



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

*Yersinia Enterocolitica* στα τρόφιμα

**Εισηγήτριες: Αθανασίου Ευφροσύνη (17180), Κυριαζοπούλου Γρηγορία (17133)**

**Επιβλέπουσα: Ανθιμία Μπατρίνου**

**ΑΘΗΝΑ 2023**

## ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

### 1. Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Μπατρίνου Ανθιμία, Επίκουρος Καθηγήτρια του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

### 2. Μέλος Επιτροπής

Χούχουλα Δήμητρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

### 3. Μέλος Επιτροπής

Κοντελής Σπύρος, Επίκουρος Καθηγητής του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

## ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του νόμου περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι είμαι η αποκλειστική συγγραφέας της παρούσας πτυχιακής εργασίας, η οποία δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής, ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) που χρησιμοποιήθηκαν για την συγγραφή της περιλαμβάνονται στην βιβλιογραφία. Δηλώνω, επίσης, ότι αναλαμβάνω τις συνέπειες, όπως αυτές νομίμως ορίζονται, σε περίπτωση που αποδειχθεί διαχρονικά ότι η εργασία αυτή αποτελεί προϊόν λογοκλοπής.

Αθανασίου Ευφροσύνη

Κυριαζοπούλου Γρηγορία



## Περιεχόμενα

Εισαγωγή .....	6
Περίληψη.....	8
Abstract .....	10
Κεφάλαιο 1 .....	11
Φυσιολογία της <i>Yersinia Enterocolitica</i> .....	11
1.1 Χαρακτηριστικά της <i>Yersinia Enterocolitica</i> .....	11
1.1.2 Μορφολογία .....	11
1.1.3 Ορότυποι/Βιότυποι .....	11
1.1.4 Ταξινόμηση .....	13
Κεφάλαιο 2 .....	14
Συνθήκες ανάπτυξης και επιδράσεις από περιβαλλοντικούς παράγοντες .....	14
2.1 Συνθήκες Ανάπτυξης .....	14
2.1.1 Διατροφικές απαιτήσεις .....	14
2.1.2 ΡΗ.....	14
2.1.3 Θερμοκρασία.....	14
2.1.4 Ενεργότητα Νερού.....	15
2.1.5 Συντηρητικά και Απολυμαντικά.....	15
2.2 επιδράσεις από περιβαλλοντικούς παράγοντες .....	16
2.2.1 Επιδράσεις θερμικών επεξεργασιών .....	16
2.2.2 Επιδράσεις ακτινοθεραπείας .....	16
2.2.3 Επιδράσεις κατάψυξης.....	16
Κεφάλαιο 3 .....	17
Επιδημιολογία.....	17
3.1 Συμπτώματα .....	17
3.2 Εποχιακή συχνότητα.....	19
Κεφάλαιο 4 .....	20
Κλινικές Εκδηλώσεις Λοιμώξεων.....	20
4.1 Κρούσματα <i>Yersinia</i> .....	20
4.2 <i>Yersinia</i> στον άνθρωπο .....	21
4.3 Λοιμώξεις στην Ελλάδα.....	28
Κεφάλαιο 5 .....	30
Μολυσματικοί παράγοντες και παθογόνος μηχανισμός .....	30
5.1 Κλινική Ταυτοποίηση .....	32

5.2 Μοντέλο παθογένειας .....	35
5.3 Παράγοντες μολυσματικότητας.....	36
5.4 Παράγοντες προσκόλλησης/εισβολής .....	37
5.4.1 Μαστίγιο .....	39
5.4.2 Λιποπολυσακχαρίτης .....	40
5.4.3 Ysc T3SS.....	40
5.4.4 Ysa T3SS.....	42
5.4.5 Νησίδα υψηλής παθογένειας (HPI) .....	43
5.4.6 Οπερόνιο myf .....	44
5.5 Ρύθμιση λοιμογόνου δράσης.....	45
5.5.1 Επίδραση θερμοκρασίας .....	46
Ipn.....	46
Κεφάλαιο 6 .....	48
Πηγές Μόλυνσης και μετάδοσης .....	48
6.1.1 Ζώα .....	48
6.1.2 Μόλυνση Τροφίμων και Περιβάλλοντος .....	51
6.2 Πιθανές πορείες μετάδοσης .....	54
6.3 Επιβίωση και ανάπτυξη στα τρόφιμα .....	55
6.4 Νερό ως πηγή μόλυνσης .....	57
Κεφάλαιο 7 .....	58
Απομόνωση από τα τρόφιμα.....	58
7.1 Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα .....	62
7.2 Κρέας και προϊόντα πουλερικών .....	63
7.3 Άλλα τρόφιμα .....	65
Κεφάλαιο 8 .....	68
Ανίχνευση .....	68
8.1 Τεχνικές κυτταρικής καλλιέργειας .....	68
8.2 Μοριακές μέθοδοι.....	69
8.3 Ανοσολογικές τεχνικές .....	73
8.4 Άλλοι μέθοδοι .....	76
Κεφάλαιο 9 .....	79
Συμπεράσματα .....	79
Βιβλιογραφία .....	80

## Εισαγωγή

Το γένος *Yersinia* περιλαμβάνει 11 είδη. Μεταξύ των ειδών αυτών η *Y. enterocolitica*, η *Y. Pseudotuberculosis* και η *Y. Pestis* είναι παθογόνα. Η *Yersinia Enterocolitica* είναι Gram-αρνητικό βακτήριο, προαιρετικά αναερόβιο, μη σπορογόνο και έχει σχήμα ράβδου. Είναι ένα σημαντικό τροφιμογενές βακτήριο και είναι υπεύθυνο για πολλές περιπτώσεις κλινικών εκδηλώσεων με συμπτώματα τα οποία μπορούν να εκδηλώνουν από ήπια γαστρεντερίτιδα έως πιο σοβαρά σύνδρομα όπως τερματική ειλεΐτιδα, μεσεντερική λεμφαδενίτιδα, μίμηση της σκωληκοειδίτιδας και μερικές φορές σηψαιμία. (Verbikova et al. 2018)

Η *Yersinia Enterocolitica* προκαλεί την γερσινίωση, την τρίτη πιο συνηθισμένη τροφιμογενής ασθένεια στις Ευρωπαϊκές χώρες. Ανήκει στην οικογένεια Enterobacteriaceae και το χαρακτηριστικό γνώρισμα αυτού του οργανισμού είναι η ετερογένεια. Χωρίζεται σε έξι βιότυπους: 1A ,1B , 2, 3, 4 και 5 και ορολογικά έχουν ταυτοποιηθεί περισσότεροι από 70 ορότυποι. Το βακτήριο αυτό εντοπίζεται παντού στο περιβάλλον με κύρια πηγή γερσινίωσης τα τρόφιμα. Η *Yersinia Enterocolitica* έχει προκαλέσει ιδιαίτερη ανησυχία στους επιστήμονες λόγω της ιδιαιτερότητας της να αναπτύσσεται και σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες. Γεγονός που το καθιστά ένα σημαντικό και επικίνδυνο παθογόνο που σχετίζεται με τροφιμογενείς λοιμώξεις. Εξαιτίας της μόλυνσης των τροφίμων που είναι συσκευασμένα σε κενό αέρος και σε θερμοκρασία ψυγείου από τα στελέχη του βακτηρίου , έχει διαπιστωθεί πως η ψύξη των μολυσμένων τροφίμων τόσο στις βιομηχανίες όσο και από τον καταναλωτή δεν αποτρέπει την ανάπτυξη του βακτηρίου.(Gupta et al. 2015)

Τα υψηλότερα περιστατικά θνησιμότητας οφείλονται στην μετάδοση της *Y. Enterocolitica* μέσα από τις μεταγγίσεις αίματος. Επιπλέον κύριες πηγές αυτού του βακτηρίου είναι τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης με κύριο το χοιρινό και τα προϊόντα του καθώς και τα γαλακτοκομικά ,πουλερικά ,φρούτα, λαχανικά ,μαγειρευτά και ζυμώμενα προϊόντα και τέλος τα θαλασσινά. Η μολυσματική του δόση είναι  $10^4$ – $10^6$  CFU mL<sup>-1</sup> .Το πρώτο μεγάλο τροφιμογενές ξέσπασμα συνέβη το 1976 στην Νέα Υόρκη μετά από κατανάλωση γάλακτος σοκολάτας. Παρόμοιες μολύνσεις από κατανάλωση γάλακτος έλαβαν χώρα και σε άλλα μέρη των Ηνωμένων Πολιτειών, της Ευρώπης, της Αυστραλίας, της Σουηδίας και της Ινδίας. (Shoaib et al. 2019)

Η λοίμωξη που προκαλείται χαρακτηρίζεται συνήθως από διάρροια, πυρετό και κοιλιακό άλγος. Τα συμπτώματα αναπτύσσονται 4 έως 7 ημέρες μετά την έκθεση και επιμένουν για 5 έως 14 ημέρες. (Zadernowska, Chajeka-Wierzchowska, and Łaniewska-Trokenheim 2014a)

## Περίληψη

Το *Yersinia enterocolitica*, ένα gram-αρνητικό βακτήριο που ανήκει στο γένος *Yersinia*, έχει αναδειχθεί ως σημαντικό παθογόνο που προκαλεί εντερικές λοιμώξεις παγκοσμίως. Αυτή η περίληψη στοχεύει να παρέχει μια συνοπτική επισκόπηση του *Y. enterocolitica*, εστιάζοντας στα μικροβιολογικά χαρακτηριστικά, την επιδημιολογία, τις κλινικές εκδηλώσεις και τις προληπτικές στρατηγικές του. Το *Y. enterocolitica* σχετίζεται κυρίως με γαστρεντερικές λοιμώξεις, που συνήθως χαρακτηρίζονται από εντεροκολίτιδα. Το βακτήριο διαθέτει αρκετούς λοιμογόνους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των προσκολλητινών, των ινβασινών και των τοξινών, οι οποίοι διευκολύνουν τον αποικισμό του και την εισβολή του στον εντερικό βλεννογόνο. Συχνά μεταδίδεται μέσω της κατανάλωσης μολυσμένων τροφίμων, ιδιαίτερα προϊόντων χοιρινού κρέατος, μη παστεριωμένου γάλακτος και μολυσμένου νερού. Επιδημιολογικά, οι λοιμώξεις από *Y. enterocolitica* παρουσιάζουν ευρεία κατανομή, με σποραδικά κρούσματα και κρούσματα να αναφέρονται. Η συχνότητα μόλυνσης ποικίλλει μεταξύ των διαφόρων περιοχών και δημογραφικών ομάδων, με υψηλότερα ποσοστά να παρατηρούνται σε ψυχρότερα κλίματα. Ορισμένοι παράγοντες κινδύνου, όπως η ανοσοανεπάρκεια, ο υποσιτισμός και οι ακραίες ηλικίες, συμβάλλουν στην ευαισθησία σε λοιμώξεις από *Y. enterocolitica*. Οι κλινικές εκδηλώσεις της λοίμωξης από *Y. enterocolitica* κυμαίνονται από ήπια γαστρεντερίτιδα έως σοβαρή εντεροκολίτιδα, μιμούμενη άλλες φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως η σκωληκοειδίτιδα. Τα συμπτώματα συνήθως περιλαμβάνουν πυρετό, κοιλιακό άλγος, διάρροια (μερικές φορές αιματηρή) και μεσεντερική λεμφαδενίτιδα. Σε σπάνιες περιπτώσεις, το *Y. enterocolitica* μπορεί να προκαλέσει εξωεντερικές εκδηλώσεις, όπως αντιδραστική αρθρίτιδα και οζώδες ερύθημα. Η ακριβής και έγκαιρη διάγνωση των λοιμώξεων από *Y. enterocolitica* είναι ζωτικής σημασίας για την κατάλληλη αντιμετώπιση. Εργαστηριακές μέθοδοι, συμπεριλαμβανομένων της καλλιέργειας, των βιοχημικών δοκιμών και των μοριακών τεχνικών, χρησιμοποιούνται για την απομόνωση και την ταυτοποίηση του βακτηρίου. Ο έλεγχος ευαισθησίας στα αντιβιοτικά είναι απαραίτητος για την καθοδήγηση της αποτελεσματικής θεραπείας, καθώς τα στελέχη *Y. enterocolitica* μπορεί να παρουσιάσουν αντοχή σε διάφορα αντιβιοτικά. Η πρόληψη των λοιμώξεων από *Y. enterocolitica* βασίζεται στη διασφάλιση του σωστού χειρισμού των τροφίμων και



των πρακτικών υγιεινής. Το επαρκές μαγείρεμα των προϊόντων κρέατος, η παστερίωση των γαλακτοκομικών και η υγιεινή παροχή νερού αποτελούν κρίσιμα προληπτικά μέτρα. Οι εκστρατείες εκπαίδευσης και ευαισθητοποίησης του κοινού είναι απαραίτητες για την προώθηση ασφαλών πρακτικών τροφίμων και τη μείωση του κινδύνου μετάδοσης.

## Abstract

*Yersinia enterocolitica*, a gram-negative bacterium belonging to the genus *Yersinia*, has emerged as a significant pathogen worldwide, causing enteric infections. This summary aims to provide a concise overview of *Y. enterocolitica*, focusing on its microbiological characteristics, epidemiology, clinical manifestations, and preventive strategies. *Y. enterocolitica* is primarily associated with gastroenteric infections, typically characterized by enterocolitis. The bacterium possesses several virulence factors, including adhesins, invasins, and toxins, which facilitate its colonization and invasion of the intestinal mucosa. It is often transmitted through the consumption of contaminated food, particularly pork products, unpasteurized milk, and contaminated water. Epidemiologically, *Y. enterocolitica* infections have a wide distribution, with sporadic cases and outbreaks reported. The frequency of infection varies among different regions and demographic groups, with higher rates observed in colder climates. Certain risk factors, such as immunodeficiency, malnutrition, and extremes of age, contribute to susceptibility to *Y. enterocolitica* infections. Clinical manifestations of *Y. enterocolitica* infection range from mild gastroenteritis to severe enterocolitis, mimicking other inflammatory conditions such as appendicitis. Symptoms typically include fever, abdominal pain, diarrhea (sometimes bloody), and mesenteric lymphadenitis. In rare cases, *Y. enterocolitica* can cause extraintestinal manifestations, such as reactive arthritis and erythema nodosum. Accurate and timely diagnosis of *Y. enterocolitica* infections is crucial for appropriate management. Laboratory methods, including culture, biochemical tests, and molecular techniques, are used for bacterial isolation and identification. Antimicrobial susceptibility testing is necessary to guide effective therapy, as *Y. enterocolitica* strains can exhibit resistance to various antibiotics. Prevention of *Y. enterocolitica* infections is based on ensuring proper food handling and hygiene practices. Sufficient cooking of meat products, pasteurization of dairy products, and provision of safe water supply are critical preventive measures. Public education and awareness campaigns are essential for promoting safe food practices and reducing the risk of transmission.

## Κεφάλαιο 1

### Φυσιολογία της *Yersinia Enterocolitica*

#### 1.1 Χαρακτηριστικά της *Yersinia Enterocolitica*

##### 1.1.2 Μορφολογία

Η *Yersinia Enterocolitica* είναι Gram-αρνητικό βακτήριο, προαιρετικά αναερόβιο, μη σπορογόνο και έχει σχήμα ράβδου. Απαντάται συνήθως στην φύση ( νερό, τρόφιμα και ζώα) με κύρια πηγή μόλυνσης τους χοίρους. Εκτιμάται πως το 35-70 % των κοπαδιών με χοίρους και το 45-100 % μεμονωμένων χοίρων μολύνονται με *Yersinia Enterocolitica*.(Shoaib et al. 2019) . Το μέγεθός του κυμαίνεται από 0,5-3 μm και είναι ακίνητο στους 37°C και κινητό στους 30. Επίσης το βακτήριο μπορεί να αναπτυχθεί τόσο σε χαμηλές θερμοκρασίες όσο και πιο υψηλές. Η κλίμακα θερμοκρασιών που μπορεί να αναπτυχθεί είναι από 0°C έως 44°C με βέλτιστη κλίμακα από 25 έως 30°C. Στις χαμηλές θερμοκρασίες γίνεται κινητικό λόγω της ύπαρξης μαστίγιου ενώ σε υψηλές θερμοκρασίες είναι ακίνητο (απουσία μαστίγιου). Στο γάλα και στο ωμό κρέας μπορεί να αναπτυχθεί στην θερμοκρασία του 1°C παρουσία διαλύματος χλωριούχου νατρίου (5%) και σε pH μεγαλύτερο του 4,6. Η ικανότητα αυτή του βακτηρίου να αναπτύσσεται σε τόσο ακραίες τιμές θερμοκρασιών το καθιστά ιδιαίτερα επικίνδυνο για τους καταναλωτές και χρήζει ιδιαίτερη προσοχή από τους επιστήμονες. (Shoaib et al. 2019)

##### 1.1.3 Ορότυποι/Βιότυποι

Η *Yersinia enterocolitica* με βάση τη δομή του σωματικού αντιγόνου O χωρίζεται σε 76 ορολογικές ομάδες. Η ταξινόμηση προτείνεται από τον Neubauer, Y. *enterocolitica* subsp. Στους ακόλουθους βιοτύπους: 4/O:3, 2/O:9,2 και 3/O:5,27, 1A/O:7,8, 1A/O:6,30 και 1A/O:5. (Zadernowska et al. 2014a)

Σε όλες τις κλιματικές ζώνες εμφανίζεται η *Yersinia enterocolitica* ,όμως για πολλά χρόνια οι βιότυποι/ορολογικές ομάδες συνδέονταν με συγκεκριμένες γεωγραφικές περιοχές. Από τα τέλη της δεκαετίας του 1980 μελέτες που πραγματοποιήθηκαν έδειξαν ότι τα Y. *enterocolitica* O:3 και O:9 απομονώνονται κυρίως στην Ευρώπη και ο ορότυπος O:8 στις ΗΠΑ. Πιθανολογείται ότι η απεριόριστη ροή πρώτων υλών, όπως ζωοτροφών, προϊόντων και το ενδιαφέρον του τουρισμού ευθύνονται για την αύξηση των κρουσμάτων ασθενειών που προκαλούνται από την Y. *Enterocolitica* O:8 στις κλιματικές ζώνες όπου αυτός ο μικροοργανισμός δεν έχει ακόμη

απομονωθεί. Οι πρώτες αναφορές τροφικής δηλητηρίασης καταγράφηκαν στην Ιαπωνία το 2004 που προκλήθηκε από αυτόν τον ορότυπο. Η εμφάνιση της νόσου έγινε σε ένα σχολείο από κατανάλωση σαλάτας που περιείχε μήλα, αγγούρια, ζαμπόν, πατάτες, καρότα και μαγιονέζα. Στην Ευρώπη, το λοιμογόνο στέλεχος *Y. enterocolitica* O:8 πιθανολογείται ότι απομονώθηκε για πρώτη φορά στη Γερμανία, από κλινικό υλικό από ένα αγόρι 4 ετών. Το πρώτο κρούσμα *Y. Enterocolitica* το 2004 στην Πολωνία, απομονώθηκε το στέλεχος O:8 από κλινικό υλικό από δείγμα που λήφθηκε από γυναίκα 38 ετών. Μέσα στα επόμενα χρόνια στην Πολωνία, αυξήθηκαν σημαντικά τα ποσοστά των περιπτώσεων που προκαλούνται από αυτόν τον ορότυπο *Y. enterocolitica*. Αυτό προκαλεί ανησυχία, καθώς τα βακτήρια που ανήκουν στον συγκεκριμένο βιότυπο 1B και την ορολογική ομάδα O:8 είναι από τα πιο επικίνδυνα και πιο μολυσματικά για τον άνθρωπο. Μπορεί να προκαλέσει έλκος στο βλεννογόνο του γαστρεντερικού σωλήνα και να οδηγήσει ακόμη και στο θάνατο. (Zadernowska et al. 2014a)

**Πίνακας 1:** Σχέση μεταξύ βιοτύπου, ορότυπου O και μεταφοράς pYV του *Y. Enterocolitica*. Πηγή: (Zadernowska et al. 2014a)

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

#### 1.1.4 Ταξινόμηση

Το γένος *Yersinia* ανήκει στο τελευταίο γένος της οικογένειας των εντεροβακτηριδίων (XIV), σύμφωνα με το Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (9η έκδοση) και η ταξινόμηση του είδους είναι η εξής:

Βασίλειο: *Bacteria*

Φύλο: *Proteobacteria*

Κλάση: *Gamma Proteobacteria*

Τάξη: *Enterobacteriales*

Οικογένεια: *Enterobacteriaceae*

Γένος: *Yersinia*

Το γένος *Yersinia* περιλαμβάνει 11 είδη: *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* και το *Y. enterocolitica*, *Y. aldovae*, *Y. bercovieri*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*, *Y. intermedia*, *Y. mollaretii*, *Y. rohdei*, and *Y. ruckeri*. Από αυτά μόνο τα 3 πρώτα θεωρούνται παθογόνα.(Chen et al. 2010) Τα τρία αυτά είδη θεωρούνται παθογόνα εξαιτίας της μεταφοράς ενός πλασμιδίου που ονομάζεται pYV. (Tenathogenicity of *Yersinia enterocolitica* biotype 1Anant, Grant, and Robins-Browne 2003)

*Yersinia Enterocolitica* είναι ο πιο ετερογενής μικροοργανισμός και διαιρείται σε 6 βιότυπους οι οποίοι είναι: 1A ,1B , 2, 3, 4 και 5 που περιέχουν περίπου 70 διαφορετικούς ορότυπους. Ωστόσο μόνο συγκεκριμένοι ορότυποι προκαλούν λοιμώξεις στους ανθρώπους και κατηγοριοποιούνται βάσει των αντιγόνων O. Οι βιότυποι 1B και 2-5 θεωρούνται παθογόνοι, ενώ ο βιότυπος 1A δεν προκαλεί κάποια λοίμωξη.(Services 2015). Οι βιότυποι αυτοί (1B και 2-5) θεωρούνται παθογόνοι, γιατί έχουν τους δείκτες «μολυσματικότητας», την εντεροτοξίνη Yst (σταθερή τοξίνη *Yersinia*), το αντιγόνο Myf, την Inv invasine και την Ail adhesin. Βασικός δείκτης επίσης είναι και η παρουσία του πλασμιδίου pYV. Ο 1B βιότυπος θεωρείται ο πιο παθογόνος για τον άνθρωπο. Ενώ ο βιότυπος 1A θεωρείται ως μη παθογόνος επειδή δεν περιέχει αυτούς τους δείκτες.(Zadernowska, Chajacka-Wierzchowska, and Łaniewska-Trokenheim 2014b)

## Κεφάλαιο 2

### Συνθήκες ανάπτυξης και επιδράσεις από περιβαλλοντικούς παράγοντες

#### 2.1 Συνθήκες Ανάπτυξης

##### 2.1.1 Διατροφικές απαιτήσεις

Ο μικροοργανισμός όταν αναπτύσσεται στους 28°C δεν έχει κάποια διατροφική απαίτηση, σε αντίθεση με τους 37 °C όπου απαιτεί επιπρόσθετους διατροφικούς παράγοντες. Οι Burrows & Gillett (1966) υποστήριξαν ότι ένα από τα πέντε στελέχη της *Yersinia Enterocolitica* απαιτούσαν θειαμίνη για την ανάπτυξή τους στους 28°C, ενώ στους 37 °C και τα πέντε στελέχη απαιτούσαν θειαμίνη. Επιπλέον αμινοξέα που απαιτούνται για την ανάπτυξη των στελεχών του μικροοργανισμού είναι η αλανίνη, η μεθειονίνη ή κυστεΐνη και ένα υπο-στέλεχος απαιτούσε για την ανάπτυξή του γλουταμικό οξύ, παντοθενικό οξύ και νιασίνη. (Swaminathan, Harmon, and Mehlman 1982)

##### 2.1.2 PH

Το *Y. enterocolitica* μπορεί να αναπτυχθεί σε ένα pH μεταξύ 4,2 και 4,4, και η ανάπτυξη μπορεί επίσης να συμβεί σε pH 4,18 και 22°C σε ένα μέσο προσαρμοσμένο με υδροχλωρικό οξύ. Ωστόσο, η παρουσία οργανικών οξέων, όπως το οξικό οξύ, το γαλακτικό οξύ και το κιτρικό οξύ, μπορεί να μειώσει την ικανότητα του *Y. enterocolitica* να πολλαπλασιάζεται σε χαμηλό pH, με το οξικό οξύ να είναι το πιο ανασταλτικό. Τα κύτταρα *Y. enterocolitica* μπορούν να επιβιώσουν σε χαμηλό pH, με το 95% των επιζώντων κυττάρων να διατηρούν το πλασμίδιο λοιμογόνου δράσης και τα χαρακτηριστικά τους σε pH 4, αλλά όχι σε pH 3. (Bari et al. 2011)

Όταν τα στελέχη της *Yersinia Enterocolitica* επωάζονται στους 4°C, σε τιμές pH 5.2-5.4 αναπτύσσονται βραδέως, ενώ παρουσιάζουν μεγάλη ανάπτυξη σε τιμές 5.6 έως 7.6. (Swaminathan et al. 1982)

##### 2.1.3 Θερμοκρασία

Το *Y. enterocolitica* μπορεί να αναπτυχθεί σε χαμηλές θερμοκρασίες, που κυμαίνονται από -2 έως 42°C, με βέλτιστη θερμοκρασία 28-29°C. Αυτή η ικανότητα ανάπτυξης σε χαμηλές θερμοκρασίες προκαλεί ανησυχία για τους παραγωγούς τροφίμων, καθώς το παθογόνο μπορεί να πολλαπλασιαστεί σε τρόφιμα όπως το κρέας και το γάλα σε θερμοκρασίες που πλησιάζουν και ακόμη και κάτω από τους 0°C. Επίσης το *Y. enterocolitica* μπορεί να πολλαπλασιαστεί γρήγορα, με τις μετρήσεις να

αυξάνονται από 10/mL σε  $2,8 \times 10^7$ /mL σε 5 ημέρες σε ένα τρόφιμο με ουδέτερο pH αποθηκευμένο στους 5°C. Η παραγωγή τοξινών από το *Y. enterocolitica* επηρεάζεται από τη θερμοκρασία ανάπτυξης και τη σύνθεση των ειδών διατροφής. Για παράδειγμα, το τοξογόνο *Y. enterocolitica* παρήγαγε θερμοσταθερή εντεροτοξίνη στο γάλα στους 25°C αλλά όχι στους 4°C. Τα στελέχη που αναπτύχθηκαν καλά στους 4°C στο γάλα δεν παρήγαγαν σημαντικές ποσότητες τοξίνης. Τα κύτταρα *Y. enterocolitica* μπορούν να θανατωθούν ή να τραυματιστούν όταν φυλάσσονται σε παγωμένες θερμοκρασίες, με περίπου 83% των εμβολιασμένων κυττάρων να καταστρέφονται και το 24% των επιζώντων να τραυματίζονται θανάσιμα όταν ο κιμάς μοσχεύματος με *Y. enterocolitica* αποθηκεύτηκε στους -20°C °C για 30 ημέρες. (Bari et al. 2011)

#### 2.1.4 Ενεργότητα Νερού

Η δραστηριότητα του νερού αναφέρεται στην ποσότητα του ελεύθερου νερού που διατίθεται σε ένα τρόφιμο, ενώ η συγκέντρωση αλατιού αναφέρεται στην ποσότητα αλατιού που υπάρχει σε ένα τρόφιμο. Η ελάχιστη δραστηριότητα νερού στην οποία μπορεί να αναπτυχθεί το *Y. enterocolitica* είναι 0,96 και μπορεί να αναπτυχθεί σε 5% αλάτι αλλά όχι σε 7% αλάτι. Σε 0,945 Aw και 7% αλάτι, το *Y. enterocolitica* είναι βακτηριοκτόνο (σκοτώνει τα βακτήρια) στους 3°C, αλλά στους 25°C μπορεί να έχει τόσο βακτηριοκτόνα όσο και βακτηριοστατικά αποτελέσματα (αναστέλλει την ανάπτυξη των βακτηρίων). Σε 9% NaCl και 25°C, και τα τέσσερα στελέχη του *Y. enterocolitica* που δοκιμάστηκαν θανατώθηκαν. Οι Bhaduri et al. διαπίστωσε ότι η αλλαγή της συγκέντρωσης αλατιού των ειδών διατροφής σε 0,5%, 2% και 5% δεν είχε καμία επίδραση στη σταθερότητα του πλασμιδίου λοιμογόνου δράσης (pYV) στο *Y. enterocolitica*. Αυτό σημαίνει ότι τα βακτήρια διατήρησαν τα χαρακτηριστικά λοιμογόνου δράσης τους ακόμη και όταν εκτέθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις άλατος, αλλά ο αριθμός των βιώσιμων κυττάρων μειώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης άλατος. (Bari et al. 2011)

#### 2.1.5 Συντηρητικά και Απολυμαντικά

Το σορβικό κάλιο είναι ένα συντηρητικό τροφίμων που μπορεί να καθυστερήσει την ανάπτυξη του *Y. enterocolitica* σε συγκεντρώσεις έως και 5000 ppm, με το αποτέλεσμα να είναι ισχυρότερο σε pH 5,5 από ό,τι σε pH 6,5. Το νιτρώδες νάτριο σε συγκέντρωση 150 ppm επιβραδύνει επίσης την ανάπτυξη του *Y. enterocolitica* στη Μπολόνια. Οι επεξεργασίες με όζον και οξονισμένο νερό είναι αποτελεσματικές στη μείωση της φόρτισης του παθογόνου του *Y. enterocolitica*. Η συσκευασία

τροποποιημένης ατμόσφαιρας με αναμικτήρες αερίων 100% N<sub>2</sub> ή CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> μπορεί επίσης να αναστείλει την ανάπτυξη του *Y. enterocolitica*. (Bari et al. 2011)

## 2.2 Επιδράσεις από περιβαλλοντικούς παράγοντες

### 2.2.1 Επιδράσεις θερμικών επεξεργασιών

Η ευαισθησία στις θερμικές επεξεργασίες διαφοροποιείται στα στελέχη του *Yersinia*. Ορισμένα στελέχη παρουσίασαν μικρή ή και καθόλου επίδραση στους 50°C για 10 λεπτά, σε αντίθεση με ένα θερμοευαίσθητο στέλεχος στο οποίο παρατηρήθηκε μείωση των βιώσιμων κυττάρων. Κανένα όμως από τα πέντε στελέχη του μικροοργανισμού δεν επιβίωσε στην θερμική επεξεργασία στους 60°C για 3 λεπτά. Αν και δεδομένα δείχνουν ότι ο παθογόνος μικροοργανισμός δεν επιβιώνει στην παστερίωση ο Hughes (1979) έχει αναφέρει περιστατικά απομόνωσης του από παστεριωμένο γάλα και κρέμα σε ένα εργοστάσιο στην Αυστραλία. Έτσι έχει προτείνει την πλήρη καταστροφή του έτσι ώστε να μην εμφανίζεται σε παστεριωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, και ειδικά σε περιπτώσεις που ήδη το επίπεδο μόλυνσης στο νωπό γάλα είναι πολύ υψηλό. Επιπλέον κάποια κύτταρα του επιβιώνουν ακόμα και αν το τρόφιμο είναι μαγειρεμένο, γεγονός που μας δείχνει ότι και μετά την διαδικασία του μαγειρέματος μπορεί να προκαλέσει προβλήματα υγείας στον καταναλωτή. (Swaminathan et al. 1982)

### 2.2.2 Επιδράσεις ακτινοθεραπείας

Τρία στελέχη του *Yersinia Enterocolitica* είναι από τα πιο ευαίσθητα στην ακτινοβολία. Σε δείγμα κιμά το 25 % περίπου των επιζώντων κυττάρων μετά από θεραπεία χαμηλής δόσης ακτινοβολίας δεν μπορούσε να σχηματίσει αποικίες σε θρεπτικό υλικό. (Swaminathan et al. 1982)

### 2.2.3 Επιδράσεις κατάψυξης

Σημαντικές μειώσεις παρατηρήθηκαν στις μετρήσεις του μικροοργανισμού όταν εμβολιασμένο μοσχαρίσιο φιλέτο αποθηκεύτηκε στην κατάψυξη (-18 έως -20 °C). Μοσχαρίσιος κιμάς εμβολιάστηκε με *Yersinia Enterocolitica* και αποθηκεύτηκε στους -20°C για 30 ημέρες, και σημειώθηκε πως το 83% των εμβολιασμένων κυττάρων καταστράφηκαν και το 24% των επιζώντων κυττάρων τραυματίστηκαν θανατηφόρα. (Swaminathan et al. 1982)

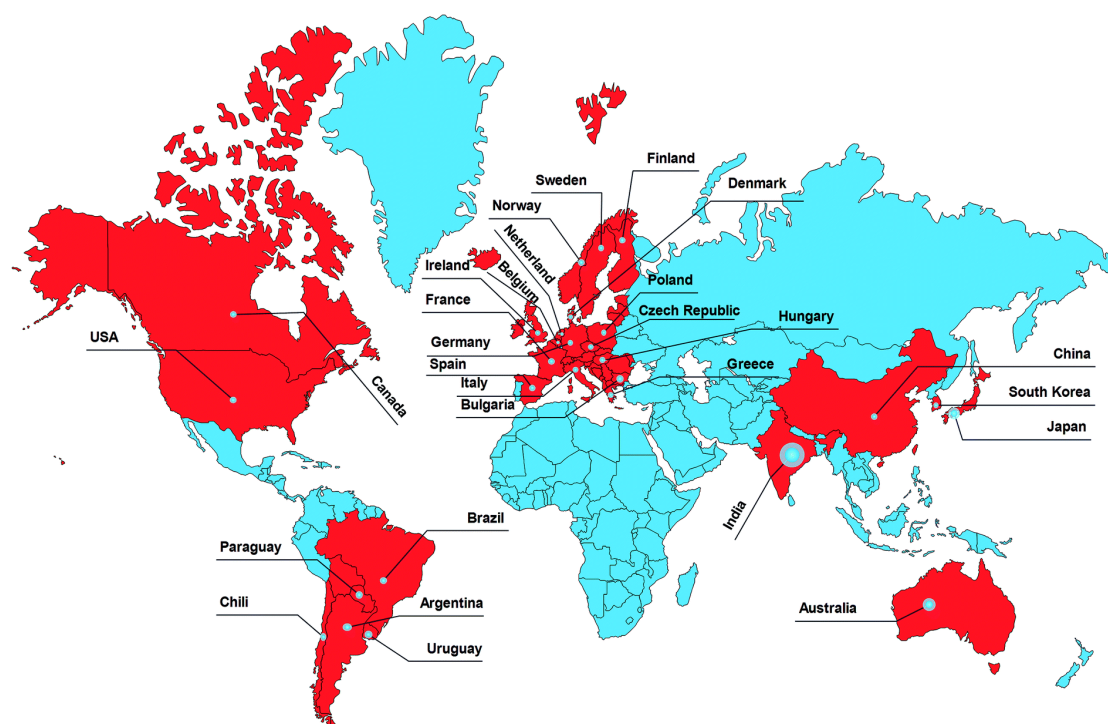


## Κεφάλαιο 3

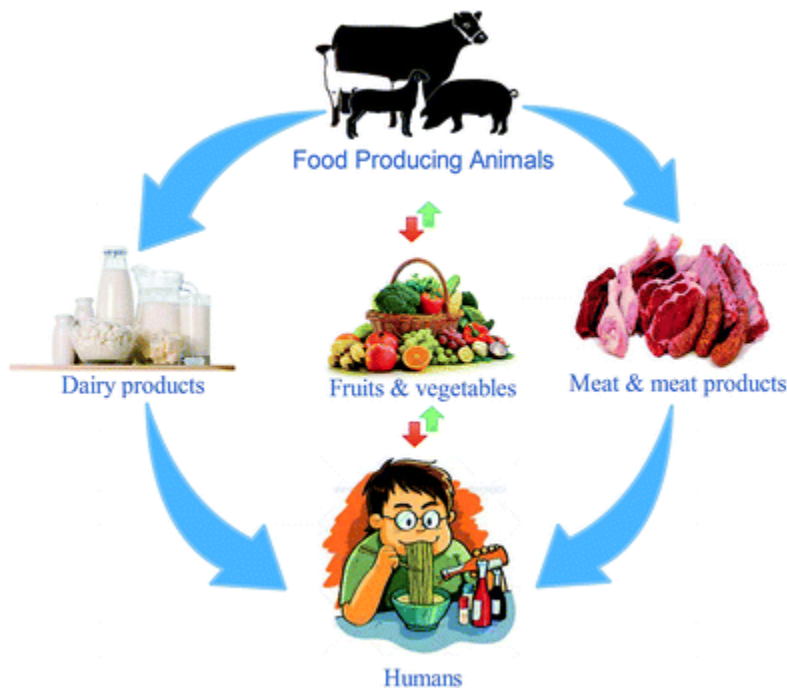
### Επιδημιολογία

#### 3.1 Συμπτώματα

Η ασθένεια που προκαλεί η *Yersinia Enterocolitica* ονομάζεται γερσινίωση και είναι η τρίτη μεγαλύτερη τροφιογενής ασθένεια που προκαλείται στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Η γερσινίωση είναι αυτοπεριοριζόμενη γαστρεντερίτιδα και προκαλεί σοβαρές επεμβατικές ασθένειες όπως η τερματική ειλεΐτιδα, η μεσεντερική λεμφαδενίτιδα, η μίμηση της σκωληκοειδίτιδας και μερικές φορές η σηψαιμία. Οι μεταλοιμώξεις σε ασθενείς που έχουν χαμηλό ανοσοποιητικό σύστημα οδηγούν σε οζώδες ερύθημα, αρθρίτιδα και σπειραματονεφρίτιδα. (Shoaib et al. 2019) Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται η κατανομή της γερσινίωσης γεωγραφικά.



**Εικόνα 1** Γεωγραφική κατανομή της Yersiniosis. Πηγή: European Center for Disease Prevention and Control, Yersiniosis, in ECDC, Annual epidemiological report for 2016, Stockholm, ECDC, 2018. (Shoaib et al. 2019)



**Εικόνα 2** Οδοί μετάδοσης *Y. enterocolitica* στον άνθρωπο. Οι ορότυποι 2:O9, 2:O5, 3:O3, 4:O3, 5:O3 και 27 μεταδίδονται άμεσα ή έμμεσα μέσω ζώων ή ζωικών προϊόντων. Οι ορότυποι 2:O9, 4:O3 και 5:O3 προσδιορίζονται για νωπά προϊόντα φυτικής προέλευσης. (Shoaib et al. 2019)

Η πρώτη μόλυνση από τον μικροοργανισμό εμφανίστηκε το 1976 στην Νέα Υόρκη λόγω της κατανάλωσης σοκολατούχου γάλακτος (μολυσμένο από τον *Y. Enterocolitica*). Με κύριο μέσο μετάδοσης το γάλα εμφανίστηκαν και άλλα κρούσματα και σε άλλες χώρες όπως Ηνωμένες Πολιτείες, Ευρώπη, Αυστραλία, Σουηδία και Ινδία. Στην συνέχεια από κατανάλωση μολυσμένου προϊόντων χοιρινού υπήρχαν κρούσματα και στην Ουγγαρία, Ηνωμένες Πολιτείες, Νορβηγία, Κίνα και ευρωπαϊκές χώρες. Ο μικροοργανισμός αυτός έχει τραβήξει αρκετά το ενδιαφέρον των επιστημόνων, καθώς έχει μεγάλη ποικιλία προσβάλλοντας τρόφιμα ζωικής και φυτικής προέλευσης. (Shoaib et al. 2019)

Το *Y. enterocolitica* μπορεί να επιβιώσει και να αναπτυχθεί σε μολυσμένα τρόφιμα, τόσο σε βιομηχανικό όσο και σε εμπορικό επίπεδο. Έχοντας αυξηθεί τα τελευταία χρόνια η τάση της κατανάλωσης επεξεργασμένων τροφίμων, έχει αυξηθεί και ο κίνδυνος μόλυνσης από τον μικροοργανισμό. Το Foodborne Diseases Active Surveillance Network (Food Net, ΗΠΑ) μελέτησε την εμφάνιση της μόλυνσης από *Y. Enterocolitica* για περίπου δέκα χρόνια (1996–2007) και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι οι περιπτώσεις γερσινίωσης στις Ηνωμένες Πολιτείες δεν υπολογίστηκαν σωστά

λόγω της έλλειψης μεθόδων ανίχνευσης. Από την άλλη πλευρά, σε μερικές άλλες χώρες, δεν λαμβάνονται υπόψη δείγματα τροφίμων για το *Y. enterocolitica*, γεγονός που υποδηλώνει ότι η διάγνωση είναι ανεπαρκής. (Shoaib et al. 2019)

Υπάρχουν έμμεσα στοιχεία που υποδηλώνουν ότι τα τρόφιμα, ιδιαίτερα το χοιρινό, μπορεί να είναι ένας σύνδεσμος μεταξύ της δεξαμενής των χοίρων και των ανθρώπινων μολύνσεων. Μελέτες έχουν δείξει μια συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης ωμού ή μη μαγειρεμένου χοιρινού κρέατος και του επιπολασμού της γερσινίωσης. Για τον εντοπισμό των πηγών και των οδών μετάδοσης της γερσινίωσης, οι επιστήμονες χρησιμοποίησαν μεθόδους που βασίζονται στο DNA για τον υποτύπο των στελεχών *Y. enterocolitica*. Ωστόσο, η υψηλή γενετική ομοιότητα μεταξύ των στελεχών *Y. enterocolitica* και των κυρίαρχων γονότυπων μεταξύ των στελεχών έχει περιορίσει τη χρησιμότητα αυτών των μεθόδων σε επιδημιολογικές μελέτες. Αυτό σημαίνει ότι είναι δύσκολο να εντοπιστούν με ακρίβεια οι συγκεκριμένες πηγές και οι οδοί μετάδοσης των λοιμώξεων από *Y. enterocolitica*. Πολλοί παράγοντες που σχετίζονται με την επιδημιολογία του *Y. enterocolitica*, όπως οι πηγές και οι οδοί μετάδοσης, δεν είναι ακόμη καλά κατανοητοί. (Bari et al. 2011)

### 3.2 Εποχιακή συχνότητα

Η διαφορά ανάμεσα στην *Yersinia Enterocolitica* και στα υπόλοιπα εντερικά παθογόνα βακτήρια είναι ότι η κορύφωση των κρουσμάτων συμβαίνει τον φθινόπωρο και τον χειμώνα. Έχει παρατηρηθεί σε πολλές χώρες η μόλυνση να είναι υψηλότερη μεταξύ Δεκεμβρίου και Μαΐου. (Swaminathan et al. 1982)

## Κεφάλαιο 4

### Κλινικές Εκδηλώσεις Λοιμώξεων

#### 4.1 Κρούσματα *Yersinia*

Η γερσινίωση είναι η τρίτη πιο συχνά αναφερόμενη ζωνόσος στον άνθρωπο στην ΕΕ: Η ζωνόσος αναφέρεται σε ασθένειες που μπορούν να μεταδοθούν από τα ζώα στον άνθρωπο. Η γερσινίωση είναι μια τέτοια ασθένεια και κατατάσσεται στην τρίτη θέση όσον αφορά τα αναφερόμενα κρούσματα στην Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ). Το 2021, υπήρχαν 6.789 επιβεβαιωμένα κρούσματα ανθρώπινης γερσινίωσης στην ΕΕ: Ο αριθμός αυτός αντιπροσωπεύει το σύνολο των περιπτώσεων που αναφέρθηκαν και επιβεβαιώθηκαν στην ΕΕ κατά το έτος 2021. Το ποσοστό κοινοποίησης στην ΕΕ για τη γερσινίωση το 2021 ήταν 1,9 ανά 100.000 πληθυσμού: Το ποσοστό κοινοποίησης υποδεικνύει τον αριθμό των αναφερόμενων κρουσμάτων ανά 100.000 άτομα στον πληθυσμό. Το 2021, το ποσοστό των κρουσμάτων γερσινίωσης στην ΕΕ ήταν 1,9 ανά 100.000 άτομα. Υπήρξε αύξηση 11,8% στα κρούσματα γερσινίωσης σε σύγκριση με το 2020: Το ποσοστό των κρουσμάτων γερσινίωσης το 2021 αυξήθηκε κατά 11,8% σε σύγκριση με το ποσοστό το 2020. Τα κρούσματα γερσινίωσης ήταν σημαντικά χαμηλότερα το 2020 λόγω της πανδημίας COVID-19 και της αποχώρησης του Ηνωμένου Βασιλείου από την ΕΕ: Ο χαμηλός αριθμός κρουσμάτων γερσινίωσης που αναφέρθηκαν το 2020 αποδόθηκε στον αντίκτυπο της πανδημίας COVID-19 και στην έξοδο του Ηνωμένου Βασιλείου από την ΕΕ. Το ποσοστό κοινοποίησης στην ΕΕ το 2021 αυξήθηκε κατά 11,3% σε σύγκριση με το ποσοστό πριν από την πανδημία (ετήσιος μέσος όρος 2017-2019): Σε σύγκριση με το μέσο ποσοστό των κρουσμάτων γερσινίωσης μεταξύ 2017 και 2019, το ποσοστό κοινοποίησης στην ΕΕ το 2021 αυξήθηκε κατά 11,3%. Η συνολική τάση των κρουσμάτων γερσινίωσης το 2017-2021 δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική αύξηση ή μείωση: Κατά την περίοδο 2017-2021, δεν παρατηρήθηκε σημαντική ανοδική ή πτωτική τάση στα κρούσματα γερσινίωσης στην ΕΕ. Η δοκιμή δειγμάτων τροφίμων αποκάλυψε θετικά κρούσματα *Yersinia* σε ορισμένες κατηγορίες: Το 2021, αρκετά κράτη μέλη (ΚΜ) ανέφεραν αποτελέσματα δοκιμών δειγμάτων τροφίμων για την παρουσία *Yersinia*. Στην κατηγορία των «έτοιμων προς κατανάλωση» κρέατος και προϊόντων κρέατος, το 2,1% των δειγμάτων βρέθηκε θετικό. Στα «μη έτοιμα προς κατανάλωση» κρέατα και προϊόντα κρέατος, το ποσοστό θετικότητας ήταν 5,4%. Για το «νωπό κρέας», το ποσοστό θετικότητας ήταν 6,9%, με 7,1% θετικότητα ειδικά στην κατηγορία «νωπό

κρέας χοίρων». Μονάδες δειγματοληψίας θετικών στη *Yersinia* παρατηρήθηκαν συχνότερα σε "μικρά μηρυκαστικά": Μεταξύ των εκτρεφόμενων ζώων που έλαβαν δείγμα, τα "μικρά μηρυκαστικά" είχαν την υψηλότερη αναλογία θετικών μονάδων *Yersinia*. Από τα 96 δείγματα από μικρά μηρυκαστικά, το 2,7% βρέθηκε θετικό για *Yersinia*. Συνοπτικά, η γερσινίωση είναι μια σημαντική ζωνόσος στην ΕΕ, και ενώ σημειώθηκε προσωρινή μείωση των περιστατικών που αναφέρθηκαν το 2020, ο αριθμός αυξήθηκε το 2021. Η ασθένεια σχετίζεται με ορισμένες κατηγορίες τροφίμων και μπορεί να ανιχνευθεί και σε έτοιμα τρώγοντας και μη έτοιμα προς κατανάλωση κρέατα και προϊόντα κρέατος. Επιπλέον, θετικές στο *Yersinia* μονάδες δειγματοληψίας παρατηρήθηκαν συχνότερα σε μικρά μηρυκαστικά μεταξύ των εκτρεφόμενων ζώων που δοκιμάστηκαν. (Food and Authority 2022)

#### 4.2 *Yersinia* στον άνθρωπο

Το 2021, 26 κράτη μέλη (ΚΜ) ανέφεραν πληροφορίες για τη γερσινίωση στον άνθρωπο: Από όλες τις ευρωπαϊκές χώρες, 26 κράτη μέλη παρείχαν δεδομένα και ανέφεραν περιπτώσεις γερσινίωσης σε ανθρώπους το 2021. Η επιτήρηση της γερσινίωσης είναι υποχρεωτική σε 22 ΚΜ: Η επιτήρηση της γερσινίωσης είναι μια απαιτούμενη διαδικασία σε 22 ΚΜ, που σημαίνει ότι αυτές οι χώρες έχουν δημιουργήσει συστήματα παρακολούθησης και αναφοράς περιπτώσεων της νόσου. Σε τέσσερα κράτη μέλη, η ειδοποίηση γερσινίωσης βασίζεται σε ένα εθελοντικό σύστημα: το Βέλγιο, η Γαλλία, η Ελλάδα και η Ιταλία διαθέτουν εθελοντικά συστήματα για την αναφορά περιπτώσεων γερσινίωσης. Αυτό σημαίνει ότι η αναφορά περιπτώσεων σε αυτές τις χώρες δεν είναι υποχρεωτική αλλά βασίζεται σε εθελοντική βάση. Η Ολλανδία δεν διαθέτει σύστημα επιτήρησης γερσινίωσης: Σε αντίθεση με άλλες χώρες, η Ολλανδία δεν διαθέτει ειδικό σύστημα παρακολούθησης και αναφοράς περιπτώσεων γερσινίωσης. Τα συστήματα επιτήρησης για τη γερσινίωση έχουν εθνική κάλυψη στις περισσότερες χώρες που αναφέρουν: Τα συστήματα επιτήρησης για τη γερσινίωση έχουν εθνική κάλυψη σε όλες τις χώρες αναφοράς, εκτός από τρεις: τη Γαλλία, την Ιταλία και την Ισπανία. Οι πληροφορίες δεν παρέχουν λεπτομέρειες σχετικά με την πληθυσμιακή κάλυψη ή τα ποσοστά κοινοποίησης για αυτές τις τρεις χώρες. Το 2020-2021, η Ισπανία ενδέχεται να έχει ελλείψεις αριθμούς κρουσμάτων λόγω έλλειψης στοιχείων: Κατά την περίοδο 2020-2021, η Ισπανία δεν έλαβε δεδομένα από όλες τις περιοχές που συνήθως αναφέρουν κρούσματα γερσινίωσης. Ως αποτέλεσμα, οι αναφερόμενοι αριθμοί κρουσμάτων για

την Ισπανία ενδέχεται να μην είναι πλήρης. Ορισμένες χώρες χρησιμοποιούσαν διαφορετικούς ορισμούς κρουσμάτων: Από τις χώρες που αναφέρθηκαν, 21 κράτη μέλη χρησιμοποίησαν τον ορισμό κρουσμάτων της ΕΕ για τη γερσινίωση κατά την αναφορά περιπτώσεων. Ωστόσο, τέσσερα κράτη μέλη (Δανία, Γαλλία, Γερμανία και Ιταλία) χρησιμοποίησαν διαφορετικό ορισμό περίπτωσης για την αναφορά. Η Ελλάδα δεν χρησιμοποίησε κανέναν συγκεκριμένο ορισμό κρουσμάτων για την αναφορά κρουσμάτων γερσινίωσης. Τα δεδομένα βάσει περιπτώσεων δόθηκαν από τις περισσότερες χώρες που αναφέρουν: Η πλειονότητα των χωρών που ανέφεραν δεδομένα για τη γερσινίωση το 2021 παρείχαν δεδομένα βάσει περιπτώσεων, τα οποία περιλαμβάνουν πληροφορίες σε ατομικό επίπεδο για κάθε αναφερόμενο κρούσμα. Ωστόσο, το Βέλγιο, η Βουλγαρία και η Ελλάδα ανέφεραν συγκεντρωτικά δεδομένα, πράγμα που σημαίνει ότι παρείχαν συνοπτικές πληροφορίες και όχι λεπτομέρειες για μεμονωμένες περιπτώσεις. Οι πρακτικές επιτήρησης και αναφοράς για τη γερσινίωση διαφέρουν μεταξύ των ευρωπαϊκών χωρών. Ενώ οι περισσότερες χώρες διαθέτουν υποχρεωτικά συστήματα επιτήρησης, ορισμένες βασίζονται στην εθελοντική αναφορά. Υπάρχουν παραλλαγές στους ορισμούς των περιπτώσεων που χρησιμοποιούνται για την αναφορά και δεν παρείχαν όλες οι χώρες δεδομένα που βασίζονται σε περιπτώσεις. Η πληρότητα των αριθμών υποθέσεων μπορεί να επηρεαστεί σε ορισμένες περιπτώσεις λόγω έλλειψης δεδομένων από ορισμένες περιοχές ή χώρες. (Food and Authority 2022)

Η αναφορά των δεδομένων παρακολούθησης του *Yersinia* δεν είναι υποχρεωτική αλλά μπορεί να γίνει εθελοντικά: Αν και δεν είναι υποχρεωτικό για τα κράτη μέλη (ΚΜ) να αναφέρουν την παρουσία *Yersinia* σε τρόφιμα και ζώα, έχουν τη δυνατότητα να παρέχουν δεδομένα παρακολούθησης στην Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) σύμφωνα με την Οδηγία για τις ζωνόσους (Οδηγία 2003/99/ΕΚ). Η παρακολούθηση της *Yersinia* είναι δικαιολογημένη εάν η επιδημιολογική κατάσταση σε ένα ΚΜ το δικαιολογεί: Σύμφωνα με την Οδηγία για τις ζωνόσους, τα κράτη μέλη πρέπει να παρακολουθούν ζωνόσους όπως η γερσινίωση και τους παράγοντες τους, εάν το δικαιολογεί η επιδημιολογική κατάσταση στη χώρα. Αυτό σημαίνει ότι η παρακολούθηση διεξάγεται με βάση τις ειδικές συνθήκες και τον επιπολασμό της νόσου σε κάθε ΣΚΠ. Επί του παρόντος, δεν υπάρχει εναρμονισμένο σχέδιο παρακολούθησης του *Yersinia* για τα τρόφιμα ή τα ζώα στην ΕΕ: Η ΕΕ δεν διαθέτει τυποποιημένο ή ενιαίο σχέδιο παρακολούθησης

ειδικά για το *Yersinia* σε τρόφιμα ή ζώα. Ως εκ τούτου, τα δεδομένα που υποβάλλονται στην EFSA από διάφορα κράτη μέλη σχετικά με το *Yersinia* σε τρόφιμα και ζώα δεν είναι εναρμονισμένα ή τυποποιημένα. Τα δεδομένα για τη *Yersinia* σε τρόφιμα και ζώα επιτρέπουν περιγραφικές συνοπτικές στατιστικές σε επίπεδο ΕΕ: Τα δεδομένα που υποβλήθηκαν από τα κράτη μέλη στην EFSA σχετικά με την παρουσία της *Yersinia* σε τρόφιμα και ζώα επιτρέπουν τη δημιουργία περιγραφικών συνοπτικών στατιστικών σε ευρωπαϊκό επίπεδο. Αυτό σημαίνει ότι μπορούν να δημιουργηθούν συνολικές περιλήψεις και στατιστικά στοιχεία για να παρέχουν μια γενική κατανόηση της εμφάνισης της *Yersinia* σε διαφορετικές κατηγορίες τροφίμων. Οι αναλύσεις τάσεων και η παρακολούθηση τάσεων δεν υποστηρίζονται από τα τρέχοντα δεδομένα: Λόγω της έλλειψης εναρμονισμένου σχεδίου παρακολούθησης και τυποποιημένων κριτηρίων αναφοράς, τα δεδομένα για το *Yersinia* σε τρόφιμα και ζώα δεν επιτρέπουν λεπτομερείς αναλύσεις τάσεων ή συνεχή παρακολούθηση των τάσεων με την πάροδο του χρόνου. Τα δεδομένα παρέχουν κυρίως περιγραφικές περιλήψεις και όχι περιεκτικές πληροφορίες για τις τάσεις. Έχουν προταθεί εναρμονισμένα κριτήρια παρακολούθησης και αναφοράς για το *Yersinia* σε χοίρους σφαγής: Η EFSA έχει συστήσει συγκεκριμένα κριτήρια παρακολούθησης και αναφοράς για το *Yersinia enterocolitica* σε χοίρους σφαγής σε μια επιστημονική έκθεση που δημοσιεύθηκε το 2009. Αυτό δείχνει ότι υπάρχουν καθιερωμένες κατευθυντήριες γραμμές για την παρακολούθηση αυτής της συγκεκριμένης πτυχής της *Yersinia* στην ΕΕ. (Food and Authority 2022)

	2021 <sup>(a)</sup>	2020	2019 <sup>(b)</sup>	2018 <sup>(b)</sup>	2017 <sup>(b)</sup>	Data source
<b>Humans</b>						
Total number of confirmed cases	6,789	5,661	6,967	7,015	6,844	ECDC
Total number of confirmed cases/100,000 population (notification rate)	1.9	1.7	1.7	1.7	1.7	ECDC
Number of reporting MSs	26	26	27	27	27	ECDC
Infection acquired in the EU	3,478	2,686	3,468	3,446	3,410	ECDC
Infection acquired outside the EU	18	61	96	106	88	ECDC
Unknown travel status or unknown country of infection	3,293	2,914	3,403	3,463	3,346	ECDC
Number of foodborne outbreak-related cases	125	236	160	58	130	EFSA
Total number of foodborne outbreaks	21	16	23	12	11	EFSA
<b>Food</b>						
<b>Meat and meat products</b>						
Number of sampling units	1,789	1,597	2,304	1,470	1,211	EFSA
Number of reporting MSs	6	6	6	6	7	EFSA
<b>Fruits and vegetable products</b>						
Number of sampling units	142	256	17	7	116	EFSA
Number of reporting MSs	3	4	2	2	4	EFSA
<b>Animals<sup>(c)</sup></b>						
<b>Bovine animals</b>						
Number of sampling units	19,218	14,796	16,885	13,101	17,404	EFSA
Number of reporting MSs	5	5	5	6	8	EFSA
<b>Pigs</b>						
Number of sampling units	2,164	2,368	2,591	2,347	2,781	EFSA
Number of reporting MSs	5	4	6	7	7	EFSA

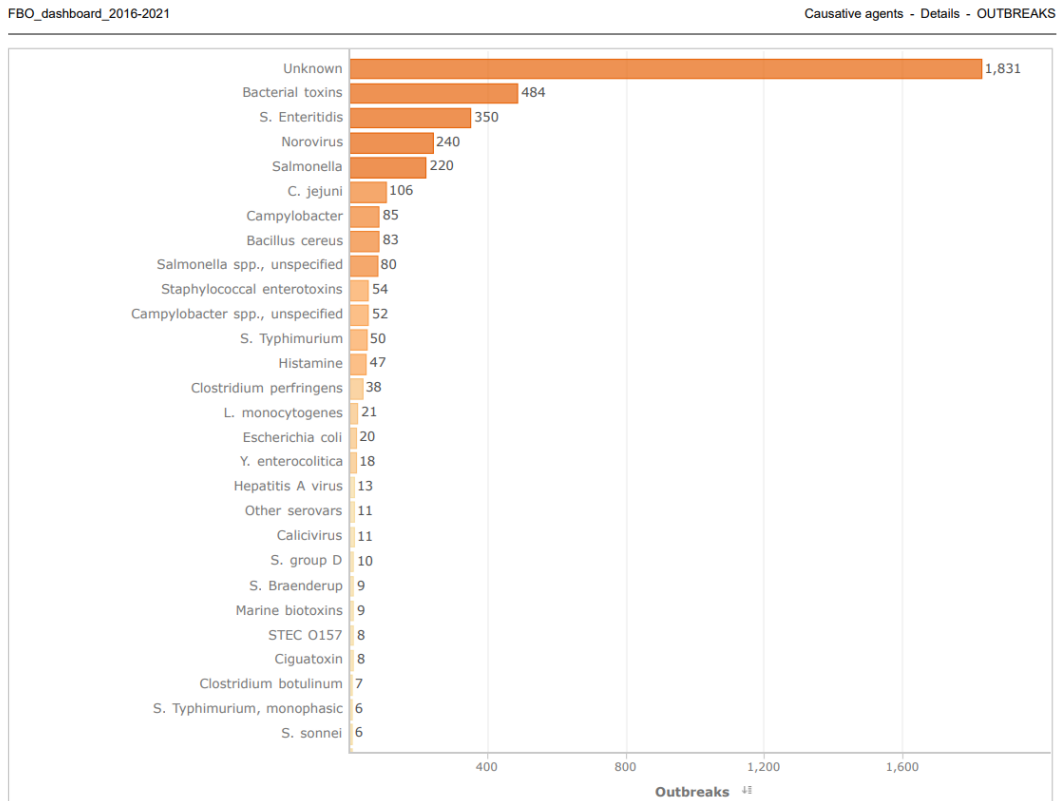
**Εικόνα 3.** Σύνοψη των στατιστικών της *Yersinia* που σχετίζονται με τον άνθρωπο, τις κύριες κατηγορίες τροφίμων και τα κύρια είδη ζώων, ΕΕ, 2017–2021. (Food and Authority 2022)



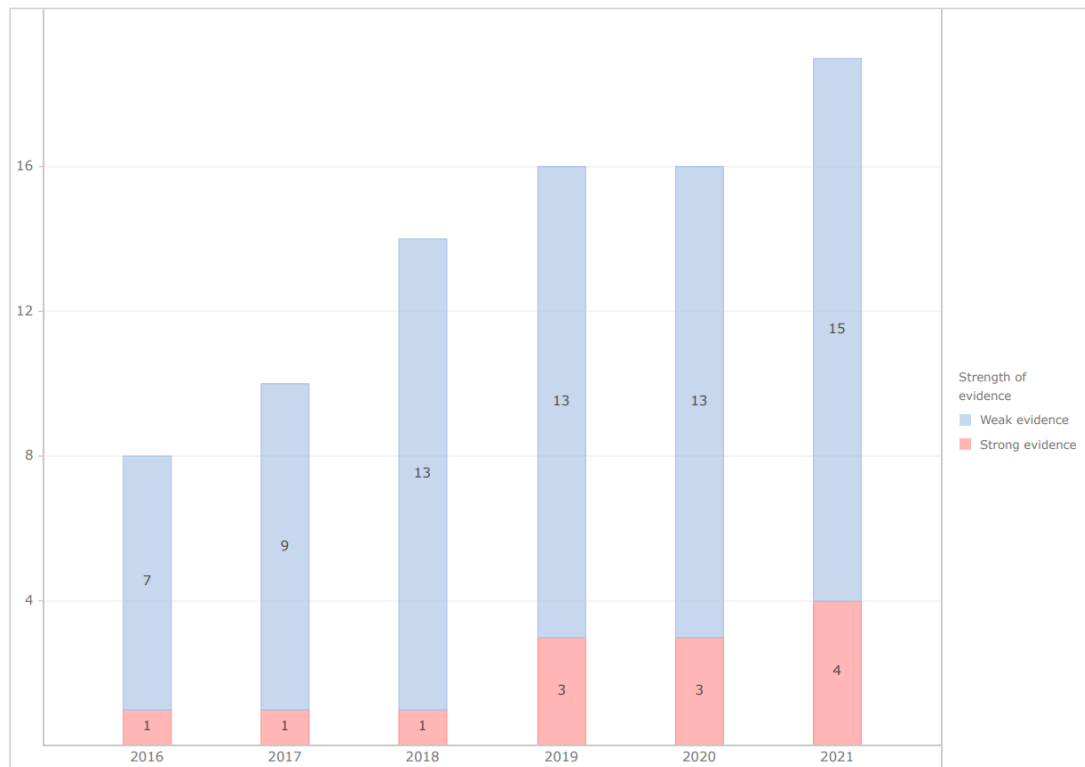
Country	2021		2020		2019		2018		2017			
	National coverage <sup>(a)</sup>	Data format <sup>(a)</sup>	Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates			
			Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate		
Austria	Y	C	138	1.5	128	1.4	112	1.3	136	1.5	95	1.1
Belgium	Y	A	418	3.6	260	2.3	406	3.5	392	3.4	317	2.8
Bulgaria	Y	A	5	0.07	4	0.06	11	0.16	9	0.13	17	0.24
Croatia	Y	C	14	0.35	11	0.27	12	0.29	20	0.49	29	0.7
Cyprus	Y	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Czechia	Y	C	456	4.3	437	4.1	618	5.8	622	5.9	611	5.8
Denmark	Y	C	453	7.8	413	7.1	221	3.8	282	4.9	206	3.6
Estonia	Y	C	45	3.4	44	3.3	42	3.2	63	4.8	43	3.3
Finland	Y	C	331	6.0	386	7.0	406	7.4	529	9.6	423	7.7
France <sup>(b)</sup>	N	C	1,451	–	988	–	1,135	–	929	–	738	–
Germany	Y	C	1,912	2.3	1,860	2.2	2,164	2.6	2,193	2.6	2,581	3.1
Greece	Y	A	7	0.07	3	0.0	13	0.12	21	0.20	19	0.18
Hungary	Y	C	50	0.51	25	0.26	38	0.39	36	0.37	30	0.31
Ireland	Y	C	19	0.38	13	0.26	9	0.18	8	0.17	6	0.13
Italy <sup>(b)</sup>	N	C	35	–	21	–	12	–	14	–	8	–
Latvia	Y	C	83	4.4	88	4.6	60	3.1	68	3.5	47	2.4
Lithuania	Y	C	153	5.5	123	4.4	181	6.5	139	4.9	174	6.1
Luxembourg	Y	C	12	1.9	26	4.2	18	2.9	16	2.7	15	2.5
Malta	Y	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Netherlands <sup>(c)</sup>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Poland	Y	C	142	0.38	90	0.24	196	0.52	170	0.45	191	0.50
Portugal	Y	C	34	0.33	25	0.24	29	0.28	30	0.29	35	0.34
Romania	Y	C	15	0.08	6	0.03	36	0.19	22	0.11	36	0.2
Slovakia	Y	C	213	3.9	168	3.1	255	4.7	259	4.8	242	4.5
Slovenia	Y	C	49	2.3	26	1.2	28	1.3	32	1.5	18	0.87
Spain <sup>(b),(d)</sup>	N	C	444	–	296	–	409	–	549	–	585	–
Sweden	Y	C	310	3.0	220	2.1	393	3.8	278	2.7	236	2.4

**Εικόνα 4.** Επιβεβαιωμένα κρούσματα γερσινίωσης σε ανθρώπους και ποσοστά κοινοποίησης ανά 100.000 πληθυσμός σε κράτη μέλη της ΕΕ και χώρες εκτός ΚΜ, ανά χώρα και έτος, 2017–2021 (Food and Authority 2022)

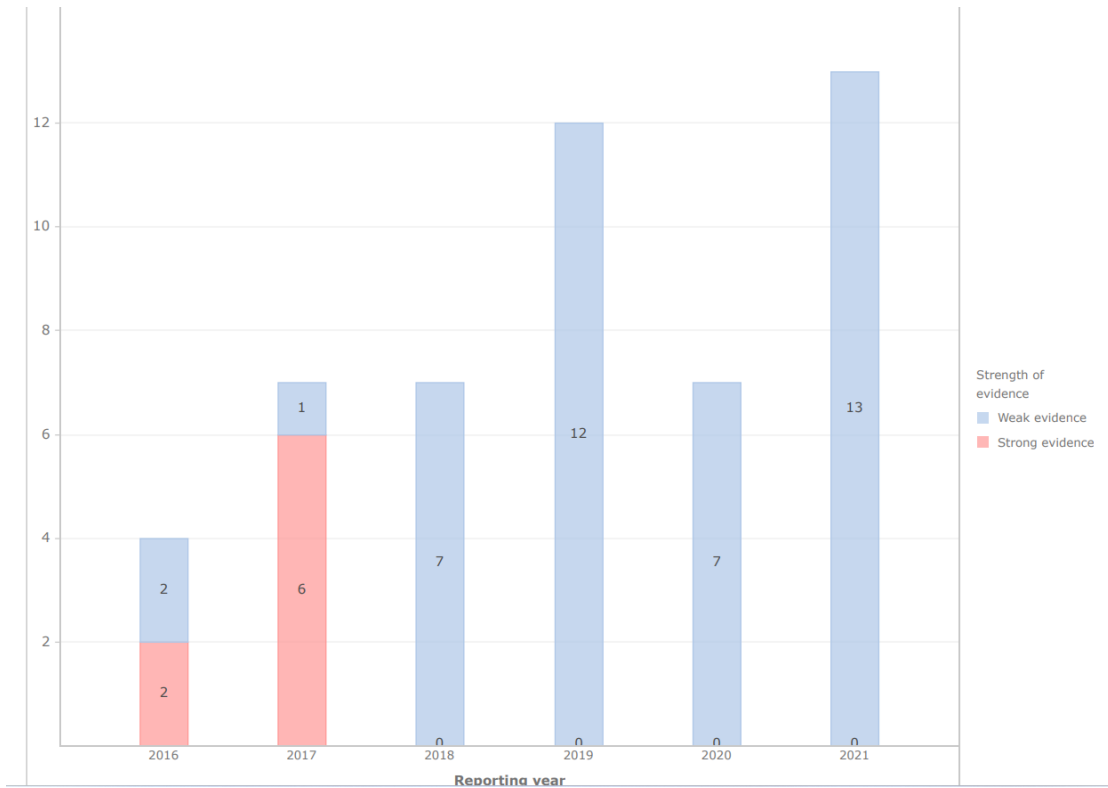
**Πίνακας 2.** Αριθμός ξεσπασμάτων από αιτιολογικούς παράγοντες στην Ευρώπη (2016-2021) (Food and Authority 2022)



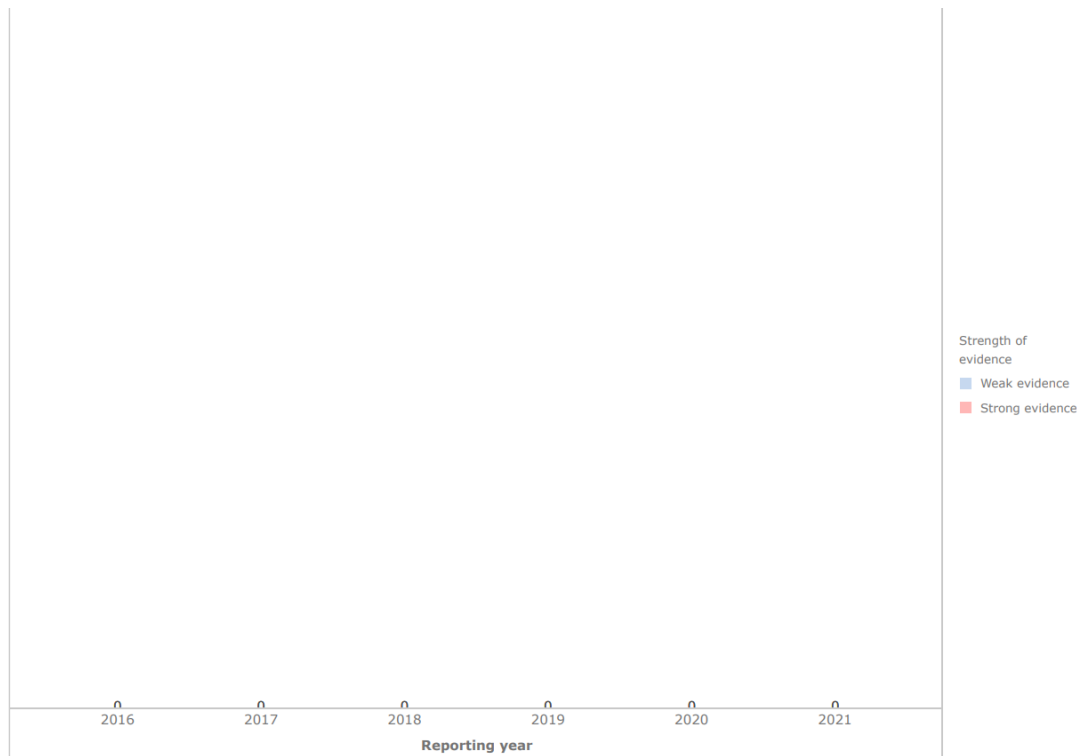
**Πίνακας 3.** Ξεσπάσματα του *Yersinia Enterocolitica* (2016-2021) (Food and Authority 2022)



**Πίνακας 4.** Νοσηλείες στην Ευρώπη από *Yersinia Enterocolitica* (2016-2021) (Food and Authority 2022)



**Πίνακας 5.** Θάνατοι από *Yersinia Enterocolitica* στην Ευρώπη (2016-2021) (Food and Authority 2022)



### 4.3 Λοιμώξεις στην Ελλάδα

Για τις χώρες γύρω από τη Μεσόγειο Θάλασσα, οι λοιμώξεις αποτελούν σοβαρό πρόβλημα λόγω της υψηλής συχνότητας των θαλασσαιμικών συνδρόμων. Οι θεραπείες με δεφεροξαμίνη και η υπερφόρτωση σιδήρου σε παιδιά με πολλαπλή μετάγγιση προδιαθέτουν σε συστηματική γερσινίωση ειδικά από στελέχη O:3 και O:9. Έχουν περιγραφεί περισσότεροι από 50 ορότυποι και 5 βιότυποι του *Y. enterocolitica*. Τα περισσότερα στελέχη που απομονώθηκαν από κλινικά δείγματα σε όλο τον κόσμο, ανήκουν στους ορότυπους O:3, O:8, O:9, O:5,27. Το *Y. pseudotuberculosis* και το *Y. pestis* είναι επίσης ανθρώπινα παθογόνα, σε αντίθεση με άλλα είδη του γένους *Yersinia*, που είναι μη παθογόνα.

Υπάρχουν λίγες πληροφορίες που να αναφέρονται στην παρουσία του *Yersinia* spp. σε ζώα διατροφής στην Ελλάδα, οι επιδημιολογικές μελέτες περιορίζονται σε στελέχη που έχουν απομονωθεί από κλινικές περιπτώσεις σε ανθρώπους. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν για την κατανομή των παθογόνων στελεχών του *Yersinia* σε δεξαμενές ζώων (χοίροι, κοτόπουλα, πρόβατα, αγελάδες) από διάφορες περιοχές της Ελλάδας όπως την Αττική, Φθιώτιδα, Βοιωτία και Εύβοια και να τα χαρακτηρίσει την παρουσία χρωμοσωμικών (*yst*) και προσδιοριστές λοιμογόνου δράσης που κωδικοποιούνται από πλασμίδιο (*virF*, *yadA*).

Συνολικά 835 ζώα τροφής κατά τη σφαγή ελήφθησαν δείγματα σε αυτή τη μελέτη. *Yersinia* spp. απομονώθηκαν από το 9,94% όλων των δειγμάτων που συλλέχθηκαν. Ογδόντα τρία ζώα τροφής ήταν θετικά για στελέχη *Yersinia* και επιλέχθηκε ένα στέλεχος από καθένα από αυτά. Τριάντα οκτώ στελέχη ανακτήθηκαν μετά από ψυχρό εμπλουτισμό για 14 και 21 ημέρες. Όταν ο ψυχρός εμπλουτισμός συνδυάστηκε με επεξεργασία αλκαλίων, ανακτήθηκαν 45 επιπλέον απομονώσεις. Κανένα στέλεχος δεν απομονώθηκε με άμεση επίστρωση δείγματος ή μετά από ψυχρό εμπλουτισμό για 7 ημέρες.

Δεδομένου ότι η συντριπτική πλειονότητα των δειγμάτων (791 από τα 835 δείγματα, 94,7%) συλλέχθηκαν το χειμώνα και τις αρχές της άνοιξης, δεν μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με την εποχιακή κατανομή. Η γνώση της ψυχοτροφικής φύσης αυτού του μικροοργανισμού και τα ελληνικά έθιμα, κατεύθυναν τη δειγματοληψία σε αυτή τη μελέτη κατά τη διάρκεια του χειμώνα και νωρίς την

άνοιξη, μια περίοδο με δροσερές θερμοκρασίες στην Ελλάδα, που ευνοεί την ανάπτυξη της *Yersinia* και την υψηλή κατανάλωση χοιρινού κρέατος .

Δεν παρατηρήθηκε σημαντική κατανομή τμημάτων ( $Pr = 0,327$ ). Οι περιοχές που επιλέχθηκαν για δειγματοληψία, ήταν και τα μεγαλύτερα σφαγεία της Ελλάδας.

Οι χοίροι ήταν η πιο διαδεδομένη φυσική πηγή των παθογόνων *Yersinia* spp., έπειτα τα κοτόπουλα. Οι δείκτες μολυσματικότητας από τον *Yersinia* spp. βρέθηκαν σε χοίρους και κοτόπουλα στο 81,93% και 13,25% αντίστοιχα όλων των *Yersinia* spp. που απομονώθηκαν. Συμφωνεί με μελέτες που βρέθηκαν παθογόνα *Yersinia* spp. σε υγιείς χοίρους σε ποσοστά απομόνωσης που κυμαίνονται από 25% έως 100% και σε κοτόπουλα από 13% έως 20%. (Kechagia et al. 2007)

**Πίνακας 6.**Κατανομή των ειδών *Yersinia* και των γονότυπων μεταξύ των ζώων διατροφής. Οι τιμές σε παρενθέσεις αναφέρονται στο % του συνόλου (83 στελέχη)

Ζώο	Δείγματα	Είδος <i>Yersinia</i>		
		Στελέχη	<i>Y. enterocolitica</i> O:3/4	<i>Y. enterocolitica</i> non O:3, O:9
Γουρούνια	455	69 (83.13)	58 (69,88)	7 (8.43)
Πρόβατο	63	1 (1.20)	0	0
Κοτόπουλα	302	13 (15.67)	0	11 (13.25)
Αγελάδες	15	0	0	0
Σύνολο	835	83 (100,0)	58 (69,88)	18 (21.69)

(Kechagia et al. 2007)

## Κεφάλαιο 5

### Μολυσματικοί παράγοντες και παθογόνος μηχανισμός

Για να προκληθεί μόλυνση από τον μικροοργανισμό πρέπει τα τρόφιμα να φέρουν υψηλές δόσεις ( $10^7 - 10^9$  CFU mL<sup>-1</sup>) κυττάρων *Y. Enterocolitica*. Το βακτηριακό κύτταρο αρχίζει να μολύνει το λεπτό έντερο στον τελικό ειλέο και στο εγγύς κόλον, τα οποία θεωρούνται ως τα κύρια σημεία για τη μόλυνση. Θεωρείται ότι τα βακτήρια χρησιμοποιούν κυρίως προϊόντα μολυσματικών γονιδίων για να αποικίσουν μέσα στο έντερο και με την αύξηση της θερμοκρασίας (37 °C), επάγουν την έκφραση του μολυσματικού γονιδίου pYV για την έκκριση μολυσματικών παραγόντων. Αργότερα, αυτοί οι λοιμογόνοι παράγοντες (ail, YadA) διευκολύνουν τη σύνδεση των βακτηριακών κυττάρων στη βλεννογόνο μεμβράνη και εισβάλλουν στα M-κύτταρα. Οι επεμβατικές πρωτεΐνες αλληλεπιδρούν με τους υποδοχείς της β1-ιντεγκρίνης, οι οποίοι βρίσκονται σε αφθονία στα M-κύτταρα. Ο λοιμογόνος παράγοντας YadA υποστηρίζει την εισβολή αλληλοεπιδρώντας με τους υποδοχείς της β1-ιντεγκρίνης, το κολλαγόνο, τη φμπρονεκτίνη και τη λαμινίνη. Στη συνέχεια, τα παγιδευμένα βακτήρια απελευθερώνονται από τα M-κύτταρα στη βασική στιβάδα του lamina propria και μετά τον πολλαπλασιασμό στα λεμφικά ωοθυλάκια προκαλούν νέκρωση και αποστήματα στα έμπλαστρα Peyer. Οι βασικοί παράγοντες μολυσματικότητας φαίνονται στο πίνακα 2. (Shoaib et al. 2019)

**Πίνακας 7** *Y. enterocolitica* βασικοί λοιμογόνοι παράγοντες και η γενετική τους <sup>a</sup>

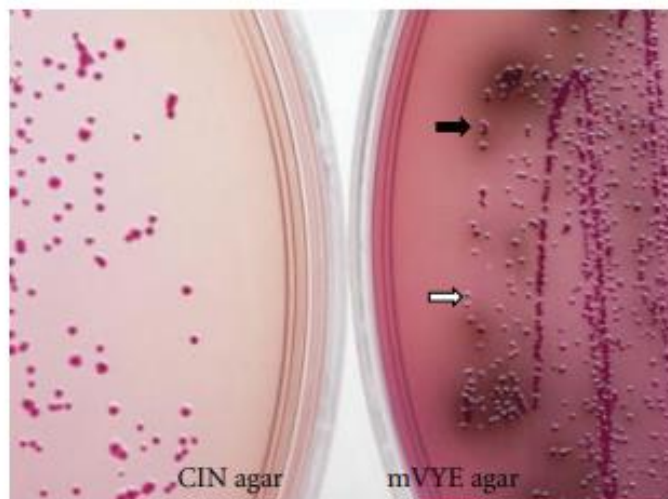
Προέλευση	Μεγέθη	Λειτουργία
<b>Χρωμοσώματα</b>		
Invasin	92 kDa	Το Inv συνδέεται με τη β1-ιντεγκρίνη και προάγει την προσκόλληση και την εισβολή
Τόπος εισβολής προσκόλλησης (Ail)	17 kDa	Προσκόλληση και εισβολή: αντοχή στον ορό
Yst (εντεροτοξίνη)	3,5–6 kDa	Το Yst αυξάνει το επίπεδο cGMP και την έκκριση υγρών
Yersiniabactin (κατεχόλη-τόσο πολύ)	482 kDa	Siderophore, μια πρωτεΐνη που δεσμεύει τον σίδηρο

Προέλευση	Μεγέθη	Λειτουργία
<b>Μολυσματικό πλασμίδιο (pVY)</b>	<b>70 kb</b>	
Ysc (έκκριση Yop)	28 πρωτεΐνες	Ένα σύστημα έκκρισης τύπου III (TSS)
YopH	51 kDa	Οι αποφωσφορυλιωμένες πρωτεΐνες ξενιστή ρυθμίζουν τις οδούς σηματοδότησης και αποτρέπουν τη φαγοκυττάρωση
YopM	41,6 kDa	Δραστηριότητα κινάσης: δραστηριότητα σηματοδότησης
YopD	33,3 kDa	Υπεύθυνος για τη μετατόπιση του YopE και άλλων τελεστικών πρωτεϊνών (YopH, YopM, YopO, κ.λπ. ) κατά μήκος της μεμβράνης
YopE	—	Απενεργοποιεί την οικογένεια Rho της GTPase, ως αποτέλεσμα, διαταράσσει τον κυτταροσκελετό της ακτίνης και αποτρέπει τη φαγοκυττάρωση
YopP	33 kDa	Απόπτωση μακροφάγων: μεταβάλλει την έκφραση των κυτοκινών
YopT	—	Παρεμβαίνει στον σχηματισμό κυτταροσκελετού ακτίνης απενεργοποιώντας την Rho GTPase
YadA (πρωτεΐνη προσκόλλησης)	160,240 kDa	Προσκόλληση στα επιθηλιακά κύτταρα μέσω αλληλεπίδρασης με την 1-ιντεγκρίνη: εμποδίζει τη θανάτωση που προκαλείται από το συμπλήρωμα. αντίσταση ορού
YopB	41,8 kDa	Αναστέλλουν την απελευθέρωση κυτοκίνης από τα μακροφάγα
LerV	37,2 kDa	Χαμηλή απόκριση ασβεστίου
<b>a Πηγή: Μικροβιακά Παθογόνα Τροφίμων ( <i>Yersinia enterocolitica</i> και <i>Yersinia pestis</i> ).</b>		

## 5.1 Κλινική Ταυτοποίηση

Η Κλινική ταυτοποίηση επιτυγχάνεται με την χρήση δειγμάτων κοπράνων σε πλάκες MacConkey, καθώς και σε άγαρ CIN (Cefsulodin, Irgasan, Novobiocin), επίσης γνωστό ως *Yersinia Selective Agar*. Η διαδικασία περιλαμβάνει την επώαση πλακών που περιέχουν βακτηριακά δείγματα στους 37°C για 24 ώρες. Αυτή είναι μια συνηθισμένη θερμοκρασία και διάρκεια που χρησιμοποιείται για την επώαση βακτηριακών καλλιεργειών στο εργαστήριο. Μετά την επώαση, οι αποικίες των βακτηρίων θα αναπτυχθούν στο πιάτο και μπορούν να αναγνωριστούν οπτικά από τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά τους. Αυτό αναφέρεται σε παρατηρήσιμα φυσικά χαρακτηριστικά των βακτηριακών αποικιών, όπως το σχήμα, το μέγεθος, το χρώμα και την υφή τους. Η αναγνώριση των αποικιών με βάση τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά είναι μια κοινή μέθοδος που χρησιμοποιείται στη μικροβιολογία για την προκαταρκτική ταυτοποίηση των βακτηρίων. Στην περίπτωση του *Yersinia enterocolitica*, ενδέχεται να απαιτηθούν περαιτέρω δοκιμές για να επιβεβαιωθεί η ταυτοποίησή του, καθώς τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά από μόνα τους μπορεί να μην είναι αρκετά συγκεκριμένα για να το διαφοροποιήσουν από άλλα βακτηριακά είδη. Σε σχέση με τα υπόλοιπους εντερικούς παθογόνους μικροοργανισμούς η *Yersinia Enterocolitica* παρουσιάζει πιο αργή ζύμωση λακτόζης και πιο αργή ανάπτυξη που συνήθως γίνονται σε δείγματα κοπράνων. Ωστόσο, η ταυτοποίηση γίνεται πιο δύσκολη. Η χρήση όμως επιλεκτικών μέσων, όπως το άγαρ CIN το οποίο εμποδίζει την ανάπτυξη των φυσιολογικών εντερικών οργανισμών, συμβάλει στον εντοπισμό του μικροοργανισμού από τα κόπρανα. Η *Yersinia Enterocolitica* έχει την ικανότητα να ζυμώνει την μαννιτόλη. Επομένως οι αποικίες που θα εμφανιστούν στο άγαρ θα φαίνονται ημιδιαφανείς και θα έχουν ένα αιχμηρό περίγραμμα ή άκρη. Το κέντρο της αποικίας θα έχει συνήθως βαθύ κόκκινο χρώμα, το οποίο οφείλεται στη ζύμωση της μαννιτόλης από τα βακτήρια. Αυτός ο τύπος μορφολογίας αποικιών αναφέρεται συχνά ως αποικίες "μάτι του ταύρου" λόγω της χαρακτηριστικής εμφάνισής του. (Fàbrega and Vila 2012)





**Εικόνα 5.** Αποικίες *Y. enterocolitica* που αναπτύχθηκαν σε άγαρ CIN και Άγαρ mVYE επωάστηκε στους 30°C για 24 ώρες. *Yersinia* αποικίες στις Το CIN σχηματίζει το χαρακτηριστικό βαθύ κόκκινο κέντρο («μάτι του ταύρου») (Fukushima, Shimizu, and Inatsu 2011)

Επίσης υπάρχουν συγκεκριμένες βιοχημικές ιδιότητες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση του *Yersinia enterocolitica*. Με βάση την κινητικότητα τα στελέχη *Y. enterocolitica* είναι κινητά στους 25 °C αλλά όχι στους 37 °C. Ένα άλλο χαρακτηριστικό που μπορεί επίσης να βοηθήσει στη διάκρισή του από άλλα βακτηριακά είδη είναι η παραγωγή ουρεάσης. Το *Y. enterocolitica* παράγει ένα ένζυμο που ονομάζεται ουρεάση, το οποίο εμπλέκεται στη διάσπαση της ουρίας. Η έλλειψη δραστηριότητας της οξειδάσης επίσης είναι ένα άλλο χαρακτηριστικό. Το *Y. enterocolitica* δεν παράγει το ένζυμο οξειδάση, το οποίο εμπλέκεται στην κυτταρική αναπνοή. Τέλος το Kligler's Iron Agar είναι ένα εξειδικευμένο μέσο που χρησιμοποιείται για τη δοκιμή βακτηριακής ζύμωσης σακχάρων και παραγωγής αερίων. Το *Y. enterocolitica* δεν παράγει ούτε αέριο ούτε υδρόθειο σε αυτό το μέσο, το οποίο είναι ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αναγνώρισή του. (Fàbrega and Vila 2012)

Για τη διάκριση μεταξύ παθογόνων και μη παθογόνων στελεχών του *Yersinia enterocolitica* μπορούν να χρησιμοποιηθούν περαιτέρω προσεγγίσεις. Μία από τις μεθόδους που αναφέρονται είναι η ανάλυση ορομάδας, η οποία περιλαμβάνει έλεγχο

για την παρουσία ειδικών αντιγόνων, ή πρωτεϊνών, στην επιφάνεια των βακτηρίων. Αυτό μπορεί να γίνει χρησιμοποιώντας ειδικούς αντιορούς, οι οποίοι είναι αντισώματα που μπορούν να συνδεθούν με αυτά τα αντιγόνα και να προκαλέσουν συγκόλληση ή συσσώρευση των βακτηρίων. Συγκρίνοντας τα πρότυπα συγκόλλησης διαφορετικών στελεχών, οι ερευνητές μπορούν να προσδιορίσουν σε ποιες οροομάδες ανήκει ένα συγκεκριμένο στέλεχος. Αυτή η μέθοδος είναι ιδιαίτερα σημαντική στην Ευρώπη και την Ιαπωνία, όπου οι οροομάδες O:3 και O:9 συνδέονται συχνότερα με παθογόνα στελέχη του *Y. enterocolitica*. Ωστόσο, στις Ηνωμένες Πολιτείες, η οροομάδα O:8 σχετίζεται συχνότερα με παθογόνα στελέχη, αλλά η χρήση ορολογικών διαγνωστικών μεθόδων ήταν ελάχιστη λόγω έλλειψης επαρκών κατευθυντήριων γραμμών για την ερμηνεία των τίτλων συγκολλητίνης. (Fàbrega and Vila 2012)

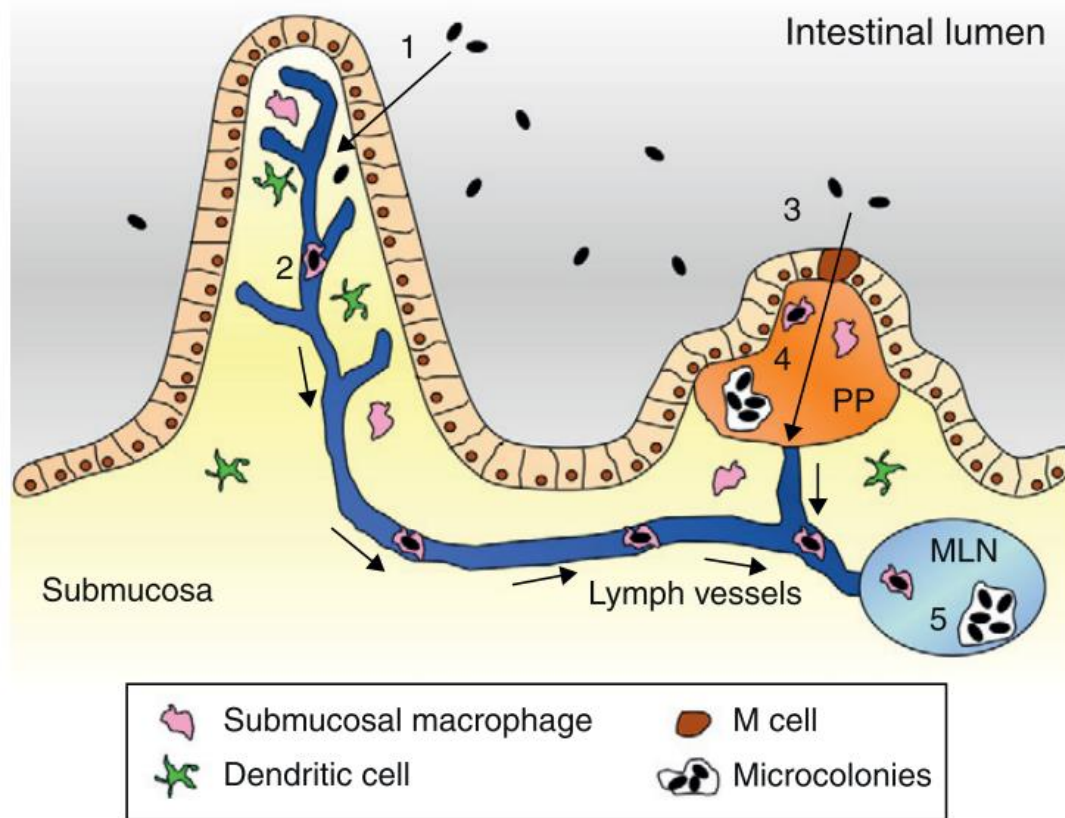
Όταν δεν είναι δυνατή η ορολογική ανάλυση χρησιμοποιούνται εναλλακτικές μέθοδοι για τον εντοπισμό παθογόνων στελεχών *Yersinia enterocolitica*. Μία μέθοδος που αναφέρεται είναι η αξιολόγηση των χαρακτηριστικών λοιμογόνου δράσης, η οποία περιλαμβάνει την αναζήτηση συγκεκριμένων χαρακτηριστικών που σχετίζονται με παθογόνα στελέχη. Συγκεκριμένα, οι ερευνητές μπορούν να δοκιμάσουν την έκφραση παραγόντων λοιμογόνου δράσης που κωδικοποιούνται από πλασμίδιο χρησιμοποιώντας απλές φαινοτυπικές δοκιμές. Ορισμένα χαρακτηριστικά που συνδέονται συνήθως με παθογόνα στελέχη περιλαμβάνουν την αυτοσυγκόλληση στους 37°C (συσσώρευση βακτηρίων στη θερμοκρασία του σώματος), την εξάρτηση από το ασβέστιο για ανάπτυξη στους 37°C, τη σύνδεση με το κόκκινο του Κονγκό (η ικανότητα των βακτηρίων να συνδέονται με την κόκκινη βαφή του Κονγκό) και αντοχή στις βακτηριοκτόνες επιδράσεις του ορού. Ωστόσο, η απουσία παραγωγής πυραζιναμιδάσης και η έλλειψη ζύμωσης σαλικίνης και υδρόλυσης εσκουλίνης είναι επίσης χαρακτηριστικά που έχουν συνδεθεί ανεξάρτητα με την παρουσία του πλασμιδίου λοιμογόνου δράσης. (Fàbrega and Vila 2012)

Τέλος μελετήθηκε η χρήση της φασματομετρίας μάζας MALDI-TOF ως εργαλείο για την αναγνώριση βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένης της *Yersinia enterocolitica*. Η φασματομετρία μάζας MALDI-TOF είναι μια τεχνική που μπορεί να αναλύσει το πρωτεϊνικό προφίλ των βακτηρίων, επιτρέποντας γρήγορη και ακριβή αναγνώριση του είδους. Αυτή η τεχνική είναι συχνά ταχύτερη και λιγότερο δαπανηρή από τις παραδοσιακές μεθόδους όπως ο βιοχημικός και φαινοτυπικός χαρακτηρισμός, και

υιοθετείται όλο και περισσότερο από εργαστήρια κλινικής μικροβιολογίας. Η παράγραφος υποδηλώνει ότι η φασματομετρία μάζας MALDI-TOF γίνεται η προτιμώμενη μέθοδος αναγνώρισης βακτηρίων έναντι παλαιότερων τεχνικών. Στο πλαίσιο του *Y. enterocolitica*, η φασματομετρία μάζας MALDI-TOF μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ακριβή αναγνώριση στελεχών, βοηθώντας στη διάγνωση λοιμώξεων που προκαλούνται από αυτό το παθογόνο. (Fàbrega and Vila 2012)

## 5.2 Μοντέλο παθογένειας

Αυτή η παράγραφος περιγράφει την τυπική οδό μόλυνσης του *Yersinia enterocolitica* στους ανθρώπους. Τα βακτήρια αποκτώνται συνήθως μέσω μολυσμένων τροφίμων ή νερού. Η κύρια εστία μόλυνσης είναι το άπω λεπτό έντερο και το εγγύς κόλον, όπου τα βακτήρια αποικίζονται και προκαλούν παθολογικά φαινόμενα. Για να γίνει αυτό, τα βακτήρια πρέπει να διασχίσουν τον εντερικό αυλό, να διεισδύσουν στον φραγμό της βλέννας που επικαλύπτει τα επιθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου και τελικά να προσκολληθούν στα εντερικά κύτταρα. Μελέτες υποδεικνύουν ότι το *Y. enterocolitica* κατά προτίμηση δεσμεύεται και διεισδύει στα Μ κύτταρα των επιθεμάτων Peyer (PP), όπου εσωτερικεύονται και μεταφέρονται κατά μήκος του επιθηλιακού φραγμού και τελικά αποβάλλονται από τη βασηοπλάγια πλευρά του κυττάρου Μ. Στα πρώτα στάδια της μόλυνσης, τα φαγοκύτταρα εσωτερικεύουν τα βακτήρια και τα μεταφέρουν στους μεσεντέριους λεμφαδένες (MLN), προκαλώντας μια φλεγμονώδη απόκριση που πυροδοτεί κοιλιακό άλγος. Τα βακτήρια μπορούν επίσης να διαδοθούν μέσω της κυκλοφορίας του αίματος στο ήπαρ και τη σπλήνα. Μόλις εντοπιστεί σε PPs, MLNs, σπλήνα ή ήπαρ, το *Y. enterocolitica* αντιγράφεται σε εξωκυτταρική μορφή μέσα στα μικροαποστήματα. Μέσα σε αυτές τις βλάβες, τα βακτήρια σχηματίζουν μικροαποικίες και φαίνεται να είναι ανθεκτικά στη φαγοκυττάρωση από μακροφάγα και ουδετερόφιλα. (Fàbrega and Vila 2012)



**Εικόνα 6.** Μοντέλο παθογένεσης *Yersinia enterocolitica*. (1) Τα κύτταρα *Yersinia* διασχίζουν το εντερικό επιθήλιο μέσω των επιθηλιακών κυττάρων στον υποβλεννογόνο. (2) Τα υποβλεννογόνια μακροφάγα φαγοκυτταρώνουν το παθογόνο και εισέρχονται στο λεμφικό σύστημα φτάνοντας έτσι στο MLN. (3) Εναλλακτικά, τα βακτήρια μπορούν να καταπιαστούν από τα κύτταρα M. (4) Μόλις εισέλθει στο PP, η *Yersinia* σχηματίζει μικροαποικίες και ξεκινά την αναπαραγωγή. (5) Τελικά, τα βακτηριακά κύτταρα βρίσκονται στο MLN και μπορούν εξίσου να σχηματίσουν μικροαποικίες για να επιτρέψουν την αναπαραγωγή. (Fàbrega and Vila 2012)

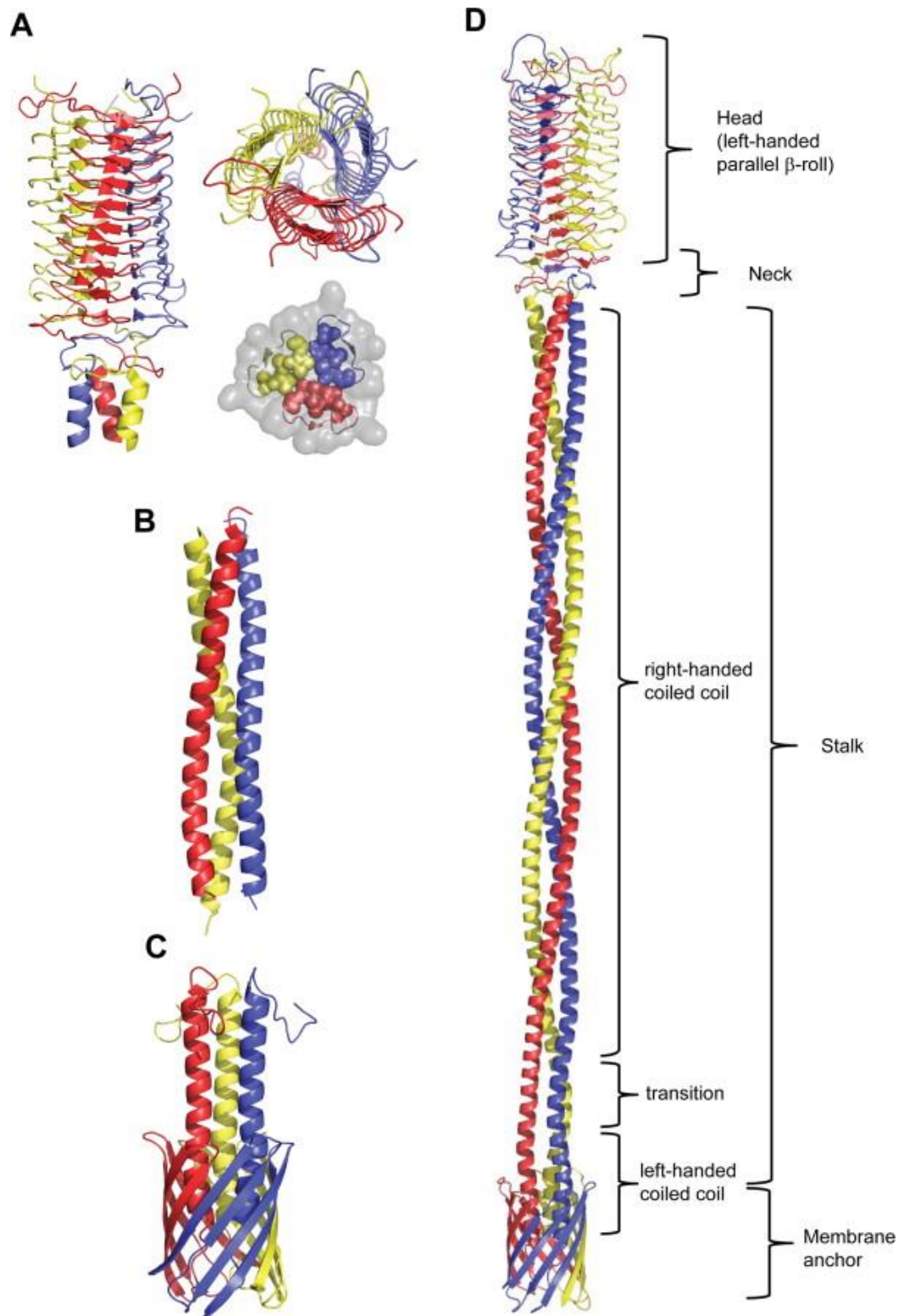
### 5.3 Παράγοντες μολυσματικότητας

Οι λοιμογόνοι παράγοντες είναι γενετικά χαρακτηριστικά που συμβάλλουν στην ικανότητα των βακτηρίων να προκαλούν ασθένειες. Αυτά τα χαρακτηριστικά εντοπίζονται τόσο στο χρωμόσωμα του βακτηρίου όσο και σε έναν συγκεκριμένο τύπο γενετικού στοιχείου που ονομάζεται πλασμίδιο, το οποίο βρίσκεται μόνο σε λοιμώδη στελέχη των βακτηρίων. Αυτοί οι παράγοντες λοιμογόνου δράσης βοηθούν τα βακτήρια να περιηγηθούν στο ανθρώπινο σώμα και να επιβιώσουν μέσα στον

ξενιστή, επιτρέποντας στα βακτήρια να προκαλέσουν ασθένεια.(Fàbrega and Vila 2012)

#### 5.4 Παράγοντες προσκόλλησης/εισβολής

Στην διαδικασία με την οποία ορισμένα βακτήρια, ειδικά τα στελέχη *Yersinia*, εισβάλλουν και αποικίζουν τον εντερικό βλεννογόνο αναγνωρίζονται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο σε αυτή τη διαδικασία τρεις πρωτεΐνες: Inv, YadA και Ail. Το Inv είναι ο κύριος καθοριστικός παράγοντας στην προώθηση της εισόδου βακτηρίων στα επιθηλιακά κύτταρα. Η YadA είναι μια πολύπλευρη πρωτεΐνη που μεσολαβεί στην προσκόλληση σε διάφορα συστατικά, όπως επιθηλιακά κύτταρα, φαγοκύτταρα και συστατικά εξωκυτταρικής μήτρας, και απαιτείται για την επιμονή, την επιβίωση και την αναπαραγωγή των βακτηρίων στο PP. Επιπλέον, το YadA έχει κάποια ικανότητα εισβολής που μπορεί να ανιχνευθεί μόνο μετά την απενεργοποίηση του inv. Το Ail συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με τη λοιμογόνο δράση και εμπλέκεται στην προσκόλληση και την εισβολή συγκεκριμένων κυττάρων ιστοκαλλιέργειας, καθώς και στην επιβίωση έναντι των βακτηριοκτόνων επιδράσεων του ορού. Συνολικά, αυτές οι τρεις πρωτεΐνες είναι κρίσιμες για την αρχική εισβολή και τον επακόλουθο αποικισμό της *Yersinia* στον εντερικό βλεννογόνο και οι ρόλοι τους είναι σημαντικοί για την κατανόηση της παθογένειας των ασθενειών που σχετίζονται με το *Yersinia*.(Fàbrega and Vila 2012)



**Εικόνα 7.** Δομή του *Y. enterocolitica* YadA. (A) Κρυσταλλική δομή της κεφαλής που δεσμεύει το κολλαγόνο που φαίνεται από την πλευρά (αριστερά) ή από την κορυφή (N-άκρο, επάνω δεξιά). Τα μονομερή έχουν διαφορετικό χρώμα. Φαίνεται ένα στρώμα του β-ρολού (κάτω δεξιά), δείχνοντας ότι το δομικό μοτίβο SVAIG που σχηματίζει τον πυρήνα του τριμερούς (επισημαίνεται στην αναπαράσταση πλήρωσης



χώρου) είναι μέσα στη δομή. Εξωτερικά είναι η επιφάνεια προσβάσιμη από διαλύτη. PDB 1P9H. (B) Κρυσταλλική δομή της ζώνης μετάβασης από δεξιά (άνω περιοχή) σε αριστερόστροφη (κάτω περιοχή) υπερελίκωση. ΠΣΠ 3H7X. (Γ) Δομή πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού στερεάς κατάστασης της περιοχής μετατόπισης, με τον 12κλωνο β-κύλινδρο, συνδέεται εντός του πόρου του κυλίνδρου και στην αρχή του μίσχου. Τα N-άκρα των αλυσίδων είναι διαταραγμένα. PDB 2LME. (Mühlenkamp et al. 2015)

#### 5.4.1 Μαστίγιο

Αυτό το απόσπασμα συζητά τον ρόλο των μαστιγίων και της κινητικότητας στην εισβολή των κυττάρων ξενιστών από την *Yersinia enterocolitica*. Οι συγγραφείς αναφέρουν ότι πριν τα βακτήρια έρθουν σε επαφή με το εντερικό επιθήλιο, τα μαστίγια και η κινητικότητα είναι σημαντικά για την έναρξη της διαδικασίας εισβολής. Αυτό αποδεικνύεται από πειράματα όπου η απενεργοποίηση των μαστιγωδών ρυθμιστικών γονιδίων, συγκεκριμένα των *flhDC* και *fliA*, που απαιτούνται για την έκφραση της κινητικότητας, έχει ως αποτέλεσμα μείωση της εισβολής συγκρίσιμη με αυτή που παρατηρείται για στελέχη στα οποία έχει αδρανοποιηθεί το *inv*. Οι συγγραφείς σημειώνουν περαιτέρω ότι εάν τα βακτήρια έρθουν σε επαφή με ευκαρυωτικά κύτταρα *in vitro* με φυγοκέντρηση, δεν μπορεί να ανιχνευθεί σημαντική διαφορά στην εισβολή μεταξύ των μαστιγωδών μεταλλαγμάτων και του στελέχους άγριου τύπου, παρά το γεγονός ότι εξακολουθούν να ανιχνεύεται εξασθενημένη εισβολή για το μετάλλαγμα *inv*. Αυτό υποδηλώνει ότι τα μαστίγια και η κινητικότητα είναι σημαντικά στα πρώιμα στάδια της εισβολής, αλλά δεν είναι οι μόνοι παράγοντες που εμπλέκονται, καθώς το μετάλλαγμα *inv* εξακολουθεί να παρουσιάζει μειωμένη εισβολή ακόμη και όταν τα μαστιγιακά μεταλλαγμένα δεν παρουσιάζουν σημαντική διαφορά στην εισβολή σε σύγκριση με τα άγριου τύπου στέλεχος υπό ορισμένες πειραματικές συνθήκες. Συνολικά, αυτό το απόσπασμα υπογραμμίζει την πολύπλοκη αλληλεπίδραση διαφορετικών παραγόντων στην εισβολή των κυττάρων ξενιστών από το *Y. enterocolitica*, με τα μαστίγια και την κινητικότητα να παίζουν βασικό ρόλο στα αρχικά στάδια της εισβολής, αλλά άλλοι παράγοντες όπως η *inv* είναι επίσης σημαντικοί για την επιτυχή εισβολή. (Fàbrega and Vila 2012)

#### 5.4.2 Λιποπολυσακχαρίτης

Ο λιποπολυσακχαρίτης (LPS) είναι ένα κύριο συστατικό της εξωτερικής μεμβράνης των gram-αρνητικών βακτηρίων. Το LPS αποτελείται από τρία μέρη: το λιπίδιο A, το οποίο είναι αγκυρωμένο στη μεμβράνη και μπορεί να είναι τοξικό. ο πυρήνας, ο οποίος περιλαμβάνει τόσο εσωτερικά όσο και εξωτερικά συστατικά (κυρίως σάκχαρα). και το αντιγόνο O ή την αλυσίδα πολυσακχαρίτη O, που είναι το εξωτερικό συστατικό που σχετίζεται με τις αντιγονικές ιδιότητες. Μελέτες έχουν δείξει ότι το αντιγόνο O, το οποίο συνήθως σχετίζεται με την αντιγονικότητα, εμπλέκεται επίσης στις διαδικασίες αποικισμού και εισβολής βακτηρίων. Τα στελέχη βακτηρίων που στερούνται του αντιγόνου O είναι λιγότερο αποτελεσματικά στον αποικισμό των επιθεμάτων Peyer (PP) σε ποντίκια σε σύγκριση με στελέχη άγριου τύπου και δεν πολλαπλασιάζονται τόσο καλά στον σπλήνα, το ήπαρ και τους μεσεντερικούς λεμφαδένες (MLN). Οι συγγραφείς της μελέτης διαπίστωσαν ότι απουσία του αντιγόνου O, η λειτουργία YadA είναι εξασθενημένη, η Ail δεν εκφράζεται και η Inp ρυθμίζεται προς τα κάτω. Αυτό υποδηλώνει ότι το αντιγόνο O παίζει ρόλο στη ρύθμιση αυτών των πρωτεϊνών κατά τον βακτηριακό αποικισμό και την εισβολή. Το αντιγόνο O φαίνεται να είναι απαραίτητο για τη σωστή έκφραση ή λειτουργικότητα άλλων παραγόντων λοιμογόνου δράσης στην εξωτερική μεμβράνη των gram-αρνητικών βακτηρίων. Όταν το αντιγόνο O απουσιάζει, αυτοί οι άλλοι παράγοντες λοιμογόνου δράσης, όπως το YadA και το Ail, δεν εκφράζονται ή η λειτουργία τους είναι μειωμένη. Ως αποτέλεσμα, η ικανότητα των βακτηρίων να αποικίζουν και να εισβάλλουν στα κύτταρα ξενιστές μειώνεται. Αυτό υποδηλώνει ότι το αντιγόνο O παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των παραγόντων λοιμογόνου δράσης στα gram-αρνητικά βακτήρια.(Fàbrega and Vila 2012)

#### 5.4.3 Ysc T3SS

Ysc T3SS σημαίνει σύστημα έκκρισης Yersinia Type III. Είναι ένας τύπος συστήματος έκκρισης πρωτεΐνης που χρησιμοποιείται από ορισμένα παθογόνα στελέχη του βακτηρίου Yersinia για τη μεταφορά παραγόντων λοιμογόνου δράσης απευθείας στα κύτταρα ξενιστές. Το Ysc T3SS αποτελείται από μια δομή που μοιάζει με βελόνα που προεξέχει από την βακτηριακή επιφάνεια και ένα σύνολο πρωτεϊνών τελεστών που χορηγούνται μέσω της βελόνας στο κύτταρο ξενιστή.

Το Yop virulon είναι ένας σημαντικός μηχανισμός που επιτρέπει στα βακτήρια Yersinia να προκαλούν ασθένεια. Περιλαμβάνει τους τελεστές Yop, οι οποίοι



χορηγούνται από έναν μηχανισμό έκκρισης που ονομάζεται Ysc T3SS σε διαφορετικά μέρη του κυττάρου ξενιστή. Το Ysc T3SS περιέχει το ενέσιμο σώμα, το οποίο αποτελείται από πολλές πρωτεΐνες Ysc που κωδικοποιούνται από γονίδια που συγκεντρώνονται σε τρία γειτονικά οπερόνια (*virA*, *virB* και *virC*) και αποτελεί το σύμπλεγμα της βελόνας και το βασικό σώμα. Επιπρόσθετα, ορισμένα Yops απαιτούν μικρές κυτταροσολικές συνοδούς, που ονομάζονται πρωτεΐνες Syc, οι οποίες ανήκουν στην οικογένεια Syc, για να εκκρίνονται αποτελεσματικά. Χωρίς αυτούς τους συνοδούς, η έκκριση Yop μειώνεται σημαντικά ή μπορεί να μην συμβεί καθόλου.

Το Ysc T3SS είναι ένα σύστημα έκκρισης που παρέχει παράγοντες λοιμογόνου δράσης που ονομάζονται τελεστές Yop στο κύτταρο ξενιστή, οι οποίοι συμβάλλουν στην παθογένεια της *Yersinia*. Οι τελεστές Yop στοχεύουν και εξουδετερώνουν αρκετούς έμφυτους αμυντικούς μηχανισμούς των φαγοκυττάρων, όπως τα μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα, και ρυθμίζουν προς τα κάτω τη φλεγμονή. Τέσσερις από τους έξι αναγνωρισμένους τελεστές Yop (YopH, YopE, YopT και YopO) αναστέλλουν τη δυναμική του κυτταροσκελετού και συμβάλλουν στην ισχυρή αντίσταση της παθογόνου *Yersinia* στη φαγοκυττάρωση από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού. Η απουσία οποιουδήποτε από αυτά τα τέσσερα Yops κάνει τα βακτήρια να φαγοκυτταρώνονται πιο αποτελεσματικά, υποδεικνύοντας ότι δεν υπάρχει πλεονασμός μεταξύ των Yops, αλλά μάλλον συνέργεια. Το YopH ανταγωνίζεται συγκεκριμένα διάφορα μονοπάτια σηματοδότησης σημαντικά για την έμφυτη και προσαρμοστική ανοσία, μειώνοντας την εσωτερίκευση και τη θανάτωση βακτηρίων από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού και αποτρέποντας την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών

Παρακάτω περιγράφεται πως οι διαφορετικοί τελεστές Yop που εκκρίνονται από τον μηχανισμό Ysc T3SS των βακτηρίων *Yersinia* συμβάλλουν στη λοιμογόνο δράση τους και στην ικανότητά τους να αποφύγουν το ανοσοποιητικό σύστημα. Το YopH, το YopE, το YopT και το YopO είναι τέσσερις από τους έξι τελεστές που έχουν αναγνωριστεί μέχρι στιγμής και όλοι παίζουν ρόλο στην αναστολή της δυναμικής του κυτταροσκελετού των κυττάρων-ξενιστών. Αυτό καθιστά δύσκολο για τα φαγοκύτταρα όπως τα μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα να καταπιούν και να σκοτώσουν τα βακτήρια. Το YopH ανταγωνίζεται επίσης διάφορα μονοπάτια σηματοδότησης σημαντικά για την έμφυτη και προσαρμοστική ανοσία, μειώνοντας περαιτέρω την ικανότητα του ξενιστή να καταπολεμά τη μόλυνση. Το YopE και το

YopT προκαλούν διάσπαση του κυτταροσκελετού της ακτίνης, οδηγώντας σε στρογγυλοποίηση και αποκόλληση των κυττάρων στην καλλιέργεια. Αναστέλλουν επίσης τη φαγοκυττάρωση και την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών σε μολυσμένα κύτταρα. Ένα μεταλλαγμένο yopE ή yopH εσωτερικεύεται πιο αποτελεσματικά και αποβάλλεται από το ήπαρ και τον σπλήνα. Το YopO πυροδοτεί την κυτταροτοξικότητα των καλλιεργημένων κυττάρων και συμβάλλει στην αντιφαγοκυτταρική δράση, αλλά ο ρόλος του στη λοιμογόνο δράση σε μοντέλα in vivo είναι λιγότερο σαφής. Μαζί, αυτοί οι τελεστές λειτουργούν συνεργατικά για να βοηθήσουν τα βακτήρια *Yersinia* να αποφύγουν την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή και να δημιουργήσουν μια επιτυχημένη μόλυνση. Οι τελεστές YopP και YopM των βακτηρίων *Yersinia* παίζουν ρόλο στην προώθηση της επιβίωσης των βακτηρίων μέσα στα κύτταρα ξενιστές μειώνοντας την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών από τα μολυσμένα κύτταρα. Το YopP καταστέλλει την παραγωγή του TNF-άλφα από τα μακροφάγα και της IL-8 από τα επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα και μπορεί να προκαλέσει απόπτωση των μακροφάγων, η οποία μειώνει τη στρατολόγηση ουδετερόφιλων στο σημείο της μόλυνσης. Η λειτουργία του YopM δεν είναι πλήρως κατανοητή, αλλά έχει αποδειχθεί ότι μεταναστεύει στον πυρήνα των κυττάρων-στόχων και αλληλεπιδρά με τις κυτταροπλασματικές κινάσες, μειώνοντας πιθανώς τα επίπεδα της IL-10 και της IL-18. Ωστόσο, το YopM απαιτείται για τη λοιμογόνο δράση, καθώς ένα μετάλλαγμα yopM δεν είναι σε θέση να δημιουργήσει συστηματική μόλυνση μετά από στοματική πρόκληση σε ποντικούς. Επιπλέον, το YopH συμβάλλει επίσης στη ρύθμιση προς τα κάτω της φλεγμονώδους απόκρισης αναστέλλοντας τη στρατολόγηση άλλων μακροφάγων στα σημεία μόλυνσης. Αυτοί οι μηχανισμοί βοηθούν τα βακτήρια *Yersinia* να αποφύγουν τις ανοσολογικές αποκρίσεις του ξενιστή και να δημιουργήσουν μια επιτυχημένη μόλυνση. (Fàbrega and Vila 2012)

#### 5.4.4 Ysa T3SS

Ενώ το Ysc T3SS είναι σημαντικό για τη λοιμογόνο δράση της *Yersinia* κατά τη διάρκεια συστηματικών σταδίων μόλυνσης, είναι πλέον σαφές ότι ορισμένα απομονωμένα προϊόντα χρησιμοποιούν επιπλέον T3SS. Όπως ο βιότυπος που ονομάζεται 1B, και τη χρήση του συστήματος έκκρισης τύπου III (T3SS) που ονομάζεται Ysa-PI. Το Ysa-PI είναι ένα νέο T3SS που διαφέρει από το Ysc T3SS που αναφέρθηκε προηγουμένως. Το απόσπασμα αναφέρει ότι το Ysa T3SS είναι

σημαντικό για την ικανότητα των βακτηρίων να αποικίζουν τους γαστρεντερικούς ιστούς κατά τα πρώιμα στάδια της μόλυνσης και βοηθά τα βακτήρια να ξεπεράσουν τους ανοσοποιητικούς φραγμούς που παρουσιάζονται από τον ξενιστή σε αυτήν την τοποθεσία. Ουσιαστικά, αυτό σημαίνει ότι το Ysa T3SS είναι ζωτικής σημασίας για την ικανότητα των βακτηρίων να εγκαθιστούν μόλυνση στο έντερο και να αποφύγουν το ανοσοποιητικό σύστημα. Το T3SS είναι ένα πολύπλοκο μοριακό μηχάνημα που βοηθά το βακτήριο να μεταφέρει πρωτεΐνες τελεστές απευθείας στο κύτταρο ξενιστή για να χειριστεί τις λειτουργίες του και να διευκολύνει τη μόλυνση. Τα γονίδια ysa κωδικοποιούν αυτήν τη συσκευή T3SS, η οποία είναι παρόμοια με το T3SS-1 που κωδικοποιείται στη *Salmonella enterica* και το Mxi-Spa T3SS στη *Shigella*. Οι μετατοπισμένες πρωτεΐνες και οι πρωτεΐνες τελεστές ονομάζονται Ysp (πρωτεΐνες έκκρισης Ysa) και οι πρωτεΐνες YspB, YspC και YspD σχηματίζουν το σύμπλεγμα translocon, το οποίο βοηθά στην παροχή πρωτεϊνών τελεστών στο κύτταρο ξενιστή. Επιπλέον, η πρωτεΐνη SycB περιγράφεται ως συνοδός, η οποία βοηθά τις μετατοπισμένες πρωτεΐνες να διπλώνουν σωστά πριν εκκριθούν. Το Ysa T3SS έχει κοινές ομοιότητες με άλλα T3SS που βρέθηκαν στη *Salmonella* και *Shigella*. Το Ysa T3SS εξάγει τελεστικές πρωτεΐνες που ονομάζονται Ysp, οι οποίες είναι διασκορπισμένες σε όλο το γονιδίωμα, συμπεριλαμβανομένου του πλασμιδίου pYV και του χρωμοσώματος. Αρχικά, ταυτοποιήθηκαν τρεις πρωτεΐνες Ysp (YspG, YspH και YspJ), αλλά αργότερα βρέθηκε ότι είναι πρωτεΐνες Yop που κωδικοποιούνται από πλασμίδιο. Έκτοτε έχουν αναγνωριστεί έως και 16 πρωτεΐνες Ysp, συμπεριλαμβανομένων των Yops και των μελών translocon. Αυτές οι πρωτεΐνες είναι απαραίτητες για πλήρη μολυσματικότητα, καθώς μεμονωμένα μεταλλαγμένα ysp έχουν έλλειψη στον αποικισμό γαστρεντερικών ιστών σε μοντέλα in vivo. Ωστόσο, η λειτουργία τους και οι κυτταρικοί στόχοι εξακολουθούν να μελετώνται για την καλύτερη κατανόηση του ρόλου τους στην παθογένεση. (Fàbrega and Vila 2012)

#### 5.4.5 Νησίδα υψηλής παθογένειας (HPI)

Παρακάτω περιγράφεται μια ομάδα γονιδίων που ονομάζεται νησίδα υψηλής παθογένειας (HPI) που βρίσκεται σε ένα συγκεκριμένο στέλεχος βακτηρίων *Yersinia*. Τα γονίδια εντός του HPI είναι υπεύθυνα για την παραγωγή ενός μορίου που ονομάζεται yersiniabactin, το οποίο βοηθά τα βακτήρια να δεσμεύσουν τον σίδηρο, ένα απαραίτητο θρεπτικό συστατικό για την ανάπτυξη και την επιβίωσή τους. Το HPI αποτελείται από 11 γονίδια που είναι οργανωμένα σε τέσσερα οπερόνια (fyuA, irp2,

ybtA και ybtP). Αυτά τα γονίδια εμπλέκονται σε διάφορες λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της βιοσύνθεσης, της μεταφοράς και της ρύθμισης της yersiniabactin. Η FyuA είναι μια πρωτεΐνη που βρίσκεται στην εξωτερική μεμβράνη των βακτηρίων που δεσμεύει τη yersiniabactin, ενώ η YbtP και η YbtQ είναι πρωτεΐνες που βρίσκονται στην εσωτερική μεμβράνη και βοηθούν στη μεταφορά σιδήρου στο βακτηριακό κυτταρόπλασμα. Το YbtA είναι μια πρωτεΐνη που ρυθμίζει την έκφραση των άλλων τριών προαγωγέων (fyuA, irp2 και ybtP) αλλά καταστέλλει τη δική της έκφραση. Ωστόσο, υπάρχουν κάποιες ενδείξεις ότι η ίδια η yersiniabactin μπορεί να ρυθμίσει προς τα πάνω τη δική της έκφραση και αυτή του fyuA. Τέλος, οι περιοχές προαγωγέα και των τεσσάρων γονιδίων διαθέτουν μια θέση δέσμευσης γούνας, που σημαίνει ότι ρυθμίζονται αρνητικά από έναν καταστολέα που ονομάζεται Fur παρουσία σιδήρου. Συνοπτικά, τα γονίδια HPI στα βακτήρια *Yersinia* εμπλέκονται στην παραγωγή και τη χρήση της yersiniabactin για την απόκτηση σιδήρου για την επιβίωσή τους και η έκφρασή τους ρυθμίζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η γούνα και η YbtA. (Fàbrega and Vila 2012)

#### 5.4.6 Οπερόνιο myf

Αυτός ο χρωμοσωμικός τόπος που ονομάζεται myf κωδικοποιεί αρκετά γονίδια στα βακτήρια *Yersinia*. Αυτά τα γονίδια, συμπεριλαμβανομένων των myfA, myfB και myfC, εμπλέκονται στην παραγωγή μιας δομής που ονομάζεται ινώδης, η οποία είναι παρόμοια στη δομή με τους κροσσούς CS3 της Εντεροτοξιγονικής *Escherichia coli* (ETEC). Η κύρια υπομονάδα της ινδιακής δομής είναι η MyfA και οι MyfB και MyfC εμπλέκονται στη συναρμολόγησή της. Στο *Yersinia pseudotuberculosis*, ένα σχετικό βακτήριο, ένας παρόμοιος τόπος που ονομάζεται psa έχει αποδειχθεί ότι εμπλέκεται στη σύνδεση με τα κύτταρα-ξενιστές και στην πρόκληση συγκόλλησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων όταν προκαλείται από τη θερμότητα. Ωστόσο, στην *Yersinia enterocolitica*, το οπερόνιο myf δεν είναι γνωστό ότι προκαλεί συγκόλληση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Απαιτούνται περαιτέρω πειράματα για να προσδιοριστεί η συγκολλητική λειτουργία του myf και ο πιθανός ρόλος του στην παθογένεση των λοιμώξεων από *Yersinia*.(Fàbrega and Vila 2012)

## 5.5 Ρύθμιση λοιμογόνου δράσης

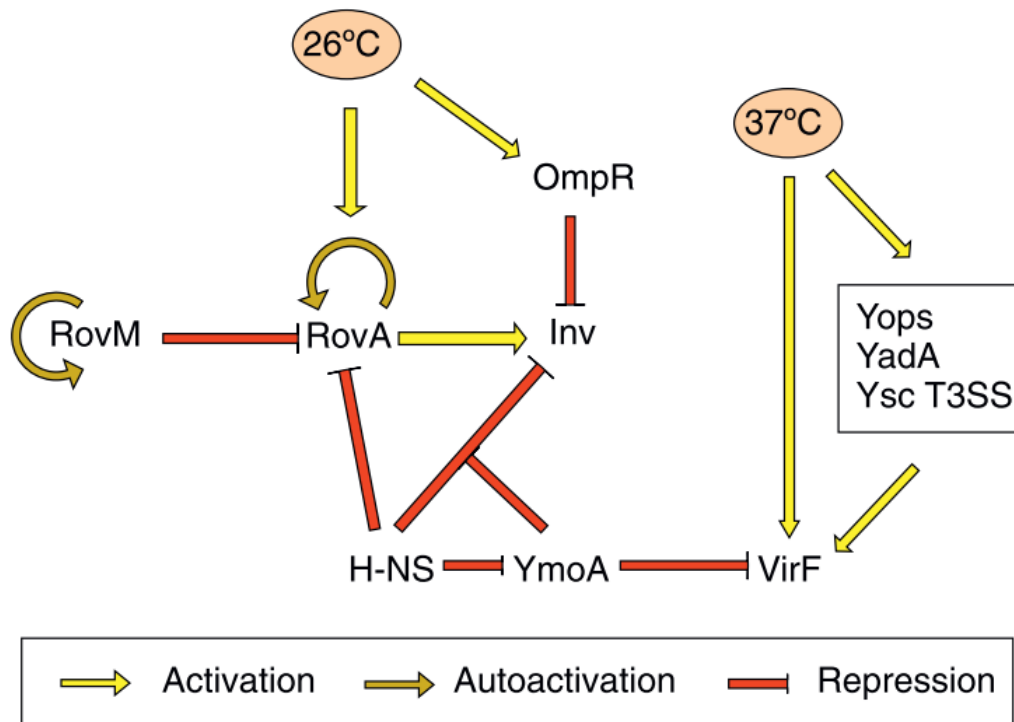
Όλα τα παθογόνα στελέχη *Y. enterocolitica*, τόσο χαμηλής όσο και υψηλής παθογονικότητας απομονωμένα στελέχη, παρουσιάζουν μια θερμικά αποκρινόμενη διαδικασία προσαρμογής που βοηθά στη μετάβαση από το περιβάλλον στις δυσμενείς συνθήκες μέσα στον ανθρώπινο ξενιστή. Κατά συνέπεια, η ρύθμιση των γονιδίων λοιμογόνου δράσης παίζει βασικό ρόλο στην επιτυχή προσαρμογή για την αύξηση της θερμοκρασίας στους 37 °C κατά τη μόλυνση των ευκαρυωτικών ιστών. Κατά συνέπεια, αρκετοί κωδικοποιημένοι από πλασμίδιο παράγοντες εκφράζονται σε 37 °C αλλά όχι στους 26 °C. Επιπλέον, η παρουσία ή η απουσία ασβεστίου στο ενδοκυτταρικό περιβάλλον ή στα μέσα καλλιέργειας είναι επίσης ένας σημαντικός ρυθμιστικός μηχανισμός λοιμογόνου δράσης. Ωστόσο, αυτά τα δύο περιβαλλοντικά σήματα επηρεάζουν δύο διαφορετικά ρυθμιστικά δίκτυα. Αυτό το απόσπασμα περιγράφει πώς τα παθογόνα στελέχη *Yersinia enterocolitica* έχουν μηχανισμό προσαρμογής στις συνθήκες μέσα στον ανθρώπινο ξενιστή, συμπεριλαμβανομένης της αυξημένης θερμοκρασίας. Η ταχύτητα αυτής της διαδικασίας προσαρμογής επηρεάζει τη σοβαρότητα της μόλυνσης και τη διάρκεια της περιόδου επώασης. Η ρύθμιση των μολυσματικών γονιδίων είναι σημαντική για αυτή τη διαδικασία προσαρμογής. Ορισμένοι κωδικοποιημένοι από πλασμίδιο παράγοντες εκφράζονται μόνο στην υψηλότερη θερμοκρασία των 37°C, η οποία βρίσκεται στο ανθρώπινο σώμα. Τα επίπεδα ασβεστίου στο περιβάλλον παίζουν επίσης ρόλο στη ρύθμιση της λοιμογόνου δράσης. Αυτά τα διαφορετικά περιβαλλοντικά σήματα επηρεάζουν διαφορετικά ρυθμιστικά δίκτυα. Το βακτήριο αρχικά εκφράζει ένα γονίδιο που ονομάζεται *Inn* για να αποικίσει το περιβάλλον του ξενιστή και στη συνέχεια καθώς εγκλιματίζεται στην υψηλότερη θερμοκρασία μέσα στο σώμα του ξενιστή, εκφράζει σταδιακά άλλους λοιμογόνους παράγοντες όπως το *Ail*, το *YadA* και διάφορα οπερόνια. Μόλις το βακτήριο φτάσει στη θερμοκρασία του σώματος των 37°C, συναρμολογεί ένα σύστημα έκκρισης τύπου III που ονομάζεται *Ysc injectisomes* και αρχίζει να συνθέτει ένα απόθεμα ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών που ονομάζονται *Yops*. Ωστόσο, η έκκριση αυτών των πρωτεϊνών συμβαίνει μόνο όταν το βακτήριο δημιουργεί στενή επαφή με τα κύτταρα-στόχους μέσω προσφύσεων που παρέχονται από τα *Inn* και *YadA*. Στην περίπτωση των φαγοκυττάρων, οι συμφύσεις δεν είναι απαραίτητες γιατί οι φαγοκυτταρικοί υποδοχείς παρέχουν την απαραίτητη στενή επαφή. Μόλις δημιουργηθεί η επαφή, το κανάλι έκκρισης ανοίγει, οι πρωτεΐνες

μετατόπισης παραδίδονται στη μεμβράνη του κυττάρου στόχου και εξάγονται οι τελεστές Yops. (Fàbrega and Vila 2012)

### 5.5.1 Επίδραση θερμοκρασίας

#### Inv

Το γονίδιο *inv* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που ονομάζεται *invasin*, η οποία παίζει καθοριστικό ρόλο στην ικανότητα του βακτηρίου να εισβάλλει και να μολύνει τα κύτταρα ξενιστές. Η ρύθμιση της έκφρασης *inv* ελέγχεται από διάφορες ρυθμιστικές πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένων των *RovA*, *RovM*, *H-NS* και *YmoA*, οι οποίες αλληλεπιδρούν με διαφορετικές περιοχές των προαγωγέων *inv* και *ronA*. Η έκφραση του *ronA*, που ενεργοποιεί την έκφραση *inv*, εξαρτάται από τα επίπεδα του *RovA*, τα οποία είναι υψηλότερα σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος μεταξύ 25-28°C. Επίσης τα επίπεδα του *RovA* ρυθμίζονται από άλλες πρωτεΐνες όπως οι *RovM* και *H-NS*, οι οποίες μπορούν είτε να ενεργοποιήσουν είτε να αποσιωπήσουν τη μεταγραφή *ronA*. Ομοίως, η έκφραση του *inv* ρυθμίζεται επίσης από την αλληλεπίδραση μεταξύ *H-NS* και *YmoA*, τα οποία δρουν ως σύμπλοκο καταστολέα στους 26°C, αλλά όχι στους 37°C. Συνολικά υπάρχει ένα πολύπλοκο ρυθμιστικό δίκτυο που ελέγχει την έκφραση της *invasin* στην ψευδοφυματίωση της *Yersinia*, με ιδιαίτερη έμφαση στη σημασία των περιβαλλοντικών παραγόντων και των διαφόρων ρυθμιστικών πρωτεϊνών στη ρύθμιση της βακτηριακής λοιμογόνου δράσης και της παθογένεσης. (Fàbrega and Vila 2012)



**Εικόνα 8.** Σχηματική αναπαράσταση της έκφρασης ελέγχου του ρυθμιστικού δικτύου των *Inv*, *YadA*, *Yops* και *Ysc T3SS*. Η καταστολή αυτών των γονιδίων καταργείται μόνο όταν επιτευχθεί η βέλτιστη θερμοκρασία για έκφραση. (Fàbrega and Vila 2012)

## Κεφάλαιο 6

### Πηγές Μόλυνσης και μετάδοσης

#### 6.1.1 Ζώα

Δεν είναι ακόμη σαφές εάν οι άνθρωποι μπορούν να χρησιμεύσουν ως δεξαμενές του *Y. enterocolitica*, καθώς απομονώνεται μόνο από ένα χαμηλό ποσοστό ασυμπτωματικών ανθρώπων. Ωστόσο, είναι σαφές ότι τα ζώα, συμπεριλαμβανομένων των χοίρων, αποτελούν σημαντικές δεξαμενές του *Y. enterocolitica*. Μελέτες έχουν δείξει ότι ορισμένα ζώα φιλοξενούν μοναδικούς ορότυπους του *Y. enterocolitica* που δεν έχουν εμπλακεί σε ανθρώπινες λοιμώξεις. Ενώ έχουν διεξαχθεί πολυάριθμες μελέτες για την απομόνωση στελεχών *Y. enterocolitica* από μια ποικιλία ζώων, τα περισσότερα από τα στελέχη που απομονώθηκαν από ζωικές πηγές διαφέρουν τόσο βιοχημικά όσο και ορολογικά από στελέχη που απομονώθηκαν από ανθρώπους με γερσινίωση. (Bari et al. 2011)

Οι χοίροι έχουν ενοχοποιηθεί ως μια κύρια δεξαμενή των οροτύπων *Y. enterocolitica* που εμπλέκονται σε ανθρώπινες λοιμώξεις, αν και μια σαφής σύνδεση μεταξύ της απομόνωσης του *Y. enterocolitica* από τους χοίρους και της ανθρώπινης ασθένειας μένει να διαπιστωθεί. Η συχνότητα εμφάνισης του *Y. enterocolitica* στους χοίρους ποικίλλει από χώρα σε χώρα και εντός μιας χώρας, και στελέχη που ανήκουν σε βιοροτύπους που σχετίζονται με ανθρώπινη ασθένεια έχουν συχνά απομονωθεί από αμυγδαλές, γλώσσες και δείγματα κοπράνων σφαγμένων χοίρων. Σε ορισμένες ευρωπαϊκές χώρες, όπως η Δανία, το Βέλγιο, η Φινλανδία, η Γερμανία, η Σουηδία και η Ελβετία, ο ορότυπος O:3 του *Y. enterocolitica* έχει αποδειχθεί ότι είναι ο κυρίαρχος βιότυπος σε ασυμπτωματικούς χοίρους. Ορισμένοι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το στέλεχος O:3 είναι ένας φυσιολογικός κάτοικος της στοματικής κοιλότητας των χοίρων και εμπλέκεται επίσης σε ανθρώπινη μόλυνση. (Bari et al. 2011)

Μια μελέτη που διεξήχθη στον Καναδά εξετάζει τον επιπολασμό των οροτύπων *Yersinia enterocolitica* σε χοίρους και ανθρώπους, και την πιθανή σχέση μεταξύ τους. Η μελέτη διαπίστωσε ότι ο ορότυπος O:3 του *Y. enterocolitica* βρέθηκε πιο συχνά σε χοίρους στον ανατολικό Καναδά και ότι αυτό συσχετίστηκε με υψηλότερη συχνότητα ανθρώπινων λοιμώξεων με τον ίδιο ορότυπο σε αυτήν την περιοχή. Αντίθετα, ο ορότυπος O:5,27 ήταν πιο κοινός σε χοίρους στον δυτικό Καναδά, όπου οι



ανθρώπινες μολύνσεις με αυτόν τον ορότυπο ήταν επίσης πιο διαδεδομένες. Το γεγονός ότι οι ορότυποι O:3 και O:5,27 στους χοίρους ήταν συχνά θετικοί για αυτοσυγκόλληση, μια δοκιμή που σχετίζεται με τη λοιμογόνο δράση, υποδηλώνει ότι αυτοί οι ορότυποι ενδέχεται να αποτελούν μεγαλύτερο κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία. Συνολικά, η μελέτη υποδηλώνει ότι οι χοίροι μπορεί να αποτελούν σημαντική πηγή λοιμώξεων από *Y. enterocolitica* στους ανθρώπους. (Bari et al. 2011)

Μία άλλη μελέτη που διεξήχθη στο Guangxi, μια περιοχή στην ηπειρωτική Κίνα, διαπίστωσε ότι η *Yersinia enterocolitica* απομονώθηκε από το 48,4% των χοίρων με διάρροια. Τα περισσότερα από τα απομονωμένα στελέχη ήταν ορότυπου O:3, ο οποίος θεωρείται παθογόνος για τον άνθρωπο, που σημαίνει ότι μπορεί να προκαλέσει ασθένειες στον άνθρωπο. Η μελέτη βρήκε επίσης δύο απομονώσεις που ανήκουν στον ορότυπο O:9, ο οποίος θεωρείται επίσης παθογόνος για τον άνθρωπο. Αυτό υποδηλώνει ότι οι χοίροι στο Guangxi θα μπορούσαν να είναι μια πιθανή πηγή μολύνσεων από *Y. enterocolitica* στους ανθρώπους, ιδιαίτερα εκείνων που προκαλούνται από τους ορότυπους O:3 και O:9. (Bari et al. 2011)

Σε μια άλλη μελέτη στην Κίνα το *Y. enterocolitica* απομονώθηκε από διάφορες πηγές, συμπεριλαμβανομένων των ασθενών με διάρροια, των ζώων, των πουλερικών, των άγριων ζώων, των φορέων εντόμων, των τροφίμων και του περιβάλλοντος. Η μελέτη χρησιμοποίησε τεστ βιοχημικού μεταβολισμού, ανάλυση γονιδίου λοιμογόνου δράσης και υποτυποποίηση PFGE για την ανάλυση των στελεχών. Από τα 1.295 στελέχη, τα 416 βρέθηκαν να είναι παθογόνα, με τους ορότυπους O:3 και O:9 να είναι οι πιο διαδεδομένοι στα ζώα και τα πουλερικά, ιδιαίτερα στους χοίρους. Η μελέτη διαπίστωσε ότι τα παθογόνα απομονωμένα στελέχη ήταν πιο κοινά σε ψυχρές βόρειες περιοχές, με ορισμένα στελέχη ορότυπου O:3 να βρέθηκαν επίσης σε θερμότερες νότιες περιοχές. Η ανάλυση αποκάλυψε επίσης ένα μοτίβο «κατανομής ομόκεντρου κύκλου» γύρω από τις δεξαμενές ζώων και την ανθρώπινη κατοίκηση. Επιπλέον, τα πρότυπα PFGE των παθογόνων στελεχών που απομονώθηκαν από ασθενείς με διάρροια ήταν πανομοιότυπα με αυτά από ζώα στην ίδια περιοχή, υποδεικνύοντας ότι η ανθρώπινη μόλυνση πιθανότατα αποκτήθηκε από τα ζώα. (Bari et al. 2011)

Οικόσιτα ζώα όπως σκύλοι, αγελάδες, άλογα, πρόβατα και γάτες έχει βρεθεί ότι περιστασιακά φέρουν τον οργανισμό, ως επί το πλείστον βιοροτύπου 4/O:3, ο οποίος

απεκκρίνεται στα κόπρανα τους για αρκετές εβδομάδες μετά τη μόλυνση. Τα στελέχη *Yersinia enterocolitica* των βιοτύπων 2 και 3 και οι ορότυποι O:5,27 και O:9 έχουν απομονωθεί σποραδικά από χοίρους σφαγής, αγελάδες, πρόβατα και αίγες, αλλά η δεξαμενή αυτών των βιοτύπων δεν είναι ξεκάθαρη. Άγρια ζώα όπως μικρά τρωκτικά και αλεπούδες έχουν επίσης βρεθεί ότι φέρουν *Y. enterocolitica*, κυρίως ορότυπους O:6, O:5A, O:4 και O:9. Στην Ιαπωνία, τα άγρια τρωκτικά και οι χοίροι έχουν αποδειχθεί ότι αποτελούν δεξαμενές για τα στελέχη *Y. enterocolitica* O:8. Πολύ σπάνιοι βιότυποι όπως ο βιοσερότυπος 5/O:2,3 έχουν απομονωθεί από πρόβατα, λαγούς και κατσίκες και ο βιοσερότυπος 3/O:1,2a,3 από τσιντσιλά. Τα κατοικίδια όπως οι σκύλοι μπορεί να είναι πηγή ανθρώπινων λοιμώξεων λόγω της στενής επαφής τους με ανθρώπους, ιδιαίτερα μικρά παιδιά. (Bari et al. 2011)

Έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες για τη σύγκριση ανθρώπινων στελεχών με ζωικά στελέχη, κυρίως στελέχη χοίρου, και οι περισσότερες από αυτές υποστηρίζουν την ιδέα ότι οι χοίροι είναι η κύρια πηγή μόλυνσεων από το ανθρώπινο *Y. Enterocolitica*. Παρακάτω απεικονίζονται ετήσια περιστατικά της νόσου που προκαλείται από τροφιμογενείς βακτηριακούς παράγοντες σε διάφορες χώρες. (Bari et al. 2011)

**Πίνακας 8.** Ετήσια επίπτωση της νόσου που προκαλείται από τροφιμογενείς βακτηριακούς παράγοντες σε διάφορες χώρες.

Table 4

Annual incidence of disease caused by foodborne bacterial agents in different countries.

Country	Year	Cases	Incidence (per 100 000 population)
Australia	2000	73	0.6
Austria	1998	94	1.2
Belgium	2000	507	5
Denmark	2001	286	5.3
Finland	2001	728	14
Greece	1998	10	0.1
Japan	2001	4	<0.01
Norway	2001	123	2.8
Spain	1998	425	1.1
Sweden	2001	579	6.5
Switzerland	1998	51	0.7
United Kingdom	2000	27	0.05
United States	2002	164	0.44
New Zealand	2006	487	11.8

(Bari et al. 2011)

### 6.1.2 Μόλυνση Τροφίμων και Περιβάλλοντος

Ενώ τα τρόφιμα έχουν προταθεί ως κύρια πηγή μόλυνσης, τα ποσοστά παθογόνων στελεχών των βακτηρίων που βρίσκονται στο ωμό χοιρινό και άλλα δείγματα τροφίμων ήταν χαμηλά. Αυτό θα μπορούσε να οφείλεται στο ότι οι μέθοδοι καλλιέργειας που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση των βακτηρίων μπορεί να έχουν περιορισμένη ευαισθησία. Ωστόσο, μελέτες που χρησιμοποιούν πιο ευαίσθητες μεθόδους ανίχνευσης όπως η PCR έχουν βρει υψηλότερα ποσοστά επικράτησης του παθογόνου *Y. enterocolitica* σε ορισμένα τρόφιμα. Ο πιο κοινός τύπος *Y. enterocolitica* που βρίσκεται στο ωμό χοιρινό είναι ο βιοσερότυπος 4/O:3 και τα βρώσιμα παραπροϊόντα χοίρων έχουν συσχετιστεί με υψηλότερα ποσοστά μόλυνσης.(Bari et al. 2011)

Ο επιπολασμός του *Y. enterocolitica* στα τρόφιμα έχει μελετηθεί στη Φινλανδία και το υψηλότερο ποσοστό ανίχνευσης λήφθηκε από παραπροϊόντα χοίρων όπως γλώσσες, συκώτια, καρδιές και νεφρά. Το ποσοστό ανίχνευσης ήταν υψηλότερο στον

κιμά όταν χρησιμοποιήθηκε PCR σε σύγκριση με τις μεθόδους καλλιέργειας. Σε άλλη μελέτη, το *Y. enterocolitica* ανιχνεύθηκε στο 10% των δειγμάτων ωμού χοιρινού κρέατος και σε ένα από τα 27 έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα χοιρινού κρέατος. Παραδόξως, το *Y. enterocolitica* ανιχνεύθηκε επίσης σε κιμά και τόφου με PCR σε πραγματικό χρόνο. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι το πραγματικό ποσοστό μόλυνσης του παθογόνου *Y. enterocolitica* στο χοιρινό και σε άλλα επεξεργασμένα κρέατα και τρόφιμα υποτιμάται όταν χρησιμοποιούνται μέθοδοι καλλιέργειας. (Bari et al. 2011)

Το *Y. enterocolitica* έχει βρεθεί στο νωπό γάλα σε διάφορες χώρες, συμπεριλαμβανομένης της Αυστραλίας, του Καναδά, της Τσεχοσλοβακίας και των ΗΠΑ. Παρά το γεγονός ότι η παστερίωση του γάλακτος είναι μια διαδικασία που εξαλείφει τα επιβλαβή βακτήρια στο γάλα, έχουν υπάρξει μεμονωμένες περιπτώσεις όπου το *Y. enterocolitica* έχει βρεθεί στο παστεριωμένο γάλα. Οι πιθανοί λόγοι για αυτό μπορεί να είναι ένα πρόβλημα στη διαδικασία παστερίωσης που οδηγεί σε ανεπαρκή επεξεργασία ή μόλυνση μετά την παστερίωση. Μια άλλη πιθανότητα είναι η ύπαρξη ανθεκτικών στη θερμότητα στελεχών του *Y. enterocolitica*, αλλά δεν έχουν υπάρξει επιβεβαιωμένες αναφορές τέτοιων στελεχών. (Bari et al. 2011)

Αναφέρει μια αναφορά του Stern το 1982 που έδειξε ότι το *Y. enterocolitica* μπορεί να αναπτυχθεί σε πλήρες γάλα ακόμη και σε χαμηλές θερμοκρασίες 3°C. Το απόσπασμα προτείνει ότι η παστερίωση, η οποία υποτίθεται ότι εξαλείφει τα βακτήρια στο γάλα, μπορεί πραγματικά να διευκολύνει την ανάπτυξη του *Y. enterocolitica* στο παστεριωμένο γάλα, καθώς μειώνει τον αριθμό των ανταγωνιστικών βακτηρίων. Ως αποτέλεσμα, η παρουσία του *Y. enterocolitica* στο παστεριωμένο γάλα είναι ανησυχητική. (Bari et al. 2011)

Το *Y. enterocolitica* έχει απομονωθεί από νωπό γάλα σε πολλές χώρες, όπως η Αυστραλία, ο Καναδάς, η Τσεχοσλοβακία και οι ΗΠΑ. Έχουν επίσης αναφερθεί αναφορές για το παθογόνο που βρέθηκε στο παστεριωμένο γάλα, πιθανώς λόγω μόλυνσης κατά τη διαδικασία παστερίωσης ή παρουσίας ανθεκτικών στη θερμότητα στελεχών του *Y. enterocolitica*. Επιπλέον, το 9,2% των δειγμάτων τυροπήγματος στον Καναδά βρέθηκε να είναι μολυσμένο με *Y. enterocolitica*. (Bari et al. 2011)

Τα βακτήρια τείνουν να βρίσκονται σε μεγάλους αριθμούς σε κρέατα συσκευασμένα σε κενό αέρος με pH (ένα μέτρο οξύτητας) πάνω από 6 που αποθηκεύονται σε

χαμηλές θερμοκρασίες. Αυτό είναι ανησυχητικό γιατί τα βακτήρια μπορούν να αναπτυχθούν πιο εύκολα κάτω από αυτές τις συνθήκες. Επιπλέον η ανάπτυξη αυτού του βακτηρίου ενισχύεται σε μαγειρεμένα κρέατα ή σε χαμηλές θερμοκρασίες, ενώ άλλα βακτήρια που θα μπορούσαν να το ανταγωνιστούν για πόρους είναι πιο πιθανό να αδρανοποιηθούν. Συνολικά υπάρχουν ορισμένες συνθήκες που μπορούν να προάγουν την ανάπτυξη του *Yersinia enterocolitica* σε προϊόντα διατροφής, η οποία μπορεί να είναι ένας πιθανός κίνδυνος για την υγεία των καταναλωτών. Είναι πολύ σημαντικός ο κατάλληλος χειρισμός και η αποθήκευση των τροφίμων για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου μόλυνσης. (Bari et al. 2011)

Στη Φινλανδία, δεν ανιχνεύθηκε παθογόνο *Y. enterocolitica* σε δείγματα ψαριών ή κοτόπουλου, αλλά τρία (3%) δείγματα μαρουλιού ήταν θετικά. Αυτό υποδηλώνει ότι τα λαχανικά μπορεί να είναι πηγή μόλυνσης του ανθρώπου με αυτό το βακτήριο. Στην Κορέα, οι ερευνητές απομόνωσαν ένα στέλεχος του βιολογικού τύπου 3/O:3 θετικό για τον ιό *Y. enterocolitica* από 673 δείγματα έτοιμων προς κατανάλωση λαχανικών, γεγονός που υποστηρίζει περαιτέρω την ιδέα ότι τα λαχανικά μπορούν να είναι πηγή μόλυνσης στον άνθρωπο. Στην Ιαπωνία, υπήρξε τροφιμογενές ξέσπασμα του *Y. enterocolitica* O:8 και το ίδιο μοτίβο PFGE βρέθηκε σε όλα τα προϊόντα απομόνωσης ασθενών και σαλάτας. Αυτό υποδηλώνει ότι η μολυσμένη σαλάτα ήταν η πηγή της επιδημίας. (Bari et al. 2011)

Στην Αργεντινή, οι ερευνητές βρήκαν το *Y. enterocolitica* 2/O:9 σε επιφάνειες με κέλυφος αυγού κοτόπουλου. Χρησιμοποιώντας PFGE, διαπίστωσαν ότι υπήρχε γονιδιωματική ετερογένεια μεταξύ των στελεχών, γεγονός που υποδηλώνει διαφορετικές πηγές μόλυνσης. Είναι πιθανό η επιφάνεια του αυγού να μολύνθηκε από την επαφή με άλλα ζωικά προϊόντα μολυσμένα με *Y. enterocolitica*, όπως το χοιρινό, κατά τη συλλογή σε φάρμες ή κατά τη μεταφορά ή το χειρισμό σε καταστήματα λιανικής. Διάφορες μελέτες έχουν διερευνήσει τις πιθανές πηγές των παθογόνων βακτηρίων *Yersinia enterocolitica*, ειδικά μέσω μη επεξεργασμένου πόσιμου νερού και περιβαλλοντικού νερού. Στη Νορβηγία, μια μελέτη ελεγχόμενη από περιπτώσεις διαπίστωσε ότι το μη επεξεργασμένο πόσιμο νερό ήταν παράγοντας κινδύνου για σποραδικές λοιμώξεις από *Y. enterocolitica*. Το πόσιμο νερό έχει επίσης βρεθεί ότι είναι μια σημαντική δεξαμενή για το μη παθογόνο *Y. enterocolitica*. Ωστόσο, μελέτες

έχουν επίσης ανιχνεύσει παθογόνο *Y. enterocolitica* σε περιβαλλοντικά νερά, όπως το 10% των δειγμάτων που δοκιμάστηκαν από τους Sandery et al. [58] και 38 στελέχη ορότυπου O:5,27 που απομονώθηκαν από μη επεξεργασμένο νερό στη Βραζιλία από τους Falcao et al. [64]. Αυτό υποδηλώνει ότι το νερό μπορεί να είναι υπεύθυνο για τη μόλυνση του ανθρώπου με *Y. enterocolitica*. Στην Ιαπωνία, στελέχη *Y. enterocolitica* O:8 έχουν απομονωθεί από το νερό των ρεμάτων, υποστηρίζοντας περαιτέρω την ιδέα ότι το νερό μπορεί να είναι πηγή αυτού του βακτηρίου. (Bari et al. 2011)

## 6.2 Πιθανές πορείες μετάδοσης

Ο πιο συνηθισμένος τρόπος μετάδοσης του παθογόνου *Yersinia enterocolitica* είναι μέσω μολυσμένων τροφίμων, συνήθως μέσω της κοπράνων-στοματικής οδού. Είναι σπάνιο το παθογόνο να μεταδίδεται απευθείας από άτομο σε άτομο, αλλά μπορεί να συμβεί εάν οι βασικές συνήθειες υγιεινής και πλυσίματος των χεριών είναι ανεπαρκείς. Σε ορισμένες περιπτώσεις, υπήρξαν κρούσματα λοιμώξεων από *Y. enterocolitica* που εντοπίστηκαν σε έναν μολυσμένο φορέα που μετέδωσε την ασθένεια σε άλλους μέσω άμεσης ή έμμεσης επαφής. Η άμεση επαφή με χοίρους, όπως στην περίπτωση των χοιροτρόφων και των εργαζομένων σε σφαγεία, μπορεί επίσης να αποτελεί οδό μετάδοσης, αλλά αυτό δεν έχει ακόμη αποδειχθεί οριστικά. Υπήρξαν επίσης περιπτώσεις όπου το *Y. enterocolitica* μεταδόθηκε μέσω μεταγγίσεων αίματος. (Bari et al. 2011)

Το παθογόνο *Y. enterocolitica* μπορεί να μεταδοθεί από τα σφαγεία σε μονάδες επεξεργασίας κρέατος και στη συνέχεια σε επίπεδα λιανικής μέσω μολυσμένων σφαγίων και παραπροϊόντων χοίρων. Το μολυσμένο χοιρινό κρέας και τα παραπροϊόντα είναι σημαντικά οχήματα μετάδοσης από τα καταστήματα λιανικής στον άνθρωπο. Η διασταυρούμενη μόλυνση παραπροϊόντων και χοιρινού κρέατος μπορεί να συμβεί άμεσα ή έμμεσα μέσω χειριστή εξοπλισμού, αέρα και τροφίμων σε σφαγεία, καταστήματα λιανικής και οικιακές κουζίνες. Το ποσοστό ανίχνευσης του παθογόνου *Y. enterocolitica* σε προϊόντα ωμού χοιρινού κρέατος έχει αποδειχθεί υψηλό. Ωστόσο, η κατανάλωση ωμού χοιρινού κρέατος δεν είναι κοινή συνήθεια στις περισσότερες ανεπτυγμένες χώρες, επομένως θα έπαιζε περιορισμένο μόνο ρόλο στην ανάπτυξη της γερσινίωσης. Στη Γερμανία, ο ωμός χοιρινός κιμάς με πιπέρι και κρεμμύδι είναι μια λιχουδιά που μπορεί κανείς να αγοράσει σε έτοιμη μορφή από κρεοπωλεία και η μετάδοση μπορεί να συμβεί συχνότερα μέσω μαγειρεμένου

χοιρινού κρέατος και άλλων προϊόντων διατροφής που δεν έχουν μαγειρευτεί καλά ή δεν έχουν χρησιμοποιηθεί σωστά. (Bari et al. 2011)

Αν και δεν έχει ακόμη αποδειχθεί ότι τα κατοικίδια μπορούν να μεταδώσουν απευθείας τη μόλυνση στον άνθρωπο, τα κατοικίδια μπορεί να μολυνθούν έμμεσα από το παθογόνο μέσω της διατροφής τους, η οποία μπορεί να περιλαμβάνει ωμά προϊόντα χοιρινού κρέατος που είναι μολυσμένα με το παθογόνο. Μια μελέτη στη Φινλανδία διαπίστωσε ότι μια γάτα που έτρωγε κυρίως ωμές καρδιές και νεφρά χοίρου είχε τον ίδιο κυρίαρχο γονότυπο του *Y. enterocolitica* που βρέθηκε στα όργανα του χοίρου και ένας σκύλος που έτρωγε ωμό κιμά χοιρινό απέκκρινε τον ίδιο γονότυπο που βρέθηκε στον κιμά. Αυτό υποδηλώνει ότι τα κατοικίδια μπορούν να γίνουν φορείς του παθογόνου και δυνητικά να το μεταδώσουν στον άνθρωπο, ιδιαίτερα στα μικρά παιδιά που μπορεί να βρίσκονται σε στενή επαφή με κατοικίδια. Επομένως, συνιστάται να μην δίνεται ωμό χοιρινό κρέας σε κατοικίδια για να αποτραπεί η μετάδοση του παθογόνου *Y. enterocolitica*. (Bari et al. 2011)

### 6.3 Επιβίωση και ανάπτυξη στα τρόφιμα

Το *Y. enterocolitica* μπορεί να επιβιώσει σε τρόφιμα συσκευασμένα σε κενό σε θερμοκρασίες ψύξης για παρατεταμένες περιόδους, κάτι που αποτελεί ανησυχία για την υγιεινή των τροφίμων. Ωστόσο, τα βακτήρια δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε ακραία επίπεδα pH (<4,2 ή >9,0) ή σε υψηλές συγκεντρώσεις άλατος (>7% με δραστηριότητα νερού < 0,945). (Bari et al. 2011)

Το *Y. enterocolitica* δεν είναι ανθεκτικό στη θερμότητα και μπορεί να σκοτωθεί αποτελεσματικά με παστερίωση, μαγείρεμα, βράσιμο, ψήσιμο και τηγάνισμα. Ωστόσο, εάν το αρχικό βακτηριακό φορτίο είναι πολύ υψηλό, μπορεί να μην συμβεί πλήρης καταστροφή κατά την παστερίωση. Υποθανατηφόρος τραυματισμός μπορεί επίσης να συμβεί όταν τα βακτήρια εκτίθενται σε θερμοκρασίες 47°C για 12-70 λεπτά. Οι τιμές D (δεκαδική μείωση) για το *Y. enterocolitica* σε αποστειρωμένο πλήρες γάλα στους 62,8°C κυμαίνονταν από 0,7 έως 17,8 δευτερόλεπτα για διαφορετικές καλλιέργειες. Οι τιμές D αναφέρθηκαν επίσης για ζεματισμένο νερό σε διαφορετικές θερμοκρασίες. (Bari et al. 2011)

Η *Y. enterocolitica* μπορεί να έχει δυσκολία να ανταγωνιστεί άλλους ψυχοτρόφους οργανισμούς στην τροφή. Ωστόσο, ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι το *Y. enterocolitica* μπορεί να πολλαπλασιαστεί σε τρόφιμα που διατηρούνται υπό ψύξη

και μπορεί ακόμη και να ανταγωνιστεί με επιτυχία. Επίσης το βακτήριο είναι πιο ευαίσθητο στο γαλακτικό οξύ υπό αναερόβιες συνθήκες παρά σε αερόβιες συνθήκες και είναι πιο ανεκτικό σε συνθήκες χαμηλού pH υπό αναερόβια ατμόσφαιρα απουσία γαλακτικού οξέος. (Bari et al. 2011)

Τα σφάγια χοίρων συνήθως διατηρούνται σε ψυκτικούς θαλάμους για μερικές ημέρες πριν κοπούν, ενώ τα προσυσκευασμένα προϊόντα κρέατος μπορούν να διατηρηθούν σε ψυκτικά ντουλάπια λιανικής για μια εβδομάδα ή περισσότερο. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, εάν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές (όπως η κατάλληλη θερμοκρασία, υγρασία και pH), τα παθογόνα στελέχη του *Y. enterocolitica* ενδέχεται να είναι σε θέση να αναπτυχθούν και να πολλαπλασιαστούν, γεγονός που θα μπορούσε να αυξήσει τον κίνδυνο τροφιμογενούς ασθένειας για τους καταναλωτές που τρώνε τα μολυσμένα προϊόντα κρέατος. (Bari et al. 2011)

Η ανάπτυξη του *Yersinia enterocolitica*, ενός προαιρετικού οργανισμού, επηρεάζεται από την παρουσία αερίου ατμόσφαιρας. Υπό αναερόβιες συνθήκες, το *Y. enterocolitica* δεν μπορεί να αναπτυχθεί στο βόειο κρέας σε pH 5,4–5,8, αλλά η ανάπτυξη εμφανίζεται σε pH 6,0. Το εκατό τοις εκατό CO<sub>2</sub> αναστέλλει την ανάπτυξη του *Y. enterocolitica*. Μια μελέτη έδειξε ότι το *Y. enterocolitica* αναπτύχθηκε σε συσκευασίες κενού σε όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης με ρυθμούς παρόμοιους ή ταχύτερους από εκείνους της μικροχλωρίδας αλλοίωσης. Σε συσκευασίες CO<sub>2</sub>, το βακτήριο αναπτύχθηκε και στους 5 και στους 10°C, αλλά όχι σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. (Bari et al. 2011)

Παρακάτω περιγράφεται ένα πείραμα που αξιολόγησε την επίδραση διαφορετικών συγκεντρώσεων διοξειδίου του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) στην ανάπτυξη της *Yersinia enterocolitica* και άλλων βακτηρίων στο κιμά χοιρινού κρέατος. Ο κιμάς συσκευάστηκε σε διάφορες ατμόσφαιρες εμπλουτισμένες με CO<sub>2</sub>, που κυμαίνονταν από 0% έως 100% CO<sub>2</sub>, και αποθηκεύτηκε στους 2°C για 12 ημέρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι μετρήσεις του *Y. enterocolitica* δεν διέφεραν σημαντικά στο κρέας που συσκευάστηκε κάτω από τις διάφορες ατμόσφαιρες εμπλουτισμένες με CO<sub>2</sub>, υποδεικνύοντας ότι το παθογόνο αναστέλλεται σχεδόν πλήρως σε όλες τις δοκιμασμένες ατμόσφαιρες που περιέχουν CO<sub>2</sub>. Ωστόσο, σε κιμά χοιρινό συσκευασμένο με 100% οξυγόνο, υπήρξε σημαντική μείωση στους αριθμούς *Y. enterocolitica*, πιθανώς λόγω της αξιοσημείωτης αύξησης του αριθμού αερόβιας

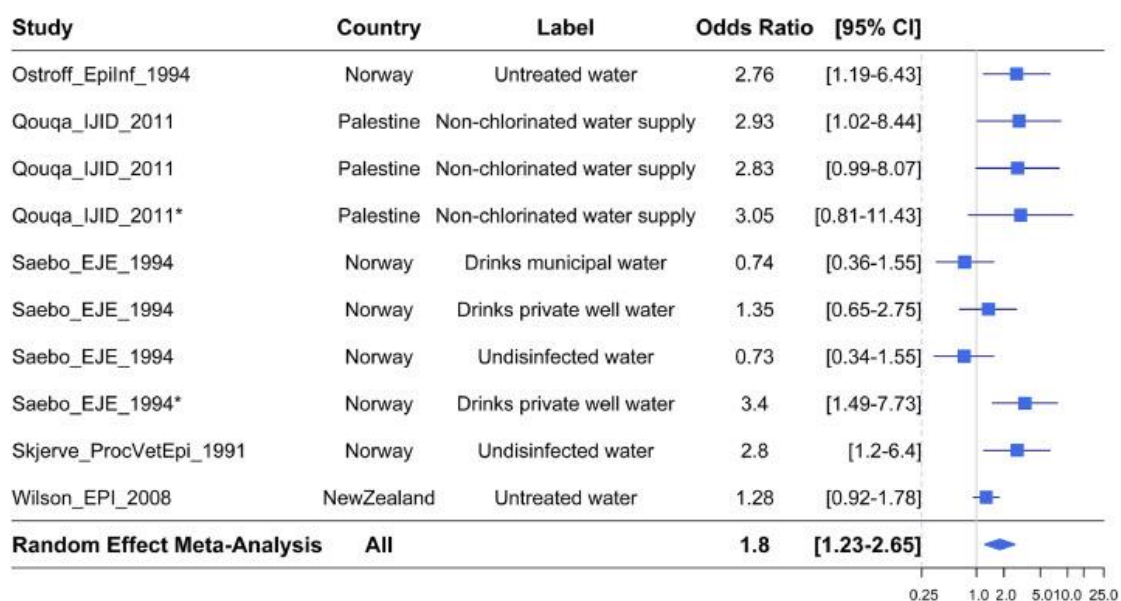


πλάκας που παρατηρείται μόνο σε εκείνες τις συσκευασίες που αποθηκεύτηκαν κάτω από 100% O<sub>2</sub>. Η μελέτη διαπίστωσε επίσης ότι οι συσκευασίες με υψηλές συγκεντρώσεις CO<sub>2</sub> είχαν σημαντική ανασταλτική επίδραση στην ανάπτυξη των μεσόφιλων αερόβιων βακτηρίων. (Bari et al. 2011)

#### 6.4 Νερό ως πηγή μόλυνσης

Το μη επεξεργασμένο πόσιμο νερό, έχει προσδιοριστεί από τη μετα-ανάλυση ως παράγοντας κινδύνου για σποραδικές λοιμώξεις από *Y. enterocolitica*, επιβεβαιώνεται σύμφωνα με επιδημιολογική ανάλυση ορισμένων εστιών που σχετίζονταν με μόλυνση προϊόντων διατροφής από μη επεξεργασμένο πόσιμο νερό μολυσμένο από *Y. enterocolitica* (Guillier et al. 2021)

**Πίνακας 9.** Συσχέτιση σποραδικών λοιμώξεων από *Y. enterocolitica* του μη επεξεργασμένου πόσιμου νερού. (Legend \* προσαρμοσμένο OR, N=10).(Guillier et al. 2021)



## Κεφάλαιο 7

### Απομόνωση από τα τρόφιμα

*H Yersinia* spp. βρίσκεται παντού μπορεί να απομονωθεί από το έδαφος, το νερό, το κρέας, σε διάφορα λαχανικά, το παστεριωμένο γάλα μπορεί να βρεθεί στην εντερική οδό των θηλαστικών, των χοίρων, των βοοειδών, των προβάτων και ακόμη και των πουλερικών. Οι χοίροι και τα προϊόντα τους θεωρούνται η κύρια πηγή του παθογόνου για τον άνθρωπο *Y. enterocolitica*. Οι χοίροι είναι συνήθως ασυμπτωματικοί φορείς και τα βακτήρια βρίσκονται στις αμυγδαλές και στο έντερο τους. (Verbikova et al. 2018) Λόγω πολλών κρουσμάτων γερσινίωσης τις δύο τελευταίες δεκαετίες υπάρχει η ανάγκη να διερευνηθεί περισσότερο αυτό το παθογόνο όπως και να αναπτυχθούν για την ανίχνευσή του γρήγορες, ακριβείς και οικονομικά αποδοτικές μέθοδοι. Το πρώτο βήμα για να φανεί η συσχέτιση του παθογόνου με μια εστία μόλυνσης θα πρέπει να απομονωθεί και να αναγνωριστεί από τις ύποπτες πηγές τροφίμων, κάτι που είναι πρόκληση με το *Y. enterocolitica*, επειδή αναπτύσσεται αργά και κυριαρχούν άλλοι μικροοργανισμοί στα δείγματα. Επίσης, κάποια μοριακά ή φαινοτυπικά χαρακτηριστικά βασίζονται στην παρουσία του πλασμιδίου λοιμογόνου δράσης (pYV), χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση παθογόνων στελεχών τα οποία μπορεί να σκληρυνθούν κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας στους 37 °C, αυτός ο τρόπος δημιουργεί ψευδή αποτελέσματα. Οπότε η ανίχνευση του *Y. enterocolitica* είναι μια μεγάλη δουλειά για τα τρόφιμα που δίνει έμφαση στην ανάπτυξη μεθόδων για επιτόπια ανίχνευση του *Y. enterocolitica* από τα δείγματα των τροφίμων. Οι καλλιεργητικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την απομόνωση και την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* στα τρόφιμα, οι συμβατικές περιλαμβάνουν ψυχρό εμπλουτισμό, με επίστρωση εμπλουτισμένων δειγμάτων σε επιλεκτικά διαφορεικά μέσα και ταυτοποίηση κάποιων απομονώσεων με βιοχημικές δοκιμές. Οι μέθοδοι αυτοί έχουν χρησιμοποιηθεί κυρίως για ποιοτική ανάλυση. Όμως, οι περίοδοι επώασης είναι μεγάλες, υπάρχει χαμηλή ευαισθησία, η διαφοροποίησης μεταξύ των ειδών και η διάκριση είναι ελλειμματική μεταξύ παθογόνων και μη παθογόνων στελεχών οπότε και μειώνουν τη δυνατότητα εφαρμογής αυτών των μεθόδων. Έχουν αναπτυχθεί πολυάριθμες ανοσολογικές και μοριακές τεχνικές για την ανίχνευσή. Οι μέθοδοι είναι σχετικά απλοί, φιλικές προς το χρήστη και με ακρίβεια, τα όρια ανίχνευσης είναι χαμηλά. (Gurta et al. 2015) Υπεύθυνο για την επιτήρηση της ανθρώπινης γερσινίωσης από το 1960, είναι το Γαλλικό Εθνικό Εργαστήριο Αναφοράς *Yersinia* (YNRL) όμως τα κρούσματα δεν μπορούν να κοινοποιηθούν στη Γαλλία. Το YNRL

έχει λάβει περισσότερα από 20 000 στελέχη *Yersinia* που απομονώθηκαν περίπου τα τελευταία 50 χρόνια. στη Γαλλία για χαρακτηρισμό (είδη, ΒΤ και ορότυπος). Τα στελέχη απομονώθηκαν από κλινικές περιπτώσεις, αλλά και από άρρωστα ζώα ή κατά τη διάρκεια ερευνών όπως τροφικών, περιβαλλοντικών ή κτηνιατρικών. Ο στόχος αυτής της μελέτης ήταν να επωφεληθεί από την βάση δεδομένων YNRL ώστε να αποκτήσει μια επισκόπηση της γερσινίωσης στη Γαλλία να αναλυθεί η κατανομή των διαφόρων ειδών και των υποομάδων της *Yersinia* σύμφωνα με τις πηγές απομόνωσής τους, επισημαίνοντας τις πιθανές αιτίες για ανθρώπινες μολύνσεις. Τα στελέχη *Yersinia* που απομονώθηκαν από τρόφιμα ήταν σχεδόν αποκλειστικά μη παθογόνα (97%). Τα στελέχη αυτά βρέθηκαν σε ποικιλία τροφίμων (κρέας, γαλακτοκομικά προϊόντα, αυγά, λαχανικά, υδρόβια ζώα) που είτε ήταν επεξεργασμένα είτε νωπά όπως τα λαχανικά (42,5% των μη παθογόνων στελεχών τροφίμων. Στελέχη *Y. enterocolitica* ΒΤ1Α ήταν τα πιο συχνά απομονωμένα από τα τρόφιμα (59,7%) (Le Guern et al. 2016) Το YNRL περιέχει πληροφορίες στη βάση δεδομένων του που αφορούν τον άνθρωπο, ζώο, περιβάλλον ή τροφή και βακτηριολογικά χαρακτηριστικά όπως το είδος *Y. enterocolitica*, τον ορότυπο, 20 216 στελεχών *Yersinia* που απομονώθηκαν μεταξύ του 1931 και του 2013. Τα 451 στελέχη δεν συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση επειδή η ταυτοποίησή τους δεν ήταν πλήρης και τα 95 επειδή η πηγή απομόνωσής τους ήταν άγνωστη. Έτσι, τα 19 670 χαρακτηρισμένα στελέχη διατηρήθηκαν για τη μελέτη Δεν υπάρχουν στελέχη που ανήκουν στα είδη *Y. aleksicia e*, *Y. entomophaga*, *Y. massiliensis*, *Y. nurmii*, *Y. pekkanenii*, *Y. wautersii*, *To Y. similis* ή το *Y. pestis* απομονώθηκαν στη Γαλλία και στάλθηκαν στο YNRL για χαρακτηρισμό. Τα περισσότερα από τα στελέχη απομονώθηκαν από ανθρώπους (n = 12 526), η κύρια αποστολή του YNRL είναι επιδημιολογική επιτήρηση της ανθρώπινης γερσινίωσης, και μετά ακολουθούν τα τρόφιμα (n = 3249), τα ζώα (n = 2994) και το περιβάλλον (n = 901). (Le Guern et al. 2016)

Πίνακας 10 . Πηγή απομόνωσης των διαφόρων ειδών *Yersinia*

Είδος	Του ανθρώπου		Των ζώων		Τροφή		περιβάλλον		Σύνολο	
	Αριθμός	%	Αριθμός	%	Αριθμός	%	Αριθμός	%	Αριθμός	%
Παθογόνος										
<i>Y. ψευδοφυματίωση</i>	453	3.6	1813	60.6	0	0,0	2	0.2	2268	11.5
<i>Y. enterocolitica</i>	6935	55.4	437	14.5	96	3.0	3	0.3	7471	38.0
<b>ΜΕΡΙΚΟ ΣΥΝΟΛΟ</b>	7388	59,0	2250	75.1	96	3.0	5	0,5	9739	49,5
Μη παθογόνο										
<i>Y. enterocolitica 1A</i>	4162	33.2	496	16.6	1883	58,0	380	42.2	6921	35.2
<i>Y. aldovae</i>	1	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,0
<i>Y. bercovieri</i>	208	1.7	10	0.3	212	6.5	19	2.1	449	2.3
<i>Y. frederiksenii</i>	430	3.4	65	2.2	262	8.1	175	19.4	932	4.7
<i>Y. intermedia</i>	122	1.0	92	3.1	543	16.7	284	31.6	1041	5.3
<i>Y. kristensenii</i>	154	1.2	67	2.2	227	7.0	35	3.9	483	2.5
<i>Y. mollaretii</i>	56	0,5	14	0,5	26	0,8	0	0,0	96	0,5
<i>Y. rohdei</i>	5	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	5	0,0
<i>Y. ruckeri</i>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	0.3	3	0,0
<b>ΜΕΡΙΚΟ ΣΥΝΟΛΟ</b>	5138	41.0	744	24.9	3153	97,0	896	99,5	9931	50,5
<b>Σύνολο</b>	12 526	100,0	2994	100,0	3249	100,0	901	100,0	19 670	100,0

(Le Guern et

al. 2016)

Τα στελέχη απομονώθηκαν από κλινικές περιπτώσεις, αλλά και από άρρωστα ζώα ή κατά τη διάρκεια ερευνών όπως τροφικών, περιβαλλοντικών ή κτηνιατρικών. Ο στόχος αυτής της μελέτης ήταν να επωφεληθεί από την βάση δεδομένων YNRL ώστε να αποκτήσει μια επισκόπηση της γερσινίωσης στη Γαλλία να αναλυθεί η κατανομή των διαφόρων ειδών και των υποομάδων της *Yersinia* σύμφωνα με τις πηγές απομόνωσής τους, επισημαίνοντας τις πιθανές αιτίες για ανθρώπινες μολύνσεις. Τα στελέχη *Yersinia* που απομονώθηκαν από τρόφιμα ήταν σχεδόν αποκλειστικά μη παθογόνα (97%). Τα στελέχη αυτά βρέθηκαν σε ποικιλία τροφίμων (κρέας, γαλακτοκομικά προϊόντα, αυγά, λαχανικά, υδρόβια ζώα) που είτε ήταν επεξεργασμένα είτε νωπά όπως τα λαχανικά (42,5% των μη παθογόνων στελεχών τροφίμων. Στελέχη *Y. enterocolitica* BT1A ήταν τα πιο συχνά απομονωμένα από τα τρόφιμα (59,7%) (Le Guern et al. 2016)

**Πίνακας 11 .** Κατανομή των στελεχών *Yersinia* σε τρόφιμα

Τροφή	Σύνολο	Μη παθογόνα στελέχη	Παθογόνα στελέχη		% παθογόνα στελέχη/ είδος τροφής
			<i>Y. enterocolitica</i> 2/O:9	<i>Y. enterocolitica</i> 4/O:3	
<b>Ψάρι</b>	24	24	0	0	0,0
<b>Οστρακόδερμο</b>	54	54	0	0	0,0
<b>Λαχανικά</b>	1341	1339	1	1	0.1
<b>Αυγά</b>	36	36	0	0	0,0
<b>Γάλα</b>	583	583	0	0	0,0
<b>Τυρί</b>	188	188	0	0	0,0
<b>Έτοιμα γεύματα</b>	45	45	0	0	0,0
<b>Χοιρινά προϊόντα</b>	175	175	0	0	0,0
<b>Μοσχαρίσιο κρέας</b>	26	26	0	0	0,0
<b>Χοιρινό ΚΡΕΑΣ</b>	116	22	0	94	81,0
<b>Πουλερικά</b>	215	215	0	0	0,0
<b>Άλλο φαγητό</b>	256	256	0	0	0,0

Τροφή	Σύνολο	Μη παθογόνα στελέχη	Παθογόνα στελέχη		% παθογόνα στελέχη/ είδος τροφής
			<i>Y. enterocolitica</i> 2/O:9	<i>Y. enterocolitica</i> 4/O:3	
Άγνωστος	189	189	0	0	0,0
<b>Σύνολο</b>	<b>3249</b>	<b>3153</b>	<b>1</b>	<b>95</b>	<b>3.0</b>

(Le Guern et al. 2016)

### 7.1 Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα

Σε γαλακτοκομείο στη νοτιοδυτική Πενσυλβάνια υπήρξε ξέσπασμα γερσινίωσης από κατανάλωση παστεριωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων. Μια οικογενειακή επιχείρηση που είχε την βάση της στο αγρόκτημα που γινόταν επιτόπου παστερίωση και διένειμε τα προϊόντα της με παράδοση κατ' οίκον. Υπήρξαν 16 επιβεβαιωμένα κρούσματα σε καταναλωτές από γαλακτοκομικά υψηλού κινδύνου που παρατηρήθηκε σε πελάτες μετά την παράδοση κατ' οίκον και επίσης απότομη μείωση των ασθενειών όταν το γαλακτοκομείο σταμάτησε την παραγωγή. Επίσης η απομόνωση του *Y. enterocolitica* από παγωτό που δεν είχε ανοιχτεί και από γιαούρτι που παρασκευάζονταν με γάλα που δεν διακρίνονταν από το PFGE, τα προϊόντα απομόνωσης των ασθενών επιβεβαίωσαν ότι το γαλακτοκομείο ήταν η πηγή της εστίας. Στις ΗΠΑ αυτή είναι η πέμπτη αναφερόμενη επιδημία που σχετίζεται με παστεριωμένο γάλα από το 1976. Πιο πρόσφατα αναφέρθηκε ξέσπασμα από γάλα στη Νέα Αγγλία που περιλάμβανε τον βιοσερότυπο 1B/O:8 και εμφανίστηκε σε παρόμοιο περιβάλλον. Τα κρούσματα σημειώθηκαν σε γαλακτοκομείο που εδρεύει σε φάρμα που παστερίωσε επί τόπου γάλα σε γυάλινη φιάλη. Εντοπίστηκαν παρόμοιες ελλείψεις στην παστερίωση και στο πλύσιμο των φιαλών. Κάτι που υποδεικνύει ότι είναι δυνατόν η μετάδοση του *Y. enterocolitica* σε γαλακτοκομικές επιχειρήσεις που βασίζονται στο αγρόκτημα. Μετά την παστερίωση για διασταυρούμενη μόλυνση με νωπό γάλα η απουσία φωσφατάσης σε δείγματα που δοκιμάστηκαν δείχνει ότι είναι απίθανη η παρουσία νωπού γάλακτος στα τελικά προϊόντα. Μπορεί να υπήρξε και μόλυνση από το γλυκό νερό. Τα συστήματα γάλακτος πρέπει να είναι καλά καθαρισμένα για την πρόληψη της μόλυνσης του

προϊόντος. Όμως, ο εξοπλισμός της παστερίωσης δεν καθαρίστηκε ικανοποιητικά οπότε υπήρξε και εστία μόλυνσης. Επίσης αυτό που παρατηρήθηκε σε αυτήν την έρευνα, είναι οι Θερμοκρασίες νερού που χρησιμοποιήθηκαν ήταν άνω των 77°C, κάτι που μπορεί να οδηγήσει σε μετουσίωση των πρωτεϊνών του γάλακτος, επιτρέποντας στα υπολείμματα γάλακτος να προσκολληθούν στις επιφάνειες. Εάν το βακτηριακό φορτίο είναι υψηλό στο προπαστεριωμένο χύμα γάλα, τότε εύκολα μπορεί να επιβιώσει από την παστερίωση ο *Y. enterocolitica*. Ο *Y. enterocolitica* επιβιώνει και πολλαπλασιάζεται σε θερμοκρασίες ψύξης εάν η διαδικασία παστερίωσης είναι ανεπαρκής ή εάν συμβεί μόλυνση μετά την παστερίωση, οπότε έχει ιδιαίτερη σημασία ο σωστός καθαρισμός και η συντήρηση του εξοπλισμού των εγκαταστάσεων παστερίωσης, καθώς και της διασταυρούμενης μόλυνσης και ελέγχου θα πρέπει να υπενθυμίζεται στους ιδιοκτήτες γαλακτοκομικών. Η παστερίωση θεωρείται η πιο αποτελεσματική μέθοδος για τη μείωση του αριθμού των παθογόνων οργανισμών στο γάλα. Σπάνια σχετίζονται επιδημίες με το παστεριωμένο γάλα. (Longenberger et al. 2014)

## 7.2 Κρέας και προϊόντα πουλερικών

Οι χοίροι είναι ως επί το πλείστον ασυμπτωματικοί φορείς που φιλοξενούν τα βακτήρια του *Yersinia enterocolitica* στις αμυγδαλές όπως και στο εντερό τους τα οποία όμως είναι παθογόνα για τον άνθρωπο, συγκεκριμένα τα στελέχη O:3 και O:9. Οι μικροοργανισμοί βρίσκονται στη στοματική κοιλότητα, όπως στη γλώσσα και στις αμυγδαλές, στο έντερο και στα κόπρανα. Επίσης έχουν ανιχνευθεί στην επιφάνεια των φρέσκων σφαγίων των χοίρων σε συχνότητα έως και 63,3%. Η εξάπλωση γίνεται κατά την διάρκεια της σφαγής μέσω των κοπράνων του εντερικού. Στο Βέλγιο και τη Νορβηγία προσδιορίστηκε ότι η κατανάλωση του ωμού ή του κακοψημένου χοιρινού κρέατος ως την κύρια πηγή μόλυνσης. Στις μουσουλμανικές χώρες, όπου η κατανάλωση χοιρινού κρέατος είναι περιορισμένη, υπάρχουν χαμηλά επίπεδα κρουσμάτων της λοίμωξης, κι αυτό είναι που υποδεικνύει το χοιρινό ως πηγή. Δεν είναι δυνατόν να απορριφθούν χοίροι που έχουν μολυνθεί με *Y. enterocolitica* μετά τη σφαγή ενώ έχει γίνει επιθεώρηση κρέατος. Δίνονται πολλές ευκαιρίες για μόλυνση κατά την σφαγή, είναι μια διαδικασία ανοιχτή και εύκολα μολύνονται τα σφάγια του χοιρινού με *Y. enterocolitica* και δεν μπορεί να

υπάρξει κανένα σημείο όπου οι κίνδυνοι εξαλείφονται πλήρως. Η διασταυρούμενη μόλυνση που ξεκινάει από το κεφάλι του σφαγίου, σύμφωνα με τους κανονισμούς της ΕΕ η τομή των υπογνάθιων λεμφαδένων είναι μια υποχρεωτική διαδικασία. Αυτό μπορεί, ωστόσο, να έχει ως αποτέλεσμα τη μεταφορά του βακτηρίου από την περιοχή των αμυγδαλών σε άλλα μέρη του σφαγίου από τα μαχαίρια και τα χέρια του προσωπικού επιθεώρησης κρέατος. Δεδομένου του γεγονότος ότι η συχνότητα της φυματίωσης σε χοίρους και ανθρώπους έχει μειωθεί σε αρκετά χαμηλό επίπεδο σε πολλά μέρη του κόσμου, θα πρέπει να επανεξεταστούν οι κανονισμοί που απαιτούν τομή της υπογνάθιας λέμφου για τον εντοπισμό φυματικών κόμβων από τους επιθεωρητές κρέατος.(Nesbakken et al. 2003). Από ομοσπονδιακό επιθεωρημένο σφαγείο στη νοτιοανατολική Νορβηγία συλλέχθηκαν δείγματα, στο οποίο σφάζονταν περίπου 90 χοίροι ανά ώρα. Η διαδικασία βασίζεται σε μια παραδοσιακή μηχανοποιημένη γραμμή σφαγής με ζεμάτισμα (62 °C), αποτρίχωση, ψήσιμο/φλόγα και στίλβωση. Κατά τον εκσπλαχνισμό περιφράζεται ο όρθος με πλαστική σακούλα είναι μια συνηθισμένη πρακτική. Κατά την εκτέλεση ακάθαρτων εργασιών, το μαχαίρι ξεπλένεται και απολυμαίνεται σε ζεστό νερό (82 °C) πριν από την επόμενη διαδικασία. Για το σχίσσιμο του σκελετού χρησιμοποιήθηκε ένα χειροκίνητο ηλεκτρικό πριόνι. Οι χοίροι μετά τη σφαγή ζύγιζαν από 78,4 έως 90 κιλά ( με μέσο όρο 84 κιλά). Τα αποτελέσματα που πάρθηκαν μετά την έρευνα υποδεικνύουν ότι η υποχρεωτική διαδικασία τομών των υπογνάθιων λεμφαδένων παρόλο που είναι κανονισμός της ΕΕ αντιπροσωπεύει κίνδυνο διασταυρούμενης μόλυνσης για τον λοιμογόνο *Y. enterocolitica* που βρέθηκε στα νεφρά σε ένα από τα σφάγια, το οποίο άγγιξε μόνο το προσωπικό επιθεώρησης κρέατος πριν από τη δειγματοληψία. Επιπλέον, κίνδυνο διασταυρούμενης μόλυνσης διαπιστώθηκε κατά την τομή των μεσεντερικών λεμφαδένων στο 8,3% των δειγμάτων που ήταν θετικά. Οι λεμφαδένες θα πρέπει επίσης να διερευνηθούν όταν το προσωπικό επιθεώρησης κρέατος έχει συγκεκριμένους λόγους να το κάνει. Μόνο τρεις χοίροι είχαν αρνητικά αποτελέσματα, υπήρξαν θετικά αποτελέσματα στις αμυγδαλές, αυτό πιθανότατα μπορεί να αποδοθεί σε μόλυνση της στοματικής κοιλότητας λίγο πριν τη δειγματοληψία. Έρευνες στην Δανία δείχνουν ότι οι αμυγδαλές και η γλώσσα είναι σημαντικές πηγές μόλυνσης για το ήπαρ, το διάφραγμα και το κεφάλι. Κατά την έρευνα έγινε βιντεοσκόπηση όλης της διαδικασίας της σφαγής και του ντυσίματος, όπου διαπιστώθηκε ότι το πριόνι του σφαγίου μπορεί να έχει μολυνθεί κατά τη διάρκεια του σκισίματος της κεφαλής όπου μπορεί να μολυνθούν και άλλες περιοχές



του σφαγίου. Σημαντικό είναι επίσης ο χειριστής που είναι υπεύθυνος για τον εκσπλαχνισμό των κόκκινων παραπροϊόντων, να αφαιρεί τις αμυγδαλές μαζί με τη γλώσσα και το στόμιο. Με αυτόν τον τρόπο, θα αποφευχθεί η άμεση μόλυνση του μαχαιριού από τις αμυγδαλές. Εάν το προσωπικό του σφαγείου κόψει τα σπλάχνα με τα μαχαιρία του κατά λάθος τότε το περιεχόμενο του στομαχιού, του ειλεού, του τυφλού και του παχέους εντέρου μπορεί να εκδηλώσει μόλυνση για το *Y. enterocolitica* O:3 η συχνότητα της μόλυνσης κυμαινόταν από 4,2% έως 16,7%. Από το περιεχόμενο του τυφλού εντέρου, το 16,7% των δειγμάτων ήταν θετικά όπου έδειξαν ότι το 24,3% από τους 140 χοίρους ήταν φορείς στο τυφλό έντερο, με βάση τις τις μετρήσεις που κυμαίνονταν από 300-110.000 ανά γραμμάριο με τον *Y. enterocolitica*. Οπότε καλό είναι το βράδυ πριν από τη σφαγή να μην δίνεται τροφή στους χοίρους που είναι προς σφαγή. Ο άδειος εντερικός σωλήνας σίγουρα θα διευκολύνει τη δουλειά για το προσωπικό του σφαγείου. Η απομόνωση του *Y. enterocolitica* O:3 σε κιμά χοιρινού από τα ίδια σφάγια δείχνει ότι τα προληπτικά μέτρα στο σφαγείο είναι σημαντικά για την προστασία των καταναλωτών. (Nesbakken et al. 2003)

### 7.3 Άλλα τρόφιμα

Σημαντικό μέρος της υγιεινής διατροφής όπως φρούτα, λαχανικά αλλά και τα προϊόντα τους έχουν ζήτηση στην Ευρωπαϊκή Ένωση και όλο αυξάνεται χρόνο με το χρόνο, μπορούν να θεωρηθούν ως φορείς μετάδοσης του *Y. enterocolitica*. Επιδημίες που προκαλούνται από μόλυνση με *Y. enterocolitica* σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης έχουν αναφερθεί στην Ιαπωνία και τη Νορβηγία. Το 2007, αναφέρθηκαν 150 περιπτώσεις γερσινίωσης στην Αυστρία. Μόνο ένας μικρός αριθμός μελετών υπάρχει που αφορούν την εμφάνιση παθογόνου και μη παθογόνου *Y. enterocolitica* και άλλων *Yersinia spp.* σε φρούτα και λαχανικά και στα προϊόντα τους. Επηρεάζει επίσης, ο αυξανόμενος ρυθμός αντοχής στα αντιβιοτικά που έχουν οι μικροοργανισμοί, χρήζει ιδιαίτερη παρακολούθηση στην αντοχή των βακτηρίων στα αντιβιοτικά που εμφανίζονται στα τρόφιμα. Με την μελέτη αυτή ερευνήθηκε ο επιπολασμός του *Y. enterocolitica* και άλλων *Yersinia spp.* σε λαχανικά ,φρούτα που προέρχονται από χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης και βρίσκονται στα σούπερ μάρκετ στην Τσεχική Δημοκρατία, έγιναν απομονώσεις με βιοτυποποίηση, ορότυπο, τον προσδιορισμό για την παρουσία του γονιδίου λοιμογόνου δράσης του *ail* και η δοκιμή

αντιμικροβιακής ευαισθησίας. Ταυτόχρονα με την καλλιέργεια, η παρουσία και η ποσότητα των παθογόνων *Y. enterocolitica* και *Yersinia* spp. αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας άμεση ποσοτική PCR σε πραγματικό χρόνο.(Verbikova et al. 2018)Η *Y. enterocolitica* ανιχνεύθηκε στα λαχανικά RTE (11,7%· 11/94) και στα κατεψυγμένα φρούτα και λαχανικά (9,2%· 6/65) σε σύγκριση με τα φρέσκα ολόκληρα λαχανικά (0%· 0/54), τα φρούτα (0%· 0 /64) και τα λάχανα (2,9%· 1/35. Κατά καιρούς έχουν παρατηρηθεί σε διάφορες χώρες όπως στη Φινλανδία που απομόνωσαν το *Yersinia* spp. από το 33% των φρέσκων φυλλωδών λαχανικών. Στην Ινδία εντόπισαν τη *Yersinia* spp. στο 67,9% και το 23,6% των καρότων και των κρεμμυδιών που αγοράζονται, Συγκριτικά, βρέθει *Yersinia* spp. μόνο στο 4% (27/673) των λαχανικών RTE, με το 2,7% (18/673) να αναγνωρίζεται ως *Y. enterocolitica*. Χαμηλός επιπολασμός του *Y. enterocolitica* 2,1% (5/236) περιγράφηκε από τους σε έτοιμες σαλάτες (RTE), φρέσκα λαχανικά, φύτρα και φρούτα RTE. . Οι ορότυποι του *Y. enterocolitica* που σχετίζονται συχνότερα με την ανθρώπινη γερσινίωση είναι O:3/4, O:5,27/2, O:9/2, O:8/1B. Στη μελέτη, δοκιμάστηκαν οι ακόλουθοι επιλεγμένοι ορότυποι: O:3, O:9, O:5, O:8 και O:27. Ο ορότυπος του *Y. enterocolitica* O:8 βρέθηκε σε τέσσερα δείγματα στο κατεψυγμένο σπανάκι, σε μείγμα σαλάτας και λαχανικών με καλαμπόκι ο ορότυπος O:5 επιβεβαιώθηκε σε ένα δείγμα σπανακιού. Δεν εντοπίστηκαν άλλοι ορότυποι. Είναι γενικά γνωστό ότι διαφορετικοί ορότυποι ενός οργανισμού επικρατούν σε διαφορετικές ηπείρους, ή σε διαφορετικές χώρες. Οι ορότυποι O:9 και O:3 είναι οι πιο κοινοί στην Ευρώπη, τον Καναδά και την Ιαπωνία και οι ορότυποι O:8, O:5, O:27 στις Ηνωμένες Πολιτείες . Στην Ιταλία, από έρευνα έχει ανιχνευθεί ο ορότυπος O:5 σε δύο δείγματα λαχανικών RTE επίσης ο ορότυπος O:3 σε ένα δείγμα σπανακιού RTE. Ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας τα τελευταία χρόνια, που έχει τονίσει η EFSA είναι η σημασία για την παρακολούθηση της αντοχής στα αντιβιοτικά που έχουν σ' αυτά τα βακτήρια που μεταδίδονται μέσω των τροφίμων. Η ευαισθησία στα αντιβιοτικά του *Y. enterocolitica* και άλλων *Yersinia* spp. έως 10 αντιμικροβιακούς παράγοντες που χρησιμοποιούν τη μέθοδο αραιώσης άγαρ και 19 αντιμικροβιακούς παράγοντες που χρησιμοποιούν το σύστημα Vitek® 2. για το *Y. enterocolitica* , 16,7% (6/36) Το παθογόνο στέλεχος του *Y. enterocolitica* (θετικό για το γονίδιο ail ) έδειξε αντοχή στην αμπικιλίνη, την ερυθρομυκίνη και την κεφοξιτίνη. Συνολικά, τα αποτελέσματα που ελήφθησαν στη μελέτη υποδεικνύουν σχετικά υψηλό επίπεδο αντοχής στα αντιβιοτικά στο *Y. enterocolitica* αλλά και σε άλλα *Yersinia*

*spp.* απομονωμένα από τρόφιμα φυτικής προέλευσης. Αυτό ταιριάζει και με άλλα ευρήματα στην Ιταλία, την Κίνα και το Ιράν. Σε σχετική έρευνα οι Ye et al. (2016) αναφέρθηκε ότι όλα τα στελέχη του *Y. enterocolitica* που απομονώθηκαν από λιανική RTE και τα φρέσκα τρόφιμα ήταν ανθεκτικά σε δύο ή περισσότερα από τα 16 αντιβιοτικά που δοκιμάστηκαν. Σε αντίθεση με αυτά τα αποτελέσματα, το qPCR ανίχνευσε παθογόνο *Y. enterocolitica* στο 6,7% των δειγμάτων παραγωγής που εξετάστηκαν (21/312). Επίσης το 67,9% των απομονώσεων του *Y. enterocolitica* και άλλων *Yersinia spp.* που απομονώθηκαν από φρούτα και λαχανικά παρουσίασαν αντοχή σε τέσσερα ή περισσότερα αντιβιοτικά. Τα υψηλότερα ποσοστά αντοχής παρατηρήθηκαν στα αντιβιοτικά αμπικιλίνη, αμοξικιλίνη/κλαβουλανικό οξύ, ερυθρομυκίνη και στρεπτομυκίνη. (Verbikova et al. 2018)

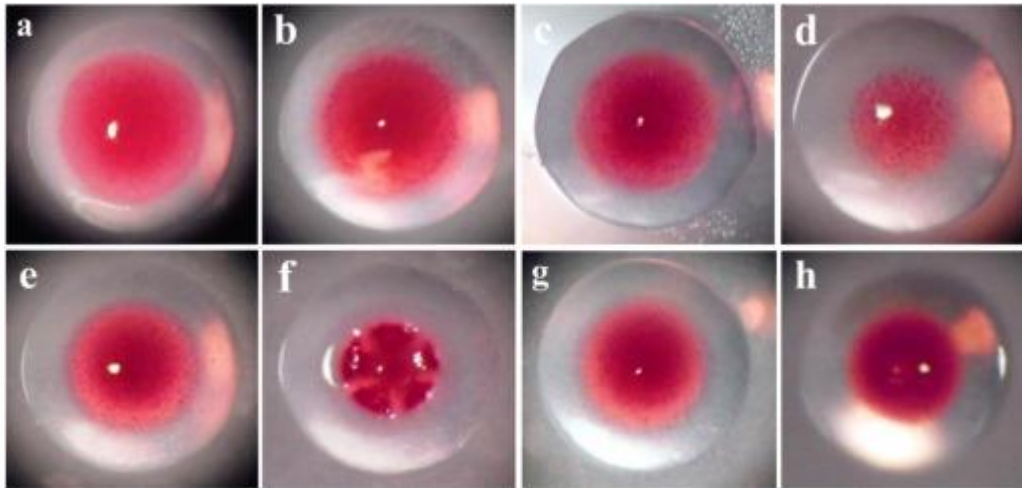
## Κεφάλαιο 8

### Ανίχνευση

#### 8.1 Τεχνικές κυτταρικής καλλιέργειας

Η μέθοδος μικροβιολογικής καλλιέργειας είναι το χρυσό πρότυπο για την ανίχνευση των παθογόνων μικροοργανισμών από τις μολυσμένες πηγές τροφή, νερό και το περιβάλλον. Οι διάφορες μέθοδοι που υπάρχουν βασίζονται σε καλλιέργεια για την πιο αποτελεσματική ανίχνευση του *Y. enterocolitica* από τα δείγματα των τροφίμων. Απαιτείται μεγάλος χρόνος που για την ταυτοποίηση και η ευαισθησία περιορίζουν τη δυνατότητα εφαρμογής τους για την τακτική διάγνωση που απαιτείται. Ένα ακόμα μειονέκτημα είναι το φορτίο του *Y. enterocolitica* στα δείγματα των τροφίμων είναι κάτω από το ανιχνεύσιμο όριο των. Αυτό το πρόβλημα παρακάμπτεται εάν υπάρξει προ-εμπλουτισμός πριν από τη χρήση συγκεκριμένων μέσων για αναγνώριση. Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι εμπλουτισμού για να αυξηθεί ο ρυθμός ανάκτησης του *Y. enterocolitica* από το φαγητό. Ο *Y. enterocolitica* είναι ψυχρότροφος σε σχέση με άλλα εντερικά βακτήρια, αποτελεσματικό είναι ο ψυχρός εμπλουτισμός σε διαφορετικά διαλύματα, το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων (PBS) και ο ζωμός τρυπτικής σόγιας (TSB), στους 4 °C για 21 ημέρες. (Gupta et al. 2015)

Ο *Y. enterocolitica* σχηματίζει μικρές ( $\leq 1$  mm) και λείες αποικίες με ένα βαθύ κόκκινο κέντρο (λόγω ζύμωσης μαννιτόλης) που περιβάλλεται από μια ημιδιαφανή ζώνη. Η άκρη της αποικίας ποικίλλει από ανέπαφη έως ακανόνιστη εμφάνιση (ανάλογα με τον ορότυπο) οι αποικίες έχουν ένα ανασηκωμένο και ακανόνιστο, κόκκινο κέντρο (σαν «τηγανισμένου αυγού») όταν παρατηρούνται με στερεοσκοπικό μικροσκόπιο.



**Εικόνα 9.** Διαφορετικά στελέχη *Y. enterocolitica* και ένα του *Y. kristensenii* σε άγαρ CIN μέσω στερεομικροσκοπίου. (a-d) *Y. enterocolitica* BT 1A (μη παθογόνος βióτυπος). (π.χ.) *Y. enterocolitica* BT 4 (παθογόνος βióτυπος). (h) *Y. kristensenii* .

(Petsios et al. 2016)

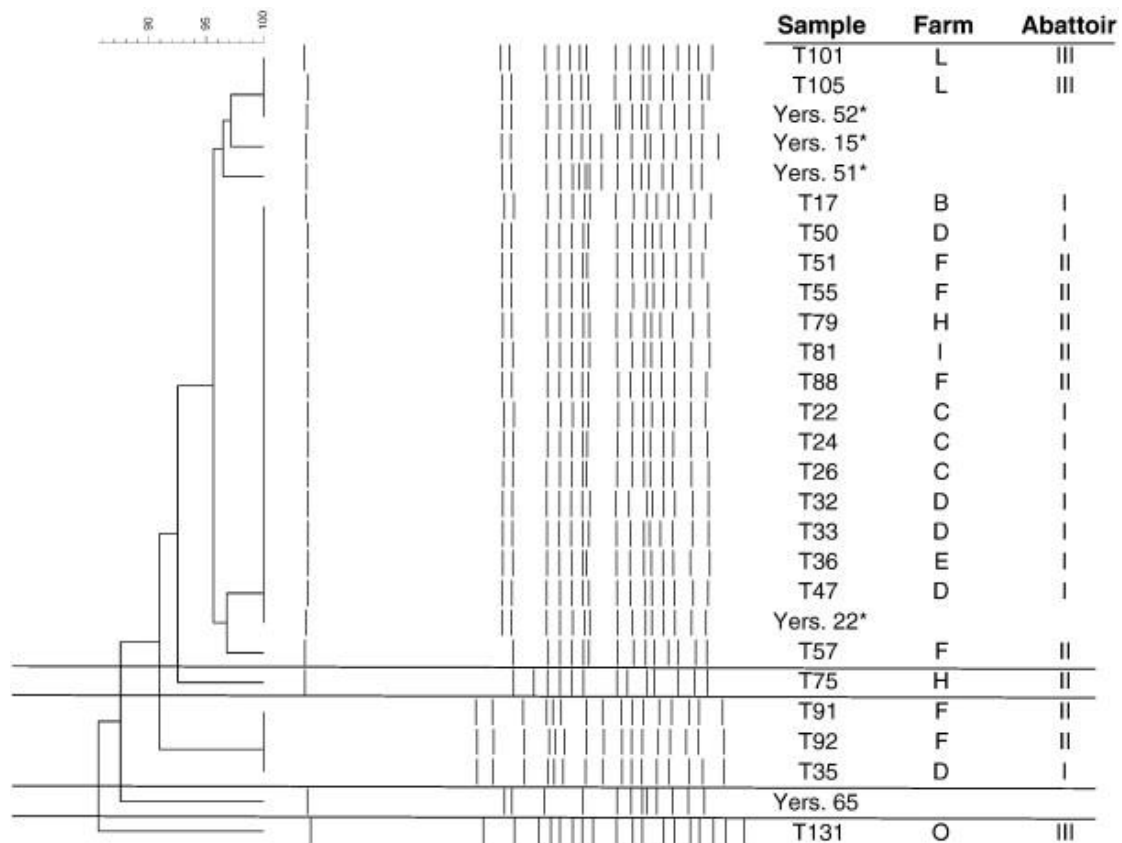
## 8.2 Μοριακές μέθοδοι

Στην κλινική μικροβιολογία εδώ και αρκετό καιρό έχουν κυριαρχήσει δοκιμές με βάση το νουκλεϊκό οξύ . Η πρόοδος στις μοριακές τεχνικές έχει φέρει αλλαγές στην ανίχνευση των παθογόνων στα τρόφιμα, μπορούν να ανιχνευθούν οι μικροοργανισμοί χωρίς την ανάγκη καλλιέργειας. Έχουν δημιουργηθεί γρήγορες, οικονομικές και ακριβείς μοριακές τεχνικές, όπως ο υβριδισμός αποικίας, PCR, ένθετη PCR, PCR πραγματικού χρόνου, μικροσυστοιχία και ισοθερμική ενίσχυση με μεσολάβηση βρόχου (LAMP) για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* στα τρόφιμα. Αναπτύχθηκαν αναλύσεις υβριδισμού των αποικιών για ταχεία και αποτελεσματική ανίχνευση του *Y. enterocolitica* σε δείγματα τροφίμων. Περιλαμβάνουν ανίχνευση των αλληλουχιών DNA που σχετίζονται με τη λοιμογόνο δράση στόχο με το γονιδίωμα του *Y. enterocolitica*. Πιο συχνά χρησιμοποιούνται ανιχνευτές για τον εντοπισμό του *Y. enterocolitica* περιλαμβάνονται γονίδια *ail* (τόπος προσκόλλησης και εισβολής), *inv* (invasin) ή *yst* (σταθερή τοξίνη *Yersinia* ). Υπάρχει περιορισμός στη μέθοδο που είναι η παρουσία ανταγωνιστικής μικροχλωρίδας που μειώνει σημαντικά την αποτελεσματικότητα του υβριδισμού. Όμως η συγκεκριμένη μέθοδος έχει μεγαλύτερη ευαισθησία από τις συμβατικές μεθόδους. Η PCR, έχει αναδειχθεί ένα ισχυρό εργαλείο στη μικροβιολογική διάγνωση των τροφιμογενών παθογόνων λόγω της ταχύτητας, της οικονομικής αποδοτικότητας και για την ευκολία

αυτοματοποίησης της. Οι αναλύσεις PCR χρησιμοποιούν χρωμοσωμικά μολυσματικά γονίδια, όπως *ail*, *inv* και *yst*, ως στόχους για το *Y. enterocolitica*. Σε άλλες μελέτες υπάρχει αδυναμία σε ένα μόνο γονίδιο να ανιχνεύσει αυτό το παθογόνο. Οπότε πρέπει να γίνεται η επιλογή του σωστού γονιδίου ή συνδυασμού κάποιων γονιδίων. Η PCR Multiplex, ενισχύει περισσότερα από δύο γονίδια λοιμογόνου δράσης σε μία μόνο αντίδραση PCR, χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση του *Y. enterocolitica* στα τρόφιμα. Έχει αναπτυχθεί μια πολυπλεξία PCR που χρησιμοποιεί *rfbC* (ένα γονίδιο που κωδικοποιεί αντιγόνο O) και εκκινητές γονιδίων *inv*, *ail* και *virF* για την ειδική ανίχνευση του ορότυπου O:3 του *Y. enterocolitica*. Τελευταία δημιουργήθηκε ένα σχήμα που στηρίζεται σε τρεις PCR για την αναγνώριση αλλά και τον ορότυπο του *Y. enterocolitica*.

Στο σχήμα αυτό, η multiplex PCR που είναι πρώτη προσδιορίζει τα είδη και τα υποείδη του *Y. enterocolitica* χρησιμοποιώντας *16SrRNA*, *inv*, *ail* και *ystB* στόχους. Δεύτερη είναι η ένθετη PCR χρησιμοποιείται για να διαφοροποιηθούν οι ορότυποι που σχετίζονται με ανθρώπινες λοιμώξεις χρησιμοποιώντας ειδικούς εκκινητές για τον ορότυπο, *rfbC* / *wbbU* / *wbcA* / *wzt*. Η τελευταία η τρίτη PCR, διαφοροποιεί τα παθογόνα O:5,27 από τα μη παθογόνα O:5 στελέχη ενισχύει την περιοχή του συστήματος περιορισμού-τροποποίησης που απουσιάζει από τα στελέχη O:5. Αυτό το σχήμα βασίζεται σε γονότυπο που μπορεί να προσαρμοστεί για την αξιόπιστη ταυτοποίηση του λοιμογόνου *Y. enterocolitica* από τα δείγματα. Η Nested PCR με θερμοδομετρική ανίχνευση γονιδίων-στόχων χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση παθογόνων στελεχών του *Y. enterocolitica* σε τρόφιμα. Στη μέθοδο αυτή, τα δείγματα υποβλήθηκαν σε IMS για την επιλεκτική απομόνωσή τους. Έπειτα, έγινε και μια ένθετη PCR δύο σταδίων με ειδικούς εκκινητές για το γονίδιο *yadA* του *Y. enterocolitica*, ενώ εφαρμόστηκε ανίχνευση με θερμοδομετρική μέθοδο ανίχνευσης, DIANA (ανίχνευση ακινητοποιημένων ενισχυμένων νουκλεϊκών οξέων). Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Επιτροπή Τυποποίησης (CEN), υπάρχουν πρωτόκολλα για την ανίχνευση τροφιμογενών παθογόνων με PCR όπου θα πρέπει να έχουν υψηλή ανίχνευση, καλή ακρίβεια, χαμηλή μόλυνση και προσβάσιμα πρωτόκολλα. Όπως η PCR πραγματικού χρόνου που πληροί όλα τα κριτήρια συνδυάζοντας την ενίσχυση και την ανίχνευση σε αντίδραση ενός σταδίου. Τελευταία, χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι PCR σε πραγματικό χρόνο για την ανίχνευση του παθογόνου *Y. enterocolitica* στα τρόφιμα όπου χρησιμοποιήθηκαν γονίδια που σχετίζονται με τη λοιμογόνο δράση, ιδιαίτερα το *ail*. Οι μέθοδοι PCR έχουν αρκετά πλεονεκτήματα, παρατηρούνται όμως

ψευδή θετικά αποτελέσματα, γιατί ορισμένοι μοριακοί δείκτες ( *ail* , *myf* , *yst* ) που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση των παθογόνων στελεχών υπάρχουν και σε μη παθογόνα βιολογικά στελέχη 1A του *Y. enterocolitica*. Οπότε, πρέπει να λαμβάνονται προφυλάξεις ώστε να μειωθούν τα ψευδή θετικά αποτελέσματα, παίρνοντας αρκετό αριθμό αρνητικών μαρτύρων ώστε να αποτραπεί η διασταυρούμενη μόλυνση κατά τη διάρκεια της PCR. Ακόμα ένα μειονέκτημα τους είναι ότι δεν μπορούν να ξεχωρίσουν τα βιώσιμα από τα μη βιώσιμα κύτταρα. Αυτό μπορεί να διορθωθεί με ένα σύντομο βήμα προ-εμπλουτισμού πριν από την PCR. Άλλο ένα πρόβλημα είναι η παρουσία ανασταλτικών ουσιών στα τρόφιμα στα δείγματα και στα μέσα εμπλουτισμού. Το μέσο εμπλουτισμού που είναι συμβατό με το *Yersinia* PCR (YPCE), τροποποιείται με την φυγοκέντρηση σε βαθμίδωση πυκνότητας, πριν από την PCR. Παρόλα αυτά θα πρέπει να συμπεριληφθούν εσωτερικοί θετικοί μάρτυρες, καθώς είναι αδύνατον να διασφαλιστεί η πλήρης απουσία ανασταλτικών ουσιών σε φυσικά δείγματα. Η μικροσυστοιχία επίσης έχει αποδειχτεί ως ένας ευαίσθητος και αποτελεσματικός τρόπος ώστε να διακριθεί ένας οργανισμός-στόχος. Με τη χρήση ειδικών ανιχνευτών ακινητοποιημένων σε μια μήτρα για την ανίχνευση παθογόνων σε διαφορετικά δείγματα τροφίμων. Δημιουργήθηκε ένα μικροτσιπ DNA για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* σε φρέσκα λαχανικά. Επίσης η μικροσυστοιχία σε συνδυασμό με την ενίσχυση PCR τεσσάρων γονιδίων λοιμογόνου δράσης ( *virF* , *ail* , *yst* και *blaA* ) χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* σε παστεριωμένο πλήρες γάλα. Ο προσδιορισμός ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος, δηλαδή η ισοθερμική ενίσχυση με τη μεσολάβηση βρόχου (LAMP), είναι ένα καινούριο μοριακό διαγνωστικό εργαλείο για τα τροφιμογενή παθογόνα. Περιέχει ισοθερμική κυκλική ενίσχυση του DNA στόχου σε υδατόλουτρο ή θερμαντικό μπλοκ, χωρίς ιδιαίτερες απαιτήσεις σε αντιδραστήρια, επίσης δεν απαιτούν εξειδικευμένο εξοπλισμό για την απεικόνιση των τελικών προϊόντων. Η μέθοδος LAMP με τη βοήθεια του γονιδίου *gyrB* (γυράση B) έχει χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* στο χοιρινό. για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* χρησιμοποιήθηκε η LAMP που στοχεύει το γονίδιο *pho P* (ρυθμιστής της μεταγραφικής απόκρισης) σε ένα σύνολο 102 δειγμάτων τροφίμων, και τα αποτελέσματα ήταν 100% ακριβή όταν επιβεβαιώθηκαν με προσδιορισμό αλληλουχίας και περιοριστική πέψη *EcoR* I. (Gupta et al. 2015)

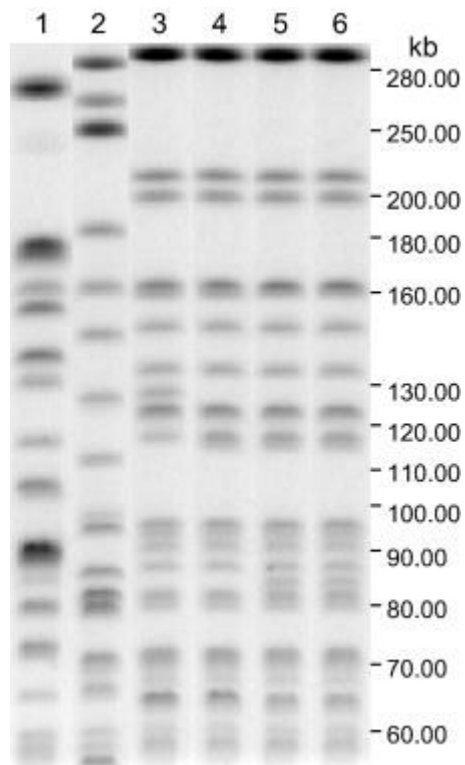


**Εικόνα 10.** Δενδρόγραμμα PFGE XbaI απομόνωσης *Y. enterocolitica* 4/0:3. Οι οριζόντιες γραμμές χωρίζουν τα διαφορετικά συμπλέγματα (\*τα ανθρώπινα απομονωμένα στελέχη).

Τέσσερα από τα πέντε ανθρώπινα στελέχη που περιλαμβάνονται στη σύγκριση ανήκουν στην κύρια ομάδα μαζί με την πλειονότητα απομονώσεων των χοίρων.

(Bonardi et al. 2014)





**Εικόνα 11.** Προφίλ PFGE (*Xba* I digest) έξι ανθεκτικών στελεχών *Y. enterocolitica* που απομονώθηκαν από περιττώματα χοίρων (λωρίδες 1-2) και ανθρώπων ασθενών (λωρίδες 3-6).

(Baumgartner et al.

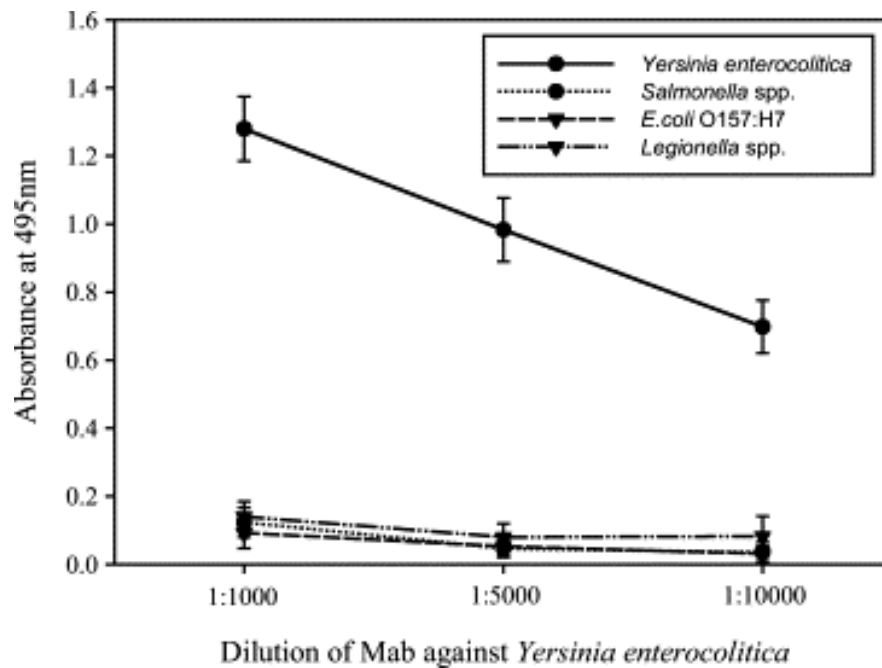
2007)

### 8.3 Ανοσολογικές τεχνικές

Οι ανοσολογικές μέθοδοι γίνονται χωρίς καλλιέργεια, επιτρέπουν την ταχεία ανίχνευση και ταυτοποίηση των μικροοργανισμών. Για τον *Y. enterocolitica* είναι διαθέσιμες διάφορες μορφές ανοσοδοκιμασίας στα τρόφιμα. Η απλούστερη ανοσοδοκιμασία είναι η συγκόλληση λατέξ για γρήγορη και ακριβή ανίχνευση, σφαιρίδια λατέξ επικαλυμμένα με αντισώματα ειδικά για το παθογόνο μικροοργανισμό χρησιμοποιούνται για τη συγκόλληση αντιγόνων όπου θα σχηματίσουν ένα ορατό ίζημα. Οι τύποι δοκιμών για την συγκόλληση λατέξ που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* είναι δύο: η δοκιμή συγκόλλησης πλακών (Progen) που αναγνωρίζεται ο ορότυπος O:3/O:9 και η δοκιμαστική συγκολλητική κάρτα λατέξ (ANI Biotech Oy) για τους ορότυπους O:3 , O:6 ή O:9 [ 37 ]. Πλέον αυτές οι δοκιμές δεν είναι διαθέσιμες στο εμπόριο για το *Y. enterocolitica*. Για την αναγνώριση παθογόνων χρησιμοποιείται και ο

ανοσομαγνητικός διαχωρισμός (IMS), εξαλείφει το στάδιο εμπλουτισμού και μειώνει τον χρόνο ανίχνευσης έως 24 ώρες. Επικαλυμμένα με αντισώματα μαγνητικά σφαιρίδια χρησιμοποιούνται για τον διαχωρισμό του οργανισμού-στόχου από έναν μικτό πληθυσμό τα προϊόντα απομόνωσης επιβεβαιώνονται περαιτέρω με την ενζυμική ανοσοπροσοφορική δοκιμασία (ELISA) ή την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης(PCR). (Gupta et al. 2015)

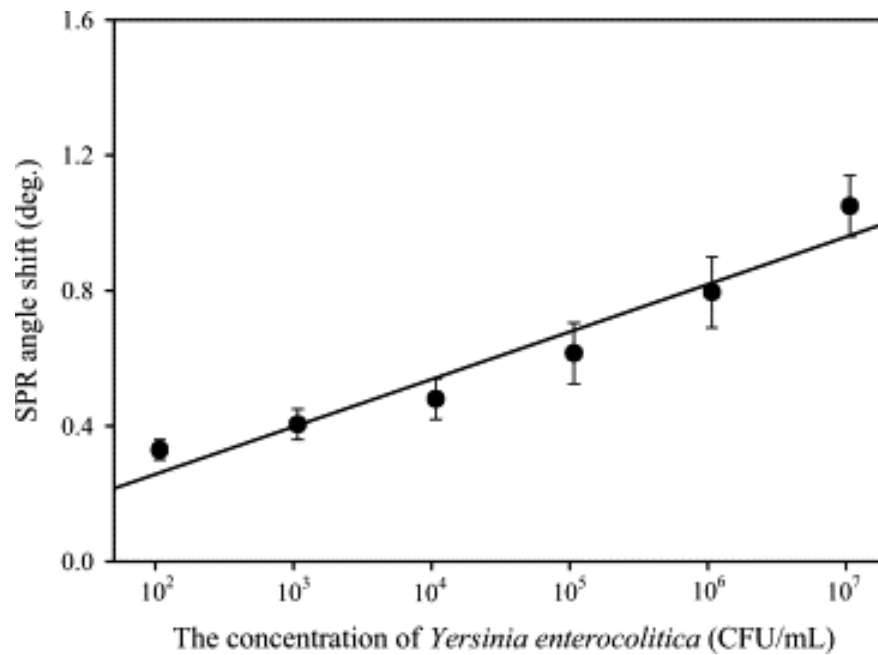
Σε κάποια μελέτη, το *Y. enterocolitica* O:3 απομονώθηκε από δείγματα τροφίμων με IMS και επιβεβαιώθηκαν τα στελέχη με PCR χρησιμοποιώντας ειδικούς εκκινητές για το γονίδιο *yadA* (προσκολλητίνη *Yersinia*). Η πιο κοινή ανάλυση αντιγόνου-αντισώματος η ELISA χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των παθογόνων στελεχών στα τρόφιμα. Συγκεκριμένα για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* από κλινικά ή και περιβαλλοντικά δείγματα τροφίμων, από ευαισθησία  $10^4$  έως  $10^7$  cfu ανά mL. Ακόμα η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για να διαφοροποιηθούν των παθογόνων και τα μη παθογόνων στελεχών με βάση τις πρωτεΐνες του *Y. enterocolitica* που κωδικοποιούνται με pYV. Η ανάλυση αυτή είναι ειδική για τον *Y. enterocolitica* O:3, O:5,27, O:8 και O:9. Το μειονέκτημα είναι ότι δεν ανιχνεύει παθογόνα στελέχη που στερούνται pYV. Στην μέθοδο ELISA γίνεται χρήση αντισωμάτων χοίρου έναντι λιποπολυσακχαρίτη που βρίσκεται στην εξωτερική μεμβράνη και χρησιμοποιείται για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* που σχετίζεται με τις ανθρώπινες λοιμώξεις. Μια άλλη που έχει αναπτυχθεί είναι η πολυπλεγμένη χημειοφωταύγεια ELISA για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* στα τρόφιμα. Επίσης διάφορα εμπορικά κιτ που ανιχνεύουν τα αντιγόνα O που χρησιμοποιούνται μονοκλωνικά αντισώματα O:3 και αντισώματα O:9 του *Y. enterocolitica*. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται πλέον βασίζονται στον συντονισμό επιφανειακού πλασμονίου (SPR) για να αξιολογηθεί η αλληλεπίδραση αντιγόνου-αντισώματος. (Gupta et al. 2015)



**Εικόνα 12.** Αποτέλεσμα έμμεσης ELISA για Mab έναντι του *Y. enterocolitica* με διάφορα παθογόνα.

(Oh et al. 2005)

Για την ανίχνευση του *Y. enterocolitica* έχει αναπτυχθεί ανοσοαισθητήρας που βασίζεται σε SPR και χρησιμοποιούνται μόρια αντισώματος ακινητοποιημένα στην επιφάνεια του SPR. Αυτή η μέθοδος μπορεί να ανιχνεύσει  $10^2$  έως  $10^7$  cfu ανά mL *Y. enterocolitica*. Ίσως να βοηθήσει και ως εναλλακτική μέθοδος για την ταχεία ταυτοποίηση του *Y. enterocolitica* στα τρόφιμα. Ο έλεγχος αντιγόνου είναι άμεσος οπότε έχει γρήγορα και συγκεκριμένα αποτελέσματα. Το μειονέκτημα όμως, των μεθόδων αυτών περιορίζεται στην ποιότητα των αντισωμάτων. Οι δοκιμασίες αυτές στα δείγματα απαιτούν μεγάλη ποσότητα αντιγόνων, οπότε απαιτείται ένα στάδιο εμπλουτισμού πριν από τον προσδιορισμό, αυτό αυξάνει τον χρόνο της ανίχνευσης. Επίσης, οι συνθήκες in-vitro μπορούν να επηρεάσουν τις ανοσολογικές μεθόδους και να οδηγήσουν σε παρερμηνεία και ψευδή ταυτοποίηση. (Gurpta et al. 2015)



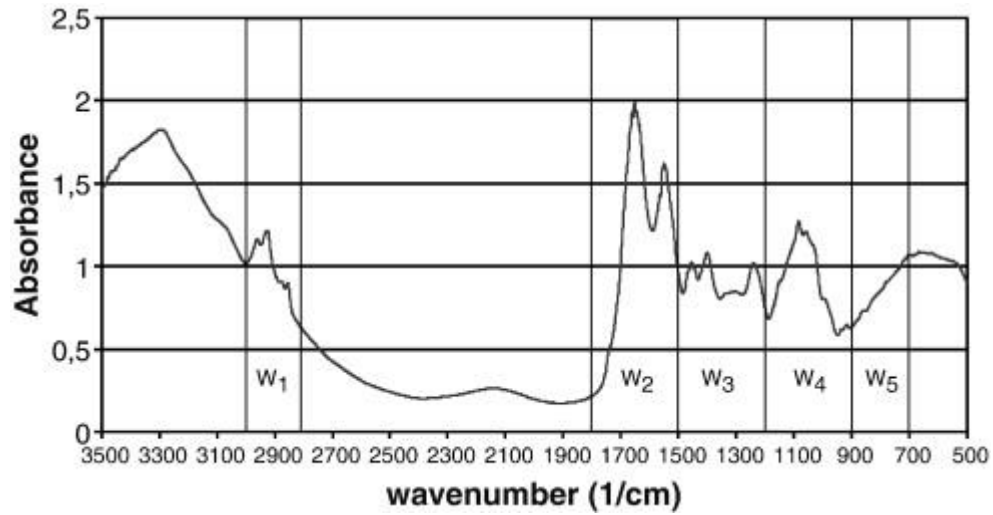
**Εικόνα 13.** Αλλαγή της γωνίας SPR με σύνδεση μεταξύ Mab έναντι *Y. enterocolitica* και διαφόρων συγκεντρώσεων *Y. enterocolitica*.

(Oh et al. 2005)

#### 8.4 Άλλοι μέθοδοι

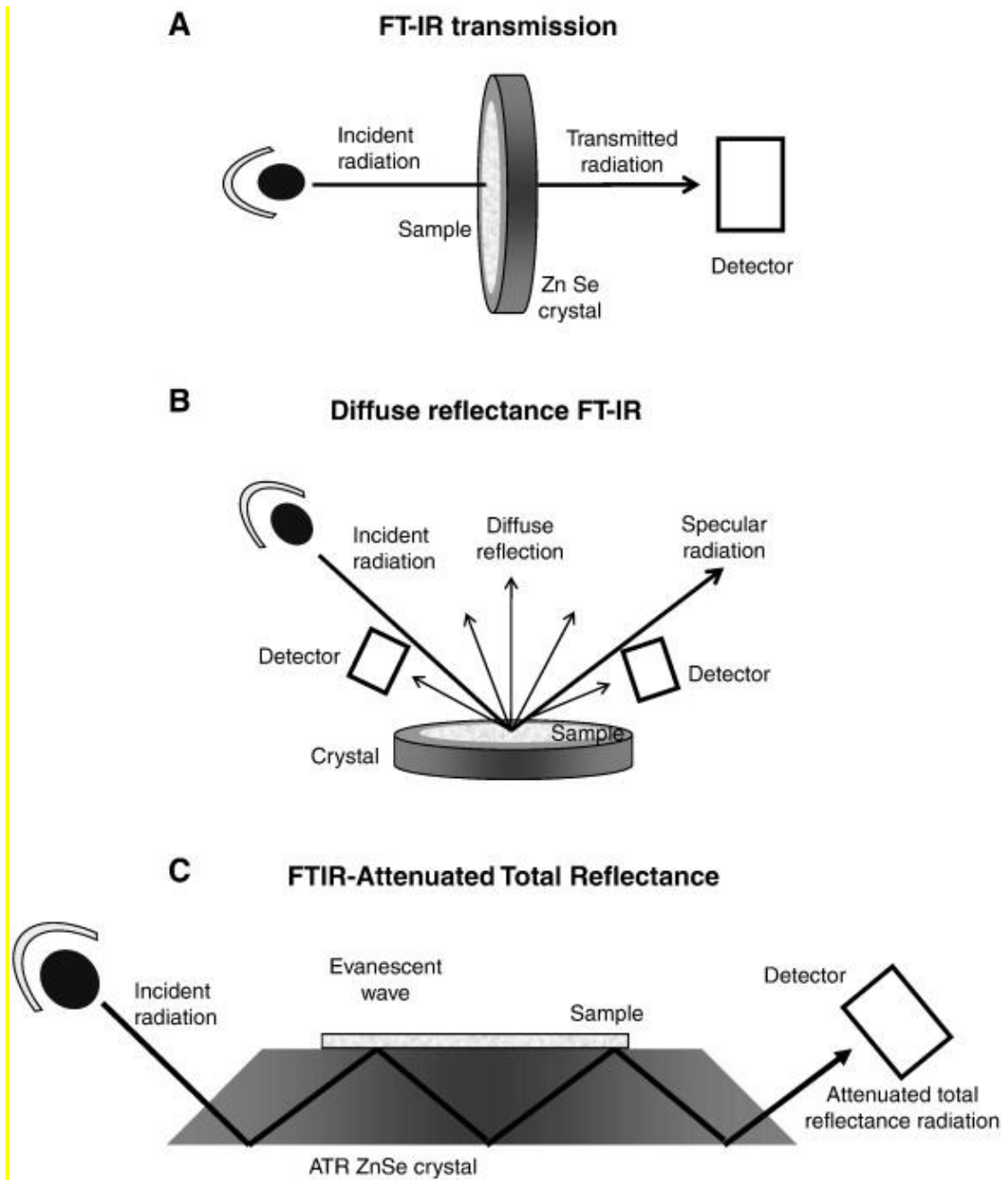
Χρησιμοποιήθηκαν πρόσφατα και τροποποιήθηκαν για την αναγνώριση του *Y. enterocolitica* σε επίπεδα ειδών και υποειδών η υπέρυθρη φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier (FT-IR) και η φασματομετρία μάζας εκρόφησης/ιονισμού λέιζερ υποβοηθούμενη από μήτρα (MALDI-TOF-MS). Για την αναγνώριση των στελεχών το FT-IR αποδείχθηκε ότι είναι καλύτερο από το σύστημα δοκιμής API 20E και διαφοροποιεί και τα στελέχη ανάλογα με τους βιοτύπους και τους ορότυπους τους με >98 % και >92 % ακρίβεια. Επίσης έχει αναφερθεί ότι το MALDI-TOF-MS είναι μια αξιόπιστη τεχνική για την ταχεία αναγνώριση των στελεχών του *Y. enterocolitica*. Αυτές οι τεχνικές είναι ανώτερες από άλλες μεθόδους αναγνώρισης που είναι διαθέσιμες αυτή την στιγμή για την ανίχνευση του *Yersinia* spp λόγω της υψηλής ταχύτητας, της εύκολης εφαρμογής και την ανάλυση υψηλής απόδοσης που τις κατέχουν. Όμως, απαιτούνται επιπλέον τροποποιήσεις προκειμένου να μειωθεί το

υψηλό κόστος και οι μακροχρόνιες διαδικασίες προετοιμασίας των δειγμάτων για την εφαρμογή τους στην ανίχνευση.(Gupta et al. 2015)



**Εικόνα 14.** Αντιπροσωπευτικό φάσμα FT-IR (3500 έως 500  $\text{cm}^{-1}$ ) από δείγμα βακτηριακών κυττάρων.

(Alvarez-Ordóñez et al. 2011)



**Εικόνα 15.** Αναπαράσταση των φασματοσκοπικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τον χαρακτηρισμό της μοριακής σύνθεσης και της απόκρισης στρες σε τροφιογενή παθογόνα βακτήρια με την φασματοσκοπία FT-IR.

(A) Μετάδοση FT-IR (B) Διάχυτη ανάκλαση FT-IR (C) Ολική ανάκλαση εξασθενημένης FTIR.

(Alvarez-Ordóñez et al. 2011)

## Κεφάλαιο 9

### Συμπεράσματα

Το *Yersinia enterocolitica* είναι ένα αξιοσημείωτο παθογόνο στο εντερικό πεδίο, που προκαλεί γαστρεντερικές λοιμώξεις με ποικίλες κλινικές εκδηλώσεις. Αυτό το βακτήριο, που διαθέτει διάφορους παράγοντες λοιμογόνου δράσης, μεταδίδεται κυρίως μέσω μολυσμένων τροφίμων και νερού. Ενώ η συχνότητά του ποικίλλει παγκοσμίως, οι λοιμώξεις από *Y. enterocolitica* συχνά συνδέονται με ψυχρότερα κλίματα. Η κλινική παρουσίαση των λοιμώξεων από *Y. enterocolitica* κυμαίνεται από ήπια γαστρεντερίτιδα έως σοβαρή εντεροκολίτιδα, με συμπτώματα που περιλαμβάνουν πυρετό, κοιλιακό άλγος και διάρροια. Η ακριβής και έγκαιρη διάγνωση είναι ζωτικής σημασίας για την κατάλληλη διαχείριση, βασιζόμενη σε εργαστηριακές μεθόδους για τον εντοπισμό του βακτηρίου και τον προσδιορισμό της ευαισθησίας στα αντιβιοτικά. Η πρόληψη των λοιμώξεων από *Y. enterocolitica* επικεντρώνεται στην προώθηση ασφαλούς χειρισμού τροφίμων και πρακτικών υγιεινής. Το σωστό μαγείρεμα του κρέατος, η παστερίωση των γαλακτοκομικών προϊόντων και η υγιεινή παροχή νερού παίζουν καθοριστικό ρόλο στη μείωση των κινδύνων μετάδοσης. Οι εκστρατείες εκπαίδευσης και ευαισθητοποίησης του κοινού είναι απαραίτητες για την ενθάρρυνση της γνώσης και την ενθάρρυνση προληπτικών μέτρων. Απαιτούνται συνεχείς προσπάθειες έρευνας και επιτήρησης για να βελτιώσουμε την κατανόησή μας για το *Y. enterocolitica* και τις αλληλεπιδράσεις του με τον άνθρωπο ξενιστή. Αυτή η γνώση θα διευκολύνει την ανάπτυξη βελτιωμένων διαγνωστικών τεχνικών και θεραπευτικών παρεμβάσεων. Με τον αποτελεσματικό έλεγχο και τη διαχείριση των λοιμώξεων από *Y. enterocolitica*, μπορούμε να μετριάσουμε την επιβάρυνση για τη δημόσια υγεία και να προστατεύσουμε την ευημερία των ατόμων παγκοσμίως.

## Βιβλιογραφία

- Alvarez-Ordóñez, A., D. J. M. Mouwen, M. López, and M. Prieto. 2011. "Fourier Transform Infrared Spectroscopy as a Tool to Characterize Molecular Composition and Stress Response in Foodborne Pathogenic Bacteria." *Journal of Microbiological Methods* 84(3):369–78. doi: 10.1016/j.mimet.2011.01.009.
- Bari, Md. Latiful, M. Anwar Hossain, Kenji Isshiki, and Dike Ukuku. 2011. "Behavior of *Yersinia Enterocolitica* in Foods ." *Journal of Pathogens* 2011:1–13. doi: 10.4061/2011/420732.
- Baumgartner, A., M. Küffer, D. Suter, T. Jemmi, and P. Rohner. 2007. "Antimicrobial Resistance of *Yersinia Enterocolitica* Strains from Human Patients, Pigs and Retail Pork in Switzerland." *International Journal of Food Microbiology* 115(1):110–14. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.008.
- Bonardi, Silvia, Irene Alpigiani, Stefano Pongolini, Marina Morganti, Silvia Tagliabue, Cristina Bacci, and Franco Brindani. 2014. "Detection, Enumeration and Characterization of *Yersinia Enterocolitica* 4/O:3 in Pig Tonsils at Slaughter in Northern Italy." *International Journal of Food Microbiology* 177:9–15. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.005.
- Chen, Peter E., Christopher Cook, Andrew C. Stewart, Niranjan Nagarajan, Dan D. Sommer, Mihai Pop, Brendan Thomason, Maureen P. Kiley Thomason, Shannon Lentz, Nichole Nolan, Shanmuga Sozhamannan, Alexander Sulakvelidze, Alfred Mateczun, Lei Du, Michael E. Zwick, and Timothy D. Read. 2010. "Genomic Characterization of the *Yersinia* Genus." *Genome Biology* 11(1):1–18. doi: 10.1186/gb-2010-11-1-r1.
- Fàbrega, Anna, and Jordi Vila. 2012. "*Yersinia Enterocolitica*: Pathogenesis, Virulence and Antimicrobial Resistance." *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 30(1):24–32. doi: 10.1016/j.eimc.2011.07.017.
- Food, European, and Safety Authority. 2022. "The European Union One Health 2021 Zoonoses Report." *EFSA Journal* 20(12). doi: 10.2903/j.efsa.2022.7666.
- Fukushima, H., S. Shimizu, and Y. Inatsu. 2011. "*Yersinia Enterocolitica* and *Yersinia Pseudotuberculosis* Detection in Foods ." *Journal of Pathogens* 2011:1–9. doi: 10.4061/2011/735308.
- Le Guern, Anne Sophie, Liliane Martin, Cyril Savin, and Elisabeth Carniel. 2016. "Yersiniosis in France: Overview and Potential Sources of Infection." *International Journal of Infectious Diseases* 46:1–7. doi: 10.1016/j.ijid.2016.03.008.
- Guillier, Laurent, Philippe Fravalo, Alexandre Leclercq, Anne Thébault, Pauline Kooh, Vasco Cadavez, and Ursula Gonzales-Barron. 2021. "Risk Factors for Sporadic *Yersinia Enterocolitica* Infections: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Microbial Risk Analysis* 17. doi: 10.1016/j.mran.2020.100141.
- Gupta, V., P. Gulati, N. Bhagat, M. S. Dhar, and J. S. Viridi. 2015. "Detection of *Yersinia Enterocolitica* in Food: An Overview." *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 34(4):641–50.
- Kechagia, Nektaria, Chryssoula Nicolaou, Vasiliki Ioannidou, Erieta Kourti, Anastassios Ioannidis, Nicolaos John Legakis, and Stylianos Chatzipanagiotou. 2007. "Detection of Chromosomal and Plasmid - Encoded Virulence Determinants in *Yersinia Enterocolitica* and Other *Yersinia* spp. Isolated from Food Animals in Greece." *International Journal of Food Microbiology* 118(3):326–31. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.044.



- Longenberger, A. H., M. P. Gronostaj, G. Y. Yee, L. M. Johnson, J. F. Lando, R. E. Voorhees, K. Waller, A. C. Weltman, M. Moll, S. B. Lyss, B. L. Cadwell, L. M. Gladney, and S. M. Ostroff. 2014. "Yersinia Enterocolitica Infections Associated with Improperly Pasteurized Milk Products: Southwest Pennsylvania, March-August, 2011." *Epidemiology and Infection* 142(8):1640–50.
- Mühlenkamp, Melanie, Philipp Oberhettinger, Jack C. Leo, Dirk Linke, and Monika S. Schütz. 2015. "Yersinia Adhesin A (YadA) - Beauty & Beast." *International Journal of Medical Microbiology* 305(2):252–58. doi: 10.1016/j.ijmm.2014.12.008.
- Nesbakken, Truls, Karl Eckner, Hilde Kristin Høidal, and Ole Johan Røtterud. 2003. "Occurrence of Yersinia Enterocolitica and Campylobacter Spp. in Slaughter Pigs and Consequences for Meat Inspection, Slaughtering, and Dressing Procedures." *International Journal of Food Microbiology* 80(3):231–40. doi: 10.1016/S0168-1605(02)00165-4.
- Oh, Byung Keun, Woosung Lee, Bum Suk Chun, Young Min Bae, Won Hong Lee, and Jeong Woo Choi. 2005. "Surface Plasmon Resonance Immunosensor for the Detection of Yersinia Enterocolitica." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 257–258:369–74. doi: 10.1016/j.colsurfa.2004.10.083.
- Petsios, Stefanos, Maria Fredriksson-Ahomaa, Hercules Sakkas, and Chrissanthy Papadopoulou. 2016. "Conventional and Molecular Methods Used in the Detection and Subtyping of Yersinia Enterocolitica in Food." *International Journal of Food Microbiology* 237:55–72.
- Shoaib, Muhammad, Aamir Shehzad, Husnain Raza, Sobia Niazi, Imran Mahmood Khan, Wasim Akhtar, Waseem Safdar, and Zhouping Wang. 2019. "A Comprehensive Review on the Prevalence, Pathogenesis and Detection of: Yersinia Enterocolitica." *RSC Advances* 9(70):41010–21.
- Swaminathan, B., M. C. Harmon, and I. J. Mehlman. 1982. *A Review Yersinia Enterocolitica* \*. Vol. 52.
- Tenathogenicity of Yersinia enterocolitica biotype 1Anant, Sharon M., Travis H. Grant, and Roy M. Robins-Browne. 2003. "P." *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 38(2):127–37. doi: 10.1016/S0928-8244(03)00180-9.
- Verbikova, Veronika, Gabriela Borilova, Vladimir Babak, and Monika Moravkova. 2018. "Prevalence, Characterization and Antimicrobial Susceptibility of Yersinia Enterocolitica and Other Yersinia Species Found in Fruits and Vegetables from the European Union." *Food Control* 85:161–67. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.08.038.
- Zadernowska, Anna, Wioleta Chajęcka-Wierzchowska, and Łucja Łaniewska-Trokenheim. 2014a. "Risk Factors for Sporadic Yersinia Enterocolitica Infections: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Food Reviews International* 30(1):53–70. doi: 10.1080/87559129.2013.853775.
- Zadernowska, Anna, Wioleta Chajęcka-Wierzchowska, and Łucja Łaniewska-Trokenheim. 2014b. "Yersinia Enterocolitica : Ένα Επικίνδυνο, Αλλά Συχνά Αγνοούμενο, Τροφιμογενές Παθογόνο." *Food Reviews International* 30(1):53–70. doi: 10.1080/87559129.2013.853775.