



Latvijas Lauksaimniecības universitāte
Veterinārmedicīnas fakultāte
Pārtikas un vides higiēnas institūts

Latvia University of Agriculture
Faculty of Veterinary Medicine
Institute of Food and Environmental Hygiene

Doktorante

Margarita Terentjeva

**PATOĢĒNĀS JERSĪNIJAS CŪKU KAUTPRODUKTOS UN RAŽOŠANAS
UZŅĒMUMU VIDĒ LATVIJAS KAUTUVĒS**

**PATHOGENIC YERSINIAE ON PIG SLAUGHTER PRODUCTS AND PLANT
ENVIRONMENT IN SLAUGHTERHOUSES IN LATVIA**

Promocijas darba
KOPSAVILKUMS
Dr.med.vet. zinātniskā grāda iegūšanai

SUMMARY
of doctoral thesis
for scientific degree Dr.med.vet.

Jelgava 2011

**PROMOCIJAS DARBA NOFORMĒŠANAS ETAPS VEIKTS ESF NACIONĀLĀS PROGRAMMAS
„ATBALSTS LLU DOKTORA STUDIJU ĪSTENOŠANAI” IETVAROS,
LĪGUMS NR. 04.4-08/EF2.PD.27**

Promocijas darbs izstrādāts:

- Latvijas Lauksaimniecības universitātes Veterinārmedicīnas fakultātes Pārtikas un vides higiēnas institūtā;
- Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta „BIOR” Dzīvnieku slimību diagnostikas laboratorijas Virusoloģijas nodaļas Molekulārbioloģisko izmeklējumu laboratorijā.

Research has been carried out at:

- Latvia University of Agriculture, Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Food and Environmental Hygiene;
- Institute of Food Safety, Animal Health and Environment “BIOR”, Animal Disease Diagnostic Laboratory, Division of Virology, Laboratory of Molecular-biological methods.

Promocijas darba zinātniskie vadītāji:**Scientific supervisors:**

Dr.med.vet., asociētais profesors

Edgars Liepiņš

Dr.med.vet., docents

Aivars Bērziņš

Oficiālie recenzenti:**Official reviewers:**

Dr.med.vet., profesors

Arnis Mugurēvičs

Dr.med.vet., LLU ZI „Sigra” vadošā pētniece

Inese Zitare

Dr.sc.ing., profesore

Līga Skudra

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2011. gada 7. decembrī plkst. 13.00

LLU Veterinārmedicīnas fakultātē, Jelgavā, K. Helmaņa ielā 8, pirmajā auditorijā

The defence of thesis will take place at the LUA Faculty of Veterinary Medicine, first auditorium, on the December 7, 2011 at 13.00 o'clock

Ar promocijas darbu var iepazīties Latvijas Lauksaimniecības universitātes Fundamentālajā bibliotēkā, Jelgavā, Lielajā ielā 2 un <http://lulb.llu.lv/llu-theses.htm>

The thesis is available at the Fundamental Library of the Latvia University of Agriculture, Lielā iela 2, Jelgava and <http://lulb.llu.lv/llu-theses.htm>

SATURA RĀDĪTĀJS

IEVADS	5
Darba aktualitāte	5
Promocijas darba uzdevumi	6
Darba zinātniskā novitāte.....	6
Pētījumu rezultātu aprobācija	6
MATERIĀLS UN METODES	7
Cūku aukslēju mandeļu, liemeņu, plūču un vides paraugu noņemšana.....	7
Patogēno jersīniju kultūru izolēšana un identifikācija	9
Datu statistiskā apstrāde.....	10
PĒTĪJUMA REZULTĀTI UN DISKUSIJA	11
Patogēno jersīniju sastopamība dažādās kautuvēs kauto cūku aukslēju mandelēs.....	11
Patogēnās jersīnijas cūku liemeņos un plūčos dažādās kautuvēs	14
Patogēnās jersīnijas kautuvju vidē	21
<i>Y. enterocolitica</i> 4/O:3 un <i>Y. pseudotuberculosis</i> izolēšana no cūku aukslēju mandelēm, liemeņu un plūču paraugiem izmantojot dažādas testēšanas metodes.....	26
SECINĀJUMI	30
IETEIKUMI PRAKSEI	31
ZINĀTNISKĀS PUBLIKĀCIJAS UN TĒZES	32

CONTENTS

INTRODUCTION	33
Objectives of the study	34
Scientific novelty of the study	34
Approbation of the results of research	34
MATERIAL AND METHODS	35
Collection of pig palatine tonsil, carcass, pluck and environmental samples.....	35
Isolation and identification of pathogenic <i>Yersinia</i> spp.....	36
Statistical analysis	38
RESULTS AND DISCUSSION.....	38
The prevalence of pathogenic yersiniae in pig tonsils in different slaughterhouses.....	38
Pathogenic yersiniae on pig carcasses and plucks in different slaughterhouses.....	39
Pathogenic yersiniae in environment of the slaughterhouse.....	43
Isolation of <i>Y. enterocolitica</i> 4/O:3 and <i>Y. pseudotuberculosis</i> from pig tonsils, carcasses and plucks using different testing methods.....	45
CONCLUSIONS.....	46
RECOMMENDATIONS FOR PRACTICE	48
SCIENTIFIC PUBLICATIONS	49

IEVADS

Darba aktualitāte

Jersinioze ir pārtikas infekcija, kuru izraisa divas jersīniju sugas – *Yersinia enterocolitica* patogēnie biotipu un serogrupu varianti, kā arī *Yersinia pseudotuberculosis*. Jersinioze ir trešā biežāk sastopamā bakteriālā pārtikas infekcija Eiropas Savienībā, kuru reģistrē arī Latvijā un jersiniozes gadījumu skaits cilvēku vidū mūsu valstī bija no vienam līdz četriem saslimšanas gadījumiem uz 100 000 iedzīvotāju laikā no 2006. līdz 2010. gadam (EFSA, 2006, EFSA, 2011, LIC, 2010).

Cilvēki visbiežāk inficējas ar jersiniozes ierosinātājiem, lietojot uzturā nepietiekami termiski apstrādātu cūkgaļu un subproduktus (Tauxe et al., 1994, Ostroff et al., 1994, Huovinen et al., 2010). Izrādās, ka cūkas var pārnēsāt patogēnās jersīnijas klīniski neslimojot (Andersen, 1991, Martínez et al., 2010^{a,b}). Nobarojamām cūkām patogēnās jersīnijas izolētas no limfātiskajiem audiem, bet visbiežāk jersiniozes ierosinātāju klātbūtne konstatēta cūku mīksto aukslēju mandelēs (*tonsilla veli palatini*, turpmāk tekstā – aukslēju mandeles) (Nesbakken et al., 2003, Gütler et al., 2005, Nesbakken et al., 2006).

Cūku, patogēno jersīniju pārnēsātāju, kaušana var apdraudēt kautproduktu mikrobioloģisko drošumu (Kapperud, 1991), jo jersiniozes ierosinātāji no primārām lokalizācijas vietām var nokļūt uz liemeņiem un plūčiem, kā arī ražošanas vidē (Andersen, 1991, Fredriksson-Ahomaa et al., 2001^b). Jersiniozes ierosinātāji ir izturīgi pret zemām temperatūrām, kuras izmanto gaļas industrijā produkcijas uzglabāšanai, un patogēnās jersīnijas spēj vairoties uz kautproduktu virsmām, sasniedzot infekciozo devu (Andersen, 1991, Logue et al., 1996). Tāpēc gaļas piesārņojums ar patogēniem nav pieļaujams, jo kontaminētā produkcija ir potenciāli bīstama patērētājiem (Fredriksson-Ahomaa et al., 1999, Fredriksson-Ahomaa et al., 2006^a).

Sakarā ar problēmas nopietnību, Eiropā veikti vairāki pētījumi, lai apzinātu jersiniozes ierosinātāju izplatību cūku kautproduktos primārās ražošanas līmenī un mazumtirdzniecības vietās (Kapperud, 1991, Fredriksson-Ahomaa et al., 2006^a, Laukkanen et al., 2008, Laukkanen et al., 2009). Rezultāti liecina, ka patogēno jersīniju izplatība pārtikas apritē ir aktuāla problēma Eiropas mērogā (Fredriksson-Ahomaa et al., 2006^a). Jāatzīmē, ka Latvijā pētījumi par jersiniozes ierosinātāju izplatību cūku kautproduktos nav veikti, taču tā varētu būt aktuāla problēma arī mūsu valstī.

Patogēnās jersīnijas parasti atrodas mazā skaitā kontaminētā materiālā, kas norāda uz problēmām patogēna izolēšanai no izmeklējamā materiāla (Fredriksson-Ahomaa, Korkeala, 2003). Tāpēc ir nepieciešams salīdzināt pieejamas mikrobioloģiskās metodes, lai atklātu, kuras no tām ir piemērotākas jersiniozes ierosinātāju klātbūtnes noteikšanai cūku kautproduktos. Ņemot vērā plašu nepatogēno jersīniju izplatību apkārtējā vidē, mikrobioloģiskās metodes ir nepieciešams papildināt ar molekulārās bioloģijas metodēm, tādējādi, iegūstot priekšstatu par Latvijā sastopamo jersīniju patogenitātes īpašībām (Fredriksson-Ahomaa, Korkeala, 2003, VonAltrock et al., 2010).

Tādēļ, mūsu **darba mērķis** bija noteikt patogēno jersīniju sastopamību cūku kautproduktos un kautuvju vidē un noskaidrot atšķirības jersiniozes ierosinātāju izplatībā dažādās Latvijas kautuvēs.

Promocijas darba uzdevumi

1. Noteikt patogēno jersīniju sastopamību cūku aukslēju mandelēs dažādās Latvijas kautuvēs.
2. Noskaidrot patogēno jersīniju sastopamību cūku liemeņos un plūčos dažādās kautuvēs.
3. Izpētīt patogēno jersīniju sastopamību kautuvju vidē.
4. Izanalizēt patogēno jersīniju izolēšanas metožu efektivitāti, izmeklējot cūku aukslēju mandeles, liemeņu un plūču paraugus.

Darba zinātniskā novitāte

1. Pirmo reizi Latvijā tika veikti pētījumi par patogēno jersīniju sastopamību cūku kautproduktos, kā arī kautuvju vidē.
2. Salīdzināta patogēno jersīniju sastopamība cūku aukslēju mandelēs, cūku liemeņos, plūčos un ražošanas vidē kautuvēs Latvijas apstākļos.
3. Salīdzināta dažādu patogēno jersīniju izolēšanas metožu efektivitāte, pielietojot tās jersiniozes ierosinātāju klātbūtnes noteikšanai cūku kautproduktos.
4. Pirmo reizi veterinārmedicīnā Latvijā jersīniju patogenitātes noteikšanai tika izmantotas molekulārās bioloģijas metodes.

Pētījumu rezultātu aprobācija

Pētījumu rezultāti aprobēti sekojošās starptautiskās zinātniskās konferencēs:

1. Terentjeva M., Bērziņš A. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in the environment of slaughterhouse. BALTFood 2011, 5th Baltic Conference on Food Science and Technology "Innovations for food science and production", 5-6th May, 2011, Jelgava, Latvia.
2. Terentjeva M., Liepiņš E., Bērziņš A. Different prevalence of yersiniae on pig carcasses in three slaughterhouses in Latvia. International Scientific Conference "Animals. Health. Food Hygiene", 29th October, 2010, Jelgava, Latvia.
3. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in pig tonsils and by-products in two slaughterhouses in Latvia. International Scientific Conference „Implication of Different Production Technologies on Animal Health and Food Products Quality Indices”, 4-5th December, 2008, Sigulda, Latvia.
4. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. Prevalence of pathogenic *Yersinia* spp. on by-products, carcasses and tonsils. International Scientific Conference "Animals. Health. Food Hygiene", 14th November, 2008, Jelgava, Latvia.

5. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. Incidence of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in Latvian Pigs at slaughtering. International Scientific Conference „Research for Rural Development”, 16-18th May, 2007, Jelgava, Latvia.
6. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. A pilot study on occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in Latvian pigs at slaughtering. SAFEPORK 2007: 7th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork, 9-11th May, 2007, Verona, Italy.
7. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. Occurrence of *Yersinia* species in slaughtered pigs' tonsils of Latvian origin. International Scientific Conference “Animals. Health. Food Hygiene”, 10th November, 2006, Latvia.

Darba apjoms: promocijas darbs noformēts 132 lappusēs un sastāv no anotācijas, ievada, literatūras apskata, darba metodikas, pētījumu rezultātiem, diskusijas, secinājumiem, ieteikumiem praksei un izmantotās literatūras saraksta.

MATERIĀLS UN METODES

Pētījuma veikšanai tika izvēlētas piecas kautuves, kuras atrodas Latvijas Republikas teritorijā Kurzemes (kautuve C un E), Vidzemes (kautuve B) un Zemgales (kautuve A un D) reģionos un ir pakļautas Pārtikas un veterinārā dienesta (PVD) uzraudzībai. Visās kautuvēs izmeklējumiem tika noņemti cūku aukslēju mandeļu paraugi, bet kautuvēs A, B un C arī liemeņu un plūču virsmu, kā arī uzņēmumu vides paraugi.

Paraugu izmeklēšanas metodes, jersīniju kultūru izolēšana un identifikācija tika apgūta Helsinku universitātes Veterinārmedicīnas fakultātes Pārtikas un vides higiēnas departamentā. Kautuvēs iegūtie paraugi sagatavoti pētījumiem un izmeklēti Latvijas Lauksaimniecības universitātes (LLU) Veterinārmedicīnas fakultātes Pārtikas un vides higiēnas institūtā Pārtikas higiēnas laboratorijā. Jersīniju patogenitātes noteikšana ar polimerāzes ķēdes reakcijas (PCR) metodi veikta Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta „BIOR” Dzīvnieku slimību diagnostikas laboratorijas Virusoloģijas nodaļas Molekulārbioloģisko izmeklējumu laboratorijā.

Pētījumā iesaistītajās kautuvēs cūku kaušana notika pēc vispārpieņemtās tehnoloģijas, iekļaujot apdullināšanu, atasiņošanu, plaucēšanu, atsarošanu, svilināšanu, pulēšanu un eviscerāciju, ar tai sekojošo kautproduktu veterināro ekspertīzi. Kautuvēs A, B un C kaušanas jauda bija vidēji 50 cūkas stundā, bet kautuvēs D un E līdz 25 cūkām stundā.

Cūku aukslēju mandeļu, liemeņu, plūču un vides paraugu noņemšana

Kopumā izmeklējumiem tika noņemti 971 paraugs, tostarp cūku aukslēju mandeļu (n=502), plūču virsmu (n=315), liemeņu virsmu (n=90) un kautuvju vides (n=64) paraugi. Cūku mandeļu paraugi ievākti kautuvēs A, B, C, D un E, savukārt, liemeņu, plūču un vides paraugi kautuvēs A, B un C ar kaušanas jaudu vidēji 50 cūkas stundā.

Cūku aukslēju mandeļu, liemeņu un plūču virsmu paraugi tika noņemti cūku kaušanas laikā, kautproduktus pārvietojot pa zemgriestu sliežu ceļiem, posmā no eviscerācijas līdz veterinārās ekspertīzes veikšanas vietai. Uzņēmuma vides paraugu

noņemšana notika kautuves tīrajā zonā posmā no eviscerācijas līdz kautproduktu primārās apstrādes vietai.

Cūku aukslēju mandeļu paraugi tika noņemti tūlīt pēc eviscerācijas un krūšu dobuma orgānu izņemšanas. Aukslēju mandeļu paraugi tika atdalīti no plūčiem kautuvēs A un C, savukārt, kautuvēs B, D un E no galvām, kaušanas tehnoloģiju atšķirību dēļ. No cūkām, kuru izcelsme bija viena novietne, tika noņemti divi līdz 20 cūku aukslēju mandeļu paraugi. Ar sterilu skalpeli mandeles aseptiski tika atdalītas no apkārtējiem audiem. Kopumā tika noņemti 502 Latvijas izcelsmes cūku aukslēju mandeļu paraugi no nokautām cūkām, kuras piegādāja kaušanai no 53 dažādām cūku novietnēm. Dzīvnieku izcelsme bija attiecīgi Kurzemes (n=152), Latgales (n=90), Vidzemes (n=136) un Zemgales (n=124) reģioni.

Liemeņu un plūču paraugi tika noņemti no cūku liemeņiem un plūčiem pēc eviscerācijas. Paraugi no liemeņiem iegūti pēc liemeņu pārzāģēšanas pusliemeņos, savukārt, paraugi no plūčiem ievākti pēc to izvietošanas uz plūču apstrādes līnijas un novirzīšanas pēckaušanas veterinārajai ekspertīzei. Paraugu noņemšanai tika izmantoti sterili marles tamponi ar izmēriem 5X5cm (SIA Olko, Latvija), kuri pirms lietošanas aseptiski tika samitrināti sterilā 0.9% NaCl šķīdumā (B. Braun Melsungen AG, Vācija). Katra liemeņa un plūču virsmu parauga noņemšanai izmantots viens tampons, ar kuru tika apstrādāts 20 cm² virsmas laukums. Kopumā katrā no kautuvēm tika noņemti 30 liemeņu un 105 plūču virsmu paraugi.

Virsmas paraugi no liemeņiem tika noņemti no divām paraugu ņemšanas vietām – galvas zemžokļa limfmezgla apvidus un krūšu dobuma 1.-5. ribas apvidus. Plūču virsmu paraugi tika iegūti no septiņām vietām - mēles, plaušu kraniālās daivas, plaušu kaudālās daivas, sirds, diafragmas, aknām un nierēm. Kautuvē A visi paraugi noņemti plūčiem atrodoties uz pārstrādes līnijas, savukārt, kautuvēs B un C nieru paraugi iegūti nierēm atrodoties subproduktu kastēs. Diafragmas paraugi kautuvē B ievākti no liemeņiem, bet kautuvē C no diafragmas audiem, tiem atrodoties subproduktu kastēs.

Vides paraugi tika ievākti ar 0.9% NaCl (B. Braun Melsungen AG, Vācija) samitrinātiem steriliem marles tamponiem ar izmēriem 5X5cm (SIA Olko, Latvija). Katrai vides paraugu ņemšanas vietai tika izlietots viens tampons, ar kuru tika apstrādāts 20 cm² virsmas laukums. Kopumā tika noņemti 19, 26 un 19 uzņēmuma vides paraugi kautuvēs A, B un C attiecīgi.

Vides paraugi izmeklētajās kautuvēs tika noņemti no darba virsmām plūču sadales telpā (n=5), durvīm (n=4), darba piederumu galdiem (n=3), kaušanas zāles grīdām (n=12), izlietnēm (n=4), kautproduktu kastēm (n=7), veterinārās ekspertīzes platformas grīdām (n=4), aukstuma kastēm (n=4), āķiem (n=5), nažiem (n=4), personāla cimdiem (n=4), priekšautiem (n=4) un darba apaviem (n=4).

Noņemtie cūku aukslēju mandeļu, liemeņu, plūču un vides paraugi tika ievietoti paraugu ņemšanas maisiņos un, izmantojot termosomu, triju stundu laikā no to noņemšanas brīža nogādāti laboratorijā.

Pirms izmeklējuma uzsākšanas paraugu maisiņš ar cūku aukslēju mandeļu audiem tika aseptiski atvērts, un ar steriliem instrumentiem mandeles tika atpreparētas no apkārtējiem audiem. Aukslēju mandeļu audi pārnesti stomahera maisiņā un iesvērti, lai izmeklējamo audu daudzums būtu 10 g (svari Boeco, precizitāte 610g±0.01 g Vācija). Mandeļu audiem, liemeņu, plūču virsmu un vides paraugiem tika pievienoti 90 ml peptona

mannitola žults sāļu buljona (PMB, bakterioloģiskais peptons, OXOID, Basingstoke, Lielbritānija; mannitols, žults sāļi No.3, Na₂HPO₄, Scharlau Chemie S.A., Spānija). Cūku aukslēju mandeļu paraugu PMB buljonā pirms izmeklējumiem homogenizējām ar stomahera palīdzību 60 sekundes.

Pēc parauga sagatavošanas, to inkubējam vienu stundu 22 °C temperatūrā, baktēriju šūnu atdzīvināšanai.

Patogēno jersīniju kultūru izolēšana un identifikācija

Paraugu testēšanai izmantojam vispāratzītos standartus „Pārtikas un dzīvnieku barības mikrobioloģija - Iespējami patogēnās baktērijas *Yersinia enterocolitica* konstatēšanas horizontālā metode” (ISO, 2003) un „*Yersinia enterocolitica*. Noteikšana pārtikā” (NCFA, 1996).

Pamatojoties uz augstākminēto standartu prasībām, jersīniju izolēšanai izmantojam tiešās pārsēšanas, selektīvās bagātināšanas un aukstās bagātināšanas metodes.

Jersīniju izolēšanai ar tiešās pārsēšanas metodi, 0.1 ml izmeklējamā materiāla uzsēts uz cefsulodīna-irgasāna-novobiocīna agara (CIN, Yersinia selective agar, OXOID, Basingstoke, Lielbritānija).

Jersīniju izolēšanai ar selektīvās bagātināšanas metodi, 0.1 ml izmeklējamā materiāla pārnesta 9 ml irgasāna-tikarcilīna-kālija hlorāta selektīvo barotni saturošā mēģenē (ITC, Fluka, Šveice). ITC buljons tika inkubēts 48 stundas 25 °C temperatūrā. Pēc inkubēšanas 0.1 ml ITC buljona uzsējām uz CIN agara.

Aukstai bagātināšanai cūku aukslēju mandeļu, liemeņu virsmu, plūču virsmu vai vides paraugi PMB buljonā tika ievietoti inkubēšanai 4 °C temperatūrā. Pēc septiņām 14 un 21 inkubēšanas dienām, 0.1 ml izmeklējamā materiāla uzsējām uz CIN agara platēm. Pārsējot izmeklējamu materiālu uz CIN agara platēm pēc 14. un 21. inkubēšanas dienas, veicām to apstrādi ar 0.5% KOH šķīduma blakus mikrofloras inhibēšanai. Apstrādei ar KOH, mēģenei ar 4.5 ml svaigi pagatavota 0.5% KOH šķīduma, pievienojām 0.5 ml izmeklējamā materiāla. Mēģenes saturs sakratīts ar „vortex” tipa kratītāja palīdzību 20 sekunžu laikā no materiāla pievienošanas brīža, un 0.1 ml materiāla nekavējoties uzsējām uz CIN agara platēm.

Inokulētais CIN agars inkubēts 30 °C temperatūrā, un mikroorganismu augšana CIN agara platēs vērtēta pēc 24 un 48 inkubēšanas stundām, ar mērķi atlasīt mikroorganismus ar jersīnijām raksturīgu koloniju morfoloģiju turpmākiem izmeklējumiem. Raksturīgas *Y. enterocolitica* 4/O:3 kolonijas bija 2-3 mm, bet *Y. pseudotuberculosis* 0.5-1 mm diametrā ar spilgti sarkanu centru un baltu apmali, ko baktērijas veidoja pēc 24 inkubēšanas stundām.

No katras CIN agara plates tika izvēlētas trīs kolonijas ar jersīnijām raksturīgu morfoloģiju, kuras pārsējām uz neselektīvo triptona sojas agaru (TSA, Trypton Soya Agar, OXOID, Basingstoke, Lielbritānija). TSA plates tika ievietotas inkubēšanai 24 stundas 30 °C temperatūrā. Pēc inkubēšanas tika veikta izolātu primārā apstiprināšana, veicot oksidāzes un urīnvielas hidrolīzes reakciju noteikšanu. Oksidāzes reakcija tika veikta un nolasīta saskaņā ar ražotāja pievienotu instrukciju, iedalot izolātus oksidāzes-negatīvos un oksidāzes-pozitīvos. Urīnvielas hidrolīzes reakcijas noteikšanai tika izmantots urīnvielu

saturošs agars (Urea agar base, OXOID, Basingstoke, Lielbritānija), kurš pēc inokulēšanas tika inkubēts 24 stundas 30 °C temperatūrā. Par pozitīvu reakciju liecināja barotnes krāsas izmaiņas no dzeltenas uz sārnu, savukārt, ja barotnes krāsa palika nemainīga vai spilgti dzeltena, reakcija tika vērtēta kā negatīva. Ja primārās identifikācijas rezultātā tika konstatētas oksidāzes-negatīvas, ureāzes-pozitīvas baktēriju kultūras, tad tālāk tika veikta šo kultūru bioķīmiskā apstiprināšana sugas noteikšanai.

Jersīniju kultūru apstiprināšanai izmantojām API 20E bioķīmisko testu komplektus (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Francija), kurus inokulējām saskaņā ar ražotāja pievienotu instrukciju, inkubējot 30 °C temperatūrā. *Y. enterocolitica* kultūras izolēšanas gadījumā tika veikta to biotipu un serogrupu noteikšana.

Y. enterocolitica biotipi noteikti pēc Wauters et al. (1987) aprakstītās metodikas, ievērojot LVS ISO 10273:2003 prasības *Y. enterocolitica* identifikācijai. Kopumā tika noteikta pirazinamidāzes aktivitāte, lipāzes aktivitāte, salicīna, ksilozes un trehalozes fermentācijas spējas, kā arī indola reakcija.

Serogrupu noteikšanai tika izmantoti *Y. enterocolitica* O:3, O:8, O:9, O:5 un O:27 monoklonālie antiserumi (Sifin, Vācija) un tests izpildīts saskaņā ar ražotāju pievienotu instrukciju.

Lai pārbaudītu izolēto *Y. enterocolitica* 4/O:3 kultūru patogēnitāti un veikto mikrobioloģisko metožu korektumu, tika veikta izolātu testēšana ar PCR metodi, nosakot hromosomālo virulences faktoru klātbūtni (*ail* gēna klātbūtni) (Nakajima et al., 1992).

Datu statistiskā apstrāde

Pētījumu rezultātu iegūto datu statistiskai apstrādei izmantojām SPSS 13.0 programmatūru. No cūku aukslēju mandelēm, liemeņiem un plūčiem iegūto nepatogēno un patogēno jersīniju sastopamības atšķirību aprēķināšanai izmantots Hī-kvadrāta tests. Patogēno jersīniju izolēšanas metožu rezultātu salīdzināšanai, izmeklējot cūku aukslēju mandeles un kautproduktu paraugus, izmantoti Hī-kvadrāta tests un Kohrana Q tests.

PĒTĪJUMA REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Patogēno jersīniju sastopamība dažādās kautuvēs kauto cūku aukslēju mandelēs

No cūku aukslēju mandelēm tika izolētas nepatogēnās un patogēnās jersīnijas, kuru sastopamība bija attiecīgi 0.2% un 38%. Pētījuma rezultāti liecina, ka cūkas aukslēju mandelēs pārnēsā patogēnās jersīnijas biežāk nekā nepatogēnās, līdz ar to cūkas jāuzskata par patogēno jersīniju potenciāliem rezervuāriem. Nepatogēnās un patogēnās jersīnijas izolētas no cūku mandelēm arī iepriekšējos pētījumos, un patogēno jersīniju sastopamība bija augstāka nekā nepatogēno jersīniju sastopamība (Niskanen et al., 2002, Korte et al., 2004).

Patogēno jersīniju pozitīvo cūku aukslēju mandeļu paraugu skaits ir parādīts 1. tabulā.

1. tabula/ Table 1

Patogēno jersīniju sastopamība cūku aukslēju mandelēs

The prevalence of pathogenic yersiniae in pig tonsils

Reģions/ <i>Region</i>	Cūku izcelsmes novietņu skaits/ <i>No. of farms of pig origin</i>	Kautuve <i>Slaughterhouse</i>	Cūku aukslēju mandeļu paraugu skaits/ <i>No. of pig tonsil samples</i>	Patogēno jersīniju pozitīvo paraugu skaits (%)/ <i>No. of positive samples (%)</i>
Kurzeme	17	A, C, D	152	59 (39) ^a
Latgale	8	A, B, C	90	60 (67) ^c
Vidzeme	17	A, B, C, E	136	29 (21) ^b
Zemgale	11	A, B, C	124	44 (36) ^a
Kopā/ <i>Total</i>	53	5	502	192 (38)

^a atšķirības patogēno jersīniju sastopamībā nokauto cūku aukslēju mandelēs no Kurzemes un Zemgales reģioniem nebija būtiskas ($p > 0.01$)/ *differences in the prevalence of pathogenic yersiniae in pig tonsils samples from Kurzeme and Zemgale regions were not significant ($p > 0.01$)*

^b patogēno jersīniju sastopamība nokauto cūku aukslēju mandelēs no Vidzemes reģiona bija būtiski zemāka nekā to sastopamība nokauto cūku aukslēju mandelēs no Latgales un Kurzemes reģioniem ($p < 0.01$)/ *the prevalence of pathogenic yersiniae in pig tonsil samples from Vidzeme was significantly lower than the prevalence in pig tonsil samples from Latgale and Kurzeme regions ($p < 0.01$)*

^c patogēno jersīniju sastopamība nokauto cūku aukslēju mandelēs no Latgales novada bija būtiski augstāka nekā nokauto cūku aukslēju mandelēs no Kurzemes, Vidzemes un Zemgales reģioniem ($p < 0.05$)/ *the prevalence of pathogenic yersiniae in pig tonsil samples from Latgale was significantly higher than in pig tonsils from Kurzeme, Vidzeme and Zemgale regions ($p < 0.05$)*

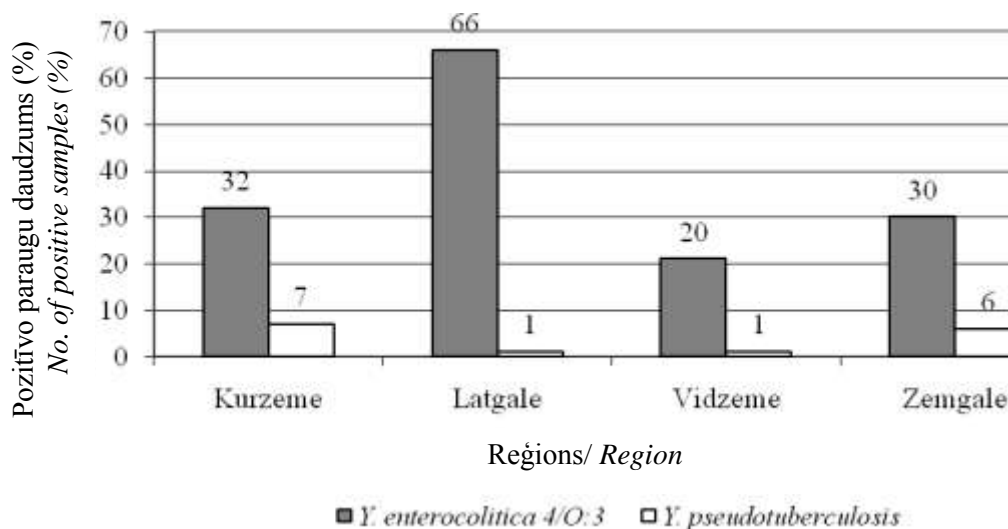
Vislielākais patogēno jersīniju pozitīvo cūku aukslēju paraugu skaits (60) tika konstatēts nokautām cūkām, kuras piegādātas kaušanai no Latgales reģiona cūku saimniecībām. Savukārt, viszemākais cūku aukslēju mandeļu pozitīvo paraugu skaits (29) identificēts nokautām cūkām, kuras piegādātas kautuvei no Vidzemes reģiona. Atšķirības patogēno jersīniju sastopamībā cūku aukslēju mandeļu paraugos bija būtiskas, un patogēno jersīniju sastopamība cūku aukslēju mandelēs, ievāktas no nokautām cūkām, kuras piegādāja kaušanai no Latgales reģiona saimniecībām, bija būtiski augstāka nekā cūku aukslēju mandeļu paraugos, iegūtiem no dzīvniekiem, kurus piegādāja kaušanai no

Kurzemes, Vidzemes un Zemgales reģionu saimniecībām ($p < 0.05$). Turpretim patogēno jersīniju sastopamība cūku aukslēju mandelēs no Vidzemes reģiona saimniecībām bija būtiski zemāka nekā to sastopamība cūku aukslēju mandelēs no Latgales un Kurzemes reģionu saimniecībām ($p < 0.01$).

No cūku aukslēju mandelēm tika izolētas divas patogēnās – *Y. enterocolitica* biotips 4, serogrupa O:3 un *Y. pseudotuberculosis*, kā arī viena nepatogēnā – *Y. kristensenii* jersīniju suga. Jersīniju pozitīvos paraugos (193) visbiežāk (173) tika konstatēta *Y. enterocolitica* 4/O:3, bet vismazāk (1) – *Y. kristensenii* klātbūtne. Visām *Y. enterocolitica* 4/O:3 kultūrām konstatējām *ail* gēna klātbūtni, kas norāda, ka izolētās kultūras ir cilvēkiem patogēnās.

Cūkas uzskata par primāro *Y. enterocolitica* 4/O:3 avotu, tāpēc cūku mandelēs novēro augstu *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamību (Fredriksson-Ahoma et al., 2000^a). Savukārt, savvaļas dzīvnieki ir primārais *Y. pseudotuberculosis* avots, bet cūkas inficējas ar jersiniozes ierosinātāju, nonākot tiešā vai netiešā kontaktā ar pārnēsātājiem (Fredriksson-Ahoma et al., 2009^b). Līdz ar to, mūsu pētījumā *Y. pseudotuberculosis* bija mazāk sastopama cūku aukslēju mandelēs, salīdzinājumā ar *Y. enterocolitica* 4/O:3. Arī citi zinātnieki konstatēja, ka *Y. enterocolitica* 4/O:3 ir biežāk sastopama cūku aukslēju mandelēs, salīdzinājumā *Y. pseudotuberculosis* (Nesbakken, Kapperud, 1985, Fredriksson-Ahoma et al., 2007^b, Kechagia et al., 2007, Martínez et al., 2009, Martínez et al., 2010^a).

Y. enterocolitica 4/O:3 bija izplatītāka starp patogēnām jersīniju sugām cūku aukslēju mandeļu paraugos, kuri tika noņemti no nokautām cūkām no Kurzemes, Latgales, Vidzemes un Zemgales reģionu saimniecībām (1. attēls).



1. att. *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 un *Yersinia pseudotuberculosis* sastopamība cūku aukslēju mandelēs dažādos Latvijas reģionos

Fig. 1. The prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 un *Yersinia pseudotuberculosis* in pig tonsils from Latvian regions

Visaugstākā *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība tika konstatēta nokautiem dzīvniekiem, kuru izcelsme bija Latgale (66%). Savukārt, viszemākā *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība bija nokauto cūku aukslēju mandelēs no Vidzemes

reģiona (20%). Visaugstākā *Y. pseudotuberculosis* sastopamība tika identificēta nokautām cūkām, kuras tika piegādātas kautuvēm no Kurzemes reģiona (7%). Turpretim viszemāko *Y. pseudotuberculosis* sastopamību novērojām nokautām cūkām, kuru izcelsme bija Latgales un Vidzemes reģioni (1% katrā no reģioniem).

Arī Fredriksson-Ahomaa et al. (2000^a) ziņoja par reģionālām atšķirībām *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamībā cūku aukslēju mandelēs, kam par pamatu bija patogēno jersīniju pozitīvo vai negatīvo cūku ganāmpulku esamība dotajā reģionā. Tomēr McNally et al. (2004) un Kechagia et al. (2007) nekonstatēja būtiskas atšķirības jersīniozes ierosinātāja izplatībā starp reģioniem, pētot *Y. enterocolitica* sastopamību cūkām Lielbritānijā un Grieķijā.

Patogēnās jersīnijas tika konstatētas cūku aukslēju mandelēs kautuvēs A, B, C, D un E un to sastopamība ir parādīta 2. tabulā.

2. tabula/ Table 2

***Yersinia enterocolitica* 4/O:3 un *Yersinia pseudotuberculosis* pozitīvo cūku aukslēju mandeļu paraugu skaits dažādās kautuvēs**

An amount of Yersinia enterocolitica 4/O:3 and Yersinia pseudotuberculosis positive pig tonsil samples in different slaughterhouses

Kautuve/ Slaughter house	Cūku izcelsmes novietņu skaits/ No. of pig farms	Cūku aukslēju mandeļu paraugu skaits/ No. of pig tonsil samples	Cūku aukslēju mandeļu pozitīvo paraugu skaits (%)/ No. of positive pig tonsil samples (%)	
			<i>Y. enterocolitica</i> 4/O:3	<i>Y. pseudotuberculosis</i>
A	27	285	109 (38) ^a	14 (5)
B	15	118	25 (21) ^b	1 (1)
C	8	69	32 (46) ^c	0 (0)
D	2	20	3 (15)	4 (20)
E	1	10	4 (40)	0 (0)
Kopā/ Total	53	502	173 (34)	19 (4)

^a - *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība cūku aukslēju mandelēs kautuvēs A un C bija būtiski augstāka nekā cūku aukslēju mandelēs kautuvē B ($p < 0.05$) / the prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 in pig tonsil samples was significantly higher in slaughterhouses A and C than in slaughterhouse B ($p < 0.05$)

^b - *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība cūku aukslēju mandelēs kautuvē B bija būtiski zemāka nekā cūku aukslēju mandelēs kautuvēs A un C ($p < 0.05$) / the prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 in pig tonsil samples was significantly lower in slaughterhouse B than in slaughterhouses A and C ($p < 0.05$)

^c - atšķirības *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamībā cūku aukslēju mandelēs kautuvēs A un C nebija būtiskas ($p > 0.05$) / differences in the prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 in pig tonsil samples in slaughterhouses A and C were not observed ($p > 0.05$)

Vislielākais *Y. enterocolitica* 4/O:3 pozitīvo cūku aukslēju mandeļu paraugu skaits tika identificēts kautuvē C, kur 32 no 69 paraugiem bija pozitīvi. Viszemākais *Y. enterocolitica* 4/O:3 pozitīvo cūku aukslēju mandeļu paraugu skaits tika konstatēts kautuvē D, kur trīs no 20 paraugiem bija pozitīvi. Kopumā *Y. enterocolitica* 4/O:3

sastopamība cūkām, kautām kautuvēs A un C, bija būtiski augstāka nekā cūkām, kautām kautuvē B ($p < 0.05$).

Vislielākais *Y. pseudotuberculosis* pozitīvo cūku aukslēju mandeļu paraugu skaits tika konstatēts kautuvē D, kur četri no 20 paraugiem bija pozitīvi. Viszemākais *Y. pseudotuberculosis* pozitīvo cūku aukslēju mandeļu paraugu skaits tika identificēts kautuvē B, kur viens no 118 paraugiem uzrādīja jersiniozes ierosinātāja klātbūtni (2. tabula).

Arī Fredriksson-Ahomaa et al. (2000^a) un Korte et al. (2004) konstatēja, ka pastāv būtiskas atšķirības *Y. enterocolitica* 4/O:3 izplatībā starp kautuvēm Somijā. Fredriksson-Ahomaa et al. (2000^a) secināja, ka atšķirības *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamībā starp kautuvēm ir saistīta ar jersiniozes ierosinātājiem inficētu vai neinficētu cūku kaušanu attiecīgajā kautuvē. Jāatzīmē, ka Niskanen et al. (2002) savā pētījumā konstatēja, ka *Y. pseudotuberculosis* sastopamība cūkām bija no 0% līdz 10% dažādās kautuvēs Somijā. Niskanen et al. (2002) uzskatīja, ka par cēloni dažādai *Y. pseudotuberculosis* sastopamībai kautuvēs ir atšķirīga *Y. pseudotuberculosis* izplatība cūku ganāmpulkos Somijas teritorijā.

Patogēnās jersīnijas cūku liemeņos un plūčos dažādās kautuvēs

No cūku liemeņu un plūču virsmu paraugiem izolējām nepatogēnās un patogēnās jersīnijas. Nepatogēno jersīniju sastopamība uz liemeņu virsmām (52%) bija augstāka nekā to sastopamība uz plūču virsmām (23%). Turpretim patogēno jersīniju sastopamība uz plūču virsmām (16%) bija augstāka nekā jersiniozes ierosinātāju sastopamība uz liemeņu virsmām (9%) (3. tabula).

3. tabula/ Table 3

Nepatogēno un patogēno jersīniju pozitīvo paraugu skaits cūku liemeņos un plūčos

An amount of non-pathogenic and pathogenic yersiniae positive pig carcass and pluck samples

Kautprodukti/ <i>Slaughter products</i>	Paraugu Skaits/ <i>No. of samples</i>	Nepatogēnās jersīnijas/ <i>Non-pathogenic yersiniae</i>	Patogēnās jersīnijas/ <i>Pathogenic yersiniae</i>
		Pozitīvo paraugu skaits (%) / <i>No. of positive samples (%)</i>	Pozitīvo paraugu skaits (%) / <i>No. of positive samples (%)</i>
Liemenis/ <i>Carcass</i>	90	47 (52) ^a	8 (9) ^b
Plūči/ <i>Plucks</i>	315	73 (23) ^a	51 (16) ^b
Kopā/ <i>Total</i>	405	120 (30) ^c	59 (15) ^c

^a - atšķirības nepatogēno jersīniju sastopamībā starp liemeņiem un plūčiem bija būtiskas ($p < 0.05$) / *differences in the prevalence of non-pathogenic yersiniae between carcasses and plucks were significant ($p < 0.05$)*

^b - atšķirības patogēno jersīniju sastopamībā uz plūčiem un liemeņiem nebija būtiskas ($p > 0.05$) / *differences in the prevalence of pathogenic yersiniae between plucks and carcasses were not significant ($p > 0.05$)*

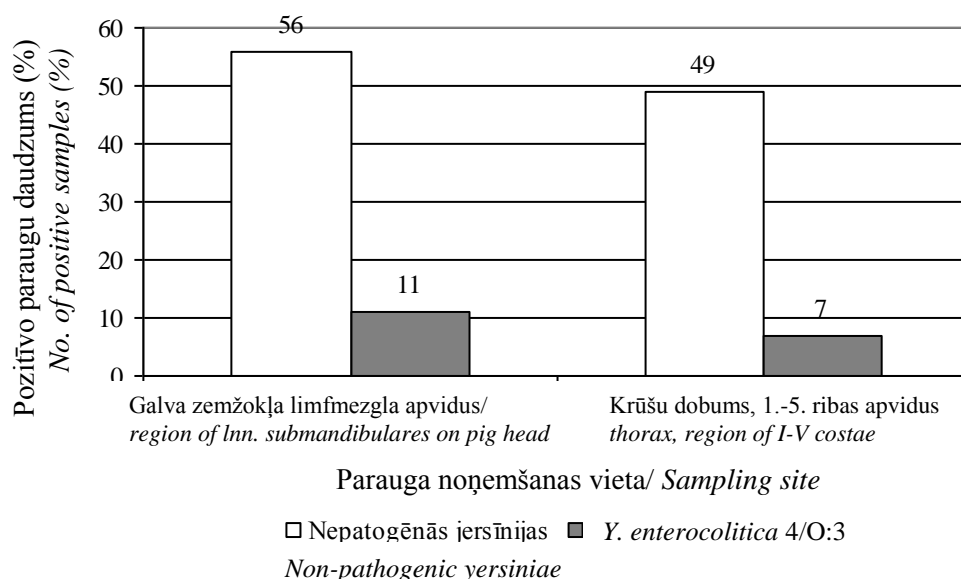
^c - nepatogēno jersīniju sastopamība uz liemeņiem un plūčiem bija būtiski augstāka nekā patogēno jersīniju sastopamība ($p < 0.05$) / *the prevalence of non-pathogenic yersiniae on carcasses and plucks was significantly higher than the prevalence of pathogenic yersiniae ($p < 0.05$)*

Vislielākais nepatogēno jersīniju pozitīvo paraugu skaits tika izolēts no plūču virsmām, kur 73 paraugi bija pozitīvi. Savukārt, viszemākais nepatogēno jersīniju pozitīvo paraugu skaits tika identificēts uz liemeņiem, kur 47 paraugi bija pozitīvi. Jāatzīmē, ka atšķirības nepatogēno jersīniju sastopamībā uz liemeņiem un plūčiem bija būtiskas ($p < 0.05$).

Vislielākais patogēno jersīniju pozitīvo paraugu skaits tika identificēts uz plūču virsmām, kur jersiniozes ierosinātāju klātbūtne konstatēta 51 paraugā. Vismazākais patogēno jersīniju pozitīvo paraugu skaits tika izolēts no liemeņu virsmām, kur astoņi paraugi uzrādīja jersiniozes ierosinātāju klātbūtni. Tomēr būtiskas atšķirības starp jersiniozes ierosinātāju sastopamību liemeņu un plūču virsmu paraugos netika konstatētas ($p > 0.05$). Kopumā nepatogēno jersīniju sastopamība paraugos no liemeņu un plūču virsmām bija būtiski augstāka nekā patogēno jersīniju sastopamība ($p < 0.05$).

Liemeņu un plūču virsmu paraugos bija sastopamas četras nepatogēnās - *Y. enterocolitica* biotips 1A, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia* un *Y. kristensenii* un divas patogēnās – *Y. enterocolitica* 4/O:3 un *Y. pseudotuberculosis* jersīniju sugas. Jāatzīmē, ka visām *Y. enterocolitica* 4/O:3 kultūrām konstatējām *ail* gēna klātbūtni, kas norāda, ka no liemeņiem un plūčiem izolētas kultūras ir cilvēkiem patogēnās. Nepatogēnās jersīnijas ir plaši izplatītas apkārtējā vidē, līdz ar to tās varēja nokļūt uz liemeņiem un plūčiem to primārās apstrādes laikā. Savukārt, kontaminācija ar patogēnām jersīnijām varēja rasties cūku kaušanas laikā no *Y. enterocolitica* 4/O:3 vai *Y. pseudotuberculosis* pozitīvām aukslēju mandelēm. Nepatogēno un patogēno jersīniju klātbūtni liemeņos un plūčos ir aprakstījuši arī citi pētnieki, un tas saskan ar mūsu pētījuma rezultātiem (Aldová, Svandová, 1984, Harmon et al., 1984, Fukushima 1985, Fredriksson-Ahomaa et al., 2004, Bonardi et al., 2007, Laukkanen et al., 2009).

Nepatogēnās jersīnijas un *Y. enterocolitica* 4/O:3 izolējām no cūku liemeņu virsmām galvas zemžokļa limfmezgla apvidū un no krūšu dobuma 1.-5. ribas apvidū (2. attēls).



2. att. Nepatogēno jersīniju un *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 sastopamība uz cūku liemeņu virsmām

Fig. 2. The prevalence of non-pathogenic yersiniae and *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 on pig carcasses

Nepatogēnās jersīnijas tika izolētas no galvas zemžokļa limfmezgla apvidus un krūšu dobuma 1.-5. ribas apvidus virsmu paraugiem biežāk nekā patogēnās. Savukārt, nepatogēno jersīniju sastopamība galvas zemžokļa limfmezgla apvidū (56%) bija augstāka nekā nepatogēno jersīniju sastopamība krūšu dobuma 1.-5. ribas apvidū (49%). Arī

Y. enterocolitica 4/O:3 klātbūtne galvas zemžokļa limfmezgla apvidū (11%) bija novērota biežāk nekā krūšu dobuma 1.-5. ribas apvidū (7%).

Jersīnijas tika izolētas no cūku liemeņu virsmām kautuvēs A, B un C. Nepatogēno jersīniju klātbūtne tika konstatēta galvas zemžokļa limfmezgla un krūšu dobuma 1.-5. ribas apvidus virsmu paraugos kautuvēs A, B un C. *Y. enterocolitica* 4/O:3 tika izolēta no galvas zemžokļa limfmezgla apvidus un krūšu dobuma 1.-5. ribas apvidus virsmu paraugiem kautuvē A un no galvas zemžokļa limfmezgla apvidus virsmu paraugiem kautuvē B. *Y. enterocolitica* 4/O:3 klātbūtni nekonstatējām galvas zemžokļa limfmezgla apvidus paraugos kautuvē C un krūšu dobuma 1.-5. ribas apvidus virsmu paraugos kautuvēs B un C.

Nepatogēno jersīniju un *Y. enterocolitica* 4/O:3 pozitīvo paraugu skaits cūku liemeņu virsmu paraugos ir parādīts 4. tabulā.

4. tabula/ Table 4

Nepatogēno jersīniju un *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 pozitīvo paraugu skaits cūku liemeņu virsmu paraugos kautuvēs A, B un C

An amount of non-pathogenic yersiniae and Yersinia enterocolitica 4/O:3 positive pig carcass samples in slaughterhouses A, B and C

Paraugu veids/ <i>Sampling site</i>	Kautuve/ <i>Slaughterhouse</i>								
	A			B			C		
	Pozitīvo paraugu skaits (%) / <i>No. of positive samples (%)</i>								
	Paraugu skaits/ <i>No. of samples</i>	Nepatogēnās jersīnijas/ <i>Non-</i> <i>pathogenic yersiniae</i>	<i>Y. enterocolitica</i> 4/O:3	Paraugu skaits/ <i>No. of samples</i>	Nepatogēnās jersīnijas/ <i>Non-</i> <i>pathogenic yersiniae</i>	<i>Y. enterocolitica</i> 4/O:3	Paraugu skaits/ <i>No. of samples</i>	Nepatogēnās jersīnijas/ <i>Non-</i> <i>pathogenic yersiniae</i>	<i>Y. enterocolitica</i> 4/O:3
Galva zemžokļa limfmezgla apvidus/ <i>Head, lnn.</i> <i>submandibulares</i> <i>regio</i>	15	5 (33)	4 (27)	15	10 (67)	1 (7)	15	10 (67)	0 (0)
Krūšu dobums 1.- 5. ribas apvidus/ <i>Thorax, I-V</i> <i>costae</i>	15	5 (33)	3 (20)	15	9 (60)	0 (0)	15	8 (53)	0 (0)
Kopā/ <i>Total</i>	30	10 (33) ^a	7 (23)	30	19 (63) ^a	1 (3)	30	18 (60) ^a	0 (0)

^a – būtiskas atšķirības nepatogēno jersīniju sastopamībā starp kautuvēm A, B un C netika konstatētas ($p > 0.05$) / *significant differences in the prevalence of non-pathogenic yersiniae between slaughterhouses A, B and C were not observed ($p > 0.05$)*

^b – būtiskas atšķirības starp nepatogēno jersīniju un *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamību cūku liemeņos kautuvē A netika konstatētas ($p > 0.05$) / *significant differences between the prevalence of non-pathogenic yersiniae and Y. enterocolitica 4/O:3 on pig carcasses in slaughterhouse A were not identified ($p > 0.05$)*

Vislielākais nepatogēno jersīniju pozitīvo paraugu skaits uz cūku liemeņu virsmām tika konstatēts kautuvē B, kur 19 no 30 paraugiem bija pozitīvi. Viszemākais nepatogēno jersīniju pozitīvo paraugu skaits uz cūku liemeņu virsmām tika novērots kautuvē A, kur 10

no 30 paraugiem uzrādīja nepatogēno jersīniju klātbūtni. Tomēr būtiskas atšķirības nepatogēno jersīniju sastopamībā starp kautuvēm A, B un C netika konstatētas ($p > 0.05$). Savukārt, vislielākais *Y. enterocolitica* 4/O:3 pozitīvo paraugu skaits bija kautuvē A, kur septiņi no 30 paraugiem bija pozitīvi. Viszemākais *Y. enterocolitica* 4/O:3 pozitīvo paraugu skaits tika identificēts kautuvē B, kur vienā no 30 paraugiem bija konstatēta jersiniozes ierosinātāja klātbūtne.

Analizējot kaušanas procesa norisi iepriekšminētajās kautuvēs, konstatējām, ka daļa no aukslēju mandeļu audiem palika pie liemeņa pēc eviscerācijas kautuvē A. Ņemot vērā, ka cūkas Latvijā pārnēsā *Y. enterocolitica* 4/O:3 aukslēju mandelēs, jersiniozes ierosinātājs no primārās lokalizācijas vietas varēja nokļūt uz citām liemeņa daļām, arī zemžokļa limfmezgla apvidū krusteniskās kontaminācijas rezultātā no aukslēju mandelēm. Arī Nesbakken (1988) un Borch et al. (1996) ziņoja, ka rīkles audu atdalīšana kopā ar aukslēju mandelēm parasti notiek eviscerācijas laikā, tomēr mandeļu un rīkles audi var netikt atdalīti pilnībā. Aukslēju mandeļu neatdalīšana varēja veicināt jersiniozes ierosinātāja nokļūšanu uz blakusesošajiem audiem, arī zemžokļa limfmezgla apvidū (Nesbakken et al., 2003).

Jersīniju klātbūtne konstatēta arī uz plūčiem. Nepatogēnās jersīnijas no plūčiem tika izolētas no mēlēm, plaušu kraniālām daivām, plaušu kaudālām daivām, sirdīm, diafragmām, aknām un nierēm. Arī patogēnās jersīnijas tika konstatētas uz mēlēm, plaušu kraniālām daivām, plaušu kaudālām daivām, sirdīm, diafragmām, aknām un nierēm.

Y. enterocolitica 4/O:3 sastopamība plūčos bija 14%, kur 45 no 315 paraugiem tika konstatēta jersiniozes ierosinātāja klātbūtne. Savukārt, *Y. pseudotuberculosis* sastopamība bija 2%, kur seši no 315 paraugiem bija pozitīvi (5. tabula).

***Yersinia enterocolitica* 4/O:3 un *Yersinia pseudotuberculosis*
pozitīvo paraugu skaits plūčos**

***Number of Yersinia enterocolitica* 4/O:3 and *Yersinia pseudotuberculosis*
positive pluck samples**

Parauga ņemšanas vieta/ <i>Sampling site</i>	Paraugu skaits/ <i>No. of samples</i>	Pozitīvo paraugu skaits (%) / <i>No. of positive samples (%)</i>	
		<i>Y. enterocolitica</i> 4/O:3	<i>Y. pseudotuberculosis</i>
Mēle/ <i>Tongue</i>	45	17 (38) ^a	0 (0)
Plaušu kraniālā daiva/ <i>Lung, lobus craniales</i>	45	5 (11)	2 (4)
Plaušu kaudālā daiva/ <i>Lung, lobus caudales</i>	45	3 (7)	0 (0)
Sirds/ <i>Heart</i>	45	6 (13)	1 (2)
Diafragma/ <i>Diaphragm</i>	45	4 (9)	0 (0)
Aknas/ <i>Liver</i>	45	7 (15)	3 (7)
Nieres/ <i>Kidney</i>	45	3 (7)	0 (0)
Kopā/ <i>Total</i>	315	45 (14) ^b	6 (2) ^b

^a – *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība uz mēlēm bija būtiski augstāka nekā *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība uz plaušām, sirdīm, diafragmām, aknām un nierēm ($p < 0.05$) / *The prevalence of Y. enterocolitica* 4/O:3 on tongues was significantly higher than on lungs, lobus craniales et caudales, hearts, diaphragms, livers and kidneys ($p < 0.05$)

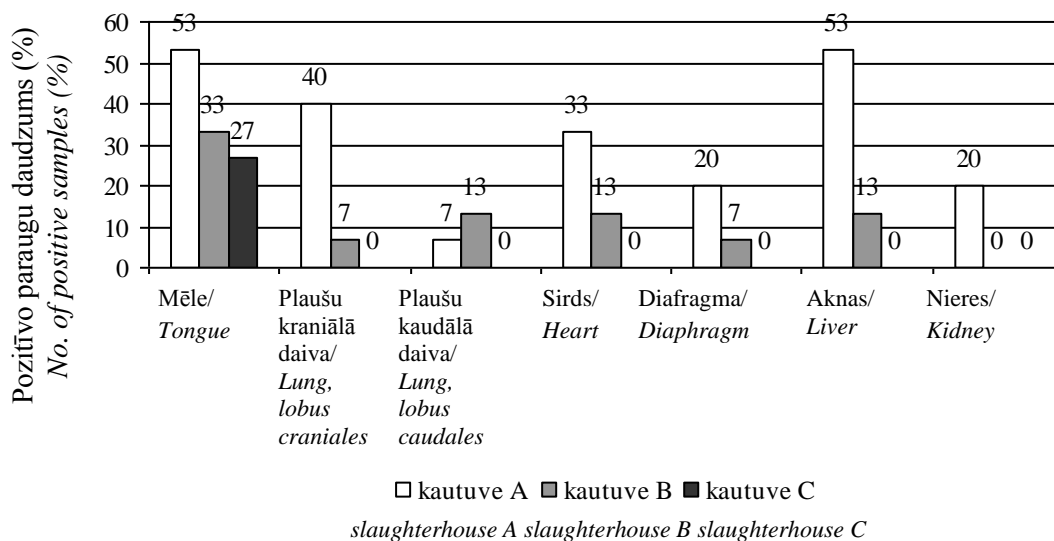
^b – *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība plūčos bija būtiski augstāka nekā *Y. pseudotuberculosis* sastopamība ($p < 0.01$) / *The prevalence of Y. enterocolitica* 4/O:3 on plucks was significantly higher than the prevalence of *Y. pseudotuberculosis* ($p < 0.01$)

Vislielākais *Y. enterocolitica* 4/O:3 pozitīvo paraugu skaits tika konstatēts uz mēlēm, kur 17 no 45 paraugiem bija pozitīvi. Viszemākais *Y. enterocolitica* 4/O:3 pozitīvo paraugu skaits tika novērots uz plaušu kaudālām daivām un nierēm, kur trijos no 45 paraugiem, katrā paraugu ņemšanas vietā tika konstatēta *Y. enterocolitica* 4/O:3 klātbūtne. Jāatzīmē, ka atšķirības *Y. enterocolitica* 4/O:3 izplatībā bija būtiskas un jersiniozes ierosinātāja sastopamība uz mēlēm bija būtiski augstāka nekā uz plaušām, sirdīm, diafragmām, aknām un nierēm ($p < 0.05$).

Vislielākais *Y. pseudotuberculosis* pozitīvo paraugu skaits (trīs no 45) tika konstatēts uz aknām, turpretim viszemākais – uz sirdīm (viens no 45 paraugiem pozitīvs). Kopumā *Y. enterocolitica* 4/O:3 pozitīvo paraugu daudzums plūčos bija būtiski augstāks nekā *Y. pseudotuberculosis* pozitīvo paraugu daudzums ($p < 0.01$).

Visaugstākā *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība uz mēlēm, salīdzinājumā ar citām paraugu ņemšanas vietām, aprakstīta arī Fredriksson-Ahomaa et al. (2001^a) pētījumā. Ja cūka ir patogēno jersīniju pārnēsātāja, tad tās mutes dobums parasti ir kontaminēts ar patogēnām jersīnijām (Nesbakken et al., 1988). Šo apsvērumu dēļ, uz cūku mēlēm novērojām visaugstāko *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamību salīdzinājumā ar citām paraugu ņemšanas vietām. *Y. enterocolitica* 4/O:3 tika izolēta no cūku mēlēm kautuvēs arī citu autoru pētījumos (Nesbakken et al., 1988, Fredriksson-Ahomaa et al., 2001^a).

Patogēnās jersīnijas tika izolētas no plūčiem kautuvēs A, B un C. Jersiniozes ierosinātāji tika konstatēti uz mēlēm, plaušu kraniālām daivām, plaušu kaudālām daivām, sirdīm, diafragmām, aknām un nierēm kautuvē A. Patogēno jersīniju klātbūtne tika identificēta uz mēlēm, plaušu kraniālām daivām, plaušu kaudālām daivām, sirdīm, diafragmām un aknām kautuvē B, kā arī uz mēlēm kautuvē C. Patogēnās jersīnijas netika izolētas no nieru virsmu paraugiem kautuvē B, kā arī no plaušu kraniālo daivu, plaušu kaudālo daivu, siržu, diafragmu, aknu un nieru paraugiem kautuvē C (3. attēls).

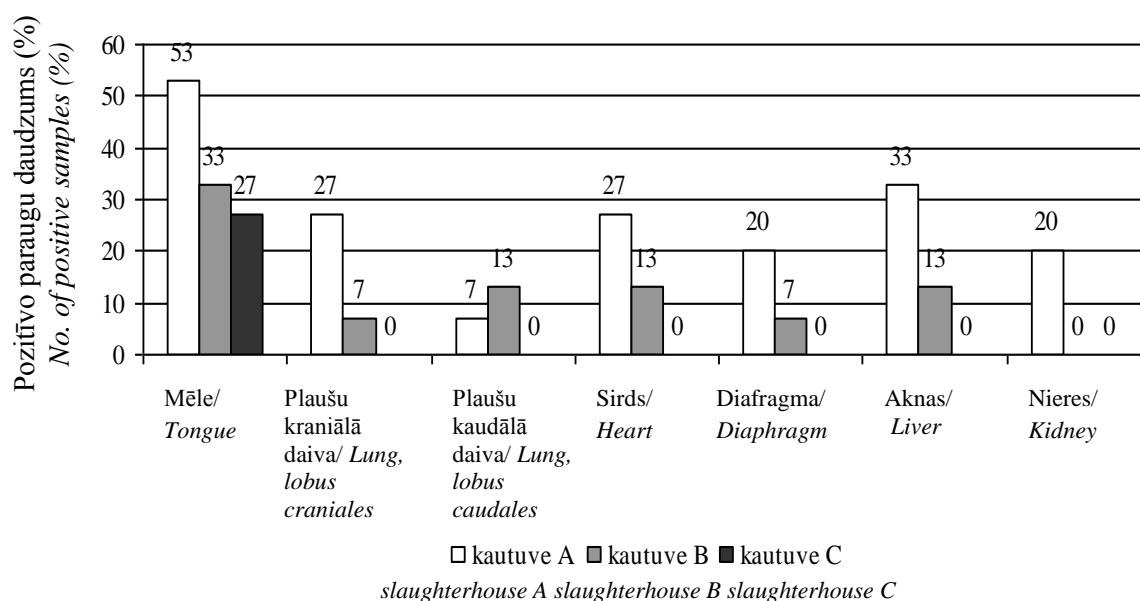


3. att. Patogēno jersīniju sastopamība plūčos kautuvēs A, B un C

Fig. 3. The prevalence of pathogenic yersiniae on plucks in slaughterhouses A, B and C

Visaugstākā patogēno jersīniju sastopamība uz mēlēm (53%), plaušu kraniālām daivām (40%), sirdīm (33%), diafragmām (20%), aknām (53%) un nierēm (20%) bija kautuvē A. Savukārt, viszemākā patogēno jersīniju sastopamība uz mēlēm (27%) bija kautuvē C, bet uz plaušu kraniālām daivām (7%), plaušu kaudālām daivām (13%), sirdīm (13%), diafragmām (7%) un aknām (13%) - kautuvē B.

No patogēnām jersīniju sugām *Y. enterocolitica* 4/O:3 tika izolēta no mēlēm, plaušu kraniālām daivām, plaušu kaudālām daivām, sirdīm, diafragmām, aknām un nierēm kautuvē A, kā arī no mēlēm, plaušu kraniālām daivām, plaušu kaudālām daivām, sirdīm, diafragmām un aknām kautuvē B. *Y. enterocolitica* 4/O:3 tika konstatēta tikai uz mēlēm kautuvē C. Jersiniozes ierosinātāja klātbūtne netika konstatēta uz nierēm kautuvē B, kā arī uz plaušu kraniālām daivām, plaušu kaudālām daivām, sirdīm, diafragmām, aknām un nierēm kautuvē C (4. att.).



4. att. *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 sastopamība plūčos kautuvēs A, B un C

Fig. 4. The prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 on plucks in slaughterhouses A, B and C

Visaugstākā *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība tika konstatēta uz mēlēm (53%), plaušu kraniālām daivām (27%), sirdīm (27%), diafragmām (20%), aknām (33%) un nierēm (20%) kautuvē A. Savukārt, visaugstākā jersiniozes ierosinātāja sastopamība uz plaušu kaudālām daivām (13%) bija kautuvē B. Viszemākā *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība tika novērota uz mēlēm (27%) kautuvē C, bet uz plaušu kraniālām daivām (7%), sirdīm (13%), diafragmām (7%) un aknām (13%) kautuvē B. Viszemākā jersiniozes ierosinātāja sastopamība uz plaušu kaudālām daivām (7%) bija kautuvē A.

Otra patogēnā jersīniju suga - *Y. pseudotuberculosis* tika izolēta no plaušu kraniālām daivām, sirdīm un aknām kautuvē A, bet jersiniozes ierosinātāja klātbūtni nekonstatējām uz mēlēm, plaušu kraniālām daivām, diafragmām un nierēm. *Y. pseudotuberculosis* netika izolēta no plūčiem kautuvēs B un C. Visaugstāko *Y. pseudotuberculosis* sastopamību kautuvē A novērojām uz aknām (20%). Salīdzinoši zemāka jersiniozes ierosinātāja sastopamība bija uz plaušu kraniālām daivām (13%), bet viszemākā – uz sirdīm (7%).

Kopumā *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība cūku plūčos un liemeņos kautuvē A bija būtiski augstāka nekā kautuvēs B un C ($p < 0.05$). Tas norāda, ka pastāv arī uzņēmumu iekšējie faktori, kuri var ietekmēt patogēno jersīniju nokļūšanu liemeņos un plūčos. Ņemot vērā, ka galvenais patogēno jersīniju avots liemeņu un plūču kontaminācijai ir cūku aukslēju mandeles (Fredriksson-Ahomaa et al., 2000^b, Fredriksson-Ahomaa et al., 2001^a, Laukkanen et al., 2009), to izņemšana ar plūčiem, kā tas notika kautuvē A, var veicināt patogēna nokļūšanu uz liemeņiem un plūčiem. Viszemāko patogēno jersīniju sastopamību mēs novērojām cūku plūčos un liemeņos kautuvēs B un C, kur plūču izņemšana notika vairākos posmos, pakāpeniski atdalot audus vai orgānus, vai atstājot atsevišķus orgānus vai audus (diafragma un nieres) pie liemeņa.

Arī citi pētnieki norādīja, ka aukslēju mandeļu atdalīšanai un plūču izņemšanas tehnikai ir ietekme uz patogēno jersīniju izplatību plūčos un liemeņos (Andersen et al., 1991, Christensen, Lüthje, 1994). Andersen et al. (1991) konstatēja, ka *Y. enterocolitica*

4/O:3 sastopamība diafragmas audos palielinās veicot plūču izņemšanu ar mēli un aukslēju mandelēm. Savukārt, *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība diafragmas audos samazinājās atdalot mēli un aukslēju mandeles no plūču komplekta, pirms tie saskaras ar diafragmu (Andersen et al., 1991).

Patogēnās jersīnijas kautuvju vidē

Jersīnijas tika izolētas no kautuvju vides paraugiem un to sastopamība bija 55%, no tiem nepatogēno jersīniju sastopamība bija 52% un patogēno jersīniju sastopamība 3% (6. tabula).

6.tabula/Table 6

Nepatogēnās un patogēnās jersīnijas kautuvju vidē

Non-pathogenic and pathogenic yersiniae in environment of the slaughterhouse

Parauga ņemšanas vieta/ <i>Sampling site</i>	Paraugu Skaitis/ <i>No. of samples</i>	Pozitīvo paraugu skaits (%)/ <i>No. of positive samples (%)</i>	
		Nepatogēnās jersīnijas/ <i>Non-pathogenic yersiniae</i>	Patogēnās jersīnijas/ <i>Pathogenic yersiniae</i>
<i>Uzņēmuma telpas un aprīkojums/ Plant rooms and equipment</i>			
Darba virsma/ <i>Work surface</i>	5	3 (60)	1 (20)
Durvis/ <i>Door</i>	4	2 (50)	0 (0)
Darba piederumu galds/ <i>Table for work equipment</i>	3	2 (67)	0 (0)
Grīda kaušanas zālē/ <i>Floor in the slaughterhouse hall</i>	12	6 (50)	1 (8)
Izlietne/ <i>Sink</i>	4	4 (100)	0 (0)
Kastes kautproduktiem/ <i>Box for slaughter products</i>	7	1 (14)	0 (0)
Veterinārās ekspertīzes veikšanas platformas grīda/ <i>Floor of meat inspection platform</i>	4	4 (100)	0 (0)
<i>Darba rīki/ Work tools</i>			
Aukstuma kastes/ <i>Box for cold storage</i>	4	2 (50)	0 (0)
Āķis/ <i>Hook</i>	5	1 (20)	0 (0)
Nazis/ <i>Knife</i>	4	0 (0)	0 (0)
<i>Darba apģērbs/ Work cloths</i>			
Cimdi/ <i>Gloves</i>	4	1 (25)	0 (0)
Priekšauts/ <i>Apron</i>	4	3 (75)	0 (0)
Darba apavi/ <i>Footwear</i>	4	4 (100)	0 (0)
Kopā/ <i>Total</i>	64	33 (52)	2 (3)

Visaugstākā nepatogēno jersīniju sastopamība (100%) tika konstatēta uz izlietnēm, veterinārās ekspertīzes veikšanas platformu grīdām un darba apavu virsmu paraugos. Viszemākā nepatogēno jersīniju sastopamība (14%) tika novērota uz kautproduktu kastēm. Visizplatītākās patogēnās jersīnijas bija uz darba virsmām, un to sastopamība bija 20%. Savukārt, visretāk patogēnās jersīnijas tika izolētas no kaušanas zāles grīdām, un to sastopamība bija 8%.

Kopumā visaugstākā jersīniju sastopamība (67%) bija darba apģērba paraugos, kur astoņi no 12 paraugiem bija pozitīvi. Viszemākā jersīniju sastopamība tika konstatēta darba rīku paraugos (33%), kur trīs no deviņiem paraugiem bija pozitīvi.

Kautuvju vides paraugos bija sastopamas četras nepatogēnās - *Y. enterocolitica* biotips 1A, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia* un *Y. kristensenii* un viena patogēnā – *Y. enterocolitica* 4/O:3 jersīniju sugas.

Nepatogēnās jersīnijas ir plaši izplatītas apkārtējā vidē, līdz ar to, nepatogēno jersīniju nokļūšanu uzņēmumu vidē var sekmēt vairāki faktori – dzīvnieku higiēna, telpu higiēnas uzturēšanas procedūru kvalitāte, dzīvnieku kautproduktu primārās pārstrādes higiēnas kvalitāte. Iepriekšminētie faktori var ietekmēt arī telpu un iekārtu higiēnas stāvokli kopumā (Gill, Jones, 1995, Sammarco et al., 1997). Nepatogēnās jersīnijas no kautuvju vides paraugiem tika izolētas arī iepriekšējos pētījumos (Gill, Jones, 1995, Sammarco et al., 1997).

Y. enterocolitica 4/O:3 var izplatīties kautuves vidē krusteniskās kontaminācijas rezultātā no nokauto *Y. enterocolitica* 4/O:3 pozitīvo dzīvnieku aukslēju mandelēm un kontaminētiem liemeņiem un plūčiem (Fredriksson-Ahomaa et al., 2000^b). Nesbakken (1988) un Fredriksson-Ahomaa et al. (2000^b) ir konstatējuši *Y. enterocolitica* 4/O:3 klātbūtni kautuves paraugos no kaušanas zāles grīdas un darba virsmām, kas atbilst mūsu pētījuma rezultātiem par piesārņojuma lokalizāciju kautuvju vidē.

Nepatogēnās jersīnijas kautuvju vides paraugos tika konstatētas uzņēmumos A, B un C, savukārt, patogēnās jersīnijas no vides paraugiem tika izolētas tikai kautuvē A (7. tabula).

**Nepatogēno jersīniju un *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 pozitīvo paraugu skaits
ražošanas vides paraugos kautuvēs A, B un C**

*Number of non-pathogenic yersiniae and Yersinia enterocolitica 4/O:3 positive samples
in the plant environment in slaughterhouses A, B and C*

Kautuve/ <i>Slaughterhouse</i>	Paraugu skaits/ <i>No. of samples</i>	Pozitīvo paraugu skaits (%)/ <i>No. of positive samples (%)</i>	
		Nepatogēnās jersīnijas/ <i>Non- pathogenic yersiniae</i>	<i>Y. enterocolitica</i> 4/O:3
A	19	10 (53) ^a	2 (11)
B	26	14 (54) ^a	0 (0)
C	19	9 (47) ^a	0 (0)
Kopā/ <i>Total</i>	64	33 (52) ^a	2 (3)

^a - atšķirības nepatogēno jersīniju pozitīvo paraugu daudzumā starp kautuvēm A, B un C nebija būtiskas ($p>0.01$)/ *differences in the amount of non-pathogenic yersiniae positive samples between slaughterhouses A, B and C were not significant ($p>0.01$)*

Vislielākais nepatogēno jersīniju pozitīvo paraugu skaits (14 no 26 paraugiem pozitīvi) tika konstatēts kautuvē B. Viszemākais nepatogēno jersīniju pozitīvo paraugu skaits tika novērots kautuvē C (deviņi no 19 paraugiem bija pozitīvi). Tomēr atšķirības nepatogēno jersīniju sastopamībā starp kautuvēm A, B un C nebija būtiskas ($p>0.01$). *Y. enterocolitica* 4/O:3 no uzņēmuma vides paraugiem izolējām tikai kautuvē A (divi no 19 paraugiem bija pozitīvi).

Nepatogēnās jersīnijas izolējām no darba virsmām, darba piederumu galda, kaušanas zāles grīdām, izlietnēm, aukstuma kastes, cimdiem, priekšautiem un darba apaviem kautuvē A. Savukārt, nepatogēnās jersīnijas nekonstatējām durvju, kautproduktu kastes, āķa un nažu paraugos kautuvē A. Nepatogēno jersīniju klātbūtne kautuvē B identificējām darba virsmu, durvju, darba piederumu galda, kaušanas zāles grīdu, izlietnes, veterinārās ekspertīzes veikšanas platformas grīdām, āķu, priekšauta un darba apavu paraugos. Tomēr nepatogēnās jersīnijas netika izolētas kautuvē B, izmeklējot kautproduktu kastes, aukstuma kastes, naža un darba cimdu paraugus. Nepatogēnās jersīnijas tika konstatētas paraugos no kaušanas zāles grīdām, izlietnes, kautproduktu kastēm, veterinārās ekspertīzes veikšanas platformas grīdām, aukstuma kastēm, priekšauta un darba apaviem kautuvē C. Nepatogēnās jersīnijas netika izolētas no durvju, darba instrumentiem galda, āķu, naža un cimdu paraugiem kautuvē C (8. tabula).

Nepatogēnās jersīnijas ražošanas vides paraugos kautuvēs A, B un C

Non-pathogenic yersiniae in environment in the slaughterhouses A, B and C

Parauga noņemšanas vieta/ <i>Sampling site</i>	Paraugu skaits/ pozitīvo paraugu skaits (%)/ <i>No. of samples/ No. of positive samples (%)</i>		
	Kautuve/ <i>Slaughterhouse</i>		
	A	B	C
Uzņēmuma telpas un aprīkojums/ <i>Plant rooms and equipment</i>			
Darba virsma/ <i>Work surface</i>	3/ 1 (33)	2/ 2 (100)	N
Durvis/ <i>Door</i>	1/ 0 (0)	2/ 2 (100)	1/ 0 (0)
Darba piederumu galds/ <i>Table for work equipment</i>	1/ 1 (100)	1/ 1 (100)	1/ 0 (0)
Grīda kaušanas zālē/ <i>Floor in the slaughterhouse hall</i>	2/ 1 (50)	6/ 3 (50)	3/ 2 (66)
Izlietne/ <i>Sink</i>	2/ 2 (100)	1/ 1 (100)	1/ 1 (100)
Kaste kautproduktiem/ <i>Box for slaughter products</i>	1/ 0 (0)	3/ 0 (0)	3/ 1 (33)
Veterinārās ekspertīzes veikšanas platformas grīda/ <i>Floor of meat inspection platform</i>	N	2/ 2 (100)	2/ 2 (100)
Darba rīki/ <i>Work tools</i>			
Aukstuma kaste/ <i>Box for cold storage</i>	1/ 1 (100)	2/ 0 (0)	1/ 1 (100)
Āķis/ <i>Hook</i>	1/ 0 (0)	2/ 1 (50)	2/ 0 (0)
Nazis/ <i>Knife</i>	2/ 0 (0)	1/ 0 (0)	1/ 0 (0)
Darba apģērbs/ <i>Work cloths</i>			
Cimdi/ <i>Gloves</i>	1/ 1 (100)	2/ 0 (0)	1/ 0 (0)
Priekšauts/ <i>Apron</i>	2/ 1 (50)	1/ 1 (100)	1/ 1 (100)
Darba apavi/ <i>Footwear</i>	2/ 2 (100)	1/ 1 (100)	1/ 1 (100)
Kopā/ <i>Total</i>	19/ 10 (53)	26/ 14 (54)	19/ 9 (47)

N – paraugi netika noņemti/ *samples were not collected*

Visaugstākā nepatogēno jersīniju sastopamība (100%) tika konstatēta darba piederumu galda, izlietņu, aukstuma kastes, cimdu un darba apavu paraugos kautuvē A. Savukārt, viszemākā nepatogēno jersīniju sastopamība (33%) kautuvē A bija darba virsmu paraugos. Visaugstākā nepatogēno jersīniju sastopamība (100%) kautuvē B bija darba virsmu, durvju, darba piederumu galda, izlietnes, veterinārās ekspertīzes veikšanas platformas grīdu, priekšauta un darba apavu paraugos. Vismazāk izplatītas nepatogēnās jersīnijas bija kaušanas zāles grīdu un āķu paraugos, un to sastopamība bija 50% kautuvē B. Visaugstākā nepatogēno jersīniju sastopamība (100%) kautuvē C bija izlietnes, veterinārās ekspertīzes veikšanas platformas grīdu, aukstuma kastes, priekšauta un darba apavu paraugos. Savukārt, viszemākā nepatogēno jersīniju sastopamība (33%) bija kautproduktu kastēs paraugos kautuvē C.

Augsta nepatogēno jersīniju sastopamība paraugos no darba apgērba norāda uz to, ka kautuves darbinieki potenciāli var izplatīt mikrobiālo piesārņojumu uz liemeņiem un plūčiem, tāpēc uzņēmuma darbiniekiem ir jāseko līdzi sava darba apgērba tīrībai un higiēnai. Vajadzības gadījumā priekšauti un darba apavi ir papildus jāmaina vai jāmazgā - novēršot tālāku piesārņojuma izplatību. Savukārt, zema patogēno jersīniju sastopamība uz darba instrumentiem norāda uz efektīvu to mazgāšanu un tīrīšanu, darba laikā atbrīvojoties no mikrobiālā piesārņojuma, tai skaitā no tajā sastopamajām jersīnijām. Arī Sammarco et al. (1997) ir konstatējis augstu jersīniju sastopamību kautuves vides paraugos, kas saskan ar mūsu pētījumu rezultātiem.

Y. enterocolitica 4/O:3 tika izolēta no darba virsmas un kaušanas zāles grīdas parauga kautuvē A, bet netika konstatēta durvju, darba instrumentu galda, izlietņu, kautproduktu kastes, aukstuma kastes, āķu, nažu, cimdu, priekšautu un darba apavu paraugos kautuvē A. *Y. enterocolitica* 4/O:3 klātbūtne netika identificēta darba virsmu, durvju, darba instrumentu galdu, kaušanas zāles grīdu, izlietņu, kautproduktu kastēs, aukstuma kastēs, veterinārās ekspertīzes veikšanas platformas grīdu, āķa, nažu, cimdu, priekšautu un darba apavu paraugos kautuvēs B un C (9. tabula).

9. tabula/ Table 9

Patogēnās jersīnijas ražošanas vides paraugos kautuvēs A, B un C

Pathogenic yersiniae in environment in the slaughterhouses A, B and C

Parauga noņemšanas vieta/ <i>Sampling site</i>	Paraugu skaits/ pozitīvo paraugu skaits (%) <i>No. of samples/ No. of positive samples (%)</i>		
	Kautuve/ <i>Slaughterhouse</i>		
	A	B	C
<i>Uzņēmuma telpas un aprīkojums/ Plant rooms and equipment</i>			
Darba virsma/ <i>Work surface</i>	3/ 1 (33)	2/ 0 (0)	N
Durvis/ <i>Door</i>	1/ 0 (0)	2/ 0 (0)	1/ 0 (0)
Darba piederumu galds/ <i>Table for work equipment</i>	1/ 0 (0)	1/ 0 (0)	1/ 0 (0)
Grīda kaušanas zālē/ <i>Floor in the slaughterhouse hall</i>	2/ 1 (50)	6/ 0 (0)	3/ 0 (0)
Izlietne/ <i>Sink</i>	2/ 0 (0)	1/ 0 (0)	1/ 0 (0)
Kaste kautproduktiem/ <i>Box for slaughter products</i>	1/ 0 (0)	3/ 0 (0)	3/ 0 (0)
Veterinārās ekspertīzes veikšanas platformas grīda/ <i>Floor of meat inspection platform</i>	N	2/ 0 (0)	2/ 0 (0)
<i>Darba rīki/ Work tools</i>			
Aukstuma kaste/ <i>Box for cold storage</i>	1/ 0 (0)	2/ 0 (0)	1/ 0 (0)
Āķis/ <i>Hook</i>	1/ 0 (0)	2/ 0 (0)	2/ 0 (0)
Nazis/ <i>Knife</i>	2/ 0 (0)	1/ 0 (0)	1/ 0 (0)

9.tabulas nobeigums/*Continue of Table 9*

Parauga noņemšanas vieta/ <i>Sampling site</i>	Paraugu skaits/ pozitīvo paraugu skaits (%) <i>No. of samples/ No. of positive samples (%)</i>		
	Kautuve/ <i>Slaughterhouse</i>		
	A	B	C
Darba apģērbs/ <i>Work cloths</i>			
Cimdi/ <i>Gloves</i>	1/ 0 (0)	2/ 0 (0)	1/ 0 (0)
Priekšauts/ <i>Apron</i>	2/ 0 (0)	1/ 0 (0)	1/ 0 (0)
Darba apavi/ <i>Footwear</i>	2/ 0 (0)	1/ 0 (0)	1/ 0 (0)
Kopā/ <i>Total</i>	19/ 2 (11)	26/ 0 (0)	19/ 0 (0)

N – paraugi netika noņemti/*samples were not collected*

Visaugstākā *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība (50%) konstatēta kaušanas zāles grīdas paraugā, bet viszemākā *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība (33%) darba virsmas paraugā kautuvē A.

Darba virsma, no kuras izolējām *Y. enterocolitica* 4/O:3 bija paredzēta subproduktu primārai apstrādei, atdalot tos no plūčiem. Tāpēc *Y. enterocolitica* 4/O:3 varēja nokļūt uz darba virsmas tiešā kontakta veidā no subproduktiem. Arī *Y. enterocolitica* 4/O:3 kaušanas zāles pozitīvs grīdas paraugs tika noņemts zem plūču pārstrādes līnijas, un iespējams, ka patogēns ir nokļuvis uz kaušanas zāles grīdas no kontaminētiem plūčiem ar asinīm un ūdeni kautuvē A.

***Y. enterocolitica* 4/O:3 un *Y. pseudotuberculosis* izolēšana no cūku aukslēju mandelēm, liemeņu un plūču paraugiem, izmantojot dažādas testēšanas metodes**

Y. enterocolitica 4/O:3 no cūku aukslēju mandeļu paraugiem tika izolēta, izmantojot tiešo pārsēšanu, selektīvo bagātināšanu un auksto bagātināšanu. *Y. pseudotuberculosis* klātbūtne cūku aukslēju mandelēs tika konstatēta, pielietojot aukstās bagātināšanas metodi, bet jersiniozes ierosinātāja klātbūtni nekonstatējām tiešās pārsēšanas un aukstās bagātināšanas rezultātā.

Y. enterocolitica 4/O:3 tika izolēta no cūku aukslēju mandelēm, izmantojot tiešo pārsēšanu, selektīvo bagātināšanu, 7, 14 un 21 dienu aukstās bagātināšanas metodes. Arī *Y. pseudotuberculosis* no cūku aukslēju mandelēm tika izdalīta 7, 14 un 21 dienu aukstās bagātināšanas rezultātā (10. tabula).

No cūku aukslēju mandelēm izolēto *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 un *Yersinia pseudotuberculosis* kultūru skaits, izmantojot dažādas testēšanas metodes
An amount of isolated *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 and *Yersinia pseudotuberculosis* cultures using different testing methods

Metode/ Method	Patogēno jersīniju suga/ Pathogenic yersiniae species	
	<i>Y. enterocolitica</i> 4/O:3	<i>Y. pseudotuberculosis</i>
	Pozitīvo paraugu skaits/ No. of positive samples	Pozitīvo paraugu skaits/ No. of positive samples
Tiešā pārsēšana/ Direct plating	64 (37) ^a	0
Selektīvā bagātināšana/ Selective enrichment	9 (5) ^c	0
Aukstā bagātināšana I/ Cold enrichment I	13 (8) ^c	3 (16)
Aukstā bagātināšana II/ Cold enrichment II	61 (35) ^a	6 (32) ^d
Aukstā bagātināšana III/ Cold enrichment III	26 (15) ^b	10 (52) ^d
Kopā/ Total	173 (100)	19 (100)

I – aukstā bagātināšana, inkubējot paraugus septiņas dienas (viena nedēļa)/ the cold enrichment for seven days (one week)

II – aukstā bagātināšana, inkubējot paraugus 14 dienas (divas nedēļas)/ the cold enrichment for 14 days (two weeks)

III – aukstā bagātināšana, inkubējot paraugus 21 dienu (trīs nedēļas)/ the cold enrichment for 21 days (three weeks)

^a – būtiskas atšķirības *Y. enterocolitica* 4/O:3 izolēto kultūru skaitā netika konstatētas, izmantojot tiešās pārsēšanas un divu nedēļu aukstās bagātināšanas metodi ($p > 0.01$)/ significant differences in amount of isolated *Y. enterocolitica* 4/O:3 cultures using the direct plating and the cold enrichment for two weeks were not observed ($p > 0.01$)

^b – izolēto *Y. enterocolitica* 4/O:3 kultūru skaits bija būtiski mazāks, izmantojot trīs nedēļu aukstās bagātināšanas metodi, nekā pielietojot tiešās pārsēšanas un divu nedēļu aukstās bagātināšanas metodes ($p < 0.01$), bet būtiski augstāks nekā izmantojot selektīvās bagātināšanas metodi ($p < 0.05$)/ an amount of isolated *Y. enterocolitica* 4/O:3 cultures using the cold enrichment for three weeks was significantly lower than the direct plating and the cold enrichment for two weeks was applied ($p < 0.01$), but significantly higher than the selective enrichment was applied ($p < 0.05$)

^c – būtiskas atšķirības izolēto *Y. enterocolitica* 4/O:3 kultūru skaitā netika konstatētas, pielietojot selektīvās bagātināšanas un vienas nedēļas aukstās bagātināšanas metodes ($p > 0.01$)/ no significant differences in amount of isolated *Y. enterocolitica* 4/O:3 were observed in case the selective enrichment and the cold enrichment for one week was applied ($p > 0.01$)

^d – būtiskas atšķirības izolēto *Y. pseudotuberculosis* kultūru skaitā netika konstatētas, veicot divu un trīs nedēļu auksto bagātināšanu ($p > 0.01$)/ significant differences in amount of isolated *Y. enterocolitica* cultures were not observed then the cold enrichment for two and three weeks was applied ($p > 0.01$)

Vislielākais *Y. enterocolitica* 4/O:3 kultūru skaits tika izolēts, pielietojot tiešās pārsēšanas metodi, kad 64 no 173 pozitīviem cūku aukslēju mandeļu paraugiem tika konstatēta jersiniozes ierosinātāja klātbūtne. Tomēr atšķirības starp izolēto *Y. enterocolitica* 4/O:3 kultūru skaitu, pielietojot tiešo bagātināšanu un 14 dienu auksto bagātināšanu, netika konstatētas ($p > 0.01$). Vismazākais *Y. enterocolitica* 4/O:3 kultūru skaits tika izolēts, veicot selektīvo bagātināšanu, kur deviņos no 173 pozitīviem cūku aukslēju mandeļu paraugiem tika konstatēta jersiniozes ierosinātāja klātbūtne. Jāatzīmē, ka

būtiskas atšķirības, pielietojot selektīvās bagātināšanas un septiņu dienu aukstās bagātināšanas metodes, netika konstatētas ($p > 0.01$).

Y. pseudotuberculosis klātbūtni uzrādīja 10 no kopumā 19 pozitīviem cūku aukslēju mandeļu paraugiem, pielietojot 21 dienu auksto bagātināšanu, un izolēto kultūru skaits bija vislielākais. Savukārt, vismazākais *Y. pseudotuberculosis* kultūru skaits tika konstatēts, pielietojot septiņu dienu auksto bagātināšanu, kur trijos no kopumā 19 pozitīviem cūku aukslēju mandeļu paraugiem tika novērota *Y. pseudotuberculosis* klātbūtne. Kopumā atšķirības izolēto *Y. pseudotuberculosis* kultūru skaitā, veicot divu un trīs nedēļu auksto bagātināšanu, netika konstatētas ($p > 0.01$).

Cūku aukslēju mandeles, ja dzīvnieks ir *Y. enterocolitica* 4/O:3 pārnēsātājs, ir kolonizētas ar jersiniozes ierosinātāju, un tajās esošās *Y. enterocolitica* 4/O:3 šūnas parasti atrodas lielā skaitā, sasniedzot pat 1720 KVV/cm² (Nesbakken, 1988). Šāds *Y. enterocolitica* 4/O:3 skaits izmeklējamajā materiālā tiek uzskatīts par pietiekošu, lai izolētu *Y. enterocolitica* 4/O:3 bez iepriekšējas bagātināšanas. Tāpēc tiešās pārsēšanas metodes izmantošana mūsu pētījumā bija veiksmīga, norādot, ka *Y. enterocolitica* 4/O:3 šūnu skaits cūku aukslēju mandelēs ir bijis augsts. Arī Korte et al. (2004), VanDamme et al. (2010) izolēja *Y. enterocolitica* 4/O:3 no cūku aukslēju mandeļu paraugiem pēc izmeklējamā materiāla tiešās pārsēšanas uz CIN agara platēm, tādējādi apstiprinot, ka tiešā pārsēšana ir efektīva metode patogēna izolēšanai. Mūsu pētījumā bija efektīva arī aukstā bagātināšana, jo jersīnijas aukstās bagātināšanas rezultātā savairojas tādā daudzumā, ka tās ir iespējams noteikt izmantojot CIN agara plates, savukārt KOH inhibē blakus mikrofloru, padarot šo metodi par īpaši efektīvu (Schiemann, 1983^a, Fredriksson-Ahomaa, Korkeala 2003).

Attiecībā uz *Y. pseudotuberculosis* izolēšanu, mūsu pētījuma rezultāti saskan ar Niskanen et al. (2002) ziņojumu, kad jersiniozes ierosinātājs netika izolēts tiešās pārsēšanas un selektīvās bagātināšanas rezultātā, veicot *Y. pseudotuberculosis* sastopamības noteikšanu nobarojamām cūkām Somijā. Savukārt, citi autori ir ziņojuši par aukstās bagātināšanas efektivitāti *Y. pseudotuberculosis* izolēšanai (Niskanen et al., 2002, Martínez et al., 2009, 2010^{a,b}).

Y. enterocolitica 4/O:3 tika izolēta no liemeņiem un plūčiem, izmantojot 7, 14 un 21 dienu aukstās bagātināšanas metodes. Savukārt, *Y. enterocolitica* 4/O:3 klātbūtne liemeņos un plūčos netika konstatēta, pielietojot tiešās pārsēšanas un selektīvās bagātināšanas metodes. *Y. pseudotuberculosis* klātbūtne liemeņos un plūčos tika novērota, veicot izmeklējamā materiāla 14 un 21 dienu auksto bagātināšanu. *Y. pseudotuberculosis* netika izolēta, pielietojot tiešās pārsēšanas, selektīvās bagātināšanas un septiņu dienu aukstās bagātināšanas metodes (11. tabula).

No liemeņu un plūču paraugiem izolēto *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 un *Yersinia pseudotuberculosis* kultūru skaits, izmantojot dažādas testēšanas metodes

An amount of isolated *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 and *Yersinia pseudotuberculosis* cultures from carcasses and plucks using different testing methods

Metode/ Method	Patogēno jersīniju suga/ <i>Pathogenic yersiniae species</i>	
	<i>Y. enterocolitica</i> 4/O:3	<i>Y. pseudotuberculosis</i>
	Pozitīvo paraugu skaits (%) <i>No. of positive samples (%)</i>	Pozitīvo paraugu skaits (%) <i>No. of positive samples (%)</i>
Tiešā pārsēšana/ <i>Direct plating</i>	0	0
Selektīvā bagātināšana/ <i>Selective enrichment</i>	0	0
Aukstā bagātināšana I/ <i>Cold enrichment I</i>	3 (6)	0
Aukstā bagātināšana II/ <i>Cold enrichment II</i>	20 (38) ^a	2 (33)
Aukstā bagātināšana III/ <i>Cold enrichment III</i>	30 (56) ^a	4 (67)
Kopā/ <i>Total</i>	53 (100)	6 (100)

I – aukstā bagātināšana, inkubējot paraugus septiņas dienas (viena nedēļa)/ *the cold enrichment for seven days (one week)*

II – aukstā bagātināšana, inkubējot paraugus 14 dienas (divas nedēļas)/ *the cold enrichment for 14 days (two weeks)*

III – aukstā bagātināšana, inkubējot paraugus 21 dienu (trīs nedēļas)/ *the cold enrichment for 21 days (three weeks)*

^a – būtiskas atšķirības *Y. enterocolitica* 4/O:3 izolēto kultūru skaitā netika konstatētas, izmantojot divu un trīs nedēļu aukstās bagātināšanas metodes ($p>0.05$)/ *no significant differences in amount of isolated *Y. enterocolitica* 4/O:3 cultures were observed then the cold enrichment for two and three weeks was applied ($p>0.05$)*

Vislielākais *Y. enterocolitica* 4/O:3 kultūru skaits no liemeņiem un plūčiem tika izolēts, pielietojot trīs nedēļu auksto bagātināšanu, kad patogēna klātbūtne tika konstatēta 30 no kopumā 53 cūku liemeņu un plūču virsmu pozitīviem paraugiem. Tomēr būtiskas atšķirības izolēto *Y. enterocolitica* 4/O:3 kultūru skaitā, izmantojot divu un trīs nedēļu aukstās bagātināšanas metodes, netika konstatētas ($p>0.05$). Vismazākais *Y. enterocolitica* 4/O:3 kultūru skaits tika izolēts, pielietojot vienas nedēļas aukstās bagātināšanas metodi, kad jersiniozes ierosinātājs konstatēts trīs no kopumā 53 cūku liemeņu un plūču virsmu pozitīviem paraugiem.

Vislielākais *Y. pseudotuberculosis* kultūru skaits tika konstatēts, veicot trīs nedēļu auksto bagātināšanu, kad četros no kopumā sešiem cūku liemeņu un plūču virsmu pozitīviem paraugiem (67%) tika novērota *Y. pseudotuberculosis* klātbūtne. Savukārt, vismazākais *Y. pseudotuberculosis* kultūru skaits tika identificēts, pielietojot divu nedēļu auksto bagātināšanu, kad divos no kopumā sešiem pozitīviem cūku liemeņu un plūču virsmu paraugiem (33%) tika konstatēta *Y. pseudotuberculosis* klātbūtne.

Pētījuma rezultāti attiecībā uz *Y. enterocolitica* 4/O:3 izolēšanu norāda, ka patogēns uz kautproduktu virsmām bija sastopams nelielā skaitā, tāpēc jersiniozes ierosinātāja šūnu

pavairošanai bija vajadzīgs garāks laika periods. Arī Nesbakken (1988) daļu no *Y. enterocolitica* 4/O:3 kultūrām izolēja pēc aukstās inkubēšanas, izdalot *Y. enterocolitica* 4/O:3 no plūču paraugiem. Nesbakken (1988) secināja, ka aukstā bagātināšana ir nepieciešama patogēno jersīniju šūnu pavairošanai, lai tās izolētu no kontaminētā materiāla.

Y. pseudotuberculosis izolēšana no plūču paraugiem aukstās bagātināšanas rezultātā, norāda, ka plūču kontaminācija ir notikusi ar nelielu jersiniozes ierosinātāja šūnu skaitu, tāpēc to pavairošanai bija vajadzīga aukstā inkubēšana. Arī Laukkanen et al. (2008) izolēja *Y. pseudotuberculosis* no plūčiem, veicot auksto bagātināšanu. Laukkanen et al. (2008) secināja, ka aukstā bagātināšana ir īpaši efektīva *Y. pseudotuberculosis* izolēšanai no izmeklējamā materiāla.

SECINĀJUMI

1. Latvijā patogēnās jersīnijas - *Y. enterocolitica* 4/O:3 un *Y. pseudotuberculosis* ir izplatītas nokauto cūku aukslēju mandelēs. Starp jersiniozes ierosinātājiem *Y. enterocolitica* 4/O:3 izplatība cūku aukslēju mandelēs bija būtiski augstāka nekā *Y. pseudotuberculosis* sastopamība ($p < 0.01$), kas norāda, ka Latvijā cūkas galvenokārt ir *Y. enterocolitica* 4/O:3 nēsātājas.
2. Jersiniozes ierosinātāji izolēti no cūku aukslēju mandelēm visās kautuvēs, tomēr konstatētas arī būtiskas atšķirības patogēno jersīniju sastopamībā starp tām ($p < 0.05$). Dažāda patogēno jersīniju sastopamība cūku aukslēju mandelēs ir saistīta ar inficēto un neinficēto cūku kaušanu uzņēmumos, kas rezultātā ietekmēja patogēno jersīniju sastopamību kopumā minētajās kautuvēs.
3. Patogēnās jersīnijas tika izolētas no liemeņiem un plūčiem, taču būtiskas atšķirības jersiniozes ierosinātāju sastopamībā netika konstatētas ($p > 0.05$). Tas liecina, ka liemeņi un plūči ir vienādi pakļauti kontaminācijai ar patogēniem.
4. *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība uz mēlēm bija būtiski augstāka nekā *Y. enterocolitica* 4/O:3 sastopamība uz plaušām, sirdīm, diafragmām, aknām un nierēm ($p < 0.05$), kas norāda uz to augstāku kontaminācijas līmeni.
5. Patogēno jersīniju klātbūtne kautproduktos tika konstatēta visās kautuvēs, tomēr atšķirības jersiniozes ierosinātāju izplatībā starp kautuvēm bija būtiskas ($p < 0.05$). Tas norāda, ka pastāv uzņēmumu iekšējie faktori, kam par pamatu ir atšķirības liemeņu un plūču primārā apstrādē, un šie faktori var ietekmēt patogēno jersīniju izplatību uz liemeņiem un plūčiem.
6. Kautuvju ražošanas vides paraugos *Y. enterocolitica* 4/O:3 tika izolēta no kaušanas zāles grīdas un darba virsmas paraugiem tikai vienā no kautuvēm, kas norāda uz piesārņojuma izplatīšanas iespējām, kā arī uz nepilnībām telpu mazgāšanas un dezinfekcijas režīmos minētajā uzņēmumā.
7. Tiešās pārsēšanas un 14 dienu aukstās bagātināšanas metodes bija piemērotākas *Y. enterocolitica* 4/O:3 izolēšanai no cūku aukslēju mandeļu paraugiem ($p < 0.05$), bet no liemeņiem un plūčiem- aukstās bagātināšanas metode. Aukstās bagātināšanas metode bija vispiemērotākā *Y. pseudotuberculosis* klātbūtnes noteikšanai cūku aukslēju mandeļu, liemeņu un plūču paraugos.

IETEIKUMI PRAKSEI

1. Lai nodrošinātu labu ražošanas un higiēnas praksi kautuvēs, ir nepieciešams izvairīties no dzīvnieku un to kautproduktu krusteniskās kontaminācijas, jābūt pieejamai informācijai par jersiniozes ierosinātāju klātbūtni cūku novietnēs pirms dzīvnieki tiks piegādāti nokaušanai.
2. Plūču veterināro ekspertīzi, primāru apstrādi un ar tām saistītās darbības ir ieteicams sākt ar orgāniem, kuri lokalizējas tālāk no mēles un mandelēm, tādējādi izvairoties no citu orgānu un audu krusteniskās kontaminācijas ar patogēnajām jersīnijām.
3. Aizdomu gadījumos uz jersiniozes ierosinātāju klātbūtni, jāveic izmeklējamā materiālā bakterioloģiskā izmeklēšana saskaņā ar ISO 10273 standarta prasībām, pielietojot tiešās pārsēšanas un selektīvās bagātināšanas metodes, papildinot tās ar auksto bagātināšanu.
4. Cūku aukslēju mandeles bieži ir kontaminētas ar jersiniozes ierosinātājiem, tāpēc tās jāatdala no cūku galvām vai mēlēm un rīklēm, tādējādi novēršot cūku aukslēju daļu nonākšanu mazumtirdzniecības vietās kopā ar kautproduktiem.

ZINĀTNISKĀS PUBLIKĀCIJAS UN TĒZES

1. Terentjeva M., Bērziņš A. (2011) Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in the environment of slaughterhouse. *Proceedings of 5th Baltic Conference on Food Science and Technology "Innovations for food science and production"*, Jelgava, 5-6 May, pp. 172-176.
2. Terentjeva M., Bērziņš A. (2010) Prevalence and antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in pigs in Latvia. *Journal of Food Protection*, vol. 73, pp. 1135-1138.
3. Terentjeva M., Liepiņš E., Bērziņš A. (2010) Different prevalence of yersiniae on pig carcasses in three slaughterhouses in Latvia. *Proceedings of International Scientific Conference "Animal. Health. Food Hygiene"*, Jelgava, 29 October, pp. 130-135.
4. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. (2008) Prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in pig tonsils and by-products in two slaughterhouses in Latvia. *Proceedings of International Scientific Conference „Implication of Different Production Technologies on Animal Health and Food Products Quality Indices”*, Sigulda, 4-5 December, pp. 112-116.
5. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. (2008) Prevalence of pathogenic *Yersinia* spp. on by-products, carcasses and tonsils. *Proceedings of International Scientific Conference "Animal. Health. Food Hygiene"*, Jelgava, 14 November, pp. 184-188.
6. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. (2007) Incidence of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in Latvian Pigs at slaughtering. *Proceedings of International Scientific Conference „Research for Rural Development 2007”*, Jelgava, 16-18 May, pp. 66-69.
7. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. (2007) A pilot study on occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in Latvian pigs at slaughtering. *Proceedings of 7th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork*, Verona, Italy, 9-11 May, pp. 163- 165.
8. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. (2006) Occurrence of *Yersinia* species in slaughtered pigs' tonsils of Latvian origin. *Proceedings of International Scientific Conference "Animals. Health. Food Hygiene"*, Jelgava, 10 November, pp. 289- 293.

INTRODUCTION

Topicality of the study

Yersiniosis is a food-borne infection, which can be caused by two pathogenic yersinia species - *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. Yersiniosis is the number 3 most common bacterial food-borne infection in the European Union. Yersiniosis is found in Latvia among humans, the distribution between 2006 and 2010 ranging from one to four cases of infection per 100 000 inhabitants (EFSA, 2006, LIC, 2010, EFSA, 2011).

The most important vectors of the pathogenic yersinia are considered to be pigs (Fredriksson-Ahomaa et al., 2006^a). Fattening pigs are carrying pathogenic yersinia – *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* - in their lymphatic tissues, especially in palatine tonsils without any clinical signs of disease (Nesbakken et al., 2006).

The slaughter of infected animals can influence the microbiological safety of slaughter products. As there are no clinical manifestations, it is not possible to tell the infected animals from non-infected ones (Kapperud, 1991). During slaughter procedures, pathogenic yersinia may spread from pig palatine tonsils to carcasses, plucks and the slaughterhouse environment. Traditional slaughter technique supports dissemination of pathogenic yersinia, because the contaminated tissues may come into a close contact with carcasses and plucks (Andersen, 1991, Fredriksson-Ahomaa et al., 2001^b). *Yersinia* is a psychrotrophic microorganism, therefore pathogens are tolerant to low temperatures, applicable in meat industry for storage of products. For that reason yersinia may multiply on carcasses and by-products reaching the infective dose (Andersen, 1991, Logue et al., 1996). As such products are potentially hazardous to consumers the contamination of meat with pathogenic yersinia is not acceptable. Comparing with other groups of products, pork and pork by-products are most often contaminated with pathogenic yersinia on the retail level (Fredriksson-Ahomaa et al., 1999, Fredriksson-Ahomaa et al., 2006^a). Due to severity of the problem, there were many studies undertaken in the European Union in order to establish the prevalence of pathogenic yersinia on meat on slaughterhouse and retail levels (Kapperud, 1991, Fredriksson-Ahomaa et al., 2006^a, Laukkanen et al., 2008, Laukkanen et al., 2009). Results of studies indicate that the occurrence of pathogenic yersinia in food chain is a current problem on the EU level (Fredriksson-Ahomaa et al., 2006^a). Studies on the prevalence of pathogenic yersinia have not been done in Latvia, but it could be an emerging issue in this country too.

Pathogenic yersinia are present in contaminated material in low amounts, thus causing problems to isolate the pathogens from it (Fredriksson-Ahomaa, Korkeala, 2003). For this reason, it is essential to compare the available testing methods for isolation of pathogen from contaminated material selecting the most effective ones for recovering pathogenic yersinia from pig tonsils, carcasses and plucks. As non-pathogenic yersinia are widely distributed in the environment, it is rational to assess the pathogenicity of yersinia with molecular-biological methods (VonAltrock et al., 2010).

Therefore, studies of the prevalence of pathogenic yersinia in pig slaughter products and the plant environment in Latvia are needed.

The aim of the present study was to detect the prevalence of pathogenic yersinia in pig slaughter products as well as in environment of the slaughterhouse, and to identify differences in the prevalence of pathogens in slaughterhouses.

Objectives of the study

1. To detect the prevalence of pathogenic yersiniae in pig palatine tonsils in different slaughterhouses.
2. To identify the prevalence of pathogenic yersiniae on pig carcasses and plucks in different slaughterhouses.
3. To investigate the prevalence of pathogenic yersiniae in the slaughterhouse environment.
4. To evaluate the efficiency of testing methods for isolation of pathogenic yersiniae from pig tonsils, carcasses and plucks samples.

Scientific novelty of the study

1. The prevalence of pathogenic yersiniae in pig tonsils, carcasses, plucks and environment of the slaughterhouse was studied for the first time in Latvia.
2. The prevalence of pathogenic yersiniae in pig tonsils, carcasses, plucks and the plant environment was compared under conditions of Latvia.
3. The efficiency of different pathogenic yersiniae isolation methods was compared for detection of pathogens in pig slaughter products.
4. The molecular biology methods of yersiniae pathogenicity were used for the first time in veterinary medicine in Latvia.

Approbation of the results of research

Research results were approbated at the following international scientific conferences:

1. Terentjeva M., Bērziņš A. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in the environment of slaughterhouse. BALTFOOD 2011, 5th Baltic Conference on Food Science and Technology “Innovations for food science and production”, 5-6th May, 2011, Jelgava, Latvia.
2. Terentjeva M., Liepiņš E., Bērziņš A. Different prevalence of yersiniae on pig carcasses in three slaughterhouses in Latvia. International Scientific Conference “Animals. Health. Food Hygiene”, 29th October, 2010, Jelgava, Latvia.
3. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in pig tonsils and by-products in two slaughterhouses in Latvia. International Scientific Conference „Implication of Different Production Technologies on Animal Health and Food Products Quality Indices”, 4-5th December, 2008, Sigulda, Latvia.
4. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. Prevalence of pathogenic *Yersinia* spp. on by-products, carcasses and tonsils. International Scientific Conference “Animals. Health. Food Hygiene”, 14th November, 2008, Jelgava, Latvia.

5. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. Incidence of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in Latvian Pigs at slaughtering. International Scientific Conference „Research for Rural Development”, 16-18th May, 2007, Jelgava, Latvia.
6. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. A pilot study on occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in Latvian pigs at slaughtering. SAFEPORK 2007: 7th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork, 9-11th May, 2007, Verona, Italy.
7. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš . Occurrence of *Yersinia* species in slaughtered pigs' tonsils of Latvian origin. International Scientific Conference “Animals. Health. Food Hygiene”, 10th November, 2006, Latvia.

MATERIAL AND METHODS

Altogether five slaughterhouses were selected for the study. The slaughterhouses were located in Kurzeme (slaughterhouses C and E), Vidzeme (slaughterhouse B) and Zemgale (slaughterhouses A un D) regions of Latvia. Slaughterhouses were approved by the Food and Veterinary Service (PVD) and were under the PVD supervision. Pig palatine tonsil samples were collected in all slaughterhouses, while carcass, pluck and environmental samples were collected in slaughterhouses A, B and C.

Methods for isolation of pathogenic yersiniae were mastered at the Department of Food and Environmental Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki. Testing of the samples collected was performed at the Institute of Food and Environmental Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Latvia University of Agriculture. Determination of pathogenicity of isolated yersiniae with PCR method was carried out at the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment “BIOR”.

Pig slaughtering process in the selected slaughterhouses included stunning, bleeding, scalding, dehairing, flaming, polishing, evisceration and meat inspection. The slaughter capacity in the slaughterhouses A, B and C was 50, while in slaughterhouses D and E – 25 pigs per hour.

Collection of pig palatine tonsil, carcass, pluck and environmental samples

A total amount of 971 samples including pig tonsil samples (n=502), pluck surface (n=315), carcass surface (n=90) and slaughterhouse environmental (n=64) samples were collected. Pig tonsil samples were collected in slaughterhouses A, B, C, D and E, but carcass, pluck and environmental samples in slaughterhouses A, B and C due to the slaughter capacity 50 pigs per hour.

Pig tonsil, carcass and pluck samples were collected shortly after slaughter, when slaughter products were on slaughter line between evisceration and meat inspection areas. Collection of environmental samples was performed in area between the evisceration and the primary treatment of slaughter products.

Pig tonsil samples were collected immediately after evisceration. Due to differences in the slaughtering process, pig tonsil samples were detached from plucks in slaughterhouses A and C, but from pig heads in slaughterhouses B, D and E.

All in all 2 to 20 pig tonsil samples were collected from pigs, originating from one farm. In the process of sampling, pig tonsils were aseptically detached from the surrounding tissues with a sterile scalpel. A total amount of 502 pig tonsil samples from slaughtered pigs of 53 Latvian farms were collected. The origin of pigs was Kurzeme (n=152), Latgale (n=90), Vidzeme (n=136) and Zemgale (n=124) regions.

Carcass and pluck samples were collected after evisceration. Carcass samples were obtained after carcasses were split, but pluck samples before performance of the meat inspection. Collecting samples, a separate swab was used for each carcass or pluck sample. For the carcass samples, a 20 cm² carcass surface area was covered with a 0.9% NaCl solution moistured swab. The sampling site for pig carcass was region of *lnn. submandibulares* on pig head and thorax, regio of I-V coastae. In total, an amount of 30 carcass samples and 105 pluck samples were collected in each slaughterhouse.

For pluck samples, a 20 cm² pluck surface area was covered with a moistured swab. Pluck samples were collected from tongue, lung, *lobus craniales* et *craniales*, heart, diaphragm, liver and kidney. All pluck samples were collected from pluck sets from the slaughter line. Due to differences in evisceration process, kidney samples in slaughterhouses B and C were collected from kidneys in by-products' boxes. Diaphragm samples in slaughterhouse B were collected directly from carcasses, but from diaphragms in by-products boxes in slaughterhouse C.

Environmental samples were collected with sterile gauze swabs (5X5cm, SIA Olko, Latvia), before exposition moistured with sterile 0.9% NaCl solution (B. Braun Melsungen AG, Germany). For each environmental sample a separate swab was used. An area of 20 cm² was covered for each environmental sample. In total, an amount of 19, 26 and 19 samples were collected in slaughterhouses A, B and C accordingly.

Environmental sample sites were the work surfaces in the pluck processing area (n=5), doors (n=4), tables for work equipment (n=3), floors in the slaughter room (n=12), sinks (n=4), by-products' boxes (n=7), floor of the meat inspection platform (n=4), boxes for cold storage of products (n=4), hooks (n=5), knives (n=4), gloves (n=4), aprons (n=4) and foot wear (n=4).

Pig tonsils, carcasses, plucks and environmental samples they were placed in sampling bags which were put in cold storage boxes and transported to the laboratory within three hours.

Before testing, bags with pig tonsil samples were aseptically opened and tonsil surrounding tissues were removed. A total amount of 10 g of pig tonsil samples was transferred in stomacher bag. An amount of 90 ml of peptone mannitole bile salt broth (PMB) was added to tonsil, carcass, pluck and environmental samples. Prior the testing, tonsil samples were homogenized in stomacher for 60 s. Samples in PMB were incubated for one hour at 22 °C for resuscitation of bacterial cells.

Isolation and identification of pathogenic *Yersinia* spp.

For testing of samples, the following standards were applied- "Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of presumptive

pathogenic *Yersinia enterocolitica*” (ISO, 2003) and “*Yersinia enterocolitica*. Detection in foods” (NCFA, 1996).

According to standard requirements, the direct plating, the selective enrichment and the cold enrichment was used.

For the direct plating, 0.1 ml of sample in PMB was transferred onto Cefsulodine-Novibiocine-Irgasan agar (CIN, Yersinia selective agar, OXOID, Basingstoke, UK).

For the selective enrichment, 0.1 ml of sample in PMB was transferred onto Irgasan-Ticarcilin-Potassium Chlorate broth (ITC, Fluka, Switzerland). ITC broth was incubated for 48 hours at 25 °C. An amount of 0.1 ml ITC broth was transferred onto CIN agar after incubation.

For the cold enrichment, tonsil, carcass, pluck and environmental samples in PMB were incubated at 4 °C. An amount of 0.1 ml enriched suspension was plated onto CIN agar after 7, 14 and 21 cold enrichment days. After 14 and 21 incubation days, the treatment with 0.5% KOH was done before plating onto CIN agar for inhibition of background microflora. For KOH treatment, an amount of 0.5 ml of sample in PMB was added to a freshly prepared 0.5% KOH solution. An amount of 0.1 ml suspension was immediately transferred onto CIN agar for incubation.

CIN agar was incubated at 30 °C, and in order to select colonies typical for yersiniae morphology for further testing growth of microorganisms was checked after 24 and 48 incubation hours. After incubation for 24 hours, typical *Y. enterocolitica* 4/O:3 colonies were 2-3 mm, but *Y. pseudotuberculosis* 0.5-1 mm in diameter with red centre and white surroundings.

Three colonies from CIN agar plates with morphology resembling that of yersiniae were streaked onto Trypton Soya Agar (TSA, OXOID, Basingstoke, UK). TSA plates were incubated for 24 hours at 30 °C. The bacterial cultures obtained were used for preliminary confirmation - oxidase and urea hydrolysis testing. Oxidase reaction was performed according to instruction of manufacturer dividing isolates in oxidase-positive and oxidase-negative ones. For urea hydrolysis testing, agar with urea supplement was inoculated with bacterial culture and incubated at 30 °C for 24 hours. In case urea hydrolysis reaction was positive, agar changed the colour from orange to red. If there were no changes in colour of agar or colour changed to yellow, reaction was confirmed as negative. For further testing, oxidase-negative and urea hydrolysis positive colonies were used.

Isolated cultures were confirmed with API 20E identification system (BioMérieux, Marcy l’Etoile, France). API 20E tests were inoculated according to instruction of manufacturer and incubated at 30 °C for 24 hours. Biotyping and serotyping for *Y. enterocolitica* was performed.

Biotyping was done according to the scheme of Wauters et al. (1987) and LVS ISO 10273:2003 requirements for identification of *Y. enterocolitica*. Pirazinamydaze activity, lipase activity, salicine fermentation, xylose fermentation, trehalose fermentation and indole production was tested.

For serotyping, *Y. enterocolitica* O:3, O:8, O:9, O:5 un O:27 antisera (Sifin, Germany) was used. Serotyping was performed according to the manufacturer’s instruction.

PCR method was used to detect the chromosomal factor of *Y. enterocolitica* 4/O:3 virulence (presence of *ail* gene) (Nakajima et al., 1992).

Statistical analysis

The statistical analysis was carried out using SPSS 13.0 program. Chi-square test was applied to detect differences in the prevalence of non-pathogenic and pathogenic yersiniae in pig tonsils, carcasses, plucks and environmental samples. Chi-square test and Cochran's Q test were used to compare the efficiency of testing methods for isolation of pathogenic yersiniae from pig tonsils, carcasses and pluck samples.

RESULTS AND DISCUSSION

The prevalence of pathogenic yersiniae in pig tonsils in different slaughterhouses

Both, non-pathogenic and pathogenic yersiniae were isolated from pig tonsils with prevalence 0.2% and 38%, accordingly. Results of the study show that pigs more frequently carried pathogenic than non-pathogenic yersiniae in their tonsils. Consequently, pigs are important reservoir of the pathogenic yersiniae. Non-pathogenic and pathogenic yersiniae were isolated from the pig tonsils also in previous studies, and the prevalence of pathogenic yersiniae was higher than that of the non-pathogenic (Niskanen et al., 2002, Korte et al., 2004). Number of the positive pig tonsil samples is shown in Table 1.

The highest number of pathogenic yersiniae-positive pig tonsil samples was detected in slaughtered pigs from Latgale region (60 samples were positive). On the other hand, the lowest number of pathogenic yersiniae-positive pig tonsil samples was in slaughtered pigs originated from Vidzeme (29 samples were positive). Differences in the prevalence of pathogenic yersiniae in pig tonsil samples were significant and the prevalence of pathogens in pig tonsils originated from slaughtered pigs from Latgale was significantly higher than that in pig tonsils from from Kurzeme, Vidzeme and Zemgale regions ($p < 0.05$). Contrary to that, the prevalence of pathogenic yersiniae in slaughtered pig tonsils from Vidzeme was significantly lower than the same from Latgale and Kurzeme regions ($p < 0.01$).

Presence of both, pathogenic *Y. enterocolitica* 4/O:3, *Y. pseudotuberculosis* and non-pathogenic *Y. kristensenii* was confirmed in pig tonsils. More often the presence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 was detected (173 positive samples). Only one sample was positive for *Y. kristensenii*. The presence of *ail* gene was confirmed in all *Y. enterocolitica* 4/O:3 isolates indicating that isolates was human pathogenic. Pigs are the principal reservoir of *Y. enterocolitica* 4/O:3 (Fredriksson-Ahomaa et al., 2000^a), therefore the high prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 was detected in the pig tonsil samples of this study. The principal reservoir of *Y. pseudotuberculosis* is expected to be wild animals and pigs may become infected via direct or indirect contact with the carriers (Fredriksson-Ahomaa et al., 2009^b). Thereby, in the present study, *Y. pseudotuberculosis* was less frequently isolated from the pig tonsils than *Y. enterocolitica* 4/O:3. Also in other studies, *Y. enterocolitica* 4/O:3 was more frequently isolated from pig tonsils than *Y. pseudotuberculosis* (Nesbakken, Kapperud, 1985, Fredriksson-Ahomaa et al., 2007^b, Kechagia et al., 2007, Martínez et al., 2009, Martínez et al., 2010^a).

Y. enterocolitica 4/O:3 was isolated more frequently from the slaughtered pig tonsils in all regions: Kurzeme, Latgale, Vidzeme and Zemgale regions (Fig. 1).

The highest prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 was detected in slaughtered pig tonsils from Latgale (66%). The lowest prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 was detected in slaughtered pig tonsils from Vidzeme (20%). The highest prevalence of *Y. pseudotuberculosis* was in pig tonsils from Kurzeme (7%), while the lowest in slaughtered pig tonsils from Latgale and Vidzeme regions (1%).

Fredriksson-Ahomaa et al. (2000^a) reported about the regional differences in the prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 in slaughtered pig tonsils due to location of positive or negative herds in a certain region. However, McNally et al. (2004) and Kechagia et al. (2007) in the United Kingdom and Greece did not find regional differences in the prevalence of *Y. enterocolitica*.

Pathogenic yersiniae were isolated from slaughtered pig tonsils in slaughterhouses A, B, C, D and E, and the prevalence is shown in Table 2.

The highest number of *Y. enterocolitica* 4/O:3 positive pig tonsil samples was observed in slaughterhouse C, where 32 out of 69 samples were positive. The lowest number of *Y. enterocolitica* 4/O:3 positive pig tonsil samples was identified in slaughterhouse D, where 3 out of 20 samples were positive. In total, the prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 in the slaughtered pig tonsils in slaughterhouses A and C was significantly higher than in those of the slaughterhouse B ($p < 0.05$).

The highest number of *Y. pseudotuberculosis* positive pig tonsil samples was observed in slaughterhouse D, where 4 out of 20 samples were positive. The lowest number of *Y. pseudotuberculosis* positive pig tonsil samples was in slaughterhouse B, where just 1 out of 118 samples was positive.

Also Fredriksson-Ahomaa et al. (2000^a) and Korte et al. (2004) reported differences existing in the prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 between slaughterhouses in Finland. Fredriksson-Ahomaa et al. (2000^a) concluded that the existing differences are due to slaughtering of infected or non-infected pigs in certain slaughterhouses. Niskanen et al. (2002) has identified that the prevalence of *Y. pseudotuberculosis* was from 0% to 10% in different slaughterhouses in Finland which concurs with our results. Niskanen et al. (2002) reported that different prevalence of *Y. pseudotuberculosis* in pig tonsils in slaughterhouses is linked with location of *Y. pseudotuberculosis* positive or negative farms in certain regions in Finland.

Pathogenic yersiniae on pig carcasses and plucks in different slaughterhouses

Both, non-pathogenic and pathogenic yersiniae were isolated from pig carcasses and plucks. The prevalence of non-pathogenic yersiniae on pig carcasses (52%) was higher than on plucks (23%). However, the prevalence of pathogenic yersiniae was higher on plucks (16%) than on carcasses (9%) (Table 3)

The highest number of non-pathogenic yersiniae-positive samples was isolated from the pluck surfaces, where 73 samples were positive. The smallest number of non-pathogenic yersiniae-positive samples was identified on carcass surfaces, where 43

samples were positive. However, the differences in the prevalence of non-pathogenic yersiniae on carcasses and plucks were significant ($p < 0.05$).

The highest number of pathogenic yersiniae-positive samples was observed on pluck surfaces, where pathogens were isolated out of 51 samples. The smallest number of pathogenic yersiniae-positive samples was isolated from carcasses surfaces, where eight samples were positive. However, significant differences in the prevalence of pathogenic yersiniae on carcasses and plucks were not observed ($p > 0.05$). In total, the prevalence of non-pathogenic yersiniae on carcasses and plucks was significantly higher than the prevalence of pathogenic yersiniae ($p < 0.05$).

Within the present study, a number of non-pathogenic *-Y. enterocolitica* 1A, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii* and pathogenic *-Y. enterocolitica* 4/O:3 and *Y. pseudotuberculosis* were isolated both from carcasses and plucks. The presence of *ail* gene was confirmed in all *Y. enterocolitica* 4/O:3 isolates indicating that cultures was human pathogenic. Non-pathogenic yersiniae are widespread in the environment, therefore carcasses and plucks could be contaminated with them at primary processing. The contamination of carcasses and plucks with pathogenic yersiniae may occur from pathogenic yersiniae-positive tonsils when infected pigs are slaughtered. The presence of non-pathogenic yersiniae on carcasses and plucks reported in previous studies, concur with our results (Aldová, Svandová, 1984, Harmon et al., 1984, Fukushima 1985, Fredriksson-Ahomaa et al., 2004, Bonardi et al., 2007, Laukkanen et al., 2009).

Non-pathogenic yersiniae and *Y. enterocolitica* 4/O:3 were isolated from the area of pig head *lnn. submandibularis* and thorax, I-V costae on pig carcasses (Fig. 2.).

Non-pathogenic yersiniae were isolated from the area of pig head *lnn. submandibularis* more often than from thorax, I-V costae. The prevalence of non-pathogenic yersiniae on the pig head area *lnn. submandibularis* (56%) was higher than that on thorax, I-V costae (49%). The prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 was higher on pig head area *lnn. submandibularis* (11%) than on thorax, I-V costae (7%) also.

Yersiniae were isolated from the carcass surfaces in slaughterhouses A, B and C. The presence of non-pathogenic yersiniae was observed on pig head area *lnn. submandibularis* and thorax, I-V costae in slaughterhouses A, B and C. *Y. enterocolitica* 4/O:3 was isolated from the pig head area *lnn. submandibularis* in slaughterhouses A and B, and from thorax, I-V costae in the slaughterhouse A. The presence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 was not identified in pig head area *lnn. submandibularis* in slaughterhouse C, and on thorax, I-V costae in slaughterhouses B and C.

The number of non-pathogenic yersiniae and *Y. enterocolitica* 4/O:3 positive pig carcass samples in different slaughterhouses is shown in Table 4.

The highest number of non-pathogenic yersiniae-positive pig carcass surface samples was observed in slaughterhouse B, where 19 out of 30 samples were positive. The smallest number of non-pathogenic yersiniae positive pig carcass surface samples was identified in slaughterhouse A, where just 10 out of 30 samples were positive. However, significant differences in the prevalence of non-pathogenic yersiniae between slaughterhouses A, B and C were not observed ($p > 0.05$). The highest amount of *Y. enterocolitica* 4/O:3 positive samples were in slaughterhouse A, where 7 out of 30

samples were positive. The lowest amount of *Y. enterocolitica* 4/O:3 positive samples was in slaughterhouse B, where just 1 out of 30 samples was positive.

During our observation in the slaughterhouse A, we established that a part of palatine tonsils may remain on the carcass after evisceration. As pigs in Latvia may carry *Y. enterocolitica* 4/O:3 in their palatine tonsils, pathogens due to cross-contamination may be distributed to other carcass parts, even on the head *lnn. submandibulares* area. Our observations were matching those of Nesbakken (1988) and Borch et al. (1996) studies, who reported that palatine tonsils usually were removed with pharyngeal tissues, however, a part of tonsils may remain on carcasses. Remaining of palatine tonsils may enhance distribution of the pathogen to surrounding tissues, including *lnn. submandibulares* area (Nesbakken et al., 2003).

Yersiniae were isolated also from plucks. Non-pathogenic yersiniae were found on tongues, lungs *lobus craniales* et *caudales*, hearts, livers, diaphragms and kidneys. Pathogenic yersiniae were isolated from tongues, lungs *lobus craniales* et *caudales*, hearts, livers, diaphragms and also kidneys.

The prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 on plucks was 14%, with 45 out of 315 samples positive. The prevalence of *Y. pseudotuberculosis* was 2%, where six out of 315 samples were positive (Table 5).

The highest number of *Y. enterocolitica* 4/O:3 positive samples were observed from tongues, where 17 out of 45 samples were positive. The lowest number of *Y. enterocolitica* 4/O:3 positive samples were found from lungs, *lobus caudales* and kidneys, where 3 out of 45 samples were positive in each sampling site. The differences in the prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 were significant, and the prevalence of pathogen on tongues was significantly higher than on lungs, *lobus craniales* et *caudales*, hearts, diaphragms, livers un kidneys ($p < 0.05$).

The highest number of *Y. pseudotuberculosis* positive samples (3 out of 45) were found from liver, while the lowest – from heart (1 out of 45 was positive). In total, number of *Y. enterocolitica* 4/O:3 positive samples found from plucks was significantly higher than number of *Y. pseudotuberculosis* positive samples ($p < 0.01$).

Fredriksson-Ahoma et al. (2001^a) reported that, comparing with other sampling sites, the highest prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 were observed on tongues. If the pig is carrying the pathogenic yersiniae in its palatine tonsils, the oral cavity of the animal is usually contaminated with pathogens (Nesbakken et al., 1988). Thereby, the prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 on tongues were higher than on other sampling sites in our study. *Y. enterocolitica* 4/O:3 were isolated from the pig tongues in the previous studies as well (Nesbakken et al., 1988, Fredriksson-Ahoma et al., 2001^a).

Pathogenic yersiniae were isolated from plucks in slaughterhouses A, B and C. In slaughterhouse A, pathogenic yersiniae were found on tongues, lungs *lobus craniales* et *caudales*, hearts, livers, diaphragms and kidneys. Pathogens were identified on tongues, lungs *lobus craniales* et *caudales*, hearts, livers and diaphragms in slaughterhouse B, and on tongues in slaughterhouse C. Pathogenic yersiniae were not observed on kidney samples in slaughterhouse B, and on lung *lobus craniales* et *caudales*, heart, liver, diaphragm and kidney samples in slaughterhouse C (Fig. 3)

In slaughterhouse A, the highest prevalence of pathogenic yersiniae was found on tongue (53%), lung *lobus craniales* (40%), heart (33%), diaphragm (20%), liver (53%) and kidney (20%) samples, while in slaughterhouse B - on lung, *lobus caudales* (13%). The lowest prevalence of pathogenic yersiniae was found on tongue (27%) in slaughterhouse C; on lung, *lobus craniales* (7%), heart (13%), diaphragm (7%), liver (13%) and kidney (20%) in slaughterhouse B, but on lung, *lobus caudales* (7%) in slaughterhouse A.

Y. enterocolitica 4/O:3 was isolated from tongue, lung, *lobus craniales*, lung, *lobus caudales*, heart, diaphragm, liver and kidney samples in slaughterhouse A. *Y. enterocolitica* 4/O:3 was found on tongue, lung, *lobus craniales* et *lobus caudales*, heart, diaphragm, liver in slaughterhouse B, but only on tongue in slaughterhouse C. Pathogen was not observed on kidney in slaughterhouse B, and on lung, *lobus craniales* et *lobus caudales*, heart, diaphragm, liver and kidney samples in slaughterhouse C (Fig. 4.).

The highest prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 was observed on tongue (53%), lung, *lobus craniales* (27%), heart (27%), diaphragm (20%), liver (33%) and kidney samples (20%) in slaughterhouse A. The highest prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 on lungs, *lobus caudales* (13%) was in slaughterhouse B. The lowest prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 was found on tongues (27%) in slaughterhouse C, but on lung, *lobus craniales* (7%), heart (13%), diaphragm (7%) and liver (13%) samples in slaughterhouse B. The lowest *Y. enterocolitica* 4/O:3 prevalence on lung, *lobus caudales* (7%) was in slaughterhouse A.

Y. pseudotuberculosis was isolated from lung, *lobus craniales*, heart and liver samples in slaughterhouse A. Pathogen was not recovered from tongue, lung, *lobus caudales*, heart liver and kidney samples in slaughterhouse A. *Y. pseudotuberculosis* was not found on plucks in slaughterhouses B and C. The highest prevalence of *Y. pseudotuberculosis* was observed on liver (20%) in slaughterhouse A. The prevalence of *Y. pseudotuberculosis* on lung, *lobus craniales* was 13%, but the lowest – on heart (7%) in slaughterhouse A.

In general, the prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 on plucks and carcasses in slaughterhouse A was significantly higher than in slaughterhouses B and C ($p < 0.05$). Results of the present study show that internal slaughterhouse factors may have impact on distribution of pathogenic yersiniae on carcasses and plucks. As palatine tonsils are considered to be the principal source for carcasses' and plucks' contamination with pathogens (Fredriksson-Ahomaa et al., 2000^b, Fredriksson-Ahomaa et al., 2001^a, Laukkanen et al., 2009), removal of palatine tonsils with plucks, as it was done in slaughterhouse A, may enhance the distribution of pathogenic yersiniae on carcasses and plucks. The lowest prevalence of pathogenic yersiniae was observed in slaughterhouses B and C, where removal of plucks was performed in several steps, and organs were subsequently detached, or certain organs (diaphragms and kidneys) were left inside the carcass.

Andersen et al. (1991) as well as Christensen and Lühje (1994) reported, that removal of palatine tonsils and evisceration technique could influence the prevalence of pathogenic yersiniae on carcasses and plucks. The prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 on diaphragms was higher when plucks were removed with tongue and palatine tonsils. However, the prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 was lower when tongue and palatine tonsils were detached from plucks prior the initial contact of pharyngeal area with diaphragm (Andersen et al. 1991).

Pathogenic yersiniae in environment of the slaughterhouse

Yersiniae were isolated from environmental samples with the prevalence 55%, where the prevalence of non-pathogenic and pathogenic yersiniae comprises 52% and 3% accordingly (Table 6.).

The highest prevalence of non-pathogenic yersiniae (100%) was found on sinks, floors of meat inspection platforms and footwear samples. The lowest prevalence of non-pathogenic yersiniae (14%) was identified on boxes for slaughter products. Pathogenic yersiniae were isolated from the work surface (20%) and slaughterhouse floor samples (8%).

In general, the highest prevalence of yersiniae was on work clothes (67%), where 8 out of 12 samples were positive. The lowest prevalence of yersiniae was on working tools (33%), where 3 out of 9 samples were positive.

Non-pathogenic *Y. enterocolitica* 1A, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia* and *Y. kristensenii* and pathogenic *Y. enterocolitica* 4/O:3 was isolated from environmental samples.

Non-pathogenic yersiniae are widespread in the environment, so several factors as animal hygiene, quality of hygiene procedures, hygiene of primary processing of carcasses and plucks may influence the distribution of yersiniae in the slaughterhouse environment. These factors may have impact on the premises' and equipment hygiene (Gill, Jones, 1995, Sammarco et al., 1997). In previous studies, non-pathogenic yersiniae were isolated from the slaughterhouse environmental samples also (Gill, Jones, 1995, Sammarco et al., 1997).

Y. enterocolitica 4/O:3 may be distributed in the slaughterhouse environment due to cross-contamination from *Y. enterocolitica* 4/O:3 positive pig palatine tonsils, contaminated carcasses and plucks (Fredriksson-Ahomaa et al., 2000^b). Nesbakken (1988) and Fredriksson-Ahomaa et al. (2000^b) have found *Y. enterocolitica* 4/O:3 on slaughterhouse hall floor and work surface samples, which coincides with our results according to localisation of contamination in the plant environment.

Non-pathogenic yersiniae were identified in environmental samples in slaughterhouses A, B and C, but pathogenic yersiniae only in slaughterhouse A (Table 7).

The highest number of non-pathogenic yersiniae positive samples (14 out of 26 samples) was recovered in slaughterhouse B. The lowest number of non-pathogenic yersiniae positive samples was found in slaughterhouse C (9 out of 19 samples). However, differences in the prevalence of non-pathogenic yersiniae between slaughterhouses A, B and C were not significant ($p > 0.01$). *Y. enterocolitica* 4/O:3 was isolated from environmental samples only in slaughterhouse A (2 out of 19 samples were positive).

In slaughterhouse A, non-pathogenic yersiniae were isolated from work surface, table for work equipment, slaughter hall floor, sink, box for cold storage, glove, apron and footwear samples. However, non-pathogenic yersiniae were not found on door, box for slaughter products, hook and knife samples in slaughterhouse A. In slaughterhouse B, the presence of non-pathogenic yersiniae was observed on work surfaces, doors, tables for work equipment, slaughter hall floors, sinks, floors of meat inspection platform, hook, apron and footwear. In slaughterhouse B, non-pathogenic yersiniae were not found on box for slaughter products, box for cold storage, knife and glove samples. In slaughterhouse C,

non-pathogenic yersiniae were isolated from the slaughter hall floor, sink, box for slaughter products, floor of the meat inspection platform, box for cold storage, apron and footwear samples. In slaughterhouse C, non-pathogenic yersiniae were not recovered from doors, table for work equipment, hoof, knife and glove samples (Table 8.).

In slaughterhouse A, the highest prevalence of non-pathogenic yersiniae (100%) was identified on tables for work equipment, sinks, box for cold storage, gloves and footwear. The lowest prevalence of non-pathogenic yersiniae in the same slaughterhouse (33%) was on working footwear. In slaughterhouse B, the highest prevalence of non-pathogenic yersiniae (100%) was on work surfaces, doors, tables for work equipment, sinks, floors of meat inspection platform, aprons and work footwear. The lowest prevalence of non-pathogenic yersiniae in slaughterhouse B was on floor of slaughterhouse hall and hooks (50%). The highest prevalence of non-pathogenic yersiniae in slaughterhouse C (100%) was on floors of meat inspection platform, boxes for cold storage, aprons and work footwear samples. In slaughterhouse C, the lowest prevalence of non-pathogenic yersiniae (33%) was found on boxes for slaughter products.

High prevalence of non-pathogenic yersiniae on work clothes samples demonstrate that worker may distribute microbiological contamination to slaughter products, therefore workers should be aware of cleanliness of the working clothes. Aprons and working footwear should be changed and cleaned in order to avoid the distribution of contamination. Low prevalence of pathogenic yersiniae on samples from working tools indicate that cleaning and disinfection procedures are adequate ensuring removal of both, the microbiological contaminants and yersiniae. Sammarco et al. (1997) also reported that environment of the slaughterhouse could be contaminated with yersiniae which concurs with our results.

In slaughterhouse A, *Y. enterocolitica* 4/O:3 was isolated from samples drawn from the work surface and slaughterhouse floor, but not from door, table for work equipment, sink, box for slaughter products, box for cold storage, hook, knife, glove, apron and working footwear. In slaughterhouses B and C, *Y. enterocolitica* 4/O:3 was not found on work surface, slaughterhouse floor, floor of meat inspection platform, door, table for work equipment, sink, box for slaughter products, box for cold storage, hook, knife, glove, apron and work footwear samples (Table 9.).

In slaughterhouse A, the highest prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O: 3 (50%) was observed on floor of the slaughterhouse hall, but the lowest – on work surfaces (33%).

Work surface, where *Y. enterocolitica* 4/O:3 was established, was intended for primary processing of by-products including separating of offal from the plucks. Thus, *Y. enterocolitica* 4/O: 3 could be introduced on work surface due to direct contact with the contaminated plucks.

In slaughterhouse A, a *Y. enterocolitica* 4/O: 3 positive sample was obtained from the slaughterhouse floor under the plucks' processing line, the pathogen being presumably transferred to the floor from contaminated plucks with blood and rinsing water.

Isolation of *Y. enterocolitica* 4/O:3 and *Y. pseudotuberculosis* from pig tonsils, carcasses and plucks using different testing methods

Y. enterocolitica 4/O:3 was isolated from pig palatine tonsils, subsequently the direct plating, the selective enrichment and the cold enrichment was applied. The presence of *Y. pseudotuberculosis* in pig tonsils was detected by applying the cold enrichment, but not when the direct plating and selective enrichment was used.

Y. enterocolitica 4/O: 3 was recovered from pig tonsils using the direct plating, the selective enrichment and the cold enrichment for 7, 14 and 21 days. Even *Y. pseudotuberculosis* from pig tonsils was recovered when the cold enrichment for 7, 14 and 21 days was applied (Table 10).

The highest amount of *Y. enterocolitica* 4/O: 3 cultures from pig tonsil samples was isolated using the direct plating, when 64 out of 173 samples were positive. However, differences in amount of isolated *Y. enterocolitica* 4/O: 3 cultures using the direct plating and the cold enrichment for two weeks were not observed ($p>0.01$). The smallest amount of the isolated *Y. enterocolitica* 4/O: 3 cultures were obtained when the selective enrichment was applied (9 out of 173 positive samples). Applying the selective enrichment and the cold enrichment for one week, significant differences in amount of isolated *Y. enterocolitica* 4/O:3 cultures were not identified .

Applying the cold enrichment for three weeks *Y. pseudotuberculosis* was isolated from 10 out of 19 positive samples and the amount of the isolated cultures was the highest. The smallest amount of *Y. pseudotuberculosis* cultures was recovered applying the cold enrichment for one week (3 out of 19 cultures were isolated). In general, there were no differences in an amount of isolated *Y. pseudotuberculosis* cultures applying the cold enrichment for two and three weeks ($p>0.01$).

If the animal is a carrier of pathogen, pig palatine tonsils are colonized with *Y. enterocolitica* 4/O:3, and the amount of *Y. enterocolitica* 4/O:3 cells can reach 1720 cfu/cm² (Nesbakken, 1988). This amount of *Y. enterocolitica* 4/O: 3 cells in testing material is sufficient to isolate *Y. enterocolitica* 4/O: 3 without enrichment. Thereby the direct plating was efficient in the present study, indicating the presence of *Y. enterocolitica* 4/O: 3 cells in pig tonsils in high amount. Korte et al. (2004), VanDamme et al. (2010) isolated *Y. enterocolitica* 4/O: 3 from the samples of pig tonsils after the direct plating onto CIN agar, confirming that the direct plating is efficient method for isolation of this pathogen. The cold enrichment was useful in our study as well. During the cold enrichment, the bacterial cells multiply reaching sufficient amount of cells for development of colonies onto CIN agar. The treatment of sample with KOH is helpful in order to reduce background microflora, making the cold enrichment especially efficient (Schiemann, 1983^a, Fredriksson-Ahomaa, Korkeala 2003).

Regarding the isolation of *Y. pseudotuberculosis*, the results obtained are in agreement with Niskanen et al. (2002), who studied the prevalence of *Y. pseudotuberculosis* in fattening pigs in Finland, and pathogens were not isolated using either the direct plating or the selective enrichment. The cold enrichment was effective in other studies for isolation of *Y. pseudotuberculosis* from pig tonsil samples (Niskanen et al., 2002, Martínez et al., 2009, 2010^{a,b}).

Y. enterocolitica 4/O:3 was isolated from carcasses and plucks using the cold enrichment for 7, 14 and 21 days. *Y. enterocolitica* 4/O: 3 was not recovered from

carcasses and plucks when the direct plating or the selective enrichment was applied. *Y. pseudotuberculosis* was isolated applying the cold enrichment for 14 and 21 days. Using the direct plating, the selective enrichment or the cold enrichment for 7 days *Y. pseudotuberculosis* was not detected (Table 11.).

The highest amount of isolated *Y. enterocolitica* 4/O: 3 cultures from carcasses and plucks were detected by using the cold enrichment for three weeks (30 out of 53 positive samples were identified). However, significant differences in the amount of isolated *Y. enterocolitica* 4/O: 3 cultures using the cold enrichment for two and three weeks were not observed ($p>0.05$). The smallest amount of *Y. enterocolitica* 4/O: 3 cultures were isolated applying the cold enrichment for one week (three out of 53 samples were positive).

The highest amount of isolated *Y. pseudotuberculosis* cultures from plucks was recovered using the cold enrichment for three weeks (4 out of 6 samples were positive). The smallest amount of *Y. pseudotuberculosis* cultures from plucks was identified using the cold enrichment for two weeks (2 out of 6 samples were positive).

The results of the present study establish small numbers of *Y. enterocolitica* 4/O: 3 on slaughter products, indicating that longer period of time was essential for multiplying of yersiniae cells. Nesbakken (1988) has isolated *Y. enterocolitica* 4/O: 3 from plucks after the cold enrichment, indicating that the cold enrichment is essential for multiplying of yersiniae cells in order to isolate the pathogen from the contaminated material.

Isolation of *Y. pseudotuberculosis* from plucks after the cold enrichment demonstrated that the contamination of plucks occurred with small amounts of yersiniae cells. Laukkanen et al. (2008) has isolated *Y. pseudotuberculosis* from plucks after the cold enrichment as well, thus the author concluded that the cold enrichment was especially effective in isolation of *Y. pseudotuberculosis* from the contaminated material.

CONCLUSIONS

1. In Latvia, pathogenic yersiniae - *Y. enterocolitica* 4/O:3 and *Y. pseudotuberculosis* are present in tonsils of slaughtered pigs. The prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 was significantly higher than the prevalence of *Y. pseudotuberculosis* ($p<0.01$) indicating that pigs in Latvia are carriers of *Y. enterocolitica* 4/O:3.
2. Pathogenic yersiniae were isolated from the pig tonsils in all slaughterhouses, however the significant differences in the trends of prevalence among them was observed ($p<0.05$). The distinctive prevalence of pathogenic yersiniae is related to whether the pigs slaughtered at the particular slaughterhouses have been infected or not.
3. Pathogenic yersiniae were isolated from pig carcasses and plucks, but the significant differences in the prevalence between their presence in carcasses and plucks were not observed ($p>0.05$). This indicates that both carcasses and plucks may become contaminated equally.
4. The prevalence of *Y. enterocolitica* 4/O:3 on tongues was significantly higher than that on lungs, hearts, diaphragms, livers and kidneys ($p<0.05$), showing that tongues are most heavily contaminated with pathogen.

5. Presence of pathogenic yersiniae on slaughter products were observed in all slaughterhouses, however, the differences in the prevalence of the pathogens among slaughterhouses were significant ($p < 0.05$). This indicates that the internal factors, related to primary processing of carcasses and plucks, exist among plants, which can lead to differences of distribution of contamination with pathogen to carcasses and plucks.
6. *Y. enterocolitica* 4/O:3 was isolated from the slaughter hall floor and work surface samples in plant A, showing that the pathogen may be spread in the plant environment, as well as indicating that cleaning and hygienic procedures in the particular slaughter house are not adequate.
7. The direct plating and cold enrichment for 14 days was the most efficient methods for isolation of *Y. enterocolitica* 4/O: 3 from the pig palatine tonsil samples ($p < 0.05$), while the cold enrichment method was best for isolation of the pathogen from carcasses and plucks. In the same way, the cold enrichment method was the most effective for isolation of *Y. pseudotuberculosis* from pig tonsils and plucks.

RECOMMENDATIONS FOR PRACTICE

1. As pigs may be carriers of pathogenic yersiniae, in order to prevent the distribution of pathogens to other animal groups or to pig slaughter products information about the herd status should be available to slaughterhouse prior to transporting of animals for slaughtering thereto.
2. The meat inspection, the primary processing and other procedures with plucks should start with organs located far from tongues and tonsils in order to prevent cross-contamination of other organs and tissues with pathogens.
3. In addition to ISO 10273 requirements for the testing material, applying the direct plating and the selective enrichment, the cold enrichment should be used in case when the presence of pathogen is expected.
4. As the pig palatine tonsils are often contaminated with pathogens, fore tonsils must be removed from the pig heads, tongues and pharynxes in order to avoid the distribution of tonsillar tissues on the consumer level because it is not acceptable for food safety issues.

SCIENTIFIC PUBLICATIONS

Related to the topic of doctoral thesis:

1. Terentjeva M., Bērziņš A. (2011) Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in the environment of slaughterhouse. *Proceedings of 5th Baltic Conference on Food Science and Technology "Innovations for food science and production"*, Jelgava, 5-6 May, pp. 172-176.
2. Terentjeva M., Bērziņš A. (2010) Prevalence and antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in pigs in Latvia. *Journal of Food Protection*, vol. 73, pp. 1135-1138.
3. Terentjeva M., Liepiņš E., Bērziņš A. (2010) Different prevalence of yersiniae on pig carcasses in three slaughterhouses in Latvia. *Proceedings of International Scientific Conference "Animal. Health. Food Hygiene"*, Jelgava, 29 October, pp. 130-135.
4. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. (2008) Prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in pig tonsils and by-products in two slaughterhouses in Latvia. *Proceedings of International Scientific Conference „Implication of Different Production Technologies on Animal Health and Food Products Quality Indices"*, Sigulda, 4-5 December, pp. 112-116.
5. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. (2008) Prevalence of pathogenic *Yersinia* spp. on by-products, carcasses and tonsils. *Proceedings of International Scientific Conference "Animal. Health. Food Hygiene"*, Jelgava, 14 November, pp. 184-188.
6. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. (2007) Incidence of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in Latvian Pigs at slaughtering. *Proceedings of International Scientific Conference „Research for Rural Development 2007"*, Jelgava, 16-18 May, pp. 66- 69.
7. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. (2007) A pilot study on occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in Latvian pigs at slaughtering. *Proceedings of 7th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork*, Verona, Italy, 9-11 May, pp. 163- 165.
8. Terentjeva M., Bērziņš A., Liepiņš E. (2006) Occurrence of *Yersinia* species in slaughtered pigs' tonsils of Latvian origin. *Proceedings of International Scientific Conference "Animals. Health. Food Hygiene"*, Jelgava, 10 November, pp. 289- 293.