



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
Η ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗ ΝΟΣΟ**



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Η *Yersinia enterocolitica* και η σημασία της στην ασφάλεια του
χοιρινού κρέατος.**

Ευαγγελία Καρανάσιου

Κτηνίατρος, DVM

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Σολωμάκος Νικόλαος, Επίκουρος Καθηγητής Τμήματος Κτηνιατρικής Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας, Επιβλέπων καθηγητής

Τόντης Δημήτριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Κτηνιατρικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Μέλος τριμελούς επιτροπής

Ποταμιάνος Σπυρίδων, Καθηγητής Γαστρεντερολογίας Τμήματος Ιατρικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Μέλος τριμελούς επιτροπής

Λάρισα, 2019



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
Η ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗ ΝΟΣΟ



Yersinia enterocolitica and its importance
in safety of pork meat.

Περιεχόμενα:

Ευχαριστίες.....	6
Περίληψη.....	7
Περίληψη στα Αγγλικά (Abstract).....	8
Εισαγωγή.....	9
1) Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά της <i>Y. enterocolitica</i>	11
1.1) Ιστορία.....	11
1.2) Ταξινόμηση.....	12
1.3) Μορφολογία.....	16
1.4) Ανάπτυξη και Επιβίωση.....	18
1.5) Μετάδοση.....	19
2) Παρουσία της <i>Y. enterocolitica</i> στα ζώα.....	21
2.1) <i>Y. enterocolitica</i> σε χοίρους.....	21
2.2) <i>Y. enterocolitica</i> σε εκμεταλλεύσεις.....	24
2.2.1) Επίδραση των διαχειριστικών μεθόδων.....	24
2.2.2) Επίδραση άλλων παραγόντων.....	25
2.2.3) Παραγωγική κατεύθυνση και διαχείριση.....	26
2.2.4) Περιβάλλον διαμονής χοίρων.....	29

2.3) Εμφάνιση σε άλλα ζώα.....	30
3) Επιμόλυνση των σφάγιων κατά τη σφαγή.....	33
3.1) Επιμόλυνση από τα χοιρινά.....	33
3.2) Επιμόλυνση από το περιβάλλον του σφαγείου.....	35
4) Έλεγχος στο σφαγείο.....	36
4.1) Πρόληψη της μόλυνσης.....	36
4.2) Πιθανά σημεία μόλυνσης.....	37
4.2.1) Αφαίμαξη.....	37
4.2.2) Ζεμάτισμα.....	37
4.2.3) Απόξεση.....	38
4.2.4) Εκσπλαχνισμός.....	38
4.2.5) Αφαίρεση του κεφαλιού μαζί με τις αμυγδαλές και τη γλώσσα.....	39
4.2.6) Διχοτόμηση.....	39
4.2.7) Ψύξη.....	39
4.3) Αλλαγές στην επιθεώρηση του κρέατος.....	40
4.4) Εξυγείανση.....	40
4.4.1) Νερό.....	41
4.4.2) Οργανικά οξέα.....	41
4.4.3) Ατμός σε συνδυασμό με οργανικά οξέα.....	41
4.4.4) Ατμός σε συνδυασμό με υπερήχους.....	42

4.5) Σύνοψη των μέτρων ελέγχου στο σφαγείο.....	42
5) <i>Y. enterocolitica</i> σε προϊόντα χοιρινού κρέατος.....	43
6) Μόλυνση του ανθρώπου	46
6.1) Οξέα σύνδρομα.....	47
6.2) Σηψαιμία.....	47
6.3) Ανοσοπαθολογικές επιπλοκές.....	48
7) Ανίχνευση <i>Y. enterocolitica</i>	50
7.1) Τρόποι προσδιορισμού.....	51
7.2) Στάδια ανίχνευσης.....	52
7.2.1) Εμπλουτισμός.....	54
7.2.2) Επίστρωση.....	55
7.2.3) Ανίχνευση.....	56
Συμπεράσματα.....	58
Βιβλιογραφία.....	59

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Σολωμάκο Νικόλαο, επιβλέποντα καθηγητή της παρούσας διπλωματικής μελέτης, για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή του, καθώς και τους υπόλοιπους καθηγητές της τριμελούς επιτροπής κ. Τόντη Δημήτριο και κ. Ποταμιάνο Σπυρίδων, για την άψογη συνεργασία μας.

Ακόμη, θα ήθελα να απευθύνω ευχαριστίες στην οικογένειά μου για την ηθική συμπαράσταση, καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Το χοιρινό κρέας αποτελεί το δεύτερο σε κατανάλωση είδος κρέατος σε παγκόσμιο επίπεδο, συνεπώς ο αποτελεσματικός έλεγχος των παθογόνων που συνδέονται με την κατανάλωση του παρουσιάζει ιδιαίτερη σημασία για τη Δημόσια Υγεία (OECD 2016). Σύμφωνα με πρόσφατα δημοσιευμένα στοιχεία για τις ζωνοσους και τις τροφιμογενείς επιδημίες στην Ευρωπαϊκή Ένωση (Ε.Ε.), τα περιστατικά τροφιμογενών λοιμώξεων στους ανθρώπους είναι κυρίως βακτηριακής αιτιολογίας. Η *Yersinia* καταγράφηκε ως το τρίτο συχνότερο αίτιο ζωνοσών στην Ε.Ε. με 6471 περιστατικά, το 98% των οποίων οφειλόταν στην *Y. enterocolitica* (EFSA 2015).

Η *Y. enterocolitica* είναι ένα παθογόνο βακτήριο που παρουσιάζει αξιοσημείωτη ικανότητα να προσαρμόζεται και να επιβιώνει σε διάφορες συνθήκες περιβάλλοντος με ιδιαίτερη σημασία για τα τρόφιμα, αφού μπορεί και αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες ψύξης. Το τρόφιμο που συνδέεται συχνότερα με το παθογόνο είναι το χοιρινό κρέας και τα προϊόντα του. Μάλιστα αναφέρεται ότι το 77,3% των περιστατικών υερσινίωσης στον άνθρωπο οφείλεται στην κατανάλωση χοιρινού κρέατος (Fosse et al. 2008). Σύμφωνα με την EFSA (European Food Safety Authority, Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων) το 2013 αναφέρεται ότι από 1700 δείγματα χοιρινού κρέατος που εξετάστηκαν το 6,4 % βρέθηκαν θετικά στην παρουσία *Yersinia* και από αυτά σχεδόν στο σύνολο (6%) απομονώθηκε *Y. enterocolitica* (EFSA 2015).

Στους χοίρους η μόλυνση από *Y. enterocolitica* εντοπίζεται συχνότερα στις αμυγδαλές, στους λεμφαδένες, στο απευθυσμένο και στον εντερικό λεμφικό ιστό. Από τα σημεία αυτά μπορεί εύκολα να επιμολυνθεί το σφάγιο σε διάφορα στάδια κατά τη σφαγή των χοίρων και τον παραπέρα χειρισμό του. Η μόλυνση από *Y. enterocolitica* είναι μια αυτοπεριοριζόμενη γαστρεντερίτιδα που εκδηλώνεται κυρίως με διάρροια, αλλά μπορεί να προκύψουν επιπλοκές, όπως αντιδραστική αρθρίτιδα, οζώδες ερύθημα κ.α

Λέξεις κλειδιά: *Yersinia enterocolitica*, χοιρινό κρέας, υερσινίωση

Abstract

Pork is the second most consumed meat worldwide; therefore an effective control of pathogenic agents transferred via pork meat is of great importance (OECD 2016). According to recent data on zoonoses and food-borne outbreaks in the European Union (E.U.), bacterial foodborne diseases were the main food safety issue. Campylobacteriosis was the most commonly reported zoonosis, followed by salmonellosis and third most common *Yersinia* infections with 6471 human cases, 98% of which was caused by human pathogenic *Y. enterocolitica* (EFSA 2015).

Y. enterocolitica is a widespread pathogen in the environment and animal populations. The main reservoirs of *Y. enterocolitica* strains pathogenic for human are domestic pigs, which can asymptotically carry the pathogens in lymph nodes, tonsils and the intestinal tract, resulting in the spread to the carcass during different steps in the slaughter process. Contaminated pork and pork meat products are considered as the most important means of infection. Thus 77.3% of human cases of yersiniosis are attributed to pork meat consumption (Fosse et al. 2008). EFSA reported in “E.U. summary report on zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks” for 2013 that 6.4 % of the tested 1,700 pig meat samples were positive for *Yersinia*, while *Y. enterocolitica* was found in 6 % of the samples (EFSA 2015).

In humans, the clinical symptoms of yersiniosis appear most commonly as gastrointestinal disturbances, such as enteritis, enterocolitis and gastroenterocolitis accompanied by fever and severe diarrhea. Extraintestinal forms of yersiniosis occur few days after initial gastrointestinal symptoms and may persist for several weeks or months.

Keywords: *Yersinia enterocolitica*, pork, yersiniosis

Εισαγωγή

Το εντεροπαθογόνο *Yersinia*, περιλαμβάνει τα είδη *Yersinia enterocolitica* και *Yersinia pseudotuberculosis*. Τα παθογόνα αυτά στελέχη, μπορούν να προκαλέσουν στο άνθρωπο τη νόσο υερσινίωση, η οποία ήταν η 3η πιο συχνά παρατηρούμενη ζωνόσος στην ΕΕ από το 2004 έως το 2010 πίσω από το *Campylobacter* και τη *Salmonella* και 4η το 2011 έπειτα από τη βεροτοξινογόνο *Escherichia coli*, καθώς παρατηρήθηκαν εξάρσεις του σε πολλές χώρες της ΕΕ (ΕΑΑΤ 2005, 2006, EFSA και ECDC 2007, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013).

Η υερσινίωση είναι μία τροφιμογενής λοίμωξη, υπεύθυνα για την οποία είναι κυρίως το παθογόνο *Y. enterocolitica* και σπανιότερα το παθογόνο *Y. pseudotuberculosis*. Η νόσος από *Y. enterocolitica* σχετίζεται με την κατανάλωση προϊόντων χοιρινού κρέατος (Tauxe και συν. 1987, Ostroff και συν. 1994, Satterthwaite και συν. 1999, Jones 2003, Grahek-Ogden και συν. 2007, Boqvist και συν. 2009). Τα αίτια που προκαλούν τη νόσο υερσινίωση από το *Y. pseudotuberculosis* είναι ελάχιστα εξακριβωμένα (Vincent και συν. 2008). Κρούσματα που συσχετίστηκαν με το *Y. pseudotuberculosis*, βρέθηκαν σε ωμό κρέας προϊόντα κρέατος (Nuorti και συν. 2004, Anonymous 2005, 2007, 2008, Jalava και συν. 2006, Kangas και συν. 2008, Rimhanen-Finne και συν. 2009).

Η υερσινίωση είναι μία νόσος του ανθρώπου, η οποία χαρακτηρίζεται ως αυτοπεριοριζόμενη εντεροκολίτιδα ή οξεία μεσεντερική αδενίτιδα (Smego και συν. 1999). Οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου συμπεριλαμβάνουν συνήθως πυρετό, κοιλιακό άλγος και διάρροια, ενώ συχνά παρατηρείται ναυτία και έμετος (Smego και συν. 1999). Τα συμπτώματα πολλές φορές συγχέονται με αυτά της οξείας σκωληκοειδίτιδας (Smego και συν. 1999). Τα εντεροπαθογόνα στελέχη της *Yersinia* συγχρόνως γίνεται να προκαλέσουν και εξω-εντερικά συμπτώματα, όπως για παράδειγμα οζώδες ερύθημα και αντιδραστική αρθρίτιδα. Η κλινική κατάσταση του ζώου συνήθως βελτιώνεται σε σύντομο χρονικό διάστημα (δύο έως τέσσερις μήνες), όμως αυτή η διαδικασία ίσως να διαρκέσει μεγαλύτερο χρονικό διάστημα φτάνοντας μέχρι και αρκετά έτη (Granfors και συν. 1989, Yli-Kerttula και συν. 1995, Smego και συν. 1999, Hannu και συν. 2003).

Οι χοίροι και το χοιρινό κρέας θεωρούνται ως πηγές πρόκλησης νόσου από το παθογόνο *Y. enterocolitica*. Τα στελέχη που βρέθηκαν σε δείγματα από ανθρώπους είχαν γονότυπους οι οποίοι ήταν πανομοιότυποι με τους γονότυπους που εντοπίστηκαν στα προϊόντα χοιρινού κρέατος καθώς και σε χοιρίδια (Lee και συν. 1990, Fredriksson-Ahomaa και συν. 2001, Wojciech και συν. 2004, Fearnley 2005, Thisted Lambertz και Danielsson-Tham 2005, Fredriksson-Ahomaa και συν. 2006, Kuehni-Boghenbor και συν. 2006, Wang και συν. 2009, Huovinen και συν. 2010, Virtanen και συν. 2013).

Η *Y. enterocolitica* κατατάσσεται στην κατηγορία των πιο σημαντικών βιολογικών κινδύνων κατά τον κρεοσκοπικό έλεγχο των χοιρινών. (ΕΑΑΤ ομάδα για τους βιολογικούς κινδύνους 2011)

Εντούτοις, από τα εντεροπαθογόνα στελέχη της *Yersinia* δεν παρατηρούνται εμφανή συμπτώματα στους χοίρους και επομένως, τα χοιρινά που φέρουν εντεροπαθογόνο *Yersinia* δεν ταυτοποιούνται εύκολα κατά τον έλεγχο προ της σφαγής, κατά τη διαδικασία σφαγής, όπως και στον έλεγχο μετά τη σφαγή.

Σκοπός αυτής της ανασκόπησης είναι να συνοψίσει το ρόλο των εντεροπαθογόνων στελεχών της *Yersinia* καθ' όλη την παραγωγική διαδικασία του χοιρινού κρέατος, αλλά και τους εφικτούς τρόπους περιορισμού αυτών των παθογόνων σε όλη την αλυσίδα παραγωγής των τροφίμων με βάση το χοιρινό κρέας.

1) Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά

1.1) Ιστορία

Το βακτήριο *Yersinia* ονομάστηκε έτσι προς τιμήν του ιατρού A.Yersin (1863-1943), ο οποίος ανακάλυψε τον αιτιολογικό παράγοντα της πανώλης στον άνθρωπο και τους αρουραίους, κατά τη διάρκεια μιας επιδημίας βουβωνικής πανώλης στο Χονγκ Κονγκ το 1884. (Mollaret, 1979-1980).

Η πρώτη καταγεγραμμένη αναφορά σε βιβλιογραφικές πηγές της *Y. enterocolitica* έγινε στις Η.Π.Α. το 1934 από τους McIver και Pike. Οι δύο ερευνητές απομόνωσαν το βακτήριο από αποστήματα στο δέρμα του προσώπου ενός άνδρα 53 ετών, στον οποίο παράλληλα εντοπίστηκαν συμπτώματα όπως τραχηλική λεμφαδενίτιδα και συρίγγιο. Κατά τη μικροσκοπήση του μικροοργανισμού, συμπεράναν ότι πρόκειται για ένα Gram – κοκκοβακτηρίδιο, το οποίο παρουσίαζε στον ασθενή κλινικά συμπτώματα παρόμοια με αυτά που παρατηρούνται σε πιθανή λοίμωξη από *Burkholderia mallei* (μάλις). Ωστόσο, κατά την ανάλυση των βιοχημικών ιδιοτήτων του στελέχους του μικροβίου, αλλά και άλλων 4 παρόμοιων στελεχών που απομονώθηκαν από άτομα που έπασχαν από εντεροκολίτιδα, στο κεντρικό εργαστήριο υγείας στη Ν. Υόρκη (NYSDH) από τους Scleifstein και Coleman, παρατηρήθηκαν αρκετές διαφοροποιήσεις σε σχέση με αυτές της *Pseudomonas mallei* και της *Pseudomonas pseudomallei*. Για το λόγο αυτό, θεώρησαν ότι πρόκειται για ένα νέο είδος βακτηρίου, το οποίο και ονόμασαν *Bacterium enterocoliticum*, εξαιτίας της εντερικής του εντόπισης (Scleifstein και Coleman, 1943).

Κατά τη διάρκεια της επόμενης δεκαετίας ελάχιστες απομονώσεις του βακτηρίου σημειώθηκαν. Στην Ευρώπη, το μικρόβιο απομονώθηκε από δυο ασθενείς που απεβίωσαν λόγω σηψαιμίας με αποστήματα του ήπατος το 1949 (Hill και συν, 1983), ενώ το 1964 απομονώθηκε από έναν ασθενή που χειρουργήθηκε για θεραπεία τελικής ειλεΐτιδας.

Από τις αρχές του 1960 κι έπειτα, αρκετά ‘‘*Yersinia-like*’’ μικρόβια απομονώθηκαν, στα οποία είχαν δοθεί διάφορες ονομασίες όπως *Pasteurella X*, *Pasteurella pseudotuberculosis*, *Pasteurella Y* κλπ.

Το 1964, ο Frederiksen υποστήριξε ότι όλα αυτά τα στελέχη μοιάζουν με το *Bacterium enterocoliticum* των Scleifstein και Coleman κι έτσι πρότεινε την ονομασία του νέου είδους ως *Yersinia enterocolitica*, η οποία έχει επικρατήσει μέχρι σήμερα και χρησιμοποιείται από την επιστημονική κοινότητα. (Frederiksen, 1964). Στην Ελλάδα, η πρώτη απομόνωση της *Y. enterocolitica* έγινε το 1974 από την Αρσένη ύστερα από μια ανεπιτυχή προσπάθεια δυο χρόνια νωρίτερα από τους Πατεράκη και Παπαοικονόμου (1972) και έκτοτε αποτέλεσε αντικείμενο ενδελεχούς μελέτης για πολλούς ακόμη επιστήμονες.

1.2) Ταξινόμηση

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* (Le Minor, 1979-1980), του γένους *Yersinia*. Το γένος *Yersinia* ανήκει στο τελευταίο γένος της οικογένειας των εντεροβακτηριδίων (XIV), σύμφωνα με το *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9^η έκδοση).

Υπάρχουν 11 είδη στο γένος *Yersinia*: *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. pestis*, και *Y. ruckeri*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii*, *Y. Rohde* και *Y. Aldovae*.

Από αυτά, μόνο τα τρία πρώτα αποτελούν παθογόνα στελέχη για τον άνθρωπο, ενώ εντεροπαθογόνα στελέχη, μπορούν να θεωρηθούν μόνο η *Y. enterocolitica* (με μεγαλύτερη συχνότητα επιβεβαιωμένων μολύνσεων σε ανθρώπους) και η *Y. pseudotuberculosis* (πιο σπάνια). Η *Y. pseudotuberculosis* προκαλεί μεσεντερική λεμφαδενίτιδα και σηψαιμία, ενώ συμβάλει στην κλινική εκδήλωση νόσων αυτοάνοσης αιτιολογίας (Robbins-Browne, 2001). Η κύρια τοπογραφική εντόπιση της είναι στη Βόρειο-ανατολική Ευρώπη, κυρίως σε Ρωσία και Φινλανδία.

Η *Y. pestis* προκαλεί την πανώλη στον άνθρωπο, ενώ δύναται να προσβάλει και αρκετά ζώα. Σε μοριακό επίπεδο, οι *Y. pseudotuberculosis* και *Y. pestis* παρουσιάζουν αρκετές ομοιότητες, και θεωρείται ότι η *Y. pestis* είναι ένα είδος που προήλθε εξελικτικά από την *Y. pseudotuberculosis* (Skurnik και συν., 2000, Achtman και συν., 1999). Η *Y. pestis* δεν έχει εμπλακεί σε περιστατικά τροφιμογενούς λοίμωξης και μέχρι σήμερα δεν έχουν καταγραφεί περιστατικά στην Ευρώπη. Η *Y. ruckeri* προσβάλει μόνο τα ψάρια.

Πίνακας 1. Είδη του γένους *Yersinia* (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9^η έκδοση).

1. <i>Yersinia pestis</i>
2. <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
3. <i>Yersinia enterocolitica</i>
4. <i>Yersinia intermedia</i>
5. <i>Yersinia fredericksonii</i>
6. <i>Yersinia kristensenii</i>
7. <i>Yersinia mollaretii</i>
8. <i>Yersinia bercovieri</i>
9. <i>Yersinia aldovae</i>
10. <i>Yersinia rhodei</i>
11. <i>Yersinia ruckeri</i>

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (9^η έκδοση)

Η ταξινόμηση της *Y. enterocolitica* στηρίζεται κατά κύριο λόγο στην ικανότητά της να μεταβολίζει ορισμένα οργανικά συστατικά, ενώ μεταξύ των διάφορων στελεχών της καταγράφεται μεγάλη ετερογένεια. Χωρίζεται σε δύο υπότυπους, το *Y. enterocolitica subsp enterocolitica* και το *Y. enterocolitica subsp palearctica*.

Στον άνθρωπο και μία μεγάλη ομάδα οικόσιτων ζώων, ταξινομείται σε 6 βιότυπους, με βάση τη ζύμωση συγκεκριμένων οργανικών υποστρωμάτων: 1-A, 1-B, 2, 3, 4, και 5. Επίσης, ταξινομείται σε περισσότερους από 57 ορότυπους, με βάση τα σωματικά αντιγόνα O (λιποπολυσακχαριτών ή LPS) (Wauters και συν., 1970, Wauters και συν., 1971, Wauters και συν., 1972). Ο προσδιορισμός του βιότυπου παρουσιάζει σημαντική χρησιμότητα στην κλινική διάγνωση.

Το 2000 ο Neubauer και οι συνεργάτες του, κατέταξαν τα βακτήρια του είδους *Y. enterocolitica* σε 76 ορολογικές ομάδες. Με βάση αυτήν την ταξινόμηση, τα *Y. enterocolitica subsp. palearctica* 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, και 1A/O:5, ενώ τα βακτήρια *Y. enterocolitica subsp. enterocolitica* περιλαμβάνουν είδη Αμερικανικής προέλευσης του βιότυπου 1B και των ορότυπων 1A/O:7,8. Τα είδη *Y. enterocolitica* που κυρίως προκαλούν νόσο στον άνθρωπο ανήκουν στους ορότυπους 1B/O:8, 2/O:5,27, 2/O:9, 3/O:3, και 4/O:3, αλλά πιο σπάνια στον 3/O:5,27 και άλλους ορότυπους του βιότυπου 1B. Από τους 6 βιότυπους, παθογόνοι θεωρούνται μόνο οι εξής : 1-B,2,3,4,5.

Η παθογένεια της *Y. enterocolitica* χαρακτηρίζεται από τον βιότυπο (παθογόνος ή μη παθογόνος), καθώς οι ορότυποι του βακτηρίου είναι κοινοί σε παθογόνα και μη παθογόνα στελέχη. Βασικό

στοιχείο στην εμφάνιση της νοσηρότητας των παθογόνων στελεχών του *Yersinia* είναι η ύπαρξη νοσογόνου πλασμιδίου pYV 70 kb (Cornelis και συν., 1998).

Η νοσηρότητα που προκαλούν τα διάφορα παθογόνα στελέχη σχετίζεται με την ύπαρξη των λεγόμενων δεικτών «παθογονικότητας», στους οποίους περιλαμβάνονται η εντεροτοξίνη *Yst* (*Yersinia stable toxin*), το *Mycf* αντιγόνο, την *Inn* πρωτεΐνη εισβολής (*invasion*), και την *Ail* συγκολλητίνη.

Η *Yst* είναι μία θερμοάντοχη εντεροτοξίνη (*Yst*, *Yst-a*), η παραγωγή της οποίας ελέγχεται από χρωμοσωμικό γονίδιο. Η δομή της εντεροτοξίνης αυτής ομοιάζει με τις εντεροτοξίνες των στελεχών της *Escherichia coli* και των non-O1 οροτύπων του *Vibrio cholerae*. Οι παραγόμενες τοξίνες προσκολλώνται στα κύτταρα του εντέρου και επηρεάζουν την ομοιοστασία απορρόφησης και έκκρισης υγρών και ηλεκτρολυτών, με αποτέλεσμα την διάρροια (Delor και συν., 1990).

Η παραγωγή των εντεροτοξινών όπως η *Yst* πραγματοποιείται σε ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών (4 – 37°C) (Robbins-Browne, 2001), με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 25 °C (Schiemann, 1988). Οι τοξίνες αυτές δεν επηρεάζονται σε όξινα περιβάλλοντα, επομένως δεν καταστρέφονται κατά τη διέλευσή τους από τον στόμαχο και προκαλούν την εντερική βλάβη, αν ληφθούν μέσω του στόματος από τρόφιμα στα οποία οι τοξίνες είχαν προσχηματιστεί. Σε τρόφιμα που ενοφθαλμίστηκαν με *Y. enterocolitica* διαπιστώθηκε ότι η μέγιστη παραγωγή τοξίνης πραγματοποιείται σε θερμοκρασία 25°C.

Επίσης, η νοσηρότητα εξαρτάται και από την ύπαρξη πλασμιδιακών νοσογόνων γονιδίων, όπως τα *pYV*, *yadA*, *virF*. Ο βióτυπος 1-A, στερείται του νοσογόνου πλασμιδίου *pYV* αλλά και νοσογόνων χρωμοσωμικών καθοριστών και θεωρείται απαθογόνο (Bhagat and Virdi 2011), ή υπό συνθήκες ευκαιριακά παθογόνο, καθώς πρόσφατα παρατηρήθηκε ότι ορισμένα στελέχη του βióτυπου 1A προκαλούν λοιμώξεις, οι οποίες έχουν παρόμοια κλινικά συμπτώματα με τα στελέχη των υπόλοιπων βióτυπων και πιθανώς οφείλονται στην ύπαρξη άλλων νοσογόνων γονιδίων, όπως το *ystB* και το *hreP* (Tennant και άλλοι 2003, Huoninen και άλλοι 2010). Ο βióτυπος 1-A, ανιχνεύεται συχνά στο περιβάλλον, στα τρόφιμα και στα κόπρανα του ανθρώπου και των ζώων, χωρίς όμως να αποικίζει το γαστρεντερικό σωλήνα τους. Επίσης, ο βióτυπος 1A παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ετερογένεια, σε σχέση με τους υπόλοιπους βióτυπους της *Y. enterocolitica* και περιλαμβάνει μία μεγάλη ποικιλία οροτύπων, όπως τους ορότυπους O:5, O:6,30, O:6,31, O:7,8, O:10, αλλά και τα O-άτυπα είδη, που είναι τα πιο συχνά απομονωμένα (Tennant και συν., 2003).

Ο βióτυπος 1-B, ανιχνεύεται πολύ σπάνια στην Ευρώπη, είναι πιο συχνός στην Β. Αμερική και στην Ιαπωνία και δεν ανιχνεύεται στο περιβάλλον και στο νερό. Εντούτοις, θεωρείται ο πιο παθογόνος βióτυπος από όλους.

Στον άνθρωπο, ο βιότυπος 4 ανιχνεύεται συχνότερα, ενώ σε επίπεδο ορότυπου πιο συχνά απομονώνεται ο O:3. Άλλοι ορότυποι οι οποίοι απομονώνονται σχετικά συχνά από τον άνθρωπο είναι ο O:9 (βιότυπος 2) και O:5,27 (βιότυπος 2 ή 3).

Οι βιότυποι 2,4 απομονώνονται από το περιβάλλον και έχει παρατηρηθεί ότι ευθύνονται για πολλές περιπτώσεις μόλυνσης ανθρώπων στην Ευρώπη, ενώ στους χοίρους, οι βιότυποι αυτοί είναι ασυμπτωματικοί. Οι βιότυποι 3,5 ανιχνεύονται εξαιρετικά σπάνια.

Πίνακας 2: Βιοτυπικά σχήματα για την *Y. enterocolitica*.

Biochemical test	Αντιδράσεις των βιοτύπων					
	1A	1B	2	3	4	5
Lipase	+	+	-	-	-	-
Esculin/salicin (24 h)	+/+	-	-	-	-	-
Indole	+	+	(+)	-	-	-
Xylose	+	+	+	+	-	-
Trehalose	+	+	+	+	+	-
Pyrazinamidase	+	-	-	-	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	-

^a βασισμένα στον Wauters et al., (1987) , (+) = καθυστερημένη αντίδραση

+ = θετική, - = αρνητική

Επίσης, υπάρχουν τουλάχιστον 18 βλεφαριδικά αντιγόνα (H) τα οποία συμβολίζονται με λατινικά πεζά γράμματα (a,b,c,d,e κλπ). Ωστόσο, η ταξινόμηση σπάνια γίνεται λαμβάνοντας υπόψη ταυτόχρονα σωματικά και βλεφαριδικά αντιγόνα.

Τα στελέχη της *Y. enterocolitica* κατατάσσονται επίσης σε τρεις μεγάλες κατηγορίες ανάλογα την παθογένειά τους: σε α) υψηλής παθογένειας (pYV +, HPI+): βιότυπος 1-B, β) μέτριας παθογένειας (Pγv+, HPI-): βιότυποι 2,3,4,5 και γ) μη παθογένειας (pYV-, HPI-): βιότυπος 1-A.

Το είδος *Y. pseudotuberculosis*, δεν χωρίζεται σε βιότυπους, ενώ αποτελείται από 5 ορότυπους (I έως V). Οι ορότυποι που προσβάλουν τον άνθρωπο και τα ζώα είναι ο I και σε μικρότερο βαθμό ο III, καθώς αυτοί φέρουν το HPI (High-pathogenicity island), το οποίο οδηγεί σε συστηματική μόλυνση, με σοβαρότερα συμπτώματα από τα στελέχη του ορότυπου I. Όλα τα στελέχη της *Y.*

pseudotuberculosis είναι δυνητικά παθογόνα για τον άνθρωπο και τα ζώα, καθώς φέρουν το νοσογόνο πλασμίδιο *pYV*. Η *Y. pseudotuberculosis* έχει ως δεξαμενή στη φύση τα άγρια ζώα, ενώ πολύ δύσκολη είναι η απομόνωσή της από τα τρόφιμα και το περιβάλλον.

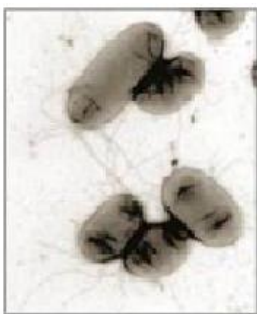
1.3) Μορφολογία

Η *Y. enterocolitica* είναι ένα Gram «->» μη σπορογόνο διεισδυτικό βακτήριο του εντέρου, αερόβιο και προαιρετικά αναερόβιο (Robbins - Browne, 2001). Το μέγεθός του είναι 0,5-3 μm και διαθέτει αποστρογγυλεμένα άκρα. Είναι κοκκοβακτηρίδιο διπολικής χρώσης με κέντρο που έχει πιο ανοιχτό χρωματισμό. Κατά την παρατήρησή του στο μικροσκόπιο, είναι χαρακτηριστική η έντονη κυματοειδής του κίνηση και η ύπαρξη 2-15 περιτρίχιων βλεφαρίδων σε κάθε κύτταρο, σε περίπτωση επώασης στους 25 °C, ενώ στους 37 °C είναι ακίνητο, χωρίς εμφανείς βλεφαρίδες. Το μήκος και το πλάτος των βλεφαρίδων κυμαίνεται από 2.82-2.85 μm και 0.27-0.29 μm, αντιστοίχως. Επιπλέον, παρατηρείται απουσία ελύτρου. Κατά κύριο λόγο διατάσσεται μεμονωμένα, ενώ έχουν παρατηρηθεί διατάξεις σε σωρούς ή αλυσίδες μικρού μεγέθους .

Χαρακτηριστικό του βακτηρίου, είναι το παράδοξο της κίνησης του στους 25 °C και της ακινησίας στους 37 °C, όταν εξετάζεται σε σωληνάριο που περιέχει ημίρρευστο άγαρ.

Η *Y. enterocolitica* , όπως όλα τα εντεροβακτηρίδια ζυμώνει τη γλυκόζη με παραγωγή οξέος, με ή χωρίς παραγωγή αερίου, ενώ δεν ζυμώνει τη λακτόζη . Το είδος αυτό έχει αρνητική αντίδραση οξειδάσης, ενώ είναι καταλάση θετικό. Η διάσπαση της ουρίας γίνεται κατά βάση μέσα σε 5 ώρες και η διάσπαση ενισχύεται σε θερμοκρασία των 37°C, ενώ μετά από 24ωρη επώαση, η διάσπαση πραγματοποιείται και είναι ευκρινής και στις δύο θερμοκρασίες, δηλαδή των 25°C και των 37°C.

Η ανάπτυξη του μικροβίου γίνεται με βραδείς ρυθμούς και απαιτείται επώαση 48 ωρών προκειμένου να σχηματιστούν αποικίες.



Εικόνα 1: Ηλεκτρονική μικροσκόπηση κυττάρων *Y. enterocolitica* (Πηγή: www.wadsworth.org).

Η συμπεριφορά των διαφόρων στελεχών ως προς την παραγωγή οξέος από τα σάκχαρα λιπάση, ξυλόζη, ινδόλη, σορβιτόλη, σουκρόζη και σορβόζη σε σχέση με τις δοκιμές αυτές, οδηγεί στη διάκριση των 330 στελεχών της *Y. enterocolitica* σε 5 βιότυπους. Πιο πρόσφατα, βέβαια, προτάθηκε από τον Wauters και τους συνεργάτες του η διάκριση σε 6 βιοτύπους του παθογόνου *Y. enterocolitica*.

Πίνακας 3: Βιότυποι *Y. enterocolitica* (Bercovier και συν. 1978, 1980)

Βιότυποι	Bercovier και συν., 1980					Bercovier και συν., 1978	
	1	2	3	4	5	3A	3B
Λιπάση	+	-	-	-	-	-	-
DNAse	-	-*	-*	+	+	+	+
Ινδόλη	+	+	-	-	-	-	-
D-Ξυλόζη	+	+	+	-	-*	+	+
Σουκρόζη	+	+	+	+	v	+	+
D-Τρεαλόζη	+	+	+	+	-	+	+
Νιτρικά	+	+	+	+	-	+	+
Voges-Proskauer						-	-
Σορβόζη/ινοσιτόλη						+	-

*μερικά καθυστερημένα +

Πίνακας 4: Βιότυποι *Y. enterocolitica* (Wauters και συν. (1987)

Βιοχημικές ιδιότητες	Βιότυποι						
	1A	1B	2	3	4	5	6
Λιπάση	+	+	-	-	-	-	-
Εσκουλίνη/σαλικίνη 24 h	±	-	-	-	-	-	-
Ινδόλη	+	+	(+)	-	-	-	-
Ξυλόζη	+	+	+	+	-	v	+
Τρεαλόζη/NO ₃	+	+	+	+	+	-	+
Πυραζιναμιδάση	+	-	-	-	-	-	+
β-D-Γλυκοσιδάση	+	-	-	-	-	-	-
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	(+)	-
Πεπτιδάση προλίνης	v	-	-	-	-	-	+

Τέλος, τα περισσότερα στελέχη ανάγουν τα νιτρικά άλατα, και στις δύο θερμοκρασίες, με σπάνιες εξαιρέσεις στελεχών του βιότυπου 5. Παραγωγή οξέος προκαλείται από ζύμωση των σακχάρων, όπως η D-γλυκόζη, η D-μανόζη, η D-σελλοβιόζη, και η D-μαννιτόλη, σε χρονικό διάστημα 1-3 ημερών. Αντίθετα, δεν προκαλείται ζύμωση στα σάκχαρα L-ραμινόζη, D-μελιβιόζη, D-ραφινόζη, ιουλίνη, αδονιτόλη και ερυθριτόλη. Έτσι, με βάση τη ζύμωση επιλεγμένων οργανικών υποστρωμάτων, έχει επικρατήσει η *Y. enterocolitica* να κατατάσσεται στις πέντε βιο-ομάδες: 1A, 1B, 2, 3, 4, και 5.

1.4) Ανάπτυξη και Επιβίωση

Η *Yersinia* είναι ψυχρότροφο βακτήριο, καθώς μπορεί να αναπτύσσεται σε ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών που κυμαίνεται από 0-44°C. Όμως μπορεί να επιβιώνει και να αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες έως -5 °C, παρ' ότι η ιδανική θερμοκρασία για τη βέλτιστη ανάπτυξη του είναι 28-30 °C (Sutherland και Varnam, 1977).

Γενικά, σε συνθήκες ψύξης επιβιώνει, χωρίς όμως να πολλαπλασιάζεται γρήγορα. Αντίθετα, η *Yersinia* είναι αρκετά ευαίσθητη στη συνήθη θερμική επεξεργασία (62,5°C για 15sec). Επιπλέον, το βακτήριο χαρακτηρίζεται ως προαιρετικά αναερόβιο, επομένως μπορεί να επιβιώσει και σε συνθήκες μειωμένης παρουσίας οξυγόνου. Για το λόγο αυτό, συχνά διαπιστώνονται θέματα στη σύγχρονη τροφική αλυσίδα, καθώς αυτή στηρίζεται στη διατήρηση των τροφίμων υπό ψύξη ή κατάψυξη και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, συμπεριλαμβανομένου και της συσκευασίας υπό κενό. Η ανάπτυξη, επομένως, της *Y. enterocolitica* στις παραπάνω συνθήκες, εξαρτάται από μία σειρά άλλων παραμέτρων όπως το pH, η ταυτόχρονη παρουσία άλλων μικροοργανισμών ή η συσκευασία παρουσία αδρανών ή μη αερίων.

Η *Yersinia* δεν θεωρείται καλός ανταγωνιστής σε σχέση με άλλους μικροοργανισμούς, επομένως αναπτύσσεται ευκολότερα απουσία άλλων μικροοργανισμών, γεγονός που εξηγεί και τον μικρότερο βαθμό ανάπτυξης στα νωπά κρέατα σε σύγκριση με τα μαγειρεμένα (Sciemann, 1989).

Το ιδανικό pH για την ανάπτυξη της *Yersinia* είναι 7,2-7,4, παρ' ότι μπορεί να αναπτυχθεί από pH 4,2 έως 10.

Επίσης, αδυνατεί να αναπτυχθεί σε $a_w < 0,945$, όπως επίσης έχει παρατηρηθεί αναστολή της ανάπτυξής της σε επίπεδα NaCl 5-7%.

Μεταξύ των διάφορων στελεχών που ανήκουν στο κάθε είδος, υπάρχει αξιοσημείωτη ποικιλομορφία στα βιοχημικά χαρακτηριστικά. Επομένως, παρατηρείται και μεγάλη διαφορά μεταξύ των στελεχών ως προς την ευαισθησία στη θερμική επεξεργασία. Συνήθως, η πλειονότητα των στελεχών δεν

δεύτερο χρόνο, δηλαδή μέσω της τροφής αυτών των ζώων ή πτηνών από άλλα μολυσμένα έντομα και θηλαστικά.

Επομένως, η μετάδοση της *Y. enterocolitica* πραγματοποιείται με πολλούς τρόπους, με βασικότερο να θεωρείται η τροφιμογενής μετάδοση. Το τρόφιμο που συνδέεται συχνότερα με το παθογόνο είναι το χοιρινό κρέας και τα προϊόντα του. Μάλιστα αναφέρεται ότι το 77,3% των περιστατικών υερσινίωσης στον άνθρωπο οφείλεται στην κατανάλωση χοιρινού κρέατος (Fosse et al. 2008).

Επόμενη σε συχνότητα είναι η άμεση ή έμμεση επαφή με μολυσμένα ζώα, μολυσμένο αίμα, ενώ πού σπανιότερη είναι η μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο. Μόνο σε περίπτωση σπάνιας εξω-εντερικής νόσου, θεωρείται η άμεση μετάδοση ως ο επικρατέστερος τρόπος μετάδοσης αυτού του κλασσικού εντεροπαθογόνου.

Οι χοίροι θεωρούνται η κύρια δεξαμενή και το χοιρινό κρέας και τα προϊόντα του χοιρινού κρέατος το βασικό μέσο διάδοσης της *Y. enterocolitica*, αφού τα παθογόνα στελέχη του μικροοργανισμού συχνά ανευρίσκονται στην κεφαλή, τις αμυγδαλές και τον εντερικό σωλήνα των χοίρων. Οι Fredriksson-Ahomaa και συν. (2006) και Falcao και συν. (2006) παρατήρησαν μία μεγάλη ομοιότητα των γενότυπων μεταξύ των ανθρώπινων και των ειδών που ανιχνεύθηκαν στα χοιρινά.

2) Παρουσία της *Y. enterocolitica* στα ζώα

2.1) *Y. enterocolitica* σε χοίρους

Στους χοίρους, η *Y. enterocolitica* είναι ευρέως διαδεδομένη, για το λόγο αυτό τα χοιρινά θεωρούνται ως οι κύριες δεξαμενές του μικροβίου (Πίνακας 6). Εντούτοις, οι χοίροι στη συντριπτική τους πλειοψηφία είναι ασυμπτωματικοί. Στα χοιροστάσια, υπάρχει αυξημένο φορτίο της *Yersinia*, αν και τα περιστατικά εμφάνισης υερσινίωσης είναι συγκριτικά πολύ λιγότερα. Στις εκτροφές των περισσότερων χωρών που έχουν μελετηθεί, η συχνότητα εμφάνισης του *Y. enterocolitica* είναι υψηλή, ενώ ο επιπολασμός της *Y. pseudotuberculosis* είναι σημαντικά μικρότερος.

Πίνακας 6: Παρουσία *Y. enterocolitica* σε εκτροφές χοίρων σε διάφορες χώρες (Nathues και συν., 2013)

Country	Species	N ^a of farms	N of pigs	N of positive farms (%)	N of positive pigs (%)	Biotype/serotype ^b	References
Canada	YE	31	110	15 (48)	15 (14)	4/0:3	(Farzan and others 2010)
	YE	20	1010	16 (80)	136 (13) ^c	0:3, 0:5 0:9	(Pilon and others 2000)
Finland	YE	15	364	12 (80)	22 (6)	4/0:3	(Laukkanen and others 2009)
Germany	YE	30	900	13 (43)	76 (8)	ND	(von Altröck and others 2006)
	YE	12	716	3 (25)	84 (12)	0:3 (83), 0:9 (1)	(Wehebrink and others 2008)
Lithuania	YE	9	90	4 (44)	20 (22)	4/0:3	(Novoslauskij and others 2013)
United States	YE	77	2793	17 (22)	106 (4)	0:3 (79), 0:5 (27)	(Bhaduri and others 2005; Bhaduri and Wesley 2006)

Η εξάπλωση της *Y. enterocolitica* δεν συσχετίζεται με την ύπαρξη σαλμονέλας στην εκτροφή. Στους χοίρους η μόλυνση από *Y. enterocolitica* εντοπίζεται συχνότερα στις αμυγδαλές, αλλά επίσης στη γλώσσα, στο απευθυσμένο και στον εντερικό λεμφικό ιστό. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι το ποσοστό απομόνωσης από αμυγδαλές σε χοίρους προ της σφαγής, και γλώσσα είναι αρκετά μεγαλύτερο σε σχέση με τα κόπρανα και το περιεχόμενο του εντέρου (Fredriksson-Ahomaa και συν., 2006). Από τα σημεία αυτά μπορεί εύκολα να επιμολυνθεί το σφάγιο κατά τη σφαγή των χοίρων και τον παραπέρα χειρισμό του (Schiemann, 1980).

Ο πιο συχνός παθογόνος βιο-ορότυπος στους χοίρους είναι ο 4/O:3, που βρίσκεται κυρίως σε Ευρωπαϊκές χώρες, ενώ σπανιότερα απομονώνεται ο 2/O:9, όπως και ο 2/O:5. Ο βιο-ορότυπος 4/O:3 είναι ο επικρατέστερος σε χοίρους πολλών ευρωπαϊκών χωρών, όπως το Βέλγιο (91%), η Ιταλία (99%), η Ισπανία (100%), η Εσθονία (100%) (Nathues και συν., 2013). Σε εκτροφές χοίρων της Αγγλίας, ανιχνεύονται κυρίως οι βιο - ορότυποι 2/O: 9 (33%), 2/O:5 (26%), O:3 (43%), 26% στον ορότυπο O:5 και 4% στον ορότυπο O:9 (Tadesse και συν., 2013). Όμως, μόνο σε ποσοστό 13% αυτά ήταν θετικά για το *yadA* και το 40% ήταν *ail* θετικά. Στην Κίνα, κατά το χρονικό διάστημα 2009 - 2011 έγιναν ερευνητικές μελέτες σε αρκετές περιοχές της χώρας προκειμένου να διαπιστωθεί η ύπαρξη παθογόνων στελεχών της *Yersinia*. Τα αποτελέσματα έδειξαν θετικά δείγματα στο 20% φαρυγγικών επιχρισμάτων, το 8% των δειγμάτων του εντέρου και το 5% των δειγμάτων κοπράνων. Η απομόνωση περιλάμβανε κυρίως στελέχη του βιο-ορότυπου 3/O:3, ενώ σπανιότερα βιο-ορότυποι 4/O: 3 και 2/O:9. Ωστόσο, το μικρό ποσοστό δειγματοληψιών που έχουν πραγματοποιηθεί, οι εκάστοτε χρησιμοποιούμενες τεχνικές απομόνωσης αλλά και η μέθοδος δειγματοληψίας που ακολουθείται σε κάθε περίπτωση δεν συμβάλουν στην εξακρίβωση των παρατηρούμενων ποσοστών.

Τα παθογόνα στελέχη της *Yersinia* ανιχνεύονται κυρίως σε παχυνόμενα χοιρίδια ή χοιρινά έτοιμα προς σφαγή. Αξιοσημείωτη είναι η μεγαλύτερη συχνότητα ανίχνευσης του *Y. enterocolitica* σε χοιρινά πάχυνσης σε σχέση με τις χοιρομητέρες στο σφαγείο, καθώς σε αυτές έχει ήδη αναπτυχθεί φυσική ανοσία. Και πάλι όμως, τα χοιρίδια μπορούν να προσλάβουν το παθογόνο από τις χοιρομητέρες, χωρίς βέβαια αυτή να είναι η κύρια πηγή μόλυνσής τους, γεγονός που συμπεραίνεται από τον μικρό αριθμό κρουσμάτων σε αυτές τις ηλικιακές ομάδες. Στα νεογέννητα χοιρίδια και τις χοιρομητέρες τα ποσοστά είναι αρκετά μικρότερα. Στα νεογέννητα χοιρίδια, προστατευτικό ρόλο διαδραματίζει η λήψη πρωτογάλακτος, όπως και ο φυσιολογικός τοκετός σε σχέση με τη διενέργεια καισαρικής τομής.

Μόλυνση του περιβάλλοντος και των υπόλοιπων χοιρινών μπορεί να προκληθεί από χοιρίδια ηλικίας άνω των 14 εβδομάδων, ενώ ανίχνευση αντισωμάτων έναντι του μικροβίου απαιτεί τη διέλευση τουλάχιστον 12 ημερών από την ημέρα της μόλυνσης. Σε χοιρίδια 15 εβδομάδων ανευρέθηκε αυξημένος τίτλος αντισωμάτων, επομένως συμπεραίνεται ότι η μόλυνση πραγματοποιείται έπειτα από τις πρώτες 13 εβδομάδες ζωής του ζώου. Σε αυτή τη φάση της ζωής τους τα χοιρίδια μεταφέρονται στα κελιά πάχυνσης.

Η ανεύρεση του παθογόνου στελέχους *Y. enterocolitica* σχετίζεται πέρα από την ηλικία των χοιριδίων και με το σημείο της δειγματοληψίας. Αξιοσημείωτη αύξηση της ανεύρεσης αντισωμάτων κατά της *Y. enterocolitica* παρατηρούνται κατά την απομόνωση του μικροοργανισμού από τα κόπρανα και τις αμυγδαλές (Fukushima και συν. 1983, Nielsen και συν. 1996, Nesbakken και συν. 2006).

Οι αμυγδαλές είναι το σημείο πάνω στο χοιρινό, στο οποίο υπάρχει το μικρόβιο στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις για πολλούς μήνες. Αντίθετα, στα κόπρανα το παθογόνο ανιχνεύεται μόνο σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη μόλυνση (Fukushima και συν. 1983, Nielsen και συν. 1996, Nesbakken και συν. 2006, Virtanen και συν. 2012).

Κατά τη διάρκεια μίας μελέτης στην οποία οι ερευνητές επιμόλυναν χοιρίδια με *Y. enterocolitica* O:3 και O:5,27 η απομόνωση του μικροβίου στα κόπρανα ελαττώθηκε ή σταμάτησε εντελώς μέσα σε 3 έως 5 εβδομάδες από τη στιγμή της μόλυνσης. (Fukushima και συν. 1984, Nielsen και συν. 1996). Όμως, όταν ερευνήθηκαν περιστατικά φυσικών μολύνσεων, στα κόπρανα της πλειοψηφίας των χοιριδίων ανιχνεύτηκαν παθογόνα στελέχη *Y. enterocolitica* σε ηλικίες από 12 έως 21 εβδομάδων (Fukushima και συν. 1983, Gürtler και συν. 2005, Nesbakken και συν. 2006, Virtanen και συν. 2012). Πρόσφατα, παρατηρήθηκε ένα ζενίθ έκκρισης της *Y. enterocolitica* σε χοίρους 2 έως 3 μηνών, ενώ η ανίχνευση αντισωμάτων στον ορό αυξήθηκε τους πρώτους 5 μήνες (Vilar και συν. 2013). Τα δεδομένα για τη διατήρηση και απέκκριση του *Y. pseudotuberculosis* από τα παχυνόμενα χοιρίδια είναι περιορισμένα.

Βασιζόμενοι σε στοιχεία που ελήφθησαν από τεχνητή επιμόλυνση των χοιριδίων με τον μικροοργανισμό, οι ερευνητές διαπίστωσαν έκκριση της *Y. pseudotuberculosis* O: 3 την ημέρα 8 μετά τη μόλυνση, ενώ αντισώματα βρέθηκαν την 10^η ημέρα μετά τον ενοφθαλμισμό (Slee και Button 1990). Στα παχυνόμενα χοιρίδια, η ανίχνευση του *Y. pseudotuberculosis* σε αμυγδαλές και σε δείγματα κοπράνων είναι πιο σπάνια σε σχέση με το *Y. enterocolitica*. Ο Laukkanen και οι συνεργάτες του, σε μια έρευνα που πραγματοποίησαν το 2008, απομόνωσαν στελέχη *Y. pseudotuberculosis* από παχυνόμενα χοιρίδια σε ποσοστό 8% από δείγματα κοπράνων και 10% από δείγματα αμυγδαλών από τα σφάγια.

Ένα εξίσου σημαντικό στοιχείο της μόλυνσης των χοιρινών με την εντεροπαθογόνο *Yersinia*, είναι το γεγονός η διατήρηση της υγείας των ζώων δεν ασκεί μεγάλη επίδραση στη συχνότητα εμφάνισης της. Μελέτη σε εκτροφές των Σκανδιναβικών χωρών έδειξε ότι στους παχυνόμενους χοίρους η αυξημένη χρήση αντιβιοτικών οδήγησε σε αύξηση του επιπολασμού της *Y. enterocolitica* (Virtanen και συν. 2011). Επιπλέον, η ύπαρξη του παθογόνου *Y. enterocolitica* σε μία εκμετάλλευση είχε σχέση με συγκεκριμένες μεταβλητές που συμβάλουν στην υγεία των ζώων, όπως η προσθήκη αντιβιοτικών στο σιτηρέσιο, τα εμβόλια για την πρόληψη της *E. coli* και η καθυστέρηση ανάπτυξης της σωματικής διάπλασης εξαιτίας νοσημάτων όπως το PRRS, αλλά όχι με συμπτώματα σαλμονέλλωσης, ύπαρξη ενδοπαρασίτων, γαστρικών ελκών και ειλεΐτιδας. (Wesley και συν. 2008). Γενικά τα συχνά νοσήματα που οδηγούν σε μειωμένο ρυθμό ανάπτυξης συμβάλουν στην αύξηση των ποσοστών ανιχνεύσιμων αντισωμάτων για *Y. enterocolitica*, ενώ το αντίθετο συμβαίνει με τα αντισώματα για *Salmonella* (von

Altrock και συν. 2011). Επίσης, το *Y. enterocolitica* (4/0:3 και ο βιότυπος 1A) απομονώθηκε αρκετά από τις ομάδες χοιρινών χαμηλού κινδύνου για *Salmonella* (von Altrock και συν. 2011, Nathues και συν. 2013). Αντίθετα, δεν υπάρχουν μελέτες για το πως η υγεία των ζώων επηρεάζει τη συχνότητα εμφάνισης της *Y. pseudotuberculosis*.

Επιπλέον, τα ποσοστά μόλυνσης από το *Y. enterocolitica* αυξάνονται κατά την περίοδο του χειμώνα, πιθανώς λόγω των χαμηλών θερμοκρασιών που επικρατούν εκείνη την περίοδο (Fondrevéz και συν. 2014). Όμως, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να εξακριβωθεί η ορθότητα των ευρημάτων. Η εποχική διακύμανση με αύξηση του επιπολασμού της *Y. enterocolitica* τους χειμερινούς μήνες, παρατηρείται και στα στελέχη του *Y. pseudotuberculosis* (Slee και Button 1990). Ωστόσο κι εδώ απαιτούνται περαιτέρω μελέτες, καθώς μία άλλη μελέτη έδειξε αύξηση της συχνότητας εμφάνισης της *Y. pseudotuberculosis* στην Αγγλία κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού (Ortiz Martínez και συν. 2010).

2.2) *Y. enterocolitica* σε εκμεταλλεύσεις

Η ανίχνευση του εντεροπαθογόνου στελέχους της *Yersinia* είναι συχνή σε εγκαταστάσεις παραγωγής χοίρειου κρέατος παγκοσμίως, επομένως με εξίσου μεγάλη συχνότητα απομονώνεται και στα χοιροστάσια. Έτσι, κατά την έλευση των χοίρων στο χώρο του σφαγείου, ήδη φέρουν μεγάλες συγκεντρώσεις του παθογόνου στελέχους και ως εκ τούτου προκύπτουν πολλά μολυσμένα σφάγια που αυξάνουν την πιθανότητα μόλυνσης και του ανθρώπου ο οποίος έρχεται σε επαφή με αυτά. Επομένως, το πιο αποτελεσματικό μέσο για μείωση των περιστατικών υερσινίωσης που προκύπτουν από κατανάλωση μολυσμένου χοιρινού κρέατος είναι η μείωση του μικροβιακού φορτίου στο χώρο της χοιροτροφικής εκμετάλλευσης.

2.2.1) Επίδραση των διαχειριστικών μεθόδων

Σύμφωνα με τη μελέτη της Ομάδας Εργασίας για την Ασφάλεια των Τροφίμων του ΟΙΕ για την Ασφάλεια των Τροφίμων (2006), η τήρηση των κανόνων υγιεινής δεν συμβάλλουν στη μείωση του μικροβιακού φορτίου της εντεροπαθογόνου *Yersinia* στις εκτροφές. Άρα, η απαιτούμενη αυτή μείωση στις χοιροτροφικές εκμεταλλεύσεις θα πραγματοποιηθεί μόνο εάν η κάθε εκτροφή χρησιμοποιεί χοιρίδια για πάχυνση που προέρχονται μόνο από οροαρνητικές εκμεταλλεύσεις για *Y. enterocolitica*. (Virtanen και άλλοι 2012, 2014). Η μέθοδος "all-in / all-out" φαίνεται να μειώνει τη μετάδοση του *Y. enterocolitica* στην εκμετάλλευση σε σύγκριση με τη συνεχή παραγωγή. Επίσης, η αγορά χοιριδίων από μία ελεγχόμενη εκτροφή αντί για πολλαπλές εκμεταλλεύσεις μειώνει τον κίνδυνο εισαγωγής του *Y. enterocolitica* στα κελιά των χοιριδίων πάχυνσης (Virtanen και συν. 2012, 2014, Vilar και συν. 2013).

Επομένως, σε κάθε εκμετάλλευση απαιτείται η δημιουργία ενός πυρήνα χοίρων αναπαραγωγής απαλλαγμένα από *Y. enterocolitica* 4/O:3 (Nesbakken και συν. 2007), όπως και τακτικός ορολογικός έλεγχος των χοιρομητέρων και του περιβάλλοντος εκτροφής. Η ανάγκη, όμως, για οικονομικά προσιτές πρακτικές για τη δημιουργία απαλλαγμένων από *Y. enterocolitica* εκτροφών πάχυνσης χοιριδίων κρίνεται επιτακτική, λόγω της συνεχώς αυξανόμενης συχνότητας εμφάνισης των παθογόνων στελεχών στις εκτροφές αυτές. Για την πραγματοποίηση του σχεδίου, απαιτείται πιο ολοκληρωμένη γνώση σχετικά με τις πιθανές πηγές μόλυνσης των χοιριδίων με τα εντεροπαθογόνα στελέχη καθώς και σχετικά με το ρόλο του περιβάλλοντος διαβίωσης και των χοιρομητέρων στον επιπολασμό, ώστε στην πορεία να ληφθούν αποτελεσματικά μέτρα.

2.2.2) Επίδραση άλλων παραγόντων

Ο μικροβιακός ανταγωνισμός συνέβαλε αρκετά στον περιορισμό της εξάπλωσης της σαλμονέλας κατά την παραγωγική διαδικασία των πουλερικών (Nurmi και Rantala 1973), ωστόσο, δεν υπάρχει ικανοποιητικός αριθμός μελετών για την επίδραση του μικροβιακού ανταγωνισμού στην εντεροπαθογόνο *Yersinia*. Τα αποτελέσματα μίας μελέτης έδειξαν ότι η ανάπτυξη του οροτύπου O: 3 του *Y. enterocolitica* αναστέλλεται μέσω της δράσης των μικροβίων που αποικίζουν τον ειλέο ή το τυφλό (Asplund και συν. 1996). Ο Hussein και οι συνεργάτες του (2003) μελέτησαν την επίδραση του μικροβιακού ανταγωνισμού στα απαθογόνα στελέχη της *Y. enterocolitica* και συμπέραναν ότι η απαθογόνος *Y. enterocolitica* 1A ελάττωσε την προσκόλληση της παθογόνου *Y. enterocolitica* 4/O:3 *in vitro*, σε περίπτωση που η *Y. enterocolitica* 1A ήταν παρούσα πριν από την *Y. enterocolitica* 4/O:3 (Hussein και συν. 2003). Σε επίμυες, υπάρχουν επίσης μελέτες που καταδεικνύουν διασταυρούμενη προστασία έναντι διαφορετικών οροτύπων *Y. enterocolitica* και *Y. pseudotuberculosis* (Uchida και συν. 1982, Kaneko και Hashimoto 1983). Όμως, δεν υπήρξαν μελέτες που έδειξαν συσχέτιση μικροβιακού ανταγωνισμού με ελάττωση των συγκεντρώσεων της εντεροπαθογόνου *Yersinia* σε χοίρους.

Ορισμένα στελέχη της *Y. enterocolitica* είναι ευαίσθητα κατά των βακτηριοσινών που απομονώνονται από τα *Y. krsitensenii*. (Toora και συν. 1994, Franzin και συν. 2003). Οι βακτηριοσίνες όπως η εντεροκολλιστίνη που απομονώθηκε από το στέλεχος 29930 (Strauch και συν. 2001) και η εντεροσίνη LR / 6 του *Y. enterocolitica* (1A/0:7,8) που απομονώθηκε από το *Enterococcus faecium*, ελέγχθηκαν προκειμένου να αποδειχθεί εάν αναστέλλουν το *Y. enterocolitica* 4/0:3 (στελέχη 13169 και 6471/76) (Damasko και συν. 2005). Τόσο η εντεροκολλιστίνη όσο και η εντεροσίνη LR / 6 *in vitro* οδήγησαν σε αναστολή των παθογόνων στελεχών. (Damasko και συν. 2005, Kumar και Srivastava 2010).

Ωστόσο, στους επίμυες, η εντεροκολλιστίνη δεν μείωσε το μικροβιακό φορτίο της *Y. enterocolitica* (Damasko και συν. 2005), ενώ η εντεροσίνη LR / 6 δεν έχει μελετηθεί ακόμη *in vitro*. (Kumar και Srivastava 2010). Μια άλλη βακτηριοσίνη, η ρευτερίνη, είναι επιβεβαιωμένο ότι μπορεί να μειώσει τους πληθυσμούς της *Y. enterocolitica* (στέλεχος CECT559) στο γάλα σε 24 ώρες κατά την επώαση στους 37 °C, χωρίς ωστόσο να την εξαλείφει εντελώς (Arqués και συν. 2004). Πολλές έρευνες έχουν γίνει και για την επίδραση των βακτηριοφάγων στον περιορισμό των παθογόνων μικροοργανισμών, όπως και της *Y. enterocolitica* σε ζώα και ανθρώπους (Rajunen και συν. 2003, Skurnik και Strauch 2006, García και συν. 2008, Monk και συν. 2010). Παρ' όλα αυτά δεν έχει ακόμη βρεθεί η συμβολή των βακτηριοφάγων στη μείωση του επιπολασμού της *Yersinia* κατά την στην παραγωγή χοιρινού κρέατος.

Τα εμβόλια που έχουν σχεδιαστεί κατά της *Y. pseudotuberculosis* (O:1), πωλούνται στο εμπόριο και χρησιμοποιούνται κυρίως σε ζώα που φιλοξενούνται σε ζωολογικούς κήπους (Williams 2004, Quintard και συν. 2010) και σε ελάφια (Thornton και Smith 1996). Η *Y. pseudotuberculosis* προσβάλλει αυτά τα ζωικά είδη και παρουσιάζει αυξημένη θνησιμότητα, ωστόσο η αποτελεσματικότητα αυτών των εμβολιασμών αμφισβητείται ευρέως (Bielli και συν. 1999, Quintard και συν. 2010).

Έτσι, η έρευνα στρέφεται σε νέα εμβόλια κατά της *Y. pseudotuberculosis* (Balada-Llasat και συν. 2007, Quintard και συν. 2010). Τα αποτελέσματα μέχρι στιγμής έδειξαν ότι υπάρχει ένα εξασθενημένο στέλεχος *Salmonella* Typhimurium που μπορεί να δράσει προστατευτικά στους επίμυες μετά από πειραματική μόλυνση με *Y. pseudotuberculosis* και ορισμένα παθογόνα στελέχη *Y. enterocolitica* (Branger και συν. 2009). Με τα σημερινά δεδομένα, η δημιουργία εμβολίων στα χοίρους θεωρείται σε πρώιμο στάδιο, τόσο για την *Y. enterocolitica* όσο και για την *Y. pseudotuberculosis*.

Συμπερασματικά, ο μικροβιακός ανταγωνισμός, η δράση των βακτηριοσινών και των φάγων, καθώς και τα εμβόλια δεν φαίνεται να συμβάλλουν αποτελεσματικά στη μείωση του επιπολασμού του εντεροπαθογόνου στελέχους *Yersinia* σε χοίρους.

2.2.3) Παραγωγική κατεύθυνση και διαχείριση

Η συχνότητα απομόνωσης των εντεροπαθογόνων στελεχών εμφανίζει μεγάλες διακυμάνσεις μεταξύ των διάφορων εκτροφών χοίρων (Fukushima και συν. 1983, Andersen και συν. 1991, Letellier και συν. 1999, Gürtler και συν. 2005, Laukkanen και συν. 2008, Laukkanen και συν. 2009, Vanantwerpen και συν. 2013, Vanantwerpen και συν. 2014). Το γεγονός αυτό, καταδεικνύει ότι υπάρχουν πολλοί παράγοντες που επηρεάζουν τον επιπολασμό των παθογόνων βιο-ορότυπων της *Yersinia* στις

χοιροτροφικές εκμεταλλεύσεις, όπως οι διαφορετικές συνθήκες και οι διαχειριστικές μέθοδοι που ακολουθούνται σε κάθε μονάδα παραγωγής χοιρινών.

Ο Virtanen και οι συνεργάτες του (2012) παρατήρησαν ότι η μόλυνση μικρού αριθμού χοιριδίων πάχυνσης είναι ικανή να εξαπλώσει τη μόλυνση σε ολόκληρη την εκτροφή. Μονάδες που έχουν δειγματιστεί πολλές φορές, καταδεικνύουν ότι η μόλυνση με *Y. enterocolitica* και *Y. pseudotuberculosis* είναι αρκετά επίμονη (Skjerve και συν. 1998, Pilon και συν. 2000, Niskanen και συν. 2008, Poljak και συν. 2010), χωρίς βέβαια να έχουν αποσαφηνιστεί οι βασικές πηγές της μόλυνσης, με επικρατέστερες θεωρίες τη μετάδοση του μέσω του περιβάλλοντος, όπως για παράδειγμα με επαφή υγιούς και μολυσμένου χοιριδίου ή μέσω μολυσμένης δεξαμενής νερού, καθώς και μέσω άμεσης επαφής μεταξύ των χοιριδίων (Fukushima και συν. 1983, Skjerve και συν. 1998, Pilon και συν. 2000).

Μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι η άμεση επαφή των χοιριδίων κατά τη διαμονή στους θαλάμους, ο θηλασμός, η υψηλή παραγωγική ικανότητα, η χορήγηση υγρών τροφών, η ύπαρξη εντόμων στο χοιροστάσιο είναι ορισμένες από τις βασικές αιτίες που έχουν συσχετιστεί με αυξημένο ποσοστό εμφάνισης της *Y. enterocolitica*. Επομένως, η βιολογική παραγωγή χοιρινών, η χαμηλή παραγωγική ικανότητα, η παραγωγή από νεογέννητα έως χοιρινά έτοιμα για σφαγή (παραγωγική κατεύθυνση 'Farrow-to-finish') και η δημιουργία από τον χοιροτρόφο του μείγματος του σιτηρεσίου των χοίρων που θα οδηγηθούν σε σφαγή ή η προμήθεια του από συγκεκριμένες και αξιόπιστες εταιρείες παραγωγής ζωοτροφών, συμβάλουν στην πρόληψη της εξάπλωσης του παθογόνου *Y. enterocolitica*. Ακόμη, οι διαχειριστικές τεχνικές και η προέλευση των χοιρινών επηρεάζουν το ποσοστό εμφάνισης σε μία εκτροφή. Η χρήση του νερού του δικτύου, η βιολογική παραγωγή, η χρήση ενός συστήματος «all-in all-out» στις μονάδες απογαλακτισμένων χοιριδίων και παχυνόμενων χοιριδίων, η αγορά χοιριδίων από μία μονάδα απαλλαγμένη από την *Y. enterocolitica*, καθώς και η τήρηση κανόνων υγιεινής όπως η ύπαρξη κλινοστρωμένης συμβάλουν στη μείωση του επιπολασμού των παθογόνων στελεχών.

Το νερό θεωρείται ως άλλη μία πιθανή πηγή μόλυνσης των χοιρινών με *Y. enterocolitica*. Η χρήση νερού από το δίκτυο συμβάλει στην αποτροπή εξάπλωσης του παθογόνου, αν και σπάνια το νερό θεωρείται μολυσματικός παράγοντας, καθώς σπάνια σε ελέγχους νερού από χοιροστάσια ανιχνεύεται θετικό δείγμα. Ωστόσο, περιστασιακά, στελέχη βιοορότυπου 4:O/3 έχουν απομονωθεί από ύδατα λυμάτων (Berzero και συν, 1991, Sulakvelidze και συν., 1996).

Παράγοντας που συνέβαλε στη μετάδοση της *Y. enterocolitica* θεωρήθηκε επίσης, η άμεση επαφή χοιριδίων (Virtanen και συν. 2011). Επίσης, παράγοντας κινδύνου θεωρήθηκε η απουσία στρωμνής στα κελιά (Laukkanen και συν. 2009, Virtanen και συν. 2011, Vilar και συν. 2013).

Η χορήγηση στους χοίρους εμπορικών ζωοτροφών και εμπορικών υποπροϊόντων, αύξησε τα κρούσματα υερσινίωσης (Nowak και συν. 2006, Virtanen και συν. 2011). Αντίθετα, τα σιτηρέσια που περιείχαν κρεατάλευρο και ιχθυάλευρο ή λίπη φυτικής και ζωικής προέλευσης δεν αποτελούσαν προδιαθετικό παράγοντα (Wesley και συν. 2008).

Η οδός μετάδοσης μπορεί να διαφέρει με βάση την έκταση της επιμόλυνσης στο χοιροστάσιο. Σε εκτροφές χοίρων με χαμηλό ποσοστό εμφάνισης των παθογόνων στελεχών, η άμεση μετάδοση θεωρείται ως η επικρατούσα οδός μετάδοσης, σε σχέση με την περιβαλλοντική, αν και χρειάζεται περισσότερη έρευνα επί του θέματος (Fukushima και συν. 1984, Pilon και συν. 2000).

Η εκάστοτε χρησιμοποιούμενη παραγωγική διαδικασία, καθώς και η δυναμική ενός χοιροστασίου δεν έχει εξακριβωθεί πλήρως πως συμβάλουν στην εμφάνιση παθογόνων στελεχών της *Yersinia*. Σε έρευνες που διεξήχθησαν στη Νορβηγία, η *Y. enterocolitica* O:3 απομονώθηκε πιο συχνά σε εκτροφές εντατικής παραγωγής, ενώ η παραγωγική ικανότητα ήταν ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου για τη νόσο (Skjerve και συν. 1998, Nesbakken και συν. 2003). Αντίθετα, στις Ηνωμένες Πολιτείες, τη Δανία και τη Φινλανδία δεν εμφανίστηκαν τα ίδια δεδομένα στον ίδιο τύπο εκτροφών (Andersen και συν. 1991, Wesley και συν. 2008, Laukkanen και συν. 2010).

Οι χοίροι φορείς της *Y. enterocolitica* θεωρείται ότι μπορούν να μεταδώσουν από μία χοιροτροφική εκμετάλλευση σε άλλη, καθώς ίδιοι γενότυποι έχουν ανιχνευθεί στις εκτροφές προέλευσης και στις εκτροφές που μεταφέρθηκαν τα ζώα (Virtanen και συν. 2014). Καθώς όμως, χοίροι που έχουν προσλάβει το παθογόνο στέλεχος από μία εκτροφή χοίρων αναπαραγωγής μπορούν να το διασπείρουν σε όλα τα ζώα μιας χοιροτροφικής μονάδας πάχυνσης (Virtanen και συν. 2012), τα χοιρίδια αποτελούν βασική οδό εισόδου του *Y. enterocolitica* σε εκμεταλλεύσεις χοίρων πάχυνσης. Επίσης, η προμήθεια χοιριδίων από πολλές διαφορετικές εκμεταλλεύσεις αυξάνει τον επιπολασμό του *Y. enterocolitica* στο χοιροστάσιο, ενώ η πρακτική all-in / all-out τον ελαττώνει (Vilar και συν. 2013).

Η τήρηση κανόνων υγιεινής, όπως το συχνό πλύσιμο και η προσεκτική απολύμανση των κελιών όπου διαμένουν τα ζώα, αναφέρεται ότι δεν συνέβαλαν στην μείωση της συχνότητας μετάδοσης των παθογόνων στελεχών της *Yersinia* (Siekkinen και συν. 2006, Laukkanen και συν. 2008, Virtanen και συν. 2011). Αντίστοιχα συμπεράσματα παρατηρήθηκαν και από τη λήψη προληπτικών μέτρων για τον περιορισμό της μετάδοσης των υπόλοιπων ζωνοσώων, τα οποία θεωρήθηκαν αναποτελεσματικά στην πρόληψη της *Y. enterocolitica* (Skjerve και συν. 1998, Virtanen και συν. 2011).

Χαρακτηριστικό των συμπερασμάτων αυτών είναι το γεγονός πως η μεγαλύτερη απομόνωση των *Y. enterocolitica* γίνεται κατά τη δειγματοληψία στην ταίστρα των χοιριδίων, σε σύγκριση με τα δείγματα που λήφθηκαν από το σιλό αποθήκευσης των ζωοτροφών. Η συχνή χρήση πρεβιοτικών στα

ζώα, αναφέρεται ότι μειώνει τον αποικισμό του εντέρου των παχυνόμενων χοίρων από τα εντεροπαθογόνα στελέχη της *Y. enterocolitica*, αλλά λόγω του μικρού αριθμού των μελετών επί του θέματος θεωρείται ότι χρειάζεται μεγαλύτερος αριθμός σχετικών μελετών (Virtanen και συν. 2011). Ένας άλλος εξίσου σημαντικός παράγοντας κινδύνου για τους χοίρους αναφέρεται να είναι το νερό της εκτροφής (Fukushima και συν. 1988, Sato και Komazawa 1991, Sunahara και συν. 2000, Hallanvuo 2009). Επομένως για μείωση της πιθανότητας εμφάνισης κρουσμάτων συστήνεται η χρήση νερού από το δίκτυο στα χοιροστάσια (Virtanen και συν. 2011, von Altrock και συν. 2011, Vilar και συν. 2013). Απομόνωση παθογόνου *Y. enterocolitica* από δείγμα νερού βρύσης έγινε μόνο από μία χοιροτροφική εκμετάλλευση (Pilon και συν. 2000).

2.2.4) Περιβάλλον διαμονής χοίρων

Ο χώρος διαμονής των χοίρων αποτελεί δυνητικά πηγή μόλυνσης των υγιών ζώων με *Y. enterocolitica*, ειδικά σε εκτροφές με υψηλή συχνότητα απομόνωσης του μικροοργανισμού (Fukushima και συν. 1983, Pilon και συν. 2000). Από τον χώρο του χοιροστασίου, απομόνωση παθογόνων έχει πραγματοποιηθεί από δάπεδα κελιών, τοίχους, ξύλινες και μεταλλικές επιφάνειες, ποτίστρες, και σωλήνες (Aldonά και συν. 1980, Pilon και συν. 2000, Bolton και συν. 2013, Nathues και συν. 2013).

Το δάπεδο των κελιών χοιροστασίου αποτελεί σημαντικό παράγοντα διατήρησης και μετάδοσης διάφορων παθογόνων μικροοργανισμών στα ζώα της εκτροφής. Εντούτοις, αυτό δεν ισχύει για τη *Y. enterocolitica*, αν και στο περιβάλλον διαβίωσης των χοιριδίων υπάρχουν αυξημένες συγκεντρώσεις του μικροοργανισμού, οι οποίες όμως είναι αποτέλεσμα κοπρανώδους επιμόλυνσης. Η τήρηση αυστηρών μέτρων βιοασφάλειας μπορεί να συμβάλει στη δημιουργία εκτροφών απαλλαγμένων από το παθογόνο.

Απομόνωση του παθογόνου αναφέρεται επίσης από εργαλεία και ρουχισμό, όπως φόρμες εργασίας και γαλότσες (Pilon και συν. 2000, von Altrock και συν. 2006, Nathues και συν. 2013, Vilar και συν. 2013). Αντίθετα, η ανεύρεση του *Y. pseudotuberculosis* από εκμετάλλευση πάχυνσης χοίρων είναι πιο σπάνια, καθώς τα μόνα θετικά δείγματα βρέθηκαν σε δάπεδο και δείγμα από το σιλό τροφοδοσίας.

Σε υψηλό επιπολασμό των παθογόνων στελεχών του *Y. enterocolitica* οδηγεί και η επαφή των παχυνόμενων χοίρων με άλλα κατοικίδια ζώα που πιθανώς φέρουν τον μικροοργανισμό. Επίσης, οι χοίροι οι οποίοι είχαν πρόσβαση και σε εξωτερικό χώρο πέραν του κλειστού χώρου του χοιροστασίου είχαν αυξημένες πιθανότητες να μολυνθούν, τόσο με *Y. enterocolitica*, όσο και με *Y. pseudotuberculosis* (κυρίως με ορότυπους O:1 και O:4), καθώς όπως έχει αποδειχθεί, επαφή με άγρια

ζώα οδηγεί σε μόλυνση των παχυνόμενων χοίρων και κατ' επέκταση μόλυνση της εκτροφής (Ortiz Martínez και συν. 2010)

Πανομοιότυποι γονότυποι του *Y. enterocolitica* και του *Y. pseudotuberculosis* απομονώθηκαν τόσο από χοίρους, όσο και από τρωκτικά που βρέθηκαν στις εκτροφές (Backhans και συν. 2011). Τα τρωκτικά είναι δεξαμενές παρουσίας του παθογόνου στη φύση και μπορούν να το μεταφέρουν και να επιμολύνουν έτσι τους χοίρους με τους οποίους θα έρθουν σε επαφή (Aldonά και συν. 1977, 1980).

Ο βιο-ορότυπος 4/O:3 του *Y. enterocolitica* είναι αυτός που ανιχνεύεται κυρίως στους οικόσιτους χοίρους, αλλά όχι ο πιο συχνός βιο-ορότυπος σε άγρια ζώα που διαβιούν στην ύπαιθρο (Aldonά και Lim 1974, Zen-Yoji και συν. 1974, Tsubokura και συν. 1975, Kapperud 1975, 1977, Bercovier και συν. 1978, Kaneko και συν. 1978, Servan και συν. 1979, Kapperud and Rosef 1983, Fukushima και συν. 1984, , Kato και συν. 1985, Glünder και συν. 1986, Shayegani και συν. 1986 · Kaneuchi και συν. 1987, 1989, Iinuma και συν. 1992 , Cork και συν. 1993 · Hayashidani και συν. 1995, 2002 , Lysý και Ürgeonά 1995 , Suzuki και συν. 1995 , Pocock και συν. 2001 , Niskanen και συν. 2003, Milnes και συν. 2008 , Fredriksson-Ahomaa και συν. 2004, Wacheck και συν. 2010, Sannö και συν. 2014). Στους αγριόχοιρους, απομονώνονται συνήθως διαφορετικοί βιο-ορότυποι σε σχέση με τους εκτρεφόμενους χοίρους (Fredriksson-Ahomaa και συν. 2011), ενώ το *Y. enterocolitica* 4/O:3 δεν ανιχνεύεται στο περιβάλλον εκτός του χοιροστασίου (Bercovier και συν. 1978 , 1979 · Botzler 1987 , Cork και συν. 1995). Παρ' ότι ο βιο- ορότυπος 4/0:3 σπάνια ανιχνεύεται στο εξωτερικό περιβάλλον, μπορεί να μεταφερθεί μέσω των σκύλων και επομένως οι σκύλοι μπορούν να μολύνουν οποιαδήποτε άλλη φάρμα στην οποία εισέλθουν (Niskanen και συν. 2003). Επίσης, για τον ίδιο λόγο, η έξοδος στην ύπαιθρο των χοίρων μίας υγιούς εκτροφής δεν εισάγει σε εκείνη το παθογόνο *Y. enterocolitica* 4/O:3. Όμως, η επαφή με άγρια ζώα πιθανώς οδηγήσει στην είσοδο στη μονάδα άλλων βιο- ορότυπων, όπως το *Y. enterocolitica* 3/O:3 που ανευρίσκεται σε αποδημητικά πτηνά (Niskanen και συν. 2003), το *Y. enterocolitica* O: 5,27 σε λαγούς και το *Y. enterocolitica* 2/O:9 και 3/O:3 από μικρά τρωκτικά (Fukushima και συν. 2001).

2.3) Εμφάνιση της *Y. enterocolitica* σε άλλα ζώα

Η *Y. enterocolitica*, πέραν της απομόνωσης της από τους χοίρους, μπορεί να βρεθεί και σε άλλα είδη ζώων, όπως τα μηρυκαστικά, τα πουλερικά κλπ.

Τα κατοικίδια ζώα και κυρίως οι σκύλοι δυνητικά είναι μεταφορείς του παθογόνου *Y. enterocolitica* 4/O:3 (Fukushima και συν. 1984), το οποίο επίσης ανιχνεύεται και σε χοίρους και χοιρινό κρέας (Fukushima και συν. 1984, Fredriksson- Ahomaa και συν. 2001, 2006), παρ' ότι σε όσες δειγματοληψίες έχουν πραγματοποιηθεί από σκύλους που διαβιούν σε χοιροτροφικές εκμεταλλεύσεις, καμία δεν έχει βγει θετική για το *Y. enterocolitica*. Πέρα από τους χοίρους, το παθογόνο μικρόβιο *Y. enterocolitica* μπορεί να απομονωθεί και από βοοειδή, πρόβατα και αίγες. Τα στελέχη που απομονώνονται κυρίως είναι τα O: 5,27 και O: 9.

Τα κατοικίδια ζώα θεωρούμε ότι μολύνονται με το στέλεχος *Y. enterocolitica* 4 / O: 3 από κατανάλωση μολυσμένου χοιρινού κρέατος (Fredriksson-Ahomaa και συν. 2001) και επομένως, καθώς τα κατοικίδια ζώα είναι ασυμπτωματικοί φορείς του *Y. enterocolitica* μπορούν να επιμολύνουν και όποια χοιροτροφική εκμετάλλευση στην οποία πιθανώς εισέλθουν.

Αντίστοιχα με τα αποτελέσματα στα χοιρινά, στις αίγες η συχνότητα εμφάνισης του παθογόνου *Y. enterocolitica* φαίνεται ότι μειώνεται με την πάροδο της ηλικίας, καθώς συνήθως απομονώνεται από ερίφια μικρότερα του ενός έτους. Απομόνωση του παθογόνου *Y. enterocolitica* O:3 έγινε και σε άγρια ζώα σε περιοχές της Ελβετίας, ενώ αντίστοιχα σε σκύλους και γάτες, βρέθηκαν οι ορότυποι O: 3 και O: 5,27. Τέλος, τα στελέχη του μικροοργανισμού που απομονώνονται από το περιβάλλον είναι τις περισσότερες φορές απαθγόνα, όπως κατά τις επαναλαμβανόμενες δειγματοληψίες από το νερό στις εκτροφές, στις οποίες ανιχνεύθηκαν κυρίως στελέχη του βιότυπου 1A και εξαιρετικά σπάνια του βιότυπου 1B.

Στα βοοειδή, ορισμένα θετικά αποτελέσματα σε ορολογικές εξετάσεις ζώων αρνητικών για βρουκέλωση, κατέδειξαν διασταυρούμενη αντίδραση με *Y. enterocolitica* O:9. επομένως συμπεραίνεται ότι τα βοοειδή μπορούν να είναι ασυμπτωματικοί φορείς του ορότυπου αυτού.

Σε πρόβατα και αίγες, η *Y. enterocolitica* προκαλεί εντερίτιδα από τον βιότυπο 5 (ορότυπος O:2). Ο ίδιος βιο- ορότυπος απομονώθηκε και από τα άτομα που εργάζονται στην εκτροφή. Τα στελέχη που απομονώνονται από το γάλα και διάφορα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι συνήθως μη παθγόνα. Τα παθγόνα στελέχη προκύπτουν ως επιμόλυνση των γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως για παράδειγμα προσθήκη επιμολυσμένων συστατικών μετά τη διαδικασία της παστερίωσης, επιμόλυνση του προϊόντος με μολυσμένο νωπό γάλα ή μη ορθό πλύσιμο των φιαλών αποθήκευσης και συσκευασίας (Ackers και συν., 2000) Αξίζει να σημειωθεί, ότι το παστεριωμένο γάλα μετά από επιμόλυνση είναι ιδανικό μέσο ανάπτυξης, καθώς λόγω της θερμικής επεξεργασίας δεν υπάρχει μικροβιακός ανταγωνισμός.

Σε έρευνα που διεξήχθη στην Ελλάδα, στα πουλερικά, απομονώθηκαν ορισμένα εντεροπαθογόνα στελέχη. Από πτηνά έχουν απομονωθεί ο βιότυπος 4 (O:3), και ο βιότυπος 2 (O:9). Σε αυτό το ζωικό είδος, δεν υπάρχει διασταυρούμενη μόλυνση από χοιρινά ή άλλα ζώα. Το 2005 ο Favier (Favier et al., 2005) εξετάζοντας την εξωτερική επιφάνεια από κελύφη αυγών, διαπίστωσε παρουσία *Y. enterocolitica* 2/O:9. Τα απομονωμένα στελέχη, πιθανώς βρέθηκαν στο κέλυφος ως επιμόλυνση από άλλο επιμολυσμένο με το ίδιο στέλεχος προϊόν ζωικής προέλευσης. Η μετάδοση των παθογόνων στελεχών μπορεί να πραγματοποιηθεί σε οποιοδήποτε στάδιο από την συγκομιδή έως την έλευση των αυγών στα ράφια του καταστήματος διάθεσής τους.

Σε διάφορα τρωκτικά και αρουραίους έχει γίνει απομόνωση διαφορετικών οροτύπων από τον O:3. Τα τρωκτικά θεωρούνται αποθήκη του βιότυπου 1B (ορότυπος O:21), ενώ στα τσιντσιλά παρατηρείται ο βιότυπος 3. τα ζώα που θεωρούνται αποθήκες του μικροβίου, συνήθως είναι ασυμπτωματικά και εμφανίζουν τη νόσο μόνο μετά από συνθήκες stress, όπως σε κρύο, υγρασία, ασιτία κλπ

3) Η επιμόλυνση των σφάγιων κατά τη σφαγή

3.1) Επιμόλυνση από τα σφάγια χοίρων

Η μόλυνση των χοιρινών σφάγιων με *Y. enterocolitica* προκαλείται από χοίρους που φέρουν το παθογόνο και προέρχονται από μολυσμένες εκτροφές. Αντίστοιχοι γονότυποι του παθογόνου που ανιχνεύονται σε χοιρινά μολυσμένων εκμεταλλεύσεων, βρίσκονται σε σφάγια και σε εργαλεία κοπής των χοιρινών αυτών στα σφαγεία. Κατά την λήψη δειγμάτων κοπράνων από τους ίδιους χοίρους πάχυνσης σε εκμεταλλεύσεις πριν από τη διαδικασία της σφαγής, απομονώθηκαν ίδια παθογόνα στελέχη του μικροοργανισμού που απομονώθηκαν και από τα σφάγια τους στο σφαγείο. Τα στελέχη *Yersinia* απομονώθηκαν από τα χοιρινά της εκμετάλλευσης, ενώ στο σφαγείο από τα εργαλεία σφαγής και στα σφάγια η απομόνωση έγινε με μικρότερη συχνότητα (Laukkanen και συν. 2008), επομένως γίνεται εύκολα κατανοητό ότι οι χοίροι αποτελούν τη βασική πηγή μόλυνσης των σφάγιων που σφάζονται χρησιμοποιώντας τα ήδη επιμολυσμένα εργαλεία σφαγής.

Ακόμη, η υψηλή συγκέντρωση των εντεροπαθογόνων στελεχών *Yersinia* που ανιχνεύεται στις αμυγδαλές των χοίρων και στα κόπρανα συνέβαλε στον υψηλό επιπολασμό των παθογόνων στα εργαλεία σφαγής και στα σφάγια (Laukkanen και συν. 2008, 2009, 2010). Οι χοίροι αποτελούν επίσης την πιο κοινή πηγή περιβαλλοντικής μόλυνσης στο σφαγείο. Τα περισσότερα από τα στελέχη του *Y. enterocolitica* που βρέθηκαν στον περιβάλλοντα χώρο του σφαγείου κατά τη διάρκεια των διαδικασιών σφαγής ανιχνεύθηκαν στα χοιρινά που σφάχτηκαν και έγινε η δειγματοληψία τους την ίδια ημέρα (Laukkanen και συν. 2010).

Τα παθογόνα στελέχη του *Y. enterocolitica* βρίσκονται σε μεγαλύτερες συχνότητες στις αμυγδαλές σε σχέση με τα κόπρανα των χοίρων όταν εξετάστηκαν οι χοίροι ηλικίας σφαγής (Thibodeau και συν. 1999 , Fredriksson-Ahomaa και συν. 2001, 2009 , Bonardi και συν. 2003 , Nesbakken και συν. 2003 , Gürtler και συν. 2005 , Nowak και συν. 2006 , Laukkanen και συν. 2009 , Laukkanen-Ninios και συν. 2011 , Van Damme και συν. 2013).

Ακόμη, η δειγματοληψία από την κεφαλή και τον θώρακα καταδεικνύει αυξημένο επιπολασμό του εντεροπαθογόνου *Y. enterocolitica* σε σχέση με τα δείγματα από το δέρμα ή την κοιλιακή και την περιοχή της πύελου των σφάγιων (Laukkanen και συν. 2010).

Όταν τα χοιρινά φτάσουν σε ηλικία σφαγής, η συγκέντρωση του μικροοργανισμού *Y. enterocolitica* είναι μεγαλύτερη στις αμυγδαλές σε σχέση με τη συγκέντρωση στα κόπρανα των ζώων. Στα σφάγια,

οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ανιχνεύονται στην κεφαλή και τον τράχηλο, σε σχέση με το δέρμα, την πύελο και την κοιλιακή κοιλότητα. Επομένως, η βασική πηγή μόλυνσης των σφάγιων με *Y. enterocolitica* είναι οι αμυγδαλές. Τα στοιχεία αυτά δεν ισχύουν για την *Y. pseudotuberculosis*, καθώς η ανίχνευσή του σε χοιρινά και σφάγια είναι εξαιρετικά σπάνια, τόσο λόγω ύπαρξης ελάχιστων συγκεντρώσεων στα ζώα, όσο και λόγω μειωμένης ευαισθησίας των μεθόδων ανίχνευσης.

Στους χώρους των σφαγείων, τα χοιρινά σφάγια χοίρων επιμολύνονται σε μεγάλο βαθμό με *Y. enterocolitica* 4/O:3. Τα εντεροπαθογόνα στελέχη ανιχνεύονται στα σφάγια και σε παραπροϊόντα χοιρινού κρέατος, όπως αυτιά, γλώσσες, ήπαρ και καρδιές χοίρων. Οι αμυγδαλές είναι από τις πιο σημαντικές πηγή μόλυνσης στα σφάγια. Οι συνηθισμένοι γονότυποι του *Y. enterocolitica* που ανιχνεύονται στις αμυγδαλές υπάρχουν και σε σπλάχνα και σφάγια των χοίρων. Κατά τη διαδικασία της σφαγής οι αμυγδαλές απομακρύνονται μαζί με τα εντόσθια, τα οποία και αναρτώνται σε άγκιστρο μετά την αφαίρεσή τους. Στο στάδιο αυτό, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος διασποράς του παθογόνου *Y. enterocolitica* από τις μολυσμένες αμυγδαλές και μόλυνση των σπλάχνων. Άλλη πιθανή θέση εντόπισης των παθογόνων στελεχών είναι οι λεμφαδένες. Επομένως, οι τομές των λεμφογαγγλίων κατά την επιθεώρηση του κρέατος πιθανώς να οδηγήσουν σε διασταυρούμενη μόλυνση.

Επομένως, μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι οι αμυγδαλές είναι η βασική πηγή επιμόλυνσης των σφάγιων με *Y. enterocolitica*, με δεύτερη σε συχνότητα τη μόλυνση από τον εντερικό σωλήνα. Αντιθέτως, η συχνότητα εμφάνισης του *Y. pseudotuberculosis* δεν παρουσίαζε μεγάλες διακυμάνσεις στα δείγματα των αμυγδαλών και του εντερικού περιεχομένου, ενώ παράλληλα η μόλυνση της κεφαλής και του θώρακα, του δέρματος, όπως και της κοιλιακής και της πυελικής κοιλότητας του σφαγίου δεν παρουσίασαν μεγάλη διακύμανση (Laukkanen και συν. 2008, 2010). Στα σφάγια των χοιρινών, η μεταφορά του *Y. pseudotuberculosis* δεν εμφανίζει πολλές διαφοροποιήσεις ως προς την κατανομή στις αμυγδαλές και το έντερο, εξαιτίας των μειωμένων ποσοστών ανίχνευσης του παθογόνου σε χοίρους και σφάγια.

Για να μειωθεί το ποσοστό μετάδοσης του *Y. enterocolitica* από το ένα ζώο στο άλλο, είναι αναγκαίο να έρχονται σε επαφή προ της σφαγής, αλλά και να σφάζονται ταυτόχρονα μόνο ζώα από οροαρνητικές μονάδες. Τα χοιρινά που προέρχονται από μολυσμένες εκτροφές επιβάλλεται να μεταφέρονται στα σφαγεία και να σφάζονται ξεχωριστά από τα υπόλοιπα. Επιπλέον, τα χοιρινά δεν πρέπει να παραμένουν στο σφαγείο την νύχτα προ της σφαγής, καθώς έτσι αυξάνει η πιθανότητα μετάδοσης του παθογόνου τόσο στα υπόλοιπα υγιή ζώα, όσο και στον περιβάλλοντα χώρο του σφαγείου.

3.2) Επιμόλυνση από το περιβάλλον του σφαγείου

Επιμόλυνση των σφάγιων με εντεροπαθογόνα στελέχη *Y. enterocolitica* και σπανιότερα *Y. pseudotuberculosis* γίνεται μέσω του περιβάλλοντος και του εξοπλισμού (κυρίως μέσω μολυσμένων εργαλείων σφαγής), στα στάδια της σφαγής και του κρεοσκοπικού ελέγχου. Αποτελέσματα ερευνών κατέδειξαν ότι ίδιοι γονότυποι που απομονώνονται από τα σφάγια των χοιρινών, ευρίσκονται και σε δείγματα εντερικού περιεχομένου και αμυγδαλών παχυνόμενων χοίρων σε πολλές εκτροφές σε ποσοστό που μπορεί να φτάσει έως 80% (Laukkanen και συν. 2009, 2010).

Στο χώρο του σφαγείου η συχνότητα ανίχνευσης της *Y. enterocolitica*, αναφέρεται ότι είναι είναι πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με τη *Y. pseudotuberculosis* (Laukkanen και συν. 2009, 2010). Δεξαμενές του μικροοργανισμού θεωρούνται οι χοίροι, οι οποίοι διατηρούν τον μικροοργανισμό στις αμυγδαλές τους και τον απεκκρίνουν με τα κόπρανα. Επομένως, οι χοίροι δύνανται να επιμολύνουν τα σφάγια, τα παραπροϊόντα, τα χρησιμοποιούμενα εργαλεία κοπής και τον περιβάλλοντα χώρο.

Τα παθογόνα *Y. enterocolitica* απομονώθηκαν από το δάπεδο, τα εργαλεία σφαγής και έπιπλα στον χώρο προσωπικού. Ο βιο- ορότυπος του *Y. enterocolitica* 4 / Ο: 3 βρέθηκε στο περιβάλλον του σφαγείου, τα σφάγια και τα απόβλητα, επομένως συμπεραίνουμε ότι ο εξοπλισμός και το περιβάλλον μπορούν να μεταδώσουν τη μόλυνση στα σφάγια (Fredriksson-Ahomaa και συν. 2000, Laukkanen και συν. 2010).

Επίσης, ο χώρος του σφαγείου και τα εργαλεία που χρησιμοποιούνται για τη σφαγή συχνά επιμολύνονται με *Y. enterocolitica*, με τα ίδια στελέχη που ευρίσκονται στα σπλάχνα, αλλά και σε δείγματα από τον γαστρεντερικό σωλήνα των χοιρινών. Ωστόσο, ορισμένοι γονότυποι του *Y. enterocolitica* που δεν βρέθηκαν από εκτροφές, απομονώθηκαν από τα σπλάχνα των χοίρων που προέρχονταν από τις εκμεταλλεύσεις εκείνες, γεγονός που καταδεικνύει ότι η μόλυνση των σφάγιων γίνεται τόσο από το περιεχόμενο του εντέρου όσο και από τις αμυγδαλές των χοίρων, αλλά και το μολυσμένο περιβάλλον του σφαγείου.

Έρευνες έχουν καταδείξει και διασταυρούμενη μόλυνση στα εργαλεία σφαγής (Laukkanen και συν. 2009, 2010). Επομένως, ακόμη και χοίροι από φάρμες με μειωμένο ποσοστό απομόνωσης του παθογόνου, όταν σφαγούν μαζί με ζώα από φάρμες με αυξημένο ποσοστό ανίχνευσης του παθογόνου μικροοργανισμού, έχουν περισσότερες πιθανότητες να αυξηθεί το μολυσματικό τους φορτίο.

Τα στελέχη του *Y. enterocolitica* που βρέθηκαν σε παραπροϊόντα, απομονώθηκαν και από τα κόπρανα ή τις αμυγδαλές των χοιρινών στο 70% των περιπτώσεων (Laukkanen και συν. 2009). Ο γονότυπος του *Y. pseudotuberculosis* που απομονώθηκε από τα σφάγια, βρέθηκε ακόμη και στα κόπρανα ή τις αμυγδαλές του ίδιου χοίρου (Laukkanen και συν. 2008, 2010). Κατά τη σφαγή χοίρων που

προέρχονται από εκμεταλλεύσεις με χαμηλή συχνότητα απομόνωσης των παθογόνων στελεχών μαζί με χοιρινά από εκμεταλλεύσεις με μεγάλο μικροβιακό φορτίο, παρατηρείται διασταυρούμενη μόλυνση.

Αντίστοιχα, διασταυρούμενη μόλυνση παρατηρήθηκε στο 60% των χοιρινών βιολογικής εκτροφής, όπου παρατηρείται μειωμένος επιπολασμός του παθογόνου *Y. enterocolitica*, ενώ σε ποσοστό 25% διασταυρούμενη μόλυνση στα χοιρινά που προήλθαν από συμβατική παραγωγική μονάδα όπου παρατηρείται και υψηλός επιπολασμός (Laukkanen και συν. 2009). Αντίθετα, είναι τα αποτελέσματα για το παθογόνο *Y. pseudotuberculosis*, αφού έχει αναφερθεί μόλυνση μόνο μίας εκτροφής συμβατικής παραγωγής χαμηλού επιπολασμού, ενώ το 80% των μολυσμένων σφάγιων προέκυψε από βιολογικές εκτροφές υψηλού επιπολασμού (Laukkanen και συν. 2008).

4) Έλεγχος στο σφαγείο

4.1) Πρόληψη της μόλυνσης

Σημαντικό στοιχείο στον έλεγχο του σφαγείου είναι ο εντοπισμός των κρίσιμων σημείων κατά την διαδικασία σφαγής (Borch και συν. 1996, Bryant και συν. 2003, Pearce και συν. 2004).

Καθώς τα εντεροπαθογόνα στελέχη της *Yersinia* βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στις αμυγδαλές και στα κόπρανα των χοίρων, όλα τα στάδια σφαγής στα οποία τα σφάγια, ο εξοπλισμός σφαγής ή οι εργαζόμενοι βρίσκονται σε άμεση επαφή με τις αμυγδαλές ή τα έντερα δυνητικά μπορούν να θεωρηθούν ως εστίες επιμόλυνσης. Προληπτικό μέτρο για μείωση του κινδύνου αυτού, είναι ο περιορισμός των μολυσμένων ζώων που φτάνουν στο χώρο του σφαγείου, όπως και η ορθή διενέργεια των τεχνικών σφαγής και απολύμανσης του εξοπλισμού και των χώρων σφαγής.

Μία λύση περιορισμού του επιπολασμού του *Y. enterocolitica* στο έντερο των χοίρων, είναι τα ζώα να οδηγούνται σε σφαγή σε ηλικία 135 ημερών ή μεγαλύτερα, ηλικία κατά την οποία παρατηρείται μειωμένη απέκκριση του παθογόνου στα κόπρανα, αν και η συγκέντρωση στις αμυγδαλές παραμένει ακόμη σε υψηλά επίπεδα. Ωστόσο, το μέτρο αυτό δύσκολα ακολουθείται, λόγω της άσχημης οσμής και γεύσης, ειδικά σε μη ευνουχισμένους χοίρους (Nesbakken και συν. 2006). Έτσι, η ανίχνευση των παθογόνων στελεχών του *Y. enterocolitica* συνεχίζει να βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στις αμυγδαλές (Nesbakken και συν. 2006). Αντίστοιχα δεδομένα για την επίπτωση της ηλικίας σφαγής στη μόλυνση με *Y. pseudotuberculosis* δεν υπάρχουν. Επομένως, κρίνεται απαραίτητη η μείωση του

αριθμού των χοιρινών που φτάνουν στα σφαγεία με εντεροπαθογόνο στέλεχος της *Yersinia*, όπως και κατάλληλες μεθόδους σφαγής που να τηρούν τους απαραίτητους κανόνες υγιεινής.

4.2) Πιθανά σημεία μόλυνσης

Τα βασικά στάδια κατά τη διαδικασία σφαγής, στα οποία υπάρχει αυξημένος κίνδυνος επιμόλυνσης των σφάγιων με εντεροπαθογόνα στελέχη *Y. enterocolitica* είναι τα εξής (Borch και συν. 1996, Bryant και συν. 2003, Pearce και συν. 2004): αφαίμαξη, εκσπλαχνισμός και διχοτόμηση του σφάγιου.

Αντίστοιχα, μειωμένος κίνδυνος επιμόλυνσης υπάρχει στα στάδια: ζεμάτισμα και το στάδιο της ψύξης του σφάγιου.

4.2.1) Αφαίμαξη

Η αφαίμαξη πραγματοποιείται με τη χρήση μαχαιριού, το οποίο ιδανικά εξυγιαίνεται με ζεστό νερό (82°C), πριν χρησιμοποιηθεί εκ νέου στο επόμενο στη σειρά ζώο. Ωστόσο, η τεχνική αυτή αυξάνει τον κίνδυνο επιμόλυνσης των σφάγιων, σε περίπτωση που γίνεται χρήση επιμολυσμένων εργαλείων ή μη ορθού καθαρισμού τους μετά την κάθε χρήση τους.

4.2.2) Ζεμάτισμα

Ένα από τα στάδια της παραγωγής χοιρινού κρέατος μετά τη σφαγή είναι το ζεμάτισμα. Το νερό που χρησιμοποιείται στη δεξαμενή θα πρέπει να έχει θερμοκρασία 54-63°C και το σφάγιο να μένει στη δεξαμενή για 6-9 λεπτά, αναρτημένο από τα οπίσθια άκρα. Το ζεμάτισμα παρ' ότι κατά κύριο λόγο θεωρείται ότι μειώνει τον κίνδυνο επιμόλυνσης των σφάγιων με εντεροπαθογόνα στελέχη *Yersinia*, δυνητικά μπορεί να θεωρηθεί πηγή μόλυνσης των σφάγιων, καθώς στο νερό της δεξαμενής έπειτα από ορισμένες μελέτες σε δεξαμενές που δεν τηρούσαν τις κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας, βρέθηκαν ορισμένα παθογόνα στελέχη *Y. enterocolitica*, τα οποία θα μπορούσαν να επιμολύνουν το σφάγιο.

Η τιμή D60, δηλαδή ο χρόνος θερμικής επεξεργασίας που απαιτείται στους 60 ° C για την καταστροφή του 90% των βακτηριακών κυττάρων του *Y. enterocolitica* O: 3 (στελέχη Y1, Y2 και Y3) μετρήθηκε σε 0.40 έως 0.51 λεπτά (Sörqvist 1989, 1990). Αυτό συνεπάγεται ότι η *Y. enterocolitica* καταστρέφεται με τη διαδικασία ζεματίσματος. Όμως, ο Bonardi και οι συνεργάτες του (2007, 2013) ανίχνευσαν *Y. enterocolitica* 4/O:3 με απουσία πλασμιδίου pVY σε ζεστό νερό, χωρίς ωστόσο να

αναφέρεται η ακριβής θερμοκρασία ζεματίσματος. Η αντίσταση των στελεχών *Y. enterocolitica* κατά τη θέρμανση παρουσιάζει μεγάλο εύρος στα εκάστοτε χρησιμοποιούμενα υγρά (Sörqvist 2003). Ένας άλλος παράγοντας που επηρεάζει την ανθεκτικότητα του μικροοργανισμού κατά τη θέρμανση είναι το pH (Sörqvist 1990, Pagán και συν. 1999). Ο Hayashidani και οι συνεργάτες του (2005), απέδειξαν ότι η ανθεκτικότητα στην θερμική επεξεργασία εμφάνιζε μεγάλες διαφορές (D60 0,12 έως 0,32 λεπτά) σε αποστειρωμένο αλατούχο διάλυμα και σχετιζόταν με το είδος του παθογόνου στελέχους του *Y. enterocolitica* και τη θερμοκρασία επώασης.

Σύμφωνα με τον Bolton και συν. (2013), παρατηρήθηκαν πολύ πιο υψηλές τιμές D₅₀, D₅₅ και D₆₀ 45, 10,55 και 2,53 λεπτά, αντίστοιχα, στο νερό που χρησιμοποιείται στη δεξαμενή ζεματίσματος, όταν βρέθηκε συνδυασμός *Y. enterocolitica* 2/O:5,27 (στέλεχος DSMZ 11504) *Y. enterocolitica* 1A / O: 6,30 (στέλεχος NCTC 11599).

4.2.3) Απόξεση

Μετά το καψάλισμα, ακολουθεί η είσοδος του σφάγιου στο μηχάνημα απόξεσης, προκειμένου να αφαιρεθούν και οι ελάχιστες εναπομείναντες τρίχες. Όμως το στάδιο αυτό αυξάνει τον κίνδυνο επιμόλυνσης του σφάγιου, καθώς η μηχανή απόξεσης δύσκολα καθαρίζεται και έτσι στα εξαρτήματά της πιθανώς επιβιώνουν τα στελέχη του *Y. enterocolitica*.

4.2.4) Εκσπλαχνισμός

Τα αποτελέσματα αρκετών μελετών έδειξαν ότι το δέσιμο του ορθού με πλαστική σακούλα πριν την αφαίρεσή του, συμβάλει αποτελεσματικά στον περιορισμό της επιμόλυνσης του σφάγιου με παθογόνο στέλεχος *Y. enterocolitica* (Andersen 1988, Nesbakken και συν. 1994, Laukkanen και συν. 2010). Παρ' όλο που η μέθοδος αυτή έχει ικανοποιητικά αποτελέσματα, το ποσοστό ανίχνευσης των παθογόνων στελεχών στο σφάγιο εξακολουθεί να είναι μεγάλο, πιθανώς λόγω της επιμόλυνσης του από τις αμυγδαλές. Οι αμυγδαλές συχνά επιμολύνουν με παθογόνα στελέχη *Y. enterocolitica* την κεφαλή και τον θώρακα του σφάγιου. Για το λόγο αυτό, η συγκέντρωση του παθογόνου *Y. enterocolitica* 4/O:3 βρέθηκε αρκετά υψηλή, κυρίως σε δείγματα από την περιοχή του θώρακα και της κεφαλής, παρ' ότι δέθηκε και απομονώθηκε με σακούλα το ορθό πριν αφαιρεθεί (Laukkanen και συν. 2010). Τα αποτελέσματα της μεθόδου αυτής δεν ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά, καθώς η συγκέντρωση των εντεροπαθογόνων στα σφάγια μειώθηκε σε μικρό μόνο βαθμό. Αξίζει να σημειωθεί ότι η χρήση πλαστικής σακούλας στο ορθό ελάττωσε σημαντικά τα ποσοστά εντερικής επιμόλυνσης των σφάγιων με τα παθογόνα στελέχη της *Yersinia*, χωρίς όμως να παρεμποδίζει εντελώς τη μετάδοσή τους στο

σφάγιο, καθώς αυτή μπορεί να επιτευχθεί και με τους τρόπους που προαναφέρθηκαν. (Laukkanen και συν. 2010).

4.2.5) Αφαίρεση του κεφαλιού μαζί με τις αμυγδαλές και τη γλώσσα

Εξαιτίας του μεγάλου ποσοστού απομόνωσης του παθογόνου *Y. enterocolitica* στις αμυγδαλές των χοίρων, η αφαίρεση της κεφαλής, μαζί με τη γλώσσα και τις αμυγδαλές, συμβάλλει στην αξιοσημείωτη ελάττωση της μόλυνσης των σφάγιων και του εξοπλισμού. Οι Christensen και Lüthje (1994), συμπέραναν από την έρευνά τους ότι αυτή η μέθοδος μείωσε τη μόλυνση του σφαγίου από το *Y. enterocolitica* O:3 από 40% σε 14% και στο ήπαρ και το διάφραγμα από 25% σε 17%. Επιπλέον, για περαιτέρω μείωση του επιπολασμού, ο τεμαχισμός του κρέατος πρέπει να πραγματοποιείται σε άλλο δωμάτιο και σε ξεχωριστό πάγκο (Borch και συν. 1996).

4.2.6) Διχοτόμηση

Η πιθανότητα επιμόλυνσης του σφαγίου είναι αυξημένη, λόγω της πιθανής χρήσης ήδη μολυσμένων εργαλείων αλλά και της επιμόλυνσης τόσο του σφαγίου όσο και των εδώδιμων παραπροϊόντων από το εντερικό περιεχόμενο και τις μολυσμένες αμυγδαλές και γλώσσα. Ο ίδιος κίνδυνος για χρήση μολυσμένων εργαλείων κοπής, όπως το ηλεκτρικό πριόνι, ενέχει και στο στάδιο της διχοτόμησης του σφαγίου.

4.2.7) Ψύξη

Παρ' ότι, η ψύξη θεωρείται μία από τις βασικές μεθόδους συντήρησης του χοιρινού κρέατος, αυτό παρουσιάζει μια ιδιαιτερότητα σχετικά με την *Y. enterocolitica*, καθώς ο μικροοργανισμός αυτός είναι ψυχρότροφος και μπορεί να επιβιώνει και να πολλαπλασιάζεται σε συνθήκες ψύξης. Ο Nesbakken και συν. (2008) απομόνωσαν την *Y. enterocolitica* 4/O:3 στα 5 από τα 60 σφάγια τόσο πριν όσο και 1 ώρα μετά την ψύξη (ποσοστό 8%). Επίσης, ο Wehebrink και συν. το 2008, βρήκαν στελέχη *Y. enterocolitica* σε 1 από 122 επιχρίσματα χοίρειου σφαγίου πριν από τη ψύξη και σε 2 σφάγια μετά από 12 ώρες ψύξης. Τέλος, ο Gürtler και συν. το 2005, ανίχνευσαν το *Y. enterocolitica* σε μόνο 1 από 383 σφάγια πριν από τη ψύξη, ενώ κανένα δεν ανιχνεύτηκε μετά.

4.3) Αλλαγές στην επιθεώρηση του κρέατος

Κατά την επιθεώρηση του κρέατος, υπάρχει, επίσης, αυξημένος κίνδυνος επιμόλυνσης του σφάγιου, όπως κατά την τομή των λεμφογαγγλίων. Τα εντεροπαθογόνα στελέχη της *Yersinia*, αποικίζουν το λεμφικό ιστό και απομονώνονται κυρίως από το υπογνάθιο λεμφογάγγλιο.

Διάφορες αλλαγές κατά τον κρεοσκοπικό έλεγχο μπορούν να συμβάλουν στη μείωση του επιπολασμού των παθογόνων στελεχών της *Y. enterocolitica* στα χοιρινά σφάγια, όπως να μην γίνεται η υποχρεωτική τομή των λεμφαδένων. Ανίχνευση εντεροπαθογόνων στελεχών της *Yersinia* έχει γίνει σε διάφορους λεμφαδένες κατά την τομή τους, όπως στους υπογνάθιους. (Nesbakken και συν. 2003). Τα υπάρχοντα δεδομένα όμως δεν μπορούν να διασαφηνίσουν πόσο θα μειωθεί η συγκέντρωση των παθογόνων εάν εφαρμοστεί αυτή η πρόταση. Στην ΕΕ, έγινε πρόσφατα τροποποίηση των μεθόδων του κρεοσκοπικού ελέγχου. Κάποια βήματα όπως η ψηλάφηση και η υποχρεωτική τομή κατά την επιθεώρηση των σφάγιων έχουν παραληφθεί ώστε να περιοριστεί η μετάδοση των παθογόνων στα σφάγια (Anonymous 2014). Βέβαια, χρειάζονται εναλλακτικές λύσεις στο τεχνικό κομμάτι του ελέγχου, σε περίπτωση που η επιθεώρηση γίνεται μόνο με τη μέθοδο της επισκόπησης.

4.4)Εξυγίανση

Η εκάστοτε χρησιμοποιούμενη μέθοδος εξυγίανσης, πιθανώς να επηρεάσει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του σφάγιου. Υπάρχουν 3 μέθοδοι εξυγίανσης (Hugas and Tsigarida 2008):

- φυσική (ηλεκτρομαγνητική ή ιοντική ακτινοβολία, κατάψυξη κλπ)
- χημική (οργανικά ή άλλα οξέα)
- βιολογική (βακτηριοσίνες, φάγοι κλπ)

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση μέχρι σήμερα χρησιμοποιείται κυρίως η χρήση νερού ως μέσο εξυγίανσης στα χοιρινά σφάγια, ενώ αντίστοιχα στις Η.Π.Α. υπάρχουν περισσότερες επιλογές ως προς τις χρησιμοποιούμενες τεχνικές εξυγίανσης. Πιθανώς όμως στην Ευρώπη αυτό δεν θα μπορούσε να ευδοωθεί καθώς οι καταναλωτές θα απέρριπταν το κρέας που είχε υποστεί άλλου είδους επεξεργασία, όπως τις μεθόδους ψύξης και ατμού, αλλά και το βράσιμο, την χλωρίωση κλπ (Korzen και συν. 2011). Ο βασικός λόγος που οι καταναλωτές απορρίπτουν τέτοιου είδους επεξεργασίες είναι διότι αυτές επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρέατος (Pirpek και συν. 2006, Loretz και συν. 2011, Korzen και συν. 2011).

4.4.1) Νερό

Η επεξεργασία του κρέατος με ζεστό νερό και ατμό οδηγεί σε ελάττωση της συγκέντρωσης των *Enterobacteriaceae* κατά 2,7 έως 3,2 και 1,3 έως 1,9 log₁₀ CFU / cm² (όπου CFU = μονάδες σχηματισμού αποικιών), αντίστοιχα, σε σχέση με την επικρατούσα θερμοκρασία (Loretz και συν. 2011), αν και δεν υπάρχουν πολλές μελέτες για τη μείωση που προκαλούν στα παθογόνα στελέχη της *Yersinia*. Γενικά όμως, η επεξεργασία του χοιρινού κρέατος με ζεστό νερό υποβαθμίζει την ποιότητά του. (Pirpek και συν. 2006, Loretz και συν. 2011)

4.4.2) Οργανικά οξέα

Τα παθογόνα στελέχη της *Y. enterocolitica* δεν επιβιώνουν έπειτα από επεξεργασία με οργανικά οξέα (Smulders και Greer 1998). Μεγάλη συγκέντρωση του οξέος, αυξημένος χρόνος και θερμοκρασία ενισχύουν την αντιμικροβιακή δράση τους (Adams και συν. 1991, Virto και συν. 2005). Ο El-Ziney και οι συνεργάτες του (1997) μελέτησαν την ικανότητα επιβίωσης και πολλαπλασιασμού του στελέχους *Y. enterocolitica* O: 9 με γαλακτικό, οξικό, μυρμηκικό και προπιονικό οξύ σε ισομοριακές συγκεντρώσεις μη διασπασμένου οξέος σε ζυμό στους 4 ° C. Βρήκαν ότι σε pH 5,4 και 5,8, η σειρά αναστολής της δραστηριότητας ήταν μυρμηκικό οξύ > οξικό οξύ > προπιονικό οξύ > γαλακτικό οξύ. Ωστόσο, σε pH 3,8 έως 5, η σειρά ανασταλτικής δράσης μεταβλήθηκε σε: μυρμηκικό οξύ > γαλακτικό οξύ > οξικό οξύ > προπιονικό οξύ.

4.4.3) Ατμός σε συνδυασμό με οργανικά οξέα

Είναι καλύτερη μέθοδος εξυγίανσης σε σχέση με τον συμπιεσμένο ατμό, αν και σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρούνται οργανοληπτικές αλλαγές. Όταν στα χοιρινά δέρματα που εξυγιάνθηκαν με ατμό παράλληλα έγινε ψεκασμός με γαλακτικό ή οξικό οξύ ανιχνεύτηκαν αρκετά μικρότερες συγκεντρώσεις (3 έως 4 log₁₀ CFU / cm²) του βιο-ορότυπου *Y. enterocolitica* O:3 (Smulders και συν. 2011). Ακόμη, τα αποτελέσματα από την επεξεργασία με χρήση ατμού μαζί με οργανικό οξύ έδωσε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση μόνο με χρήση ατμού (Smulders και συν. 2011). Ωστόσο, αυτή η μέθοδος μετέβαλε σε αντιληπτό βαθμό τον χρωματισμό του δέρματος και του κρέατος και για το λόγο αυτό, σχεδόν όλοι οι καταναλωτές δήλωσαν πως αυτή θα ήταν η αιτία για να μην αγοράσουν το συγκεκριμένο κρέας (Smulders και συν. 2011). Επίσης, ορισμένα οργανικά οξέα, όταν χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με ατμό οδηγούν σε μεταβολή την βακτηριακής προσκόλλησης στην επιφάνεια του δέρματος, όπως το γαλακτικό οξύ, το οποίο μετά τη χρήση του αύξησε τη συγκέντρωση των ανιχνευθέντων εντεροπαθογόνων στελεχών.

Σε μία έρευνα του Nissen και των συνεργατών του (2001) μελετήθηκε ο πολλαπλασιασμός της *Y. enterocolitica* O:3 στο δέρμα των χοίρων έπειτα από εξυγίανσης με ατμό (75 °C για 10 δευτερόλεπτα) μαζί με ψεκάσμο γαλακτικού οξέος (0.2M γαλακτικό οξύ θερμαινόμενο στα 55 °C). Παρατήρησαν ότι οι πληθυσμοί των παθογόνων στελεχών ήταν 9 log₁₀ CFU / cm² έπειτα από 5 ημέρες διατήρησης στον αέρα σε θερμοκρασία 10 °C , ενώ ο αρχικός αριθμός ήταν 3.8 log₁₀ CFU / cm². Ο ρυθμός ανάπτυξης ήταν ελάχιστα μεγαλύτερος συγκριτικά με το χοίρειο κρέας. Τα στελέχη του *Y. enterocolitica* αναπτύσσονται γρηγορότερα εάν φυλάσσονται σε αέρα σε σχέση με το κενό, όπως και μετά από διενέργεια απολύμανσης. Αυτό οφείλεται στο ότι όταν στο προϊόν υπάρχει αρχικά μικρή συγκέντρωση βακτηρίων, αυτό διατηρείται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και επομένως δίνεται η ευκαιρία στα στελέχη του *Y. enterocolitica* να αναπτυχθούν (Nissen και συν. 2001).

4.4.4) Ατμός συνδυασμένος με υπερήχους

Όταν σε δέρμα χοίρου, αλλά και στο κρέας του εφαρμόστηκε συμπιεσμένος ατμός (130 ° C, 3,5 έως 5 ατμόσφαιρες) μαζί με υπερήχους (30 έως 40 kHz) για χρονικό διάστημα 0,5 έως 2,0 s οδήγησε σε ελάττωση των πληθυσμών της *Y. enterocolitica* (Morild και συν. 2011). Όσοι μικροοργανισμοί παρέμειναν, βρέθηκαν σε εν τω βάθει ιστούς, στις μυϊκές ίνες και σε τριχοθυλάκια. Όμως η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί το πολύ για 2 δευτερόλεπτα, καθώς μεγαλύτερο χρονικό διάστημα οδηγεί σε αλλαγές στην όψη του κρέατος.

4.5) Σύνοψη των μέτρων ελέγχου στο σφαγείο

Συμπερασματικά, προκειμένου να επιτευχθεί ελάττωση του επιπολασμού της εντεροπαθογόνου *Y. enterocolitica* στο σφαγείο, θα πρέπει να γίνει αυστηρή τήρηση κανόνων υγιεινής σε όλη τη διαδικασία της σφαγής, αλλά και η χρήση πλαστικής σακούλας στα αρχικά στάδια της γραμμής επεξεργασίας για απομόνωση του ορθού, ώστε να μειωθεί η επιμόλυνση του σφάγιου μέσω απώλειας εντερικού περιεχομένου. Η κεφαλή χρειάζεται να απομακρύνεται από το σφάγιο μαζί με τις αμυγδαλές και τη γλώσσα, κατά το στάδιο του εκσπλαχνισμού. Με αυτόν τον τρόπο, μειώνεται κατά 75% η μόλυνση των πρόσθιων τμημάτων των σφάγιων και σε ποσοστό 50% η μόλυνση του ήπατος και του διαφράγματος από το *Y. enterocolitica*. Σήμερα, γνωρίζουμε ότι το ποσοστό μόλυνσης ενός τμήματος του χοιρινού σφάγιου με *Y. enterocolitica* 4/O:3 μειώνεται όσο αυξάνει η απόστασή του από την κεφαλή. Με το κλείσιμο του ορθού με μια πλαστική σακούλα αμέσως μετά την ορθοπρωκτική τομή, η επιμόλυνση των σφάγιων είχε μειωθεί από 10% σε 0,8%.

Οι τεχνικές εξυγίανσης φαίνεται ότι συμβάλουν προστατευτικά στην ελάττωση του επιπολασμού των παθογόνων στελεχών της *Yersinia*. Όμως, χρειάζεται περισσότερη έρευνα για την ανίχνευση του μικροοργανισμού έπειτα από την επεξεργασία του με οξέα, ατμό και υπερήχους στους εν τω βάθει ιστούς, αν και αρκετές από τις υπάρχουσες τεχνικές δεν έχουν νομοθετική έγκριση για χρησιμοποίηση στις χώρες της Ε.Ε. και να μην γίνονται αποδεκτές από τους καταναλωτές λόγω των μεταβολών στα χαρακτηριστικά του κρέατος που προκαλούν (Korzen και συν. 2011). Στα σφαγεία της Ε.Ε. σήμερα, η απολύμανση γίνεται κατά κύριο λόγο με τη χρήση νερού, αν και η μέθοδος αυτή ελάχιστα μειώνει τη συγκέντρωση της παθογόνου *Yersinia*. Επίσης, πρέπει να ελέγχεται με ακρίβεια η θερμοκρασία του χρησιμοποιούμενου νερού, καθώς το πολύ ζεστό νερό, επιδρά στην ποιότητα του σφάγιου. Όσον αφορά τα παθογόνα στελέχη του *Y. pseudotuberculosis*, δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για τις ενέργειες που θα οδηγήσουν στη μείωση της συγκέντρωσής του στο σφαγείο.

5) *Y. enterocolitica* σε προϊόντα χοιρινού κρέατος

Τα στελέχη *Y. enterocolitica* ανιχνεύονται με μεγάλη συχνότητα στο ωμό χοιρινό κρέας, όπως και από τις επιφάνειες πάγκων εργασίας και γάντια στα κρεοπωλεία. Το παθογόνο *Y. enterocolitica* ανιχνεύεται με μεγάλη συχνότητα στις γλώσσες των χοίρων. Οι γλώσσες των χοίρων επιμολύνονται μέσω των αμυγδαλών, λόγω της μικρής τους ανατομικής απόστασης, στις οποίες ο μικροοργανισμός βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Στα εδώδιμα παραπροϊόντα του χοιρινού κρέατος, περιλαμβάνονται οι γλώσσες, το ήπαρ, τα νεφρά κλπ. Στην εξωτερική επιφάνεια των προϊόντων αυτών, ανιχνεύεται ο βιο-ορότυπος 4/O:3 του *Y. enterocolitica* σε ποσοστά >50% των δειγμάτων. Εξίσου μεγάλες συγκεντρώσεις του παθογόνου, βρίσκονται σε δείγματα από ωμοπλάτες χοιρινού και κιμά. Ο χειρισμός χοίρειου κρέατος με αυξημένο μικροβιακό φορτίο στα κρεοπωλεία προκαλεί την μόλυνση του χοιρινού κιμά, που παρασκευάζεται εκεί (Andersen και συν., 1991, EFSA, 2007)

Η χρήση της ενδεδειγμένης μεθόδου θερμικής επεξεργασίας, όπως παστερίωσης, συμβάλλει σε καταστροφή των παθογόνων αλλά και απαθογόνων στελεχών του μικροβίου *Y. enterocolitica*. Ωστόσο, επειδή ο μικροοργανισμός είναι ψυχρότροφος, υπάρχουν ορισμένα στελέχη που δύναται να αναπτυχθούν σε θερμοκρασίες ψύξης. Εάν η θερμοκρασία (>5°C) ή το pH αυξηθούν, η ανάπτυξη των πληθυσμών του παθογόνου γίνεται με γρήγορους ρυθμούς. Σε μία τέτοια συνθήκη, δύναται να επιμολυνθούν προϊόντα με βάση το χοίρειο κρέας, από νωπό κρέας που διαθέτει αυξημένες

συγκεντρώσεις του παθογόνου στελεχούς (EFSA, 2007). Πληθώρα επιστημονικών ερευνών κατέδειξαν συσχέτιση περιστατικών υερσινιώσεων με κατανάλωση επιμολυσμένου ή ατελώς μαγειρεμένου χοίρειου κρέατος (GrahekOgden και συν, 2007, Fredriksson-Ahomaa και συν, 2006). Απομόνωση στελεχών *Y. enterocolitica* αι-θετικών από χοιρινά προϊόντα και κομμάτια κρέατος (πχ, κιμάς) έγινε με χρήση εξειδικευμένων μοριακών μεθόδων PCR (Lambertz και συν, 2005). Τα αποτελέσματα, έδειξαν όμως, ότι τα παθογόνα στελέχη της *Y. enterocolitica* ήταν ελάχιστα, με εξαίρεση τον βιο-ορότυπο 4/O:3, που βρέθηκε σε βρώσιμα εντόσθια. Η μέθοδος αποθήκευσης υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα είναι μέτρο αναστολής της ανάπτυξης ορισμένων μικροοργανισμών. Η χρήση του 30% διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) και 70% οξυγόνου (O₂) οδήγησε σε μέτρια αναστολή της ανάπτυξης της *Y. enterocolitica* 4/O:3 κατά την αποθήκευση των τροφίμων στους 2°C για 12 ημέρες. Τα ποσοστά απομόνωσης του παθογόνου ήταν υψηλότερα όταν η αποθήκευση έγινε σε συνθήκες κάτω από 30% CO₂ και 70% O₂.

Επιμόλυνση του περιβάλλοντος του κρεοπωλείου με εντεροπαθογόνα στελέχη *Y. enterocolitica* μπορεί να οδηγήσει σε διασταυρούμενη επιμόλυνση του κρέατος σε επίπεδο λιανικής, σε περίπτωση μη τήρησης των απαραίτητων κανόνων υγιεινής κατά την αποθήκευση, κοπή και διανομή του (Fredriksson-Ahomaa και συν. 2004). Η ανίχνευση του *Y. pseudotuberculosis* είναι πιο σπάνια σε κρέας και εντόσθια χοιρινών.

Η κατανομή των εντεροπαθογόνων στελεχών της *Yersinia* στο χοιρινό κρέας ακολουθεί το μοντέλο κατανομής στις χοιροτροφικές μονάδες και στα σφαγεία. Το *Y. enterocolitica* 4/O:3 είναι το στέλεχος που έχει ανιχνευθεί περισσότερο στο χοιρινό κρέας παγκοσμίως (Christensen 1987, Fukushima και συν. 1989, Fredriksson-Ahomaa και συν. 1999, Johannessen και συν. 2000, Bucher και συν. 2008, Messelhäusser και συν. 2011).

Οι βιο-ορότυποι 2/O: 5,27 και 2/O:9 βρέθηκαν σε χοιρινό κρέας στην Ιρλανδία (Logue και συν. 1996, Lindsay 1997). Ο βιο-ορότυπος 2/O:9 απομονώθηκε από λουκάνικα χοιρινού κρέατος στην Αργεντινή (Lucero Estrada και συν. 2011, 2012), γλώσσες χοιρινών και χοίρειο κρέας από την Ολλανδία (de Boer and Nouws 1991). Επίσης, απομόνωση έγινε από γλώσσες στην Ιαπωνία (Shiozawa και συν. 1987), και από μυϊκό ιστό στη Φινλανδία (Laukkanen-Ninios και συν. 2014). Όσον αφορά την *Y. pseudotuberculosis* ανιχνεύθηκε ο ορότυπος O:3 και επίσης οι O:2c και O:4b στην Ιαπωνία (Fukushima 1985, 1989, 1997, Laukkanen και συν. 2008, 2010, Novoslavskij και συν. 2010).

Η συγκέντρωση της *Y. enterocolitica* που βρίσκεται σε ωμό χοιρινό κρέας εξαρτάται από την εφαρμοζόμενη τεχνική απομόνωσης. Με μέθοδο καλλιέργειας βρέθηκε σε ποσοστό 0% έως 32%, ενώ 5% έως 86% με τη μέθοδο αλυσυδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) στα ίδια δείγματα χοιρινού κρέατος, γεγονός που εμφανίζει μειονεκτήματα στις χρησιμοποιούμενες τεχνικές ανίχνευσης του *Y.*

enterocolitica. Το τμήμα του σφάγιου από το οποίο θα ληφθεί το δείγμα μεταβάλλει επίσης τα ποσοστά απομόνωσης, καθώς μεγαλύτερη συγκέντρωση του παθογόνου βρίσκεται σε γλώσσες και παρειές. Σύμφωνα με έρευνες στη Γερμανία, η *Y. enterocolitica* O:3 ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 1% του χοιρινού κρέατος έτοιμο προς πώληση, το 8% σε παρειές χοιρινών και το 26% σε γλώσσες (Messelhäusser και συν. 2011) και το 0,6% σε παρειές σε μελέτη στην Φινλανδία (Laukkanen-Ninios και συν. 2014). Μεγάλη σημασία για το ποσοστό απομόνωσης έχει το σημείο του σφάγιου από το οποίο λαμβάνεται το δείγμα, για παράδειγμα στα δείγματα από τα οπίσθια άκρα η απομόνωση είναι σχεδόν μηδενική. Αντίθετα, το κρέας από τις παρειές καλό είναι να χρησιμοποιείται μόνο για προϊόντα θερμικής επεξεργασίας.

Η απομόνωση των στελεχών σε χοιρινό κρέας το οποίο είχε τεμαχιστεί για να μετατραπεί σε κιμά ήταν της τάξεως του 0,1 και 1,6 MPN / g (Laukkanen-Ninios και συν. 2014). Σε έρευνες σε χώρες της Ε.Ε, βρέθηκαν σε χοιρινό κιμά θετικά δείγματα σε ποσοστό 27% με μέθοδο PCR, ενώ μόλις 5% με καλλιέργεια. Ο Hudson και συν. (2008) βρήκαν 0,30 έως 5,42 MPN / cm² παθογόνο *Y. enterocolitica* σε 26 μπριζόλες και σνίτσελ προς πώληση. Αντίστοιχα, ο Bonardi (2010) βρήκε τον βιο- ορότυπο *Y. enterocolitica* 2/O:9 σε 1 από 19 δείγματα σε χόνδρο κρέατος. Δεδομένα για το ποσοστό μόλυνσης του *Y. pseudotuberculosis* στο χοιρινό κρέας δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα.

6) Μόλυνση του ανθρώπου

Η υερσινίωση είναι η νόσος που προκαλείται από κάποιο βακτήριο του γένους *Yersinia* και θεωρείται τρίτη πιο συχνή εντερική νόσος στην Ευρώπη, μετά την καμπυλοβακτηρίωση και τη σαλμονέλωση (EFSA 2015). Μεταδίδεται, όπως έχει ήδη αναφερθεί, μέσω των τροφίμων και του νερού, ενώ είναι δυνατή επίσης η μόλυνση και από άτομο σε άτομο. Η *Y. enterocolitica* είναι ένα από τα λίγα παθογόνα του εντέρου που μπορούν και αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες ψύξης (Swaminatham και συν., 1982), γεγονός που τονίζει τη σημασία της μελέτης της στα τρόφιμα και κυρίως στο χοιρινό κρέας.

Η σοβαρότητα των συμπτωμάτων που προκαλεί η υερσινίωση θεωρείται δοσοεξαρτώμενη. Η αναγκαία νοσογόνος χορηγούμενη συγκέντρωση δεν είναι απολύτως εξακριβωμένη, αλλά πιθανώς πρέπει να ξεπερνάει τα 10^4 CFU (Robins-Browne, 1997). Η οξύτητα του γαστρικού υγρού συμβάλλει αποτελεσματικά στην αποτροπή μόλυνσης, επομένως, οποιαδήποτε διαταραχή στην έκκριση του μπορεί να συνεπάγεται μείωση της απαιτούμενης δόσης (de Koning-Ward και Robins-Browne, 1995). Στις ΗΠΑ, οι περισσότερες ασθένειες προκαλούνται από ένα είδος, τη *Y. enterocolitica*, η μόλυνση από την οποία προκαλεί την εμφάνιση ποικίλων συμπτωμάτων, τα οποία συνήθως σχετίζονται με την ηλικία του προσβαλλόμενου ατόμου και την κατάσταση του ανοσοποιητικού του συστήματος. Ο μικροοργανισμός, εισχωρεί μέσω του πεπτικού συστήματος, πολλαπλασιάζεται στον εντερικό σωλήνα και προσκολλείται στη βλεννώδη επιφάνεια του λεπτού εντέρου, με μεγαλύτερη συχνότητα το τμήμα του ειλεού. Άλλα συχνά σημεία εντόπισης του μικροβίου είναι η σκωληκοειδής απόφυση, τα μεσεντέρια λεμφογάγγλια, το ήπαρ και η σπλήνα, χωρίς να αποκλείεται η εντόπιση και σε άλλα όργανα, όπως οι οφθαλμοί, οι αρθρώσεις, η καρδιά κ.λ.π. Η μόλυνση από *Y. enterocolitica* παρατηρείται κυρίως σε νεαρά παιδιά, με τις πιο συχνές κλινικές εκδηλώσεις σε αυτά να προέρχονται από την προσβολή του γαστρεντερικού συστήματος (εντερική υερσινίωση).

Στα μικρά παιδιά κάτω των 5 ετών, η υερσινίωση εκδηλώνεται ως εντεροκολίτιδα με χαρακτηριστικά της νόσου συμπτώματα, όπως ο ήπιος πυρετός, ο κοιλιακός πόνος, ο μετεωρισμός και η ναυτία, ενώ το πιο τυπικό σύμπτωμα είναι οι συχνές (άνω των 20/ ημέρα) διαρροϊκές κενώσεις, που χαρακτηρίζονται από υδαρείς έως βλεννώδεις και συχνά περιέχουν αίμα. (Cover και Aber, 1989), (Anonymous, EFSA 2009). Οι διάρροιες προκαλούνται λόγω αύξησης της συγκέντρωσης του cGMP (cyclic guanosine monophosphate) στα κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου, γεγονός που οδηγεί σε έκλυση στον γαστρεντερικό σωλήνα μεγάλες ποσότητες ύδατος.

Η εντερίτιδα προκαλούμενη από *Y. enterocolitica* εμφανίζεται κυρίως 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. Βασικό στοιχείο που διαχωρίζει την εντερίτιδα οφειλόμενη σε *Y. enterocolitica* με τις εντερίτιδες προερχόμενες από σαλμονέλλα, σιγκέλλα ή παθογόνα κολοβακτηρίδια, είναι ότι τα συμπτώματά της

εμφανίζονται ηπιότερα και παρουσιάζουν πιο αργή πορεία (Cover και Aber, 1989). Στις περισσότερες περιπτώσεις, η υερσινίωση αυτοπεριορίζεται. Εάν υπάρξουν κλινικές εκδηλώσεις, αυτές εμφανίζονται μετά από 4 έως 7 ημέρες από την μόλυνση και διαρκούν 1 έως 3 εβδομάδες ή αρκετούς μήνες σε περίπτωση που εξελιχθεί σε χρόνια εντερίτιδα (Saebø και Lassen, 1992), ενώ αν χορηγηθούν αντιβιοτικά (κυρίως με χλωροαμφαινικόλη ή στρεπτομυκίνη per os) η βελτίωση των συμπτωμάτων είναι ταχύτατη, ακόμη και εντός της πρώτης ημέρας της θεραπείας (CDC, 2010).

6.1) Οξεία σύνδρομα

Σε μεγαλύτερα παιδιά και ενήλικες, η εντερική υερσινίωση εκδηλώνεται με τελική ειλείτιδα (Τσακρής και συν., 1991) και μεσεντέριο λεμφαδενίτιδα (Μανιάτης και Παναγιωτόπουλος, 1975). Τα παρατηρούμενα συμπτώματα είναι κοιλιακό άλγος στο κάτω δεξιό τεταρτημόριο της κοιλιακής χώρας και πυρετός με ή χωρίς διάρροια (Cover και Aber, 1989), τα οποία είναι άτυπα και συχνά συγχέουν την κατάσταση με σκωληκοειδίτιδα. Εάν η εντερική υερσινίωση επιπλακεί, παρατηρείται διάχυτη εξέλκωση και φλεγμονή του λεπτού εντέρου και του κόλου (Gutman και συν. 1973) έως διάρρηση και περιτονίτιδα, μετεωρισμό του εντέρου (Moeller και Burger, 1985), χολαγγειίτιδα (Rush και συν., 1980), τοξικό megacolon (Stuart και συν., 1986) κ.λ.π. Στις Η.Π.Α. οι πιο σοβαρές μορφές της μόλυνσης από *Y. enterocolitica* έχουν αποδοθεί σε μόλυνση από τον ορότυπο O:8, ενώ οι ηπιότερες με τον βιο-ορότυπο 4/O:3, που είναι το πιο κοινό αίτιο πρόκλησης εντερικής υερσινίωσης σε παγκόσμιο επίπεδο (Ostroff, 1995).

6.2) Σηψαιμία

Σε ανοσοκατασταλαμένα άτομα παρατηρείται βακτηριαμία, η οποία θα επιφέρει φλεγμονές σε διάφορα ζωτικά όργανα (Foberg και συν., 1986). Η βακτηριαμία παρατηρείται και λόγω μετάγγισης αίματος, όταν ο δότης πάσχει από υποκλινική βακτηριαμία. Τα βακτήρια που ήδη βρίσκονται στο αίμα, ακόμη και σε ασήμαντες συγκεντρώσεις, στο μεταγγιζόμενο αίμα αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια της συντήρησής του σε θερμοκρασίες ψύξης (Gottlieb, 1993). Τα συμπτώματα μετά από μετάγγιση μολυσμένου με *Y. enterocolitica* αίματος είναι ένα ταχέως εμφανιζόμενο σηπτικό σοκ, με το συνολικό ποσοστό θνησιμότητας να αγγίζει το 54.5%. Η θεραπεία με αντιβιοτικά δεν μειώνει το ποσοστό θνησιμότητας και γι' αυτό το λόγο το αίμα που λαμβάνεται κατά τις μεταγγίσεις επιβάλλεται να υπόκειται σε αυστηρό έλεγχο, παρά το μεγάλο οικονομικό κόστος της διαδικασίας.

Έτσι, αν και πιο σπάνια, σε άτομα που πάσχουν από υερσινίωση παρατηρούνται και εξωμεσεντερικές λοιμώξεις που προκαλούν φλεγμονές σε διάφορες θέσεις εκτός του γαστρεντερικού συστήματος ως επακόλουθο της γενικευμένης σήψης. Η κλινική εικόνα, σε αυτή την περίπτωση, περιλαμβάνει εντοπισμένα αποστήματα σε διάφορα μέρη της κοιλιακής κοιλότητας, φλεγμονή του επιπεφυκότα (Crichton, 1978), δερματικά αποστήματα (Alexander και Lewis, 1976), φλεγμονή του ήπατος και της

σπλήνας (Bouza και συν. 1980) , μυοκαρδίτιδα, περικαρδίτιδα (Giamarellou και συν. 1995) , μηνιγγίτιδα (Sonnenwirth, 1970) κ.λ.π.

6.3) Ανοσοπαθολογικές επιπλοκές

Τέλος, η μόλυνση από *Y. enterocolitica*, προκαλεί και μία σειρά ανοσοπαθολογικών επιπλοκών , όπως η αντιδραστική αρθρίτιδα (Leirisalo -Repo, 1987), το οζώδες ερύθημα και σπανιότερα τη νόσο Graves (Leirisalo-Repo, 1987), οι οποίες εμφανίζονται κατά κύριο λόγο 1-6 εβδομάδες μετά την εμφάνιση μίας προδρόμου φάσεως. Οι επακόλουθες αυτές παθήσεις είναι εξαιρετικά σπάνιες και εμφανίζονται σε πολύ μικρό ποσοστό ασθενών , κατά την οξεία φάση της νόσου. Στο οζώδες ερύθημα, παρατηρούμενα συμπτώματα είναι διάρροια (στο 60% των περιπτώσεων), ήπιος πυρετός και ακαθόριστο κοιλιακό άλγος, ενώ χαρακτηριστικές είναι οι επώδυνες υπεργεμμένες κόκκινες ή μωβ χρώματος δερματικές αλλοιώσεις, κατά κύριο λόγο στα κάτω άκρα. Οι αλλοιώσεις παρατηρούνται 2 έως 20 ημέρες μετά την εμφάνιση του πυρετού και του κοιλιακού πόνου και εξαφανίζονται απότομα τις περισσότερες φορές σε χρονικό διάστημα 1 μήνα ,ενώ η λήψη αντιβιοτικών δεν επιφέρει καμία βελτίωση στα παρατηρούμενα συμπτώματα.

Στην αντιδραστική αρθρίτιδα προσβάλλονται κατά σειρά οι αρθρώσεις των δακτύλων των άκρων, των γονάτων, των αστραγάλων, και των δακτύλων των κάτω άκρων. Στη συνέχεια, φλεγμονή παρατηρείται σε αρθρώσεις των καρπών, ισχίων, αγκώνων, ώμων κ.α. Συνήθως προσβάλλονται 2-3 αρθρώσεις ταυτοχρόνως, διαδοχικά εντός ημερών έως και 2-3 εβδομάδων. Τα συμπτώματα εμφανίζονται μία έως δύο εβδομάδες μετά τα γαστρεντερικά συμπτώματα και παραμένουν για χρονικό διάστημα 1 έως 4 μηνών. Σημαντικό στοιχείο που συμβάλει στη διάγνωση της νόσου είναι οι αρνητικές ακτινολογικές εξετάσεις, η δοκιμή ανίχνευσης του ρευματοειδούς παράγοντα, η αντίδραση Waaler-Rose και ο τίτλος της αντιστρεπτολυσίνης. Τέλος, το σύνδρομο Reiter, το οποίο είναι ένα σπάνιο είδος αντιδραστικής αρθρίτιδας που ονομάζεται επίσης και ως ουρηθρική αρθρίτιδα, αφροδίσια αρθρίτιδα και εντερική πολυαρθρίτιδα, θεωρείται πιθανό να οφείλεται σε μόλυνση από *Y. enterocolitica*, χωρίς ωστόσο επαρκή επιστημονικά δεδομένα.

Πίνακας 7: Κλινικές εκδηλώσεις υερσινίωσης (Κεχαγιά, 2007)

Γαστρεντερικές (τροφιμογενής επιδημίες και νοσοκομειακές διάρροιας)
Εντεροκολίτιδα, σε μικρά παιδιά, με συνοδό βακτηραιμία
Σύνδρομο ψευδούς σκωληκοειδίτιδας, σε παιδιά >5 ετών και ενήλικες
Οξεία μεσεντέρια λεμφαδενίτιδα
Τελική ειλείτιδα
Σηψαιμία
Σε ανοσοκαταστέλλομενους, με υπερφόρτωση σιδήρου ή από αγωγή με Desferrioxamine
Μεταγγιζόμενοι
Μεταστατικές φλεγμονές (ως επιπλοκή της σηψαιμίας)
Εντοπισμένα αποστήματα στο έντερο, νεφρούς, σπλίνα, και πνεύμονες
Δερματικές φλεγμονές, κυτταρίτιδα, φλύκταινες
Μηνιγγίτιδα
Πανοφθαλμίτιδα
Ενδοκαρδίτιδα, λοιμώδες μυκοτικό ανεύρυσμα
Οστεομυελίτιδα
Μεταλοιμώδεις επιπλοκές
Αρθρίτιδα
Μυοκαρδίτιδα
Σπειραματονεφρίτιδα
Οξώδες ερύθημα
Σύνδρομο Reiter
Φαρυγγίτιδα

Το ποσοστό θνησιμότητας είναι εξαιρετικά χαμηλό (0-0,5%), ενώ στην περίπτωση της βακτηραιμίας, το ποσοστό αυτό, αυξάνεται κατά πολύ. (30-60%). Τα πιο κοινά 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. Επιδημιολογικές έρευνες έδειξαν ότι για τα περισσότερα κρούσματα η κυριότερη αιτία ήταν η κατανάλωση ατελώς ψημένου χοιρινού κρέατος (Tauхе και συν., 1987). Μόλυνση συχνά έχει προκληθεί και μετά από χειρισμό χοιρινών εντέρων (Robbins-Browne, 2001)

7) Ανίχνευση *Y. enterocolitica*

Η *Y. enterocolitica* απομονώνεται κατά κύριο λόγο σε ωμό χοιρινό (σε γλώσσες και παρείδες ανιχνεύονται οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις), καθώς και στο περιβάλλον του κρεοπωλείου. Η *Y. pseudotuberculosis* ανιχνεύεται σπανιότερα και οι πιο κοινοί ορότυποι είναι 0:3, O:2c, O:4b.

Η συχνότητα ανίχνευσης των διάφορων ορότυπων της *Y. enterocolitica* εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια και σχετίζεται επίσης με τη γεωγραφική κατανομή. Οι Bhaduri και Wesley (2006) παρατήρησαν ότι τα στελέχη *Y. enterocolitica* O:3 και O:5 ανευρίσκονται συχνά στους χοίρους στις Η.Π.Α., ενώ η ανίχνευσή τους σε διάφορα άλλα κράτη σε όλο τον κόσμο εμφανίζει διακυμάνσεις. Στην Κίνα, παρατηρείται κυρίως οι βιο-ορότυποι 3/O:3 και 2/O:9, ενώ πολύ σπανιότερα ο 4/O:3 (Fukushima και συν. 2001, Liang και συν. 2012). Στην Αγγλία, οι βιο-ορότυποι *Y. enterocolitica* O:5,27 και O:9 είναι πιο κοινοί στα χοιρινά, σε σχέση με τον O:3, ενώ η *Y. enterocolitica* παρατηρείται με μεγαλύτερη συχνότητα στην ανατολική παρά στη Δυτική Αγγλία (Ortiz Martínez και συν. 2010).

Τα περισσότερα περιστατικά των ορότυπων 0:3 που απομονώθηκαν, χαρακτηρίζονται ως μελιβιόζη αρνητικά. Στην *Y. pseudotuberculosis* κυρίως απομονώνεται ο ορότυπος O:3. Σπανιότερα ευρίσκονται οι ορότυποι O:1, O:2 και O:4. Η πλειοψηφία των στελεχών *Y. pseudotuberculosis* O:3 που απομονώθηκαν από τους χοίρους είναι αρνητικά σε μελιβιόζη (Weber και Knapp, 1981, Tsubokura και συν., 1984, Niskanen και συν., 2002, Ortiz Martínez και συν., 2009, Ortiz Martinez και συν., 2011) Τα παθογόνα στελέχη *Y. pseudotuberculosis* σπάνια απομονώνονται από άγρια ζώα (Fukushima και συν. 2001, Laukkanen-Ninios και συν. 2011, Magistrali και συν. 2014).

Η *Y. enterocolitica* και κυρίως ο ορότυπος 0:3, ανιχνεύεται σε χοίρους, προκαλώντας τους εντεροπάθεια χωρίς ορατά κλινικά συμπτώματα. Επομένως, δύσκολα ανιχνεύονται τα χοιρινά που φέρουν τη *Yersinia* προ ή μετά της σφαγής. Για το λόγο αυτό, είναι πολύ σημαντική η κατανόηση των οδών μετάδοσης και οι παράγοντες ανάπτυξης του μικροοργανισμού.

Η απομόνωση γίνεται κατά κύριο λόγο σε παχυνόμενα και σπανιότερα σε νεογέννητα χοιρίδια. Η ανίχνευση γίνεται με εύρεση αυξημένου τίτλου αντισωμάτων ή με μοριακή τεχνική PCR. Η ανίχνευση αντισωμάτων γίνεται με δείγμα είτε από τις αμυγδαλές των χοίρων, όταν αυτοί φέρουν το παθογόνο για μήνες, είτε από τα κόπρανα σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη μόλυνση. Μέσω της ανίχνευσης αντισωμάτων μπορεί να καθοριστεί και η ύπαρξη μόλυνσης της εκτροφής στο παρελθόν με το παθογόνο. Όμως, πολλές ορολογικές μέθοδοι δεν επιτρέπουν τη διάκριση αντισωμάτων που προέρχονται από τη *Y. enterocolitica* και τη *Y. pseudotuberculosis*. Επίσης, με την πάροδο της ηλικίας, τα ζώα αποκτούν ανθεκτικότητα στο παθογόνο *Y. Enterocolitica*, επομένως ο τίτλος αντισωμάτων μειώνεται με την πάροδο της ηλικίας. Τα μητρικά αντισώματα παρέχουν ικανοποιητική προστασία στα θηλάζοντα, ενώ χαρακτηριστικό της νόσου στα χοιρινά είναι ότι παρά την καλή

κατάσταση υγείας, δεν δύναται να αποτραπεί η πρόσληψη της *Yersinia*, ακόμη κι αν στην εκτροφή εφαρμόζεται πρόγραμμα τακτικής χρήσης αντιβιοτικών, για προληπτικούς λόγους. Το παράδοξο με το μικρόβιο αυτό είμαι η αυξημένη απέκκρισή του στα κόπρανα, παρά το καλό status υγείας.

7.1) Τρόποι προσδιορισμού

Για την ανάπτυξη της *Y. enterocolitica* χρησιμοποιούνται κοινά, αλλά και ειδικά θρεπτικά υποστρώματα και ο ρυθμός ανάπτυξης του βακτηρίου είναι βραδύς, καθώς απαιτούνται τουλάχιστον 48 ώρες επώασης. Κατά κύριο λόγο, η τυποποίηση της *Y. enterocolitica* απαιτεί χρήση μεθόδων ανάλυσης του γενετικού υλικού της. Στο παρελθόν, χρησιμοποιούνταν διάφορες μέθοδοι υβριδισμού (Lan και Reeves, 2001), οι οποίες όμως δεν είχαν τα επιθυμητά αποτελέσματα και πλέον θεωρούνται παρωχημένες. Η πηγή απομόνωσης επηρεάζει σε μεγάλο ποσοστό τις μεθόδους απομόνωσης του βακτηρίου. Ευκολότερα γίνεται απομόνωση από δείγματα ατόμων που νοσούν, παρά από περιβαλλοντικά και δείγματα τροφίμων, λόγω της πλούσιας μικροβιακής χλωρίδας που υπάρχει σε αυτά η οποία δυσχεράνει την απομόνωση της *Y. enterocolitica* σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (Fukushima Gomyoda, 1986) Επομένως, χρησιμοποιούνται εναλλακτικές μέθοδοι, όπως ο ψυχρός εμπλουτισμός, που καταστέλλει την ανάπτυξη της μικροβιακής χλωρίδας. Για την απομόνωση του παθογόνου *Y. enterocolitica*, ιδανικό σημείο δειγματοληψίας θεωρούνται οι αμυγδαλές. Εκεί, κατά την ιστολογική παρατήρηση προκαλεί ήπια φλεγμονή με μονοπύρηνη διήθηση και καταστροφή στα επιθηλιακά κύτταρα (Shiozawa, T. Nishina, Y. Miwa, T. Mori, S. Akahane και K. Ito. 1991. Colonization in the tonsils of swine by *Yersinia enterocolitica* . Contrib. Microbiol. Immunol. 12:63-67.) Στις αμυγδαλές, συχνά τα παρατηρούμενα κύτταρα του *Y. enterocolitica* στο επιθήλιο των αμυγδαλών διηθούνται εκφυλισμένα λεμφοκύτταρα, κυτταρικά συγκρίμματα και αρκετά αρνητικά Gram βακτήρια.

Η άμεση επίστρωση και μικροσκόπηση σε δείγματα τροφίμων είναι εξαιρετικά δύσκολη, ακόμη και με χρήση εκλεκτικών υποστρωμάτων, λόγω της μικρής συγκέντρωσης του παθογόνου *Yersinia* σε σχέση με τη συγκέντρωση άλλων μικροβίων (Fredriksson-Ahomaa και συν. 2010).

Έτσι οι κλασικές τεχνικές καλλιέργειας που συνήθως χρησιμοποιούνται δεν έχουν ευαισθησία στην ανίχνευση των παθογόνων *Yersinia*. Σε διερεύνηση προϊόντων χοιρινού κρέατος, καθώς και δείγματα αμυγδαλών και κοπράνων, η μέθοδος ανίχνευσης *Y. enterocolitica* με PCR σε πραγματικό χρόνο ήταν πολύ πιο αποτελεσματική σε σχέση με τις κοινές μεθόδους καλλιέργειας (Boyaralle και συν. 2001).

Η μέθοδος καλλιέργειας οδηγεί σε απομόνωση του παθογόνου σε ποσοστό 4% των δειγμάτων από κόπρανα χοίρου, ενώ η ευαισθησία της PCR άγγιζε το 12%. (Bhaduri και συν. 2005). Απομόνωση από

αμυγδαλές και χοίρειο κρέας, υπήρξε στο 88% και 7% αντιστοίχως με μέθοδο PCR σε πραγματικό χρόνο, ενώ τα αντίστοιχα αποτελέσματα ήταν μόνο 35% και 0% χρησιμοποιώντας μεθόδους καλλιέργειας. Μεγαλύτερη πιθανότητα απομόνωσης υπάρχει σε έλεγχο δειγμάτων από κατεστραμμένους ιστούς, σε σχέση με επιφανειακά επιχρίσματα.

Οι μέθοδοι που βασίζονται στον υβριδισμό του DNA και την αντίδραση PCR είναι επομένως οι πιο κοινώς χρησιμοποιούμενες αλλά και οι πιο αποτελεσματικές. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό το επίπεδο επιτυχίας στην απομόνωση του μικροβίου. Η τεχνική PCR έχει μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με τις καλλιέργειες σε τρυβλία και έχει εξακριβωθεί ότι η *Y. enterocolitica*, αν και υπάρχει στα υλικά που διερευνώνται, δεν σχηματίζει πάντα αποικίες σε στερεά υλικά (Bari και συν., 2011).

Ο προσδιορισμός της *Y. enterocolitica* μπορεί να γίνει με μεθόδους οι οποίες κατατάσσονται σε 4 διαφορετικές ομάδες: τις καλλιεργητικές μεθόδους, τις προτυποποιημένες, τις μοριακές και τις ορολογικές μεθόδους.

Προκειμένου να τυποποιηθεί η *Y. enterocolitica* σε δείγματα από τρόφιμα, ζώα και δείγματα που έχουν ληφθεί από το περιβάλλον, υπάρχει μία πληθώρα αξιόπιστων μεθόδων καλλιέργειας, οι περισσότερες εκ των οποίων συμβάλλουν στην απομόνωση παθογόνων στελεχών της *Y. enterocolitica*. Ωστόσο, καμία μέθοδος μόνη της δεν θεωρείται ιδανική προκειμένου να γίνει η απομόνωση όλων των παθογόνων για τον άνθρωπο ειδών, από δείγματα τροφίμων (De Boer, 2003).

7.2) Στάδια ανίχνευσης

Σύμφωνα με τη μέθοδο ISO 10273 του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (ISO) διακρίνονται τρία στάδια για την ανίχνευση του μικροοργανισμού *Y. enterocolitica* σε δείγμα τροφίμων και περιβαλλοντικά δείγματα.

α) του εμπλουτισμού,

β) του υλικού επίστρωσης, και

γ) του χαρακτηρισμού μέσω χημικών, βιοχημικών και βιοτυπικών δοκιμασιών (EFSA, 2007).

Στο αρχικό στάδιο γίνεται χρήση εκλεκτικού υγρού μέσου, προκειμένου να επιτευχθούν ιδανικές συνθήκες ανάπτυξης σε υλικά όπως οι ζωμοί PBS (peptone, sorbitol, and bile salts) και ITC (irgasan, ticarcillin, and potassium chlorate). Ο ζωμός PBS είναι ένας ρυθμισμένος με φωσφορικά άλατα ορός που περιέχει πεπτόνη, σορβιτόλη και χολικά άλατα (PSB) και προτιμάται σε δείγματα τροφίμων, νερού και περιβάλλοντος. Η σορβιτόλη μπορεί να αντικατασταθεί με 1% μαννιτόλη (PMB)

Για την απομόνωση του παθογόνου *Y. enterocolitica*, χρησιμοποιήθηκε ως εκλεκτικό μέσο εμπλουτισμού της καλλιέργειας και ο ζωμός ITC (irgasan, ticarcillin, and potassium chlorate), ο οποίος θεωρήθηκε ιδανικός για απομόνωση των στελεχών του βιο-ορότυπου 4/0:3 (Fredriksson-Ahomaa και συν. 2010).

Η αλκαλική επεξεργασία του δείγματος ενισχύει την πιθανότητα ανίχνευσης του εντεροπαθογόνου *Yersinia*, τόσο σε ITC όσο και σε PSB εμπλουτισμού σε δείγματα από κατεστραμμένους ιστούς. Η μείωση του χρόνου εμπλουτισμού του PSB σε δύο ημέρες είχε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τον εμπλουτισμό πέντε ημερών. Επιπλέον, ο ψυχρός εμπλουτισμός σε PMB για 14 ημέρες και η πραγματοποίηση αλκαλικής επεξεργασίας με 0,25% KOH συνέβαλε στην απομόνωση του παθογόνου από δείγματα αμυγδαλών, κοπράνων και σφαγίων σε αντίθεση με επώαση 7 ημερών σε PMB.

Στο επόμενο στάδιο, διενεργείται καλλιέργεια σε στερεά διαφοροποιητικά μέσα όπως: άγαρ CIN και SSDC.

Στο τρίτο στάδιο, εκτελούνται βιοχημικές και ορολογικές δοκιμασίες ταυτοποίησης. Πιθανές δυσκολίες στην απομόνωση παθογόνων στελεχών οφείλονται στο γεγονός ότι πολύ συχνά συνυπάρχουν μη παθογόνα στελέχη στα υλικά επώασης· επιπλέον, στα τυπικά μέσα (CIN, SSDC) οι αποικίες των μη παθογόνων στελεχών δεν διαφέρουν ως προς την εμφάνιση από αυτές των παθογόνων στελεχών. Έτσι απαιτείται η επιλογή της κατάλληλης αποικίας για τις περαιτέρω δοκιμασίες ταυτοποίησης.

Το περιβάλλον απομόνωσης των μικροοργανισμών και η παρουσία άλλων μικροβίων είναι οι δύο σημαντικότεροι παράγοντες για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica*. Στο ζώο, απομόνωση μπορεί να γίνει, κατά κύριο λόγο, από τα κόπρανα, τη σκωληκοειδή απόφυση, τα γάγγλια, τις αμυγδαλές και το αίμα. Συχνά, καλλιέργειες αίματος και κοπράνων πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια κλινικών μελετών. Εάν η *Y. enterocolitica* είναι κυρίαρχη και σχηματίζει μεγάλους πληθυσμούς, η ανίχνευσή της είναι εύκολη και σίγουρη. Όμως, η διενέργεια τέτοιων αναλύσεων δεν είναι εφικτή από πολλά εργαστήρια. Το δείγμα που έχει ληφθεί για καλλιέργεια προκειμένου να ανιχνευθεί το μικρόβιο *Y. enterocolitica*, πρέπει να εξεταστεί σε σύντομο χρονικό διάστημα, καθώς το μικρόβιο επιβιώνει για λίγες ώρες μέσα στα κόπρανα. Σε συνθήκες περιβάλλοντος, το παθογόνο στέλεχος επιβιώνει μία έως τρεις ημέρες (Wauters, 1970).

Στα δείγματα τροφίμων, η ανίχνευση της *Y. enterocolitica* είναι ξεχωριστή υπόθεση. Τα βακτήρια αυτά αναπτύσσονται καλά σε συνήθη μέσα καλλιέργειας *Enterobacteriaceae* (MacConkey, SS, Hektoen). Το MacConkey άγαρ (MAC) είναι ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα παραδοσιακά εντερικά μέσα καλλιέργειας για ανίχνευση της παθογόνου *Yersinia*. Σε άγαρ MAC, η *Y. enterocolitica* σχηματίζει μικρές, επίπεδες και άχρωμες ή ανοιχτού ροζ αποικίες με διάμετρο 1 έως 2 mm. Η ανίχνευση του *Y. pseudotuberculosis* γίνεται με τροποποιημένο MacConkey που περιέχει 1%

σορβιτόλη. Σε αυτό το μέσο, οι αποικίες εντοπίζονται εύκολα και εμφανίζονται χωρίς χρώμα και επομένως είναι πιο διακριτές από άλλα είδη *Yersinia*. Το μειονέκτημα της διαδικασίας είναι το μικρό μέγεθος αποικιών που σχηματίζεται σε τυποποιημένη επώαση στους 37°C για 24 ώρες, το οποίο συχνά δεν γίνεται αντιληπτό, εάν ειδικά υπάρχουν παράλληλα και άλλα βακτήρια αυτής της οικογένειας (συχνά σχηματίζοντας μεγάλες, βλεννώδεις αποικίες). Για το λόγο αυτό, συνιστάται η επώαση στους 22°C, και όχι στους 37°C, αφού έτσι αναστέλλεται η ανάπτυξη των άλλων βακτηρίων.

Το βακτήριο *Y. enterocolitica*, αν και είναι ψυχρόφιλο με αποτέλεσμα η χαμηλότερη θερμοκρασία να ευνοεί την ανάπτυξή της, εντούτοις, εάν το χρησιμοποιούμενο υπόστρωμα δεν είναι εκλεκτικό, υπάρχει αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης άλλων βακτηρίων και διαφορετικών ειδών *Yersinia* τα οποία θα βρίσκονται στο δείγμα του τροφίμου (Fredriksson-Ahomaa και συν., 2003).

Αξίζει, επίσης, να σημειωθεί ότι το κάθε τρόφιμο είναι ένα πολύ ειδικό περιβάλλον για την ανάπτυξη ενός βακτηρίου. Κάθε μεταβολή στα χαρακτηριστικά του τροφίμου, όπως ο τύπος θερμικής επεξεργασίας, η προσθήκη NaCl, ζάχαρης, κλπ., μπορεί να προκαλέσουν ανεπανόρθωτη βλάβη στα κύτταρα, γεγονός που δυσχεραίνει ή καθιστά αδύνατη την ανίχνευσή τους. Όταν οι Restaino και συν. (1980) έθεσαν τη *Y. enterocolitica* O:3, O:8, και O:17 σε στρεσογόνους παράγοντες, σε εμπλουτιστικό ζωμό 0.1M PBS (pH 7.0) στους 47°C για 70, 60, και 12 λεπτά, πάνω από 99% του κυτταρικού πληθυσμού εμφάνισε σημαντικές ζωτικές βλάβες. Τα κύτταρα που υπέστησαν τη βλάβη, μπορούσαν να σχηματίσουν αποικίες σε υλικό BHI, ενώ δεν είχαν τέτοια ικανότητα σε άγαρ TSA. Ωστόσο, σε θερμοκρασίες <0°C, ακόμα και τα τραυματισμένα *Y. enterocolitica* κύτταρα που απομονώθηκαν από τρόφιμα είχαν τη δυνατότητα να επιβιώσουν και να πολλαπλασιαστούν σε συγκεντρώσεις που δυνητικά αποτελούν απειλή για τη δημόσια υγεία.

7.2.1) Εμπλουτισμός

Κατά κύριο λόγο, με τη μέθοδο του εμπλουτισμού διενεργείται ο ψυχρός και ο εκλεκτικός εμπλουτισμός. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές ψυχρού εμπλουτισμού είναι ο ψυχρός εμπλουτισμός σε διάλυμα φωσφορικών αλάτων (phosphate- buffered saline, PBS) και σε διάλυμα φωσφορικών αλάτων με σορβιτόλη και χολικά άλατα (PSB) προκειμένου να γίνει απομόνωση των παθογόνων στελεχών *Y. enterocolitica* από κόπρανα χοίρου, επιχρίσματα από τις στοματικές κοιλότητες και τις αμυγδαλές. Με τη χρήση ψυχρού εμπλουτισμού, η απομόνωση των παθογόνων στελεχών της *Y. enterocolitica* γίνεται σε ένα μικρό ποσοστό, της τάξεως του 25%. Όμως, αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί δίνοντας καλύτερα αποτελέσματα, σε απομόνωση του βιότυπου 1A. Βασικό μειονέκτημα του ψυχρού εμπλουτισμού είναι η μεγάλη περίοδος επώασης (21 ημέρες),

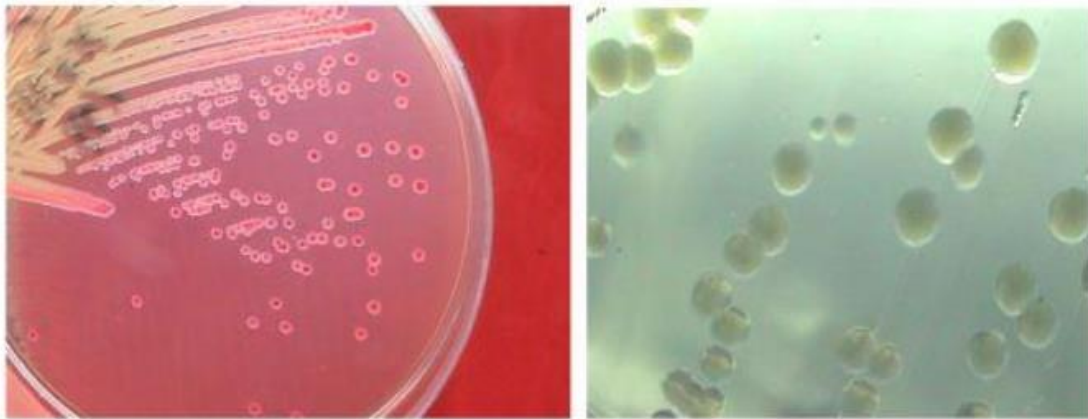
όπως επίσης και ο ταυτόχρονη ανάπτυξη αποικιών που ομοιάζουν με αυτές των παθογόνων στελεχών *Yersinia* από άλλα ψυχρότροφα βακτήρια. Καθώς η *Y. enterocolitica* επιβιώνει σε αλκαλικό περιβάλλον, η χρήση διαλύματος ΚΟΗ, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να μειώσει τους άλλους μικροβιακούς πληθυσμούς, μετά τον ψυχρό εμπλουτισμό.

Ο εκλεκτικός εμπλουτισμός είναι μια εναλλακτική μέθοδος εμπλουτισμού που χρησιμοποιείται κυρίως στις επιδημικές εξάρσεις (outbreaks), καθώς οδηγεί σε άμεση επιβεβαίωση της *Y. enterocolitica*.

7.2.2) Επίστρωση

Το άγαρ *Salmonella-Shigella-deoxycholate calcium chloride* (SSDC) είναι ένα από τα ευρέως χρησιμοποιούμενα θρεπτικά υποστρώματα. Το SSDC χρησιμοποιήθηκε αρχικά σε προϊόντα χοιρινού κρέατος, καθώς παρουσίαζε μεγαλύτερα ποσοστά απομόνωσης της *Y. enterocolitica* σε αυτά. Επιπλέον, μεγαλύτερα ποσοστά απομόνωσης του βακτηρίου *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 μικροοργανισμών της οικογένειας *Enterobacteriaceae*, γεγονός που ευνοεί τα βραδέως αναπτυσσόμενα είδη *Yersinia*. Το CIN άγαρ περιέχει cefsulodin, irgasan και novobiocin ως επιλεκτικά αντιμικροβιακά και είναι επιλεκτικό έναντι των *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* και *Proteus mirabilis*, αλλά όχι της *Serratia*.

Μικροσκοπικά, η *Y. enterocolitica* σχηματίζει διακριτές αποικίες με έντονο κόκκινο χρώμα (*bull's eye*). Οι αποικίες έχουν με έντονα όρια, και στην περιφέρεια τους περιβάλλονται από μια ημιδιαφανή ζώνη στο CIN άγαρ, ενώ κάποια ανταγωνιστικά βακτήρια (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*) αναπτύσσονται εξίσου καλά στο CIN άγαρ και σχηματίζουν λίγο μεγαλύτερου μεγέθους αλλά παρόμοιας μορφής αποικίες από το *Yersinia*. Τέλος το άγαρ DCLS, δεν συνίσταται η χρησιμοποίησή του, καθώς έχει ως συστατικό τη σουκρόζη και ως γνωστόν, η σακχαρόζη ζυμώνεται από τη *Y. enterocolitica*.



Εικόνα 2: *Y. enterocolitica* σε CIN άγαρ (δεξιά) και σε MacConkey άγαρ (αριστερά)

7.2.3) Ανίχνευση

Η ανίχνευση των παθογόνων στελεχών του *Y. enterocolitica*, διενεργείται τόσο με καλλιέργειες σε τρυβλία, όσο και με μοριακές μεθόδους που εφαρμόζονται ως επι το πλείστον σε δείγματα τροφίμων, όπως διάφορες δοκιμασίες *αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR)* (Howard και συν., 2006).

Σε πολλά δείγματα χρησιμοποιούνται εκκινητές (primers), οι οποίοι στοχεύουν τα γονίδια *yadA* ή *virF* που βρίσκονται στο πλασμίδιο pYV. Όμως, επειδή συχνά παρατηρείται απώλεια πλασμιδίων, έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι PCR για φυσικά δείγματα που στοχεύουν σε χρωμοσωμικά γονίδια μολυσματικότητας. Τα γονίδια *ail*, *inv* και *yst*, που βρίσκονται στο χρωμόσωμα των εντεροπαθογόνων στελεχών *Y. enterocolitica*, είναι οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι χρωμοσωμικοί στόχοι (Fredriksson-Ahomaa και συν., 2006).

Η Bhaduri και συν. (2005) εξέτασαν την παρουσία της *Y. enterocolitica* σε περιττώματα χοίρων. Τα δείγματα συλλέχθηκαν από χοίρους στο τελικό στάδιο σφαγής, από διάφορες πολιτείες των ΗΠΑ. Η ύπαρξη του *ail*-θετικού *Y. enterocolitica* προσδιορίστηκε σε δείγματα χρησιμοποιώντας τόσο την τεχνική PCR φθορίζουσας 5' νοκλεάσης όσο και μεθόδους καλλιέργειας. Συνολικά, η τεχνική PCR έδειξε ένα σημαντικό ($P < 0.05$) υψηλό ποσοστό θετικών δειγμάτων για το παθογόνο (*ail* αλληλουχία) συγκρινόμενο με τη μέθοδο καλλιέργειας, καταδεικνύοντας έτσι την υψηλή ευαισθησία της δοκιμασίας PCR. Προκειμένου να καταταχθούν οι μικροοργανισμοί ως προς την παρουσία ή μη βιολογικών και μεταβολικών δραστηριοτήτων χρησιμοποιούνται φαινοτυπικές μέθοδοι προσδιορισμού, έτσι και για τον χαρακτηρισμό σε επίπεδο νοκλεϊκού οξέος, απαραίτητος είναι ο προσδιορισμός με βάση γενοτυπικές μεθόδους.

Σύμφωνα με τους Rossmanith και Wagner (2010) το βασικό συστατικό για την αποτελεσματικότητα στη χρήση μεθόδων όπως η PCR στην ανάλυση τροφίμων είναι η ορθή προπαρασκευή του δείγματος. Η πολλαπλή αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (*multiplex PCR*) είναι μία μέθοδος που έχει χρησιμοποιηθεί με σκοπό την απομόνωση και διαφοροποίηση της *Y. enterocolitica* με ορότυπο O:3 και άλλων παθογονικών *Y. enterocolitica*, με τη χρήση γονιδίων *rfbC*, *inv*, *ail*, *virF* *yst*, και εκκινητές (Lambertz και συν., 2005).

Πλέον, στο ερευνητικό προσκήνιο βρίσκονται καινούριες τεχνικές, όπως η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (*Real-time PCR*, *qPCR*) προκειμένου να ανιχνευθούν τα νοσογόνα γονίδια και συγκεκριμένα το *ail*, προκειμένου να γίνει ανίχνευση παθογόνων *Y. enterocolitica* (Mäde και συν., 2008; Lambertz και συν., 2008).

Δοκιμές με real-time PCR, ειδικά αυτές που χρησιμοποιούν TaqMan ανιχνευτές (probes), προσφέρουν μεγαλύτερη ειδικότητα και απαιτούν λιγότερο χρόνο και εργασία ώστε να ολοκληρωθούν, σε σύγκριση με τις συμβατικές PCR (Fredriksson-Ahomaa και συν., 2006). Ο Lambertz και συν. (2008) ανέπτυξαν μια μικροδιάταξη βασιζόμενη σε ανιχνευτή TaqMan realtime PCR για την ανίχνευση της *Y. enterocolitica*. Η μέθοδος αυτή 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), είχε ποσοστό ευαισθησίας από 0.5 μέχρι 55 μονάδες σχηματιζόμενων αποικιών (cfu) *Y. enterocolitica*. Η ίδια μέθοδος δοκιμάστηκε σε φυσικώς μολυσμένα τρόφιμα. Για τη λήψη των αποτελεσμάτων, χρειάζονται μία έως δύο ημέρες (Lambertz και συν., 2008).

Οι μέθοδοι PCR προορίζονται σε βάθος χρόνου για την άμεση ανίχνευση των βακτηρίων σε δείγματα, παρ' ότι η ύπαρξη ανασταλτικών ουσιών στα τρόφιμα μπορεί να παρεμποδίσει τον γενετικό πολλαπλασιασμό και κρίνεται αναγκαία η απομάκρυνσή τους. Στις μέρες μας, ορολογικές δοκιμασίες συχνά πραγματοποιούνται 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 ανοσοαποτόπωσης κατά *Western* (*Western immunoblotting*) με πρωτεΐνες Yop ως αντιγόνα. Όμως, εξαιτίας της αντιγονικής συγγένειας μεταξύ των στελεχών που ανήκουν σε διαφορετικές ορολογικές ομάδες και διαφορετικά είδη, η ταυτοποίηση με ορολογικές δοκιμασίες δεν είναι η ιδανική μέθοδος.

Συμπεράσματα

Η *Y. enterocolitica* είναι ένα τροφιμογενές παθογόνο, το οποίο ανιχνεύεται σε όλα τα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας του χοιρινού κρέατος παγκοσμίως. Ο περιορισμός των παθογόνων στελεχών κρίνεται απαραίτητος, λόγω της μόλυνσης που προκαλούν στον άνθρωπο και κατ' επέκταση τις συνέπειες της υερσινίωσης στη δημόσια υγεία. 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). Οι χοίροι έχουν χαρακτηριστεί ως οι κύριες δεξαμενές για τους ανθρώπινους παθογονικούς τύπους της *Y. enterocolitica*, επομένως βασικό μέλημα είναι η μείωση του επιπολασμού των εντεροπαθογόνων στελεχών της *Yersinia* στις χοιροτροφικές εκμεταλλεύσεις. Ωστόσο, καθώς η τήρηση των κανόνων υγιεινής παραγωγικής διαδικασίας τόσο στις χοιροτροφικές εκμεταλλεύσεις, όσο και στα σφαγεία αλλά και στα καταστήματα λιανικής πώλησης του χοιρινού κρέατος δεν οδηγεί σε μείωση των πληθυσμών του παθογόνου, η λήψη αποτελεσματικών μέτρων κρίνεται ως επιτακτική ανάγκη, το πιο σημαντικό εκ των οποίων είναι η αγορά ζώων από πιστοποιημένες, οροαρνητικές εκτροφές. Μία ακόμη σημαντική παρέμβαση προς τον σκοπό αυτό, είναι η τήρηση των προβλεπόμενων συνθηκών κατά τη σφαγή, π.χ. η αφαίρεση των αμυγδαλών και της γλώσσας του χοιρινού από το σφάγιο μαζί με το κεφάλι, αλλά και η χρήση ορισμένων μεθόδων εξυγίανσης. Βέβαια, όλες αυτές οι τεχνικές, απλά οδηγούν σε περιορισμό και όχι εξάλειψη των παθογόνων στελεχών. Μετά τη σφαγή, ο περιορισμός της *Y. enterocolitica* είναι εξαιρετικά δύσκολος, λόγω της ικανότητας του μικροβίου να επιβιώνει και να πολλαπλασιάζεται σε συνθήκες ψύξης και τροποποιημένης ατμόσφαιρας. Σήμερα, υπάρχει μεγάλη ανάγκη για περισσότερες μελέτες προκειμένου να βρεθούν λύσεις για εξάλειψη των στελεχών *Y. enterocolitica* από τις εκτροφές χοίρων, αλλά και περιορισμού της συχνότητας εμφάνισής τους από τα σφαγεία και τους χώρους διανομής του χοιρινού κρέατος στους καταναλωτές.

Βιβλιογραφία

- Adams MR, Little CL, Easter MC. 1991. Modelling the effect of pH, acidulant and temperature on the growth rate of *Yersinia enterocolitica*. *J Appl Microbiol* 71(1): 65– 71.
- Aldová E, Lim D. 1974. *Yersinia enterocolitica* in small rodents. 1. Pilot study in two wildlife areas. *Zentralbl Bakteriolog Orig A* 226(4): 491– 6.
- Aldová E, Černý J, Chmela J. 1977. Findings of *Yersinia* in rats and sewer rats. *Zentralbl Bakteriolog Orig A* 239(2): 208– 12.
- 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.
- American Association of Zoo Veterinarians Manual/Yersiniosis, www.aazv.org, Infectious Disease Committee, **2013**.
- Andersen JK. 1988. Contamination of freshly slaughtered pig carcasses with human pathogenic *Yersinia enterocolitica*. *Intl J Food Microbiol* 7(3): 193– 202.
- Andersen JK, Sorensen R, Glensbjerg M. 1991. Aspects of the epidemiology of *Yersinia enterocolitica*: a review. *Intl J Food Microbiol* 13(3): 231– 7.
- 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.
- Anonymous. 1976. “Worldwide spread of infections with *Yersinia enterocolitica*.” *WHO Chronicle*, 30, 494-496.
- Anonymous. 2004. Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council laying down specific hygiene rules for food of animal origin. *OJEU L* 47(139): 55– 205.
- Anonymous. 2008. Yersiniosis – Russia (Krasnoyarsk). Promed-mail 18 July 2008, accession no 20080718. 2184. [Internet]. Available from: <http://www.promedmail.org>. Accessed 2009 November 4

- Anonymous. 2014. Commission Regulation (EU) No 219/2014 amending Annex I to Regulation (EC) No 854/2004 of the European Parliament and of the Council as regards the specific requirements for post-mortem inspection of domestic swine. *OJEU L 57(69)*: 99– 100.
- Arqués JL, Fernández J, Gaya P, Nuñez M, Rodríguez E, Medina M. 2004. Antimicrobial activity of reuterin in combination with nisin against food-borne pathogens. *Intl J Food Microbiol 95(2)*: 225– 9.
- Bercovier H, Brault J, Barré N, Treignier M, Alonso J, Mollaret H. 1978. Biochemical, serological, and phage typing characteristics of 459 *Yersinia* strains isolated from a terrestrial ecosystem. *Curr Microbiol 1(6)*: 353– 7.
- Bhaduri S. 2006. Enrichment, isolation, and virulence of freeze-stressed plasmid-bearing virulent strains of *Yersinia enterocolitica* on pork. *J Food Prot 69(8)*: 1983– 5.
- 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 Microbiol 28(1)*: 171– 3
- Bhaduri S, Wesley I. 2006. Isolation and characterization of *Yersinia enterocolitica* from swine feces recovered during the National Animal Health Monitoring System Swine 2000 study. *J Food Prot 69(9)*: 2107– 12.
- Bhaduri S, Buchanan RL, Phillips JG. 1995. Expanded response surface model for predicting the effects of temperatures, pH, sodium chloride contents and sodium nitrite concentrations on the growth rate of *Yersinia enterocolitica*. *J Appl Bacteriol 79(2)*: 163– 70.
- Bockemühl J, Schmitt H, Roth J, Saupe E. 1979. Season-related incidence of *Yersinia enterocolitica* in fecal material of healthy slaughterhouse pigs (author's transl). *Zentralbl Bakteriol Orig A 244(4)*: 494– 505.
- Bolton DJ, Pearce RA, Sheridan JJ, Blair IS, McDowell DA, Harrington D. 2002. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. *J Appl Microbiol 92(5)*: 893– 902.
- Bolton DJ, Ivory C, McDowell D. 2013b. A small study of *Yersinia enterocolitica* in pigs from birth to carcass and characterisation of porcine and human strains. *Food Control 33(2)*: 521– 4.
- Bonardi S, Paris A, Bacci C, D'Incau M, Ferroni L, Brindani F. 2007. Detection and characterization of *Yersinia enterocolitica* from pigs and cattle. *Vet Res Commun 31 Suppl 1*: 347– 50.

- Boqvist S, Pettersson H, Svensson A, Andersson Y. 2009. Sources of sporadic *Yersinia enterocolitica* infection in children in Sweden, 2004: a case-control study. *Epidemiol Infect* 137: 897–905
- Bottone EJ. 1999. *Yersinia enterocolitica*: overview and epidemiologic correlates. *Microbes Infect* 1(4): 323–33.
- Bottone EJ, Bercovier H, Mollaret HH. 2005. Genus XLI. *Yersinia*. In: GM Garrity, DJ Brenner, NR Krieg, JT Staley, editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 2nd ed. New York, N.Y.: Springer. p 838.
- Bottone, E. J., 2015. “*Yersinia enterocolitica*: Revisitation of an Enduring Human Pathogen.” *Clinical Microbiology Newsletter* 37:1.
- Bowman AS, Glendening C, Wittum TE, LeJeune JT, Stich RW, Funk JA. 2007. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in different phases of production on swine farms. *J Food Prot* 70(1): 11–6.
- Brackett RE. 1987. Effects of various acids on growth and survival of *Yersinia enterocolitica*. *J Food Prot* 50(7): 598–601.
- CDC. (2006a). *FoodNet Surveillance Report for 2004 (Final Report)*.
- 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.
- Christensen SG. 1980. *Yersinia enterocolitica* in Danish pigs. *J Appl Bacteriol* 48(3): 377–82.
- Christensen H, Lüthje H. 1994. Reduced spread of pathogens as a result of changed pluck removal technique. Proceedings of the 40th International Congress of Meat Science and Technology, the Hague, the Netherlands. S-III.06.
- 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-Vilas, Ed., pp. 1217–1223.
- Cornelis GR, Boland A, Boyd AP, Geuijen C, Iriarte M, Neyt C, Sory MP, Stainier I. 1998. The virulence plasmid of *Yersinia*, an antihost genome. *Microbiol Mol Biol Rev* 62(4): 1315–52.

- Damasko C, Konietzny A, Kaspar H, Appel B, Dersch P, Strauch E. 2005. Studies of the efficacy of Enterocolitacin, a phage-tail like bacteriocin, as antimicrobial agent against *Yersinia enterocolitica* serotype O3 in a cell culture system and in mice. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 52(4): 171– 9.
- de Boer E, Nouws JF. 1991. Slaughter pigs and pork as a source of human pathogenic *Yersinia enterocolitica*. *Intl J Food Microbiol* 12(4): 375– 8.
- Doyle MP, Hugdahl MB, Taylor SL. 1981. Isolation of virulent *Yersinia enterocolitica* from porcine tongues. *Appl Environ Microbiol* 42(4): 661– 6.
- 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**.
- EFSA. 2005. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2004. *EFSA J* 310: 280. doi:10.2903/j.efsa.2005.310ar
- 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 J* 94: 288. doi:10.2903/j.efsa.2006.94r
- EFSA, ECDC. 2009. The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007. *EFSA J* 223: 312. doi: [10.2805/20556](https://doi.org/10.2805/20556)
- EFSA, ECDC. 2010. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in the European Union in 2008. *EFSA J* 8(1): 1496:410. doi:[10.2903/j.efsa.2010.1496](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1496)
- EFSA, ECDC. 2012. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. *EFSA J* 10(3): 2597:442. doi:10.2903/j.efsa.2012.2597
- EFSA, ECDC. 2013. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. *EFSA J* 11: 3129:250. doi:10.2903/j.efsa.2013.3129

- 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.
- Fischer AR, De Jong AE, Van Asselt ED, De Jonge R, Frewer LJ, Nauta MJ. 2007. Food safety in the domestic environment: an interdisciplinary investigation of microbial hazards during food preparation. *Risk Anal* 27(4): 1065– 82.
- Fredriksson-Ahomaa M, Hielm S, Korkeala H. 1999. High prevalence of *yadA*-positive *Yersinia enterocolitica* in pig tongues and minced meat at the retail level in Finland. *J Food Prot* 62(2): 123– 7.
- Fredriksson-Ahomaa M, Björkroth J, Hielm S, Korkeala H. 2000a. Prevalence and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig tonsils from different slaughterhouses. *Food Microbiol* 17(1): 93– 101.
- Fredriksson-Ahomaa M, Korte T, Korkeala H. 2000b. Contamination of carcasses, offals, and the environment with *yadA*-positive *Yersinia enterocolitica* in a pig slaughterhouse. *J Food Prot* 63(1): 31– 5.
- Fredriksson-Ahomaa M, Hallanvuo S, Korte T, Siitonen A, Korkeala H. 2001b. Correspondence of genotypes of sporadic *Yersinia enterocolitica* bioserotype 4/O:3 strains from human and porcine sources. *Epidemiol Infect* 127(1): 37– 47.
- Fredriksson-Ahomaa M, Wacheck S, Koenig M, Stolle A, Stephan R. 2009a. Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in wild boars in Switzerland. *Intl J Food Microbiol* 135(3): 199– 202.
- Fredriksson-Ahomaa M, Murros-Kontiainen 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. *Intl J Food Microbiol* 155(1–2): 69– 72.
- Fukushima H. 1985. Direct isolation of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from meat. *Appl Environ Microbiol* 50(3): 710– 2.
- Fukushima H, Ito Y, Saito K, Tsubokura M, Otsuki K. 1984a. Ecological studies of *Yersinia enterocolitica*. III. Cross-protection against fecal excretion between *Y. enterocolitica* serovars 3 and 5.27 in pigs. *Vet Microbiol* 9(4): 383– 9.

- Fukushima H, Hoshina K, Itogawa H, Gomyoda M. 1997. Introduction into Japan of pathogenic *Yersinia* through imported pork, beef and fowl. *Intl J Food Microbiol* 35(3): 205– 12.
- 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.
- Grahek-Ogden D, Schimmer B, Cudjoe KS, Nygård K, Kapperud G. 2007. Outbreak of *Yersinia enterocolitica* serogroup O:9 infection and processed pork, Norway. *Emerg Infect Dis* 13(5): 754– 6.
- Gürtler M, Alter T, Kasimir S, Linnebur M, Fehlhaber K. 2005. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in fattening pigs. *J Food Prot* 68(4): 850– 4.
- 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.
- Hayashidani H, Ohtomo Y, Toyokawa Y, Saito M, Kaneko K, Kosuge J, Kato M, Ogawa M, Kapperud G. 1995. Potential sources of sporadic human infection with *Yersinia enterocolitica* serovar O:8 in Aomori Prefecture, Japan. *J Clin Microbiol* 33(5): 1253– 7.
- Hayashidani H, Hara-Kudo Y, Kinoshita S, Saeki K, Okatani AT, Nomura Y, Kumagai S. 2005. Differences in heat resistance among pathogenic *Yersinia enterocolitica* depended on growth temperature and serotype. *J Food Prot* 68(5): 1081– 2.
- Hudson JA, King NJ, Cornelius AJ, Bigwood T, Thom K, Monson S. 2008. Detection, isolation and enumeration of *Yersinia enterocolitica* from raw pork. *Intl J Food Microbiol* 123(1–2): 25– 31
- Johannessen GS, Kapperud G, Kruse H. 2000. Occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Norwegian pork products determined by a PCR method and a traditional culturing method. *Intl J Food Microbiol* 54(1–2): 75– 80.
- Kaneuchi C, Shibata M, Kawasaki T, Kariu T, Kanzaki M, Maruyama T. 1989. Occurrence of *Yersinia* spp. in migratory birds, ducks, seagulls, and swallows in Japan. *Nippon Juigaku Zasshi* 51(4): 805– 8.

- Kechagia N, Nicolaou C, Ioannidou V, Kourti E, Ioannidis A, Legakis NJ, Chatzipanagiotou S. 2007. Detection of chromosomal and plasmid–encoded virulence determinants in *Yersinia enterocolitica* and other *Yersinia* spp. isolated from food animals in Greece. *Intl J Food Microbiol* 118(3): 326– 31.
- Korte T, Fredriksson-Ahomaa M, Niskanen T, Korkeala H. 2004. Low prevalence of *yadA*-positive *Yersinia enterocolitica* in sows. *Foodborne Pathog Dis* 1(1): 45– 52.
- Kumar M, Srivastava S. 2010. Antilisterial activity of a broad-spectrum bacteriocin, Enterocin LR/6 from *Enterococcus faecium* LR/6. *Appl Biochem Biotechnol* 162(3): 698– 706.
- 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.
- Laukkanen R, Ortiz Martínez P, Siekkinen K, Ranta J, Maijala R, Korkeala H. 2008. Transmission of *Yersinia pseudotuberculosis* in the pork production chain from farm to slaughterhouse. *Appl Environ Microbiol* 74(17): 5444– 50.
- Laukkanen R, Hakkinen M, Lundén J, Fredriksson-Ahomaa M, Johansson T, Korkeala H. 2010a. Evaluation of isolation methods for pathogenic *Yersinia enterocolitica* from pig intestinal content. *J Appl Microbiol* 108(3): 956– 64.
- Laukkanen-Ninios R, Fredriksson-Ahomaa M, Maijala R, Korkeala H. 2014. High prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig cheeks. *Food Microbiol* 43: 50– 2.
- Loretz M, Stephan R, Zweifel C. 2011. Antibacterial activity of decontamination treatments for pig carcasses. *Food Control* 22(8): 1121– 5.
- 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
- 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.
- McNally A, Cheasty T, Fearnley C, Dalziel RW, Paiba GA, Manning G, Newell DG. 2004. Comparison of the biotypes of *Yersinia enterocolitica* isolated from pigs, cattle and sheep at slaughter

and from humans with yersiniosis in Great Britain during 1999–2000. *Lett Appl Microbiol* 39(1): 103– 8.

-Menzies, B. E., 2010. “Axillary abscess due to *Yersinia enterocolitica*,” *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 48, no. 9, pp. 3438-3439.

-Milnes AS, Sayers AR, Stewart I, Clifton-Hadley FA, Davies RH, Newell DG, Cook AJ, Evans SJ, Smith RP, Paiba GA. 2009. Factors related to the carriage of Verocytotoxigenic *E. coli*, *Salmonella*, thermophilic *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica* in cattle, sheep and pigs at slaughter. *Epidemiol Infect* 137(8): 1135– 48.

-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.

-Morild RK, Christiansen P, Sorensen AH, Nonboe U, Aabo S. 2011a. Inactivation of pathogens on pork by steam-ultrasound treatment. *J Food Prot* 74(5): 769– 75.

-Nesbakken T. 1988. Enumeration of *Yersinia enterocolitica* O:3 from the porcine oral cavity, and its occurrence on cut surfaces of pig carcasses and the environment in a slaughterhouse. *Intl J Food Microbiol* 6(4): 287– 93.

-Nesbakken T, Iversen T, Eckner K, Lium B. 2006. Testing of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig herds based on the natural dynamic of infection. *Intl J Food Microbiol* 111(2): 99– 104.

-Nielsen B, Heisel C, Wingstrand A. 1996. Time course of the serological response to *Yersinia enterocolitica* O:3 in experimentally infected pigs. *Vet Microbiol* 48(3–4): 293– 303.

-Niskanen T, Waldenström J, Fredriksson-Ahomaa M, Olsen B, Korkeala H. 2003. *virF*-Positive *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica* found in migratory birds in Sweden. *Appl Environ Microbiol* 69(8): 4670– 5.

-Nissen H, Maugesten T, Lea P. 2001. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella enteritidis* on decontaminated and untreated meat. *Meat Sci* 57(3): 291– 8.

-Nowak B, Mueffling TV, Caspari K, Hartung J. 2006. Validation of a method for the detection of virulent *Yersinia enterocolitica* and their distribution in slaughter pigs from conventional and alternative housing systems. *Vet Microbiol* 117(2–4): 219– 28.

- Ortiz Martínez P, Fredriksson-Ahomaa M, Sokolova Y, Roasto M, Berzins A, Korkeala H. 2009. Prevalence of enteropathogenic *Yersinia* in Estonian, Latvian, and Russian (Leningrad region) pigs. *Foodborne Pathog Dis* 6(6): 719– 24.
- Ortiz Martínez P, Fredriksson-Ahomaa M, Pallotti A, Rosmini R, Houf K, Korkeala H. 2011. Variation in the prevalence of enteropathogenic *Yersinia* in slaughter pigs from Belgium, Italy, and Spain. *Foodborne Pathog Dis* 8: 445– 50.
- Palonen E, Lindström M, Korkeala H. 2010. Adaptation of enteropathogenic *Yersinia* to low growth temperature. *Crit Rev Microbiol* 36(1): 54– 67.
- Pipek P, Houška M, Hoke K, Jeleníková J, Kýhos K, Šikulová M. 2006. Decontamination of pork carcasses by steam and lactic acid. *J Food Eng* 74(2): 224– 31.
- Ranta J, Siekkinen K, Nuotio L, Laukkanen R, Hellström S, Korkeala H, Maijala R. 2010. Causal hidden variable model of pathogenic contamination from pig to pork. *Stat Model* 10(1): 69– 87.
- Rasmussen HN, Rasmussen OF, Christensen H, Olsen JE. 1995. Detection of *Yersinia enterocolitica* O:3 in faecal samples and tonsil swabs from pigs using IMS and PCR. *J Appl Bacteriol* 78(5): 563– 8.
- Redmond EC, Griffith CJ. 2003. Consumer food handling in the home: a review of food safety studies. *J Food Prot* 66(1): 130– 61.
- Rossmanith, 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.
- 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.
- 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
- Schiemann DA. 1980. Isolation of toxigenic *Yersinia enterocolitica* from retail pork products. *J Food Prot* 43: 360– 5.

- Schiemann DA, Olson SA. 1984. Antagonism by Gram-negative bacteria to growth of *Yersinia enterocolitica* in mixed cultures. *Appl Environ Microbiol* 48(3): 539– 44.
- Shenoy K, Murano EA. 1996b. Effect of storage conditions on growth of heat-stressed *Yersinia enterocolitica* in ground pork. *J Food Prot* 59(4): 365– 9.
- Skjerve E, Lium B, Nielsen B, Nesbakken T. 1998. Control of *Yersinia enterocolitica* in pigs at herd level. *Intl J Food Microbiol* 45(3): 195– 203.
- Sommers CH, Niemira BA, Tunick M, Boyd G. 2002. Effect of temperature on the radiation resistance of virulent *Yersinia enterocolitica*. *Meat Sci* 61(3): 323– 8
- Sörqvist SD, M-L. 1990. Survival of *Campylobacter*, *Salmonella* and *Yersinia* spp. in scalding water used at pig slaughter. *Fleischwirtsch* 70: 1451– 4.
- Thibodeau V, Frost EH, Chenier S, Quessy S. 1999. Presence of *Yersinia enterocolitica* in tissues of orally-inoculated pigs and the tonsils and feces of pigs at slaughter. *Can J Vet Res* 63(2): 96– 100.
- Tsubokura M, Fukuda T, Otsuki K, Kubota M, Itagaki K. 1975. Isolation of *Yersinia enterocolitica* from some animals and meats. *Nippon Juigaku Zasshi* 37(2): 213– 5.
- Van Damme I, Habib I, De Zutter L. 2010. *Yersinia enterocolitica* in slaughter pig tonsils: enumeration and detection by enrichment versus direct plating culture. *Food Microbiol* 27(1): 158– 61.
- Van Damme I, Berkvens D, Bare J, De Zutter L. 2013. Influence of isolation methods on the occurrence of plasmid-carrying *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 in slaughter pig tonsils, faeces and carcass surface swabs. *Intl J Food Microbiol* 164(1): 32– 5.
- Vanantwerpen G, Van Damme I, De Zutter L, Houf K. 2014. Within-batch prevalence and quantification of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* in tonsils of pigs at slaughter. *Vet Microbiol* 169(3–4): 223– 7.
- Virtanen S, Salonen L, Laukkanen-Ninios R, Fredriksson-Ahomaa M, Korkeala H. 2012. Piglets are a source of pathogenic *Yersinia enterocolitica* on fattening-pig farms. *Appl Environ Microbiol* 78(8): 3000– 3.

- Virtanen S, Nikunen S, Korkeala H. 2014. Introduction of infected animals to herds is an important route for the spread of *Yersinia enterocolitica* infection between pig farms. *J Food Prot* 77(1): 116–21.
- Wauters G, Goossens V, Janssens M, Vandepitte J. 1988. New enrichment method for isolation of pathogenic *Yersinia enterocolitica* serogroup O:3 from pork. *Appl Environ Microbiol* 54(4): 851–4.
- Weber A, Lembke C. 1981. Occurrence of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in slaughter animals. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 94(1): 5– 8.
- Wesley IV, Bhaduri S, Bush E. 2008. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in market weight hogs in the United States. *J Food Prot* 71(6): 1162– 8.