

FIL/IDF - ref. S. I. 9405

## Značaj patogenih mikroorganizama u sirovom mlijeku

G. Hahn, Bundesanstalt für Milchforschung, Postfach 6069, D-24121 Kiel

### YERSINIA ENTEROCOLITICA

#### 1. Uvod

Rod *Yersinia* općenito obuhvaća sedam vrsta, od kojih su tri patogene za ljude i životinje. Za higijenu hrane važna je samo *Y. enterocolitica*. O toj se vrsti nešto zna tek odnedavno. Prvi su sojevi izolirani 1939. iz ozljeda lica i enteritisa ljudi (Schleifstein i Coleman). Kasnije su te mikroorganizme izolirali većinom iz djece koja su patila od enteritisa i nazvali ih *Bacterium enterocoliticum*. Sljedećih 20 godina, do kraja 1960-tih, pojavilo se samo nekoliko izvješća. Od tog se doba *Y. enterocolitica* poznaje kao uzročnik "infektivnog enteritisa" koji se uspoređuje s rodovima *Salmonellae*, *Shigellae*, *Campylobacter*, različitim sojevima *E. coli* i drugim.

#### 2. Klasifikacija

Familija: Enterobacteriaceae

Rod: *Yersinia*

Sojevi: *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*, *Y. ruckeri*

Rod *Yersinia* nazvan je po slavnom francuskom bakteriologu A. J. E. Yersin u koji je ustanovio da je to uzročnik oštećenja kože.

#### 3. Značajke

##### 3.1. Morfologija i uzgoj

*Y. enterocolitica* nema tipičnih morfoloških značajki u odnosu na druge Enterobacteriaceae. Gram-negativni je štapić srednje veličine, pokretljiv uz mobilnu pomoć flagela pri 25°C (pri 37°C flagela ili nema ili je njihov broj neznan). *Y. enterocolitica* raste u aerobnoj atmosferi (fakultativno anaerobnoj) pri optimalnoj temperaturi od 28-29°C (pri 37°C razmnožavanje je ograničeno), na standardnim hranjivim supstratima bez ikakvih posebnih aditiva. Ipak, posebna je značajka njena sposobnost da raste pri 2-4°C, što može biti važno za izoliranje i epidemiološka istraživanja.

### 3.2. Biokemija

*Y. enterocolitica* je biokemijski vrlo aktivna, kao i svi ostali sojevi familije *Enterobacteriaceae*, pa se može identificirati biokemijskim reakcijama unutar roda. Ipak, unutar vrste razlikuju se sojevi u toku mnogih reakcija, tako da su za epidemiološka istraživanja razvijene različite sheme tipiziranja za identificiranje četiri do pet biotipova. Obično su to sheme koje su predložili Wauters ili Nilehn, a koje su gotovo istovjetne. Identificiranje roda *Y. enterocolitica* temelji se na nekoliko jednostavnih testova (vidi niže).

### 3.3. Serologija

Među sojevima *Y. enterocolitica*, kao i u slučaju *Enterobacteriaceae*, može se razlikovati niz O- i H-antigena. Obično se 23 seroskupine mogu identificirati uz pomoć 28 O-antigena i 23 H-antigena (a-t) koji mogu biti važni za epidemiološka istraživanja. Čini se da se shema Wauters primjenjuje znatno češće. Neki primjeri mogućih seroskupina su:

Seroskupina 3: 0:3 -a, b, c

Seroskupina 9: 0:9 -a, b

Seroskupina 12: 0:12,25 - o ili 0:12,26 - t

Valja uočiti da je serološko tipiziranje ovisno o dostupnosti specijalnih seruma. Sljedeća je komplikacija unakrsno reagiranje s antigenima *Brucella*, *Salmonella*, *Shigella* i *V. cholerae*.

U odnosu na proizvodnju antitijela pod infekcijom zna se da se u serumu ljudi mogu otkriti specijalna antitijela, ali nije jasno jesu li ona ili nisu zaštita od infekcije.

### 3.4. Otpornost i antibiotska osjetljivost

*Y. enterocolitica* je očigledno mnogo tolerantnija prema lužinama nego druge gram-negativne bakterije (1,2), ali je slabo otporna prema kiselom pH od oko 4,5 (3). Tolerantna je i prema žučnim solima (4). Što se tiče temperature, većina sojeva podnosi smrzavanje, ali ih lako ubijaju uvjeti pasterizacije. Tri soja *Y. enterocolitica* 09 su D vrijednosti pri 62,8°C od 0,24 - 0,96 m i z vrijednosti od 5,11 - 5,78°C (5).

Bakterije su određivane u 127 uzoraka Cheddar sira proizvedenog od sirovog mlijeka starog 60 dana iz 21 sirane u Kanadi. Osim koliformnih i drugih, izoliran je samo jedan nepatogeni soj *Y. enterocolitica*, iz jednog uzorka (*Salmonellae* i *C. jejuni* se nisu mogli otkriti) Cheddar sir proizveden od sirovog mlijeka ne predstavlja, dakle, opasnost po zdravlje (6).

Pasterizirano mlijeko za proizvodnju "Colby" sira pokusno je kontaminirano s dva virulentna soja *Y. enterocolitica* (oko 10<sup>3</sup>/g što se pomnožilo do 10<sup>6</sup>/g) u grušu. Tada je tijekom nekoliko tjedana broj opadao. Nakon 7 tjedana jedan se soj više nije mogao otkriti, drugi je ipak bio prisutan uz 200/g nakon 8 tjedana pri temperaturi skladištenja od 3,1°C (7).

Proučavano je ponašanje *Y. enterocolitica* 09 tijekom zrenja i skladištenja sira feta. Tijekom brzog zakiseljavanja unutar 48 sati do pH 4,6, broj se mikroorganizama smanjio do 1-6 log ovisno o inokulumu, unutar 2-4 dana grušanja, te nestao između 3 i 5 dana. Kada je zakiseljavanje teklo polagano, a pH ostajao između 5,3 i 5,5, soj se množio od 2-6 log i preživljavao do najmanje 30 dana (8).

Različite vrste "cottage" sira inokulirane su sa sojevima *Y. enterocolitica* koji su bivali brojniji pri 10°C, a broj se smanjivao pri 20°C. U siru sa sorbinskom kiselinom taj broj ostaje stalan. U drugoj vrsti (pilići) broj *Y. enterocolitica* povećao se 100 puta pri 10°C unutar 14 dana (9).

Pokusnim kontaminiranjem kutija s mlijekom izmetom miša inficiranog sojem *Y. enterocolitica* izoliranog prilikom epidemije otkriveno je trajanje preživljavanja od 21 dan pri 4°C u kutijama. To je bilo pokusno simuliranje velike epidemije kada su kutije i košare bile kontaminirane izmetom svinja (10).

Razmnožavanje i preživljavanje *Y. enterocolitica* proučavano je tijekom proizvodnje sira kačkavalja od kravljeg i ovčjeg mlijeka. Sojevi *Y. enterocolitica* korišteni za kontaminiranje sira tijekom proizvodnje preživjeli su 8 dana pri zastupljenosti 10<sup>2</sup>/g i ne više od 30 dana pri 10<sup>6</sup>/g, što nije bilo ovisno o pH (11).

Preživljavanje *Y. enterocolitica* provjeravano je u različitim vrstama mlijeka i mliječnih proizvoda u pokusu kontaminiranih s osam sojeva različitog podrijetla tijekom inkubacije pri 4°C i 20°C. Moglo se dokazati da *Y. enterocolitica* može vrlo dugo preživljavati (do 235 dana) u svim uzorcima, ovisno, dakako, o vrsti soja i o proizvodu. Proizvodi su najčešće bili svježije vrhnje i čokoladno mlijeko, čak i pri 4°C. Najniža pH vrijednost za preživljavanje bila je 4,5. Niti jedan soj nije preživio nekoliko minuta pri 60°C. Čini se da je najopasniji izvor kontaminiranja voda koja se u mljekarama koristi za oplahivanje (12).

Osjetljivost prema antibioticima, važna za terapiju, sažet će se u nastavku, ne uzimajući u obzir varijabilnost pojedinih sojeva ili serotipova.

*Y. enterocolitica* je većinom osjetljiva prema: aminoglikozidima (gentamicin, kanamicin, streptomycin), polimiksinu, kloramfenikolu, tremeprim-sulfametoksazolu i novijim β-laktam antibioticima, te nekim cefalosporinima. Većinom je otporna prema penicilinu i derivatima.

## 4. Izoliranje i identificiranje

### 4.1. Obogaćivanje

Izoliranje *Y. enterocolitica*, kao i svih patogenih mikroorganizama, iz uzoraka prirodno kontaminirane hrane moguće je jedino postupcima obogaćivanja i/ili uzgoja na selektivnim supstratima. Ovisno o serotipovima i vrsti uzoraka (klinički i uzorci hrane) predloženi su mnogi različiti postupci i supstrati, što znači da još ne postoji optimalna metoda za svaku svrhu.

Ističu se neke od najvažnijih metoda i supstrata za uzorke hrane, za mlijeko i mliječne proizvode, uključujući tipičnu pojavu *Y. enterocolitica* da raste pri 2-4°C. I tolerancija prema lužinama *Y. enterocolitica* može se koristiti kao dodatna efikasnost obogaćivanju prije ili poslije drugih postupaka (13) (0,25 - 0,5% KOH, 2 min/22°C). Iako hladno obogaćivanje može dati dobre rezultate izoliranja naročito patogenih serovarijanti, gubitak predstavlja potrebno vremensko razdoblje (3-4 tjedna). Prema Schiemannu (13), "najuspješniji tekući supstrat za obogaćivanje, onaj vrlo selektivan za serovarijante 03 i 09, je modificirani tekući supstrat Rappaport koji je opisao Wauters". Za hranu se također može preporučiti takozvani BOS-tekući supstrat (žuč-oksalat-sorboza) (14, 15).

#### 4.2. Selekcija

Kao selektivni supstrati za ploče mogu se preporučiti obični supstrati za druge Enterobacteriaceae, kao primjerice Salmonela-Shigella-agar, XLD-agar i McConkey-agar koji valja inkubirati između 22 i 28°C 48 sati. Ipak, čini se da je supstrat koji valja izabrati CIN (Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin)-agar prema Schiemannu, koji se može nabaviti u trgovini. Izvanredno je selektivan, a tipične se kolonije pojave nakon 18-20 sati pri 28-32°C. Dostupan je i selektivni supstrat Wautersa koji temelji na goveđoj žuči i Na-deoksiholatu.

#### 4.3. Identificiranje

Identificiranje roda *Yersinia* i razlikovanje sojeva temelji se bitno na biokemijskim reakcijama.

Rod *Yersinia* može se identificirati prema navedenim morfološkim i karakteristikama uzgoja na "Klinger željeznom agaru" (laktoza - glukoza +, H<sub>2</sub>S -, stvaranje plina -) i Kristesen urea agaru (pozitivnom), oba inkubirana pri 35°C. Dodatno se mogu koristiti oksidaza (negativna), LDC (pozitivno), VPR (pozitivno pri 25°C) i pokretljivost (pozitivna pri 25°C).

U trgovinama dostupni kompleti za dijagnostiku, posebice API 20E, daju pouzdane rezultate za identificiranje roda (16) kada se inkubiraju pri 25°C.

S obzirom da nisu svi serotipovi patogeni, utvrđivanje serotipova nužno je za dijagnozu *Y. enterocolitica* (vidi 3.3.).

Minimalne svrsishodne vrijednosti za razlikovanje patogenih sojeva *Yersinia* prikazuje tablica 1.

Tablica 1. Diferencijacija patogenih sojeva *Yersinia* uz pomoć biokemijskih karakteristika

	<i>Y. enterocolitica</i> Biovar 1-4	<i>Y. enterocolitica</i> Biovar 5	<i>Y. pseudo=</i> <i>tuberculosis</i>	<i>Y. pestis</i>
Indol	V	-	-	-
VPR	+	+	-	-
Saharoza	+	V	-	-
Celobioza	+	+	-	-
Sorboza	+	V	-	-
L-ramnoza	-	-	+	-
Melibioza	-	-	+	V
D-sorbitol	+	-	-	-
ODC	+	V	-	-
Ureaza	+	+	+	-

Svi testovi izvedeni su pri 25°C, osim ureaze (35-37°C).

## 5. Mehanizam kontaminiranja

### 5.1. Zaraženo vime

Infuzija *Y. enterocolitica* 09 u četvrti vimena krave uvjetovala je povećanje broja somatskih stanica bez kliničkih simptoma, ali uz povremeno izoliranje iz uzoraka mlijeka. Titri antitijela *Y. enterocolitica* i *B. abortus* bili su dovoljni za pozitivne Brucella testove (17).

### 5.2. Zbirno mlijeko

Izvešće o slučaju iz pokrajine Alsace iz 1980/1981., gdje su analizirana 233 uzorka sirovog mlijeka, od čega je 54,5% uzoraka bilo kontaminirano s *Y. enterocolitica*. od 155 tipiziranih sojeva 97,3% bilo je tipa I serotipova 05, 06 i 07 (18).

Serovarijante 05 B i 08 nađene su u 5 uzoraka izmeta (od 83), dva iz vode kojom se pralo vime i jedan iz uzorka mlijeka krava. Šest izolata od tri ovce bili su 03 i 09,6 izmeta svinja (od 92) pripadali su tipu 03 i 08. Titri antitijela mnogih serovarijanti mogu se otkriti u životinjama i oko polovice na radnicima u klaonici i radnicima na farmi svinja (19).

Iz 3717 uzoraka hrane i okoline, 118 sojeva *Y. enterocolitica* bilo je izolirano iz 115 uzoraka. Pasterizirano mlijeko iz jedne mljekare bilo je uvijek kontaminirano s *Y. enterocolitica* 05,27 više mjeseci. uzrok kontaminiranja bio je spremnik u kome se držalo mlijeko nakon pasterizacije, koji poslije temeljitog pranja više nije bio kontaminiran (20).

Od 114 uzoraka sirovog mlijeka u Nizozemskoj, 10,5% je sadržalo *Y. enterocolitica*, a i 1,5% u 332 uzorka sirovog mlijeka (21).

U 247 uzorka sirovog kozjeg mlijeka 11 proizvođača, *Y. enterocolitica* se mogla izolirati iz 35 uzoraka (22).

Od 50 uzoraka sirovog kozjeg mlijeka u prodaji, 26% je bilo kontaminirano sojevima *Yersinia*, od kojih je 9 bilo *Y. enterocolitica* biotipa 1. a tri serotipa 06,30 (23).

### 5.3 Mliječni proizvodi

U Nizozemskoj je iz 256 vrsta sira s plijesnima *Y. enterocolitica* bila izolirana samo jednom iz 50 analiziranih uzoraka (24).

Od različitih mliječnih proizvoda u Nizozemskoj 17,4% je sadržalo *Yersinia* u 23 pasterizirana mliječna proizvoda, u 4,5% od 89 sira Brie i Camembert, 2,0% od 20 modrih sireva, 10,7% od 122 tučena vrhnja i 5,0% od 121 uzorka sladoleda. 71% izoliranih sireva bili su *Y. enterocolitica* (21).

## 6. Patogenost za čovjeka

### 6.1. Mehanizmi patogenosti

U *Y. enterocolitica* postoji niz faktora odgovornih za patogenost i oštrinu. Ipak, analiza i dokaz ovise o serovarijanti, vrsti laboratorijskih životinja, supstratima, temperaturi itd. Da bi se izbjegao niz pojedinačnih navoda, ovo je pitanje sažeto prema pregledu Schiemann (13).

**Enterotoksin:** Prema toplini otporan enterotoksin (ST) može se dokazati, jer pokazuje serološko unakrsno djelovanje prema *E. coli* ST. On je kodiran u kromosomu. Obično se ne može proizvesti iznad 30°C, ne može se naći in vivo i običan je u nepatogenim sojevima okoline. Ovaj toksin očigledno nije u patogenima, a ipak su poznate mnoge karakteristike koje upućuju na patogenost određenog soja.

Serovari 03-05,27-08 i 09 većinom upućuju na patogenost soja. Epidemiološki je izrazito da u Europi prevladavaju 03 i 09, u zapadnim dijelovima Kanade i SAD 03-05,27 i 08, u Japanu 03 i 05,27, a u Južnoj Africi izoliran je samo 03. Ti patogeni serovari su biokemijski identični: ipak su isti serovari iz okoline biokemijski različiti i nepatogeni. Povremeno se može izolirati oko 8 serovara.

**Plasmidi:** Patogenost za životinje kodiraju različiti plasmidi, koji se lako izgube supkultivanjem pri 37°C.

**Ovisnost o kalciju** pri 35-37°C za rast također je kodirana plasmidom i označava virulentne sojeve koji postaju nevirulentni gubljenjem tog faktora.

**V i W antigeni,** citoplazmatski polipeptid, odnosno, lipoprotein membrane proizvoda pri 37°C plasmid-pozitivni sojevi i nedostatak kalcija. Čini se da je V-antigen prevladavajući faktor virulencije.

**Bjelančevine vanjske membrane** lako se otkrivaju autoglutinacijom i općenito upućuju na sojeve koji sadrže plasmid.



Dodatno se ti sojevi mogu prepoznati po manjim kolonijama na triptikaze sojinom agaru pri 35-37°C i apsorpcijom kongo crvene boje.

*Biokemijske karakteristike* također mogu označavati patogene sojeve. Kada se radi o sojevima *Y. enterocolitica*, reakcije bitno ovise o temperaturi inkubacije. Uz neke iznimke, patogeni sojevi normalno hidroliziraju eskulin pri 25°C i fermentiraju salicin pri 35°C.

## 6.2. Patogenost za laboratorijske životinje

Stvarni učinak mikroorganizama uzročnika enteritisa valja provjeriti na laboratorijskim životinjama per os. Ipak, simptomi se tako rijetko pojavljuju. Zbog toga je predložen niz testova različitim životinjama, što je sažeto kako slijedi.

*Zamorac*: Pozitivan test bistrenja pojavljuje se sa serovarom 08, upozoravajući na napadački faktor ovisan o plazmidu.

*"Gerbil"* (južnoafrički glodar sličan mišu) je, čini se, vrlo osjetljiv na infekcije s *Yersinia*. Intraperitonealnom i oralnom primjenom izazvane su septikemije i smrt malim dozama 08 i djelomice 09 serovara.

*Zec*: Peroralnom infekcijom sojevima serovara 03 i 09 izazvano je izlučivanje u izmetu nakon 40 dana zbog oštećenja crijeva, a nalazili su se i u svim organima. I ta činjenica upućuje na sposobnost napadanja.

*Majmun*: Intestinalne su infekcije izazivale jake enterokolitise, septikemije i nekrotička oštećenja različitih organa. "Čini se da je *Y. enterocolitica* postala sve veći problem u sredinama primata".

*Štakor*: Čini se da su štakori vrlo otporni prema infekcijama s *Yersinia*, čak i nakon parenteralnog davanja.

*Miš*: Za miša su patogeni najmanje sojevi 08 i 021 poslije, oralne, subkutane i intraperitonealne infekcije, a patološke se promjene nalaze u utrobi, limfnim čvorovima i organima.

## 7. Epidemiologija

Preduvjet za infekcije ljudi je prisutnost patogenih mikroorganizama u okolišu, u domaćim zaklanim životinjama, u hrani i vodi. Sa *Y. enterocolitica* pojavljuje se i poseban problem rasprostranjenosti niza različitih serovara, od kojih samo neki indiciraju patogene sojeve.

Zbog toga, primjerice, izoliranje *Y. enterocolitica* iz sumnjive hrane ili bolesnika nije dokaz bez serotipiziranja izoliranih sojeva.

Sa stanovišta te posebne monografije prikazana je samo pojava u životinjama koje nisu krave, te u hrani koja nije mlijeko ni mliječni proizvodi.

### *Životinje*

*Y. enterocolitica* se može izolirati iz različitih životinja, većinom bez ikakvih simptoma bolesti. Taj se mikroorganizam može nalaziti pretežito u svinjama,

govedu, ovcama i kozama, kao i u psima i mačkama, zečevima i ostalim glodavcima, te majmunima i činčilama.

U ljudima (vidi dolje) prevladavaju određeni serovari unutar različitih vrsta, primjerice 01 u činčilama, 02 u kunićima, 03 psima, mačkama i majmunima. Za ljude patogeni serovari (03, 08, 09, 05,27) mogu se izolirati iz mesa i mesnih proizvoda svinja, goveda i peradi, ali se rijetko povezuju s bolestima ljudi. Najčešće se nalaze u svinjskim proizvodima, naročito u svježim jezicima koji su stalno kontaminirani patogenim serovarima kao 03 (13).

#### Voda

Očigledno je da je voda iz bilo kojeg izvora (jezero, rijeka, potok, vrelo) najvažniji nositelj *Y. enterocolitica*, bili izravno ili prilikom upotrebe za čišćenje i proizvodnje. Izolirani su većinom nepatogeni serovari, ali oni ponekad uzrokuju bolesti.

#### Mlijeko i mliječni proizvodi

Mlijeko i mliječni proizvodi su izvor i prijenosnik yersinije, za ljude mnogo manje značajan od primjerice, infekcije s *Campylobacter*. Budući da pasterizacija sigurno inaktivira *Y. enterocolitica*, samo sirovo mlijeko i od njega proizvedeni proizvodi, odnosno rekontaminirani proizvodi, mogu biti opasni. Vjerojatno najveću yersiniozu izazvanu hranom navodi Schiemann (13) i pokazuje neke čudne pojave. Bila je uzrokovana pasteriziranim mlijekom, rekontaminiranim kontaminiranim kutijama koje su opet uprljane izmetima svinje. Ipak, isti serovar (013a) nije se nikad mogao izolirati iz dotične svinje. Osim toga, bilo je čudno što se taj uzročnik mogao izolirati iz bolesnih odraslih grla.

Kao primjer mnogih izvješća o yersiniozi izazvanoj kontaminiranim mlijekom i mliječnim proizvodima navest će se neke tipične epidemije, kako bi se upozorilo na mogućnost prenošenja te bolesti.

U jesen 1976. u bolnicu se prevezlo 36 djece otrovane kontaminiranim čokoladnim mlijekom iz školske kuhinje. U 38 zaraženih osoba nalazila se *Y. enterocolitica* serotip 08. Mogli su se naći titri antitijela. Iz mlijeka se mogao izolirati soj. Kontaminacija je nastala uslijed ručnog miješanja pasteriziranog mlijeka s čokoladnim sirupom u mljekari (25). Prilikom izbivanja gastroenteritisa u ljetnom logoru 1981., izazvanog kupovanjem hrane na području logora, oboljelo je 35% od 455 osoba. *Y. enterocolitica* 08 izolirana je iz 54% od 69 osoba. Rekonstituirano mlijeko u prahu inficirao je priprematelj hrane (26, 27).

Godine 1982. izvješćuje se o yersiniozi nastaloj u državama u SAD, kada su oboljela većinom mala djeca (148 od 172 infekcije). Opći izvor infekcije bilo je kontaminirano pasterizirano mlijeko iz mljekare u Memphisu. Radilo se o serovarima 013 i 018. Ipak, pregledom mljekare nije otkriven nikakav uzrok infekcije (28).



## 8. Simptomi

Simptomi yersinioza u čovjeka vrlo su različiti i djelomice nespecifični u odnosu na obične enteroinfekcije.

*Enteritis:* O ovoj se bolesti većinom (40 - 80%) govori kao o bolesti djece stare od 1 do 4 godine, koju karakteriziraju teški vodeni, (ponekad i krvavi) proljevi, grčevi u trbuhu, groznica i povraćanje. Ti simptomi obično traju 1 - 2 dana, ponekad nekoliko tjedana. Rijetko je potrebna kemoterapija.

*Pseudoapendicitis:* Čini se da je ta vrsta simptoma upale slijepog crijeva tipična za yersiniozu većinom djece od 10 do 14 godina.

*Artritis:* Najobičnija komplikacija yersinioze, artritis ekstremiteta mladih ljudi, prate navedeni simptomi koji mogu trajati od nekoliko mjeseci do nekoliko godina.

*Eritema nodosum* kao posljedica bolesti naročito žena starijih od 40 godina. Čini se da je oko 20% tih bolesti izazvano yersiniozom.

*Septikemija:* Rijetko se pojavljuje poslije invazije *Y. enterocolitica* u krvotok, ali letalnost iznosi 30%.

Općenito, osjetljivost na infekcije posebice na simptome prilikom yersinioze, ovisi o bolestima sustava kao što su, dijabetes, leukemija, alkoholizam i druge.

## 9. Terapija, kontrola i sprečavanje

Za normalne simptome enteritisa nije potrebna kemoterapija. U teškim slučajevima terapija antibioticima može biti potrebna i uspješna - koriste se tetraciklini, kloramfenikol, gentamicin ili trimetoprim-sulfametoksazol.

Sljedeće su preporuke za sigurno skladištenje na hladnome za patogene psihrotrofe poput *Y. enterocolitica*: prethodno zagrijavanje, zakiseljavanje do pH 5,6 i uporaba kemijskih inhibitora kao nitrit ili sorbit, ako su dozvoljeni (29).

### Literatura

1. Aulisio, C.C. G., Mahlman, I. J. & Sanders, A. C. Alali method for rapid recovery of *Yersinia enterocolitica* nad *Yersinia pseudotuberculosis* from foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 39 (1): 135-140 (1980).
2. Schiemann, D. A. Alkalotolerance of *Yersinia enterocolitica* as a basis for selective isolation from food enrichments. *Appl. Environ. Microbiol.* 46 (1): 22-27 (1983).
3. Mantis, A. Koidis, P. & Karaioannoglou, P. Survival of *Yersinia enterocolitica* in yoghurt. *Milchwissenschaft* 37 (11): 654-656 (1982).
4. Schiemann, D. A. *Yersinia enterocolitica*: observations on some growth characteristics and response to selective agents. *Can. J. Microbiol.* 26 (10): 1232-1240 (1980).
5. Lovett, J., Bradshaw, J. G. & Peeler, J. T. Thermal inactivation of *Yersinia enterocolitica* in milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 44 (2): 517-519 (1982).
6. Brodsky, M. H. Evaluation of the bacteriological health risk of 60-day aged raw milk Cheddar cheese. *J. Food Prot.* 47 (7): 530-531 (1984).

7. Moustafa, M. K., Ahmed, A. A. H. & Marth, E. H. Behavior of virulent *Yersinia enterocolitica* during manufacture and storage of Colby-like cheese. *J. Food Prot.* 46 (4): 318-320 (1983).
8. Karaioannoglou, P., Koidis, P., Papageorgius, D. & Mantis, A. Survival of *Yersinia enterocolitica* during the manufacture and storage of Feta cheese. *Milchwissenschaft* 40 (4): 204-206 (1985).
9. Sims, G. R., Glenister, D. A., Brocklehurst, T. F. & Lund, B. M. Survival and growth of food poisoning bacteria following inoculation into Cottage cheese varieties. *Int. J. Food Microbiol.* 9 (3): 173-195 (1989).
10. Stanfield, J. T., Jackson, G. J. & Aulisio, C. C. G. *Yersinia enterocolitica*: survival of a pathogenic strain on milk containers. *J. Food Prot.* 48 (11): 947-948 (1985).
11. Slawtschew, G. Über die Entwicklung und die Überlebensfähigkeit von *Yersinia enterocolitica* in kaschkawal (Raswitije i preschiwajemost na *Y. enterocolitica* w kaschkawal). *Chranitelna Promischlenost* (2): 31-32 (1989).
12. Bimet, F. Etude experimentale sur la survie de "*Yersinia enterocolitica*" dans le lait. *La Technique Laitiere* (957): 43-51 (1983).
13. Schiemann, D. A. *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. In: M. P. Doyle (Editor), *Foodborne Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, pp. 601-672. (1989).
14. Schiemann, D. A. Development of a two-step enrichment procedure for recovery of *Yersinia enterocolitica* from food. *Appl. Environ. Microbiol.* 43 (1): 14-27 (1982).
15. Walker, S. J. & Gilmour, A. A comparison of media and methods for the recovery of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like bacteria from milk containing simulated raw milk microfloras. *J. Appl. Bacteriol.* 60:175-183 (1986).
16. Restaino, L., Grauman, G. S., McCall, W. A. & Hill, W. M. Evaluation of the Minitek and API 20E Systems for identification of *Yersinia enterocolitica*. *J. Food Prot.* 42 (2): 120-123 (1979).
17. Mittal, K. R., Barnum, D. A. & Tizard, I. R. Experimental intramammary infection of cows with *Yersinia enterocolitica* 09: cellular and immunologic responses. *Am. J. Vet. Res.* 42 (2): 311-313 (1981).
18. Delmas, C. La contamination du lait par *Yersinia enterocolitica*. Contamination of milk with *Yersinia enterocolitica*. *Med. Nutr.* 19 (3): 208-210 (1983).
19. Kolos, E. N., Gnutov, I. N., Yushchenko, G. V. & Dunaev, V. I. Farm animals as sources of *Yersinia enterocolitica*. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 4:77-80 (1985).
20. Greenwood, M. H. & Hooper, W. L. *Yersinia* spp. in foods and related environments. *Food Microbiol.* 2 (4): 263-269 (1985).
21. de Boer, E., Seldam, W. M. & Oosterom, J. Characterization of *Yersinia enterocolitica* and related species isolated from foods and porcine tonsils in the Netherlands. *Int. J. Food Microbiol.* 3 (4): 217-224 (1986).
22. Jensen, N. & Hughes, D. Public health aspects of raw goats' milk production throughout New South Wales. *Food Technol. Aust.* 32 (7): 336-338 (1980).
23. Walker, S. J. & Gilmour, A. The incidence of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like bacteria in goats milk in Northern Ireland. *Lett. Appl. Microbiol.* 3 (2): 49-52 (1986).
24. de Boer, E. & Kuik, D. A. survey of the microbiological quality of blue-veined cheeses. *Neth. Milk Dairy J.* 41 (3): 227-237 (1987).

25. Black, R. E., Jackson, R. J., Tsai, R., Medvesky, M., Shayegani, M., Feeley, J. C., McLeod, K. I. E. & Wakelee, A. M. Epidemic *Yersinia enterocolitica* infection due to contaminated chocolate milk. *New England J. Med.* 298 (2): 76-79 (1978).
26. Morse, D. L., Shayegani, M. & Gallo, R. J. Epidemiologic investigation of a *Yersinia* camp outbreak linked to a food handler. *Am. J. Public Health* 74 (6): 589-592 (1984).
27. Shayegani, M., Morse, D., DeForge, I., Root, T., Parsons, L. M. & Maupin, P. S. Microbiology of a major foodborne outbreak of gastroenteritis caused by *Yersinia enterocolitica* serogroup O:8. *J. Clin. Microbiol.* 17 (1): 35-40 (1983).
28. Tacket, C. O., Narain, J. P., Sattin, R., Lofgren, J. P. & Konigsberg, C. Jr. A multistate outbreak of infections caused by *Yersenia enterocolitica* transmitted by pasteurized milk. *J. Am. Med. Assoc.* 251 (4): 483-486 (1984).
- 29 Palumbo, S. A. Can refrigeration keep our foods safe? *Dairy Food Sanitation* 7 (2): 56-60 (1987).