonolla, M., Ravasi, D., Fredriksson-Ahomaa, M., and Hächler, H., 2011. "Rapid species specific identification and subtyping of *Yersinia enterocolitica* by MALDI-TOF Mass spectrometry". *Journal of Microbiological Methods* 87 (2011) 150-153.
177. Stern, N. J., Pierson, M. D., and Kotula, A. W., 1980b. "Growth and competitive nature of *Yersinia enterocolitica* in whole milk." *Journal of Food Science*, vol. 45, pp. 972-974.
178. Stern, N. J., Pierson, M. D., και Kotula, A. W., 1980a. "Effects of pH and sodium chloride on *Yersinia enterocolitica* growth at room and refrigeration temperatures," *Journal of Food Science*, vol. 45, pp. 64-67.
179. Sutherland, J. P., and Varnam, A. H., 1977. Methods of isolation of potential importance of *Yersinia enterocolitica* in foods stored at low temperatures. *J. Appl. Bact.*, 43, xiii-xiv.
180. Swaminathan, B., Harmon, M. C., and Mehlman, I. J., 1982. "*Yersinia enterocolitica*." *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 52, no. 2, pp. 151-183.
181. Szita, M., Káli, M., and Rédey, B., 1973. "Incidence of *Yersinia enterocolitica* infection in Hungary." *Contributions to Microbiology and Immunology*, 2, 106-110.
182. Tacket, C. O., Ballard, J., Harris, N., Allard, J., Nolan, C., Quan, T. and Cohen, M. L., 1985. "An outbreak of *Yersinia enterocolitica* infections caused by contaminated tofu (soybean curd)." *Am.J. Epidemiol.* 121 (5): 705-11.
183. Tassinari Ados R, Franco BD, Landgraf M., 1994. "Incidence of *Yersinia* spp. in food in Sao Paulo, Brazil." *International Journal on Food Microbiology*, Feb; 21(3): 263-270.
184. Tauxe, R. V., Vandepitte, J., Wauters, G. et al., 1987. "*Yersinia enterocolitica* infections and pork: the missing link," *The Lancet*, vol. 1, no. 8542, pp. 1129-1132.

185. Tennant, S. M., Grant, T. H. and Robins-Browne, R. M., 2003. "Pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A," FEMS Immunology and Medical Microbiology, vol. 38, no. 2, pp. 127-137.
186. The EFSA Journal., 2007. "Monitoring and identification of human enteropathogenic *Yersinia* spp." Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards, 595, 1-30.
187. Thibodeau, V., Frost, E. H., and Quessy, S., 2001. "Development of an ELISA procedure to detect swine carriers of pathogenic *Yersinia enterocolitica*." *Vet Microbiology*, 28, 249-259.
188. Thompson, J. S. and Gravel, M. J., 1986. "Family outbreak of gastroenteritis due to *Yersinia enterocolitica* serotype 0:3 from well water." *Can. J. Microbiol.* 32 (8): 700-1.
189. Toivanen, P., Toivanen, A., Olkonen, L., and Aantaa, S., 1973. Hospital outbreak of *Y. enterocolitica* infection. *Lancet*, 1, 801-803.
190. Tsubokura, M., Fukuda, T., Otsuki, K., Kubota, M., and Itagaki, K., 1976. "Studies on *Yersinia enterocolitica* II. Relationship between detection from swine and seasonal incidence, and regional distribution of the organism." *Jpn J Vet Med Sci*, 38, 1-6.
191. Tudor, L.; , Togoe, I.; Pop, A.; Mitrănescu, E., 2008. The *Yersinia enterocolitica* species tolerance to temperature. *Roumanian Biotechnol. Lett.*, 13, 17-22.
192. Tzelepi, E., Arvanitidou, M., Mavroidi, A., and Tsakris, A., 1999. Antimicrobial susceptibilities of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia intermedia* isolates from aquatic environments. *J Med. Microbiol.*, 48, 157-160.
193. Van Noyen, R., Selderslaghs, R., Wauters, G., and Vandepitte, J., 1987. "Comparative epidemiology of *Yersinia enterocolitica* and related species in patients and healthy controls." *Contributions to Microbiology and Immunology*, 9, 61-67.
194. Vandepitte, J., and Wauters, G., 1979. "Epidemiological and clinical aspects of *Yersinia enterocolitica* infections in Belgium. *Contributions to Microbiology and Immunology*, 5, 155-159.
195. Vázlerová, M.; Steinhauserová, I., 2006. The comparison of the methods for the identification of pathogenic serotypes and biotypes of *Yersinia enterocolitica*: Microbiological methods and PCR. *Czech J. Food Sci.*, 24, 217-222.

196. Velázquez, L. D. C., Escudero, M. E., and Guzman, A. M. S. De., 1996. "Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in Hake (*Merluccius hubbsi*) fillets." *Journal of Food Protection*, 59, 781-783.
197. Verhaegen, J., Charlier, J., Lemmens, P., Delmée, R., Van Noyen, R., Verbist, L., et al., 1998. "Surveillance of human *Yersinia enterocolitica* infections in Belgium: 1967–1996." *Clin Infect Dis*, 27, 59–64.
198. Walker, S. J., and Brooks, J., 1993. "Survey of the incidence of *Aeromonas* and *Yersinia* species in retail foods." *Food Control*, Vol. 4, No 1, 34-40.
199. Wang, X., Qiu, H., Jin, D. et al., 2008. "O:8 serotype *Yersinia enterocolitica* strains in China," *International Journal of Food Microbiology*, vol. 125, no. 3, pp. 259-266.
200. Wauters, G., 1970. Contribution à l'étude de *Yersinia enterocolitica*, Thèse d'agrégation, Louvain 166 p.
201. Wauters, G., Aleksić, S., Charlier, J., and Schulze G., 1991. "Somatic and flagellar antigens of *Yersinia enterocolitica* and related species." *Contrib Microbiol Immunol.*, 12:239–243.
202. Wauters, G., Le Minor, L., and Chalon, A. M., 1971. "Antigènes somatiques et flagellaires des *Yersinia enterocolitica*." *Ann Inst Pasteur (Paris)* May;120(5):631–642.
203. Wauters, G., Le Minor, L., Chalon, A. M. and Lassen, J., 1972. Supplement au schema antigenique de *Yersinia enterocolitica*. *Annales de l'Institut Pasteur, Paris* 122, 951-956.
204. Wauters, G.; Kandolo; K.; Janssens; M., 1987. Revised biogrouping scheme of *Yersinia enterocolitica*. *Contrib. Microbiol. Immunol.*, 9, 14-21.
205. Wesley, I.V.; Bhaduri, S.; Bush, E., 2008. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in market weight hogs in the United States. *J. Food Prot.*, 71, 1162-1168.
206. www.HealthLinkBC.ca/healthfiles/2013.
207. Yeasmin, S., Atiqur R., Ramesh, C. R., and Didier, M., 2011. "Yersinia enterocolitica :Mode of Transmission,Molecular Insights of Virulence, and Pathogenesis of Infection,Journal of Pathogens, Article ID 429069, 10 p., vol.
208. Zadernowska, A., Chajęcka-Wierzchowska, W., and Łaniewska-Trokenheim, Ł., 2014. *Yersinia enterocolitica*: A Dangerous, But Often Ignored, Foodborne Pathogen. *Food Reviews International*, 30:53-70.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

1. 2005R2073-Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ, της 15ης Νοεμβρίου 2005, περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα.
2. L139/1-Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 852/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 29ης Απριλίου 2004, για την υγιεινή των τροφίμων.
3. L226/22-Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 853/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 29ης Απριλίου 2004, για τον καθορισμό ειδικών κανόνων υγιεινής για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης.
4. L226/83- Κανονισμός αριθ. 854/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 29ης Απριλίου 2004, για τον καθορισμό ειδικών διατάξεων για την οργάνωση των επίσημων ελέγχων στα προϊόντα ζωικής προέλευσης που προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο.
5. Αρσένη, Α., Μανιάτης, Α., Πετροχείλου, Π., Παρασκευοπούλου, Α., 1974. Η δια πρώτην φορά απομόνωσης της *Yersinia enterocolitica* εν Ελλάδι. Δελτ. Ελλην. Μικρ. Εταιρίας, 19, 73-80.
6. ΕΦΕΤ (2004). «Οδηγό Υγιεινής Νο 9-για τις επιχειρήσεις αποθήκευσης και διανομής τροφίμων σε συνθήκες περιβάλλοντος, ψύξης ή κατάψυξης», www.efet.gr.
7. ΕΦΕΤ (2009a). «ΑΠΟΦΕΥΓΟΝΤΑΣ ΤΑ ΤΡΟΦΙΜΟΓΕΝΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ», www.efet.gr.
8. ΕΦΕΤ (2009b). «ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΨΗΣΙΜΟ ΚΡΕΑΤΟΣ ΣΕ ΨΗΣΤΑΡΙΑ», www.efet.gr.
9. Κεχαγιά, Κ. Ν., 2007. Μοριακή επιδημιολογία υερσινώσεων στην Ελλάδα από στελέχη *Yersinia enterocolitica* προερχόμενα από ανθρώπους, ζώα, τρόφιμα και περιβαλλοντικές πηγές. Διδ. Διατριβή, Αθήνα.
10. Πατεράκης, Κ., και Παπαοικονόμου, Ν., 1972. Αναζήτηση παθαγόνου βακτηρίου εις τα κόπρανα ανθρώπων και ορνίθων και εις τα μεσεντέρια γάγγλια χοίρων των σφαγείων. Arch. Inst. Hellen. Pastuer XVIII, 63.