

## NALAZ *Yersinia enterocolitica* u MESU I MESNIM PRERAĐEVINAMA

M. Hadžiosmanović, Marija Noso, J. Živković

### Sažetak

U ovom radu istraživana je prikladnost metodike, stupanj zagađenja mesa i mesnih preradevina u različitim fazama proizvodnje, te površina i pribora s vrstom *Yersinia enterocolitica*. Posebna pažnja bila je posvećena mogućnosti rasta i razmnožavanja *Y. enterocolitica* u mesnim preradevinama tijekom pohrane, dinamici rasta pri različitim temperaturama te osjetljivost prema dezinfekcijskim sredstvima i antibioticima.

Rezultati istraživanja prikladnosti metodike, koja je bila provedena komparativno na tri različite hranjive podloge, pokazali su da je ERT (Enterogel-rapid-test) podloga najprikladnija za brzi uvid u stupanj zagađenja *Y. enterocolitica* mesa i mesnih preradevina te za izolaciju sumnjivih kolonija.

Od ukupno 1224 uzoraka mesa, mesnih polupreradevina i brisova s površina i pribora izolirano je ukupno 6 sumnjivih sojeva *Y. enterocolitica* no naknadnom serološkom tipizacijom i biokemijskom determinacijom utvrđeno je da je samo jedan soj pripadao spomenutoj vrsti.

Istraživanja su nadalje pokazala da uobičajeni način čuvanja namirnica na temperaturi oko 4°C povoljno djeluje na mogućnost razmnožavanja *Y. enterocolitica* u namirnicama.

Kemijska sredstva za dezinfekciju koja se upotrebljavaju u mesnoj industriji u programima sanitacije pokazala su se u odnosu prema vrsti *Y. enterocolitica* veoma učinkovitim. Posebno se to odnosi na upotrebu klornih preparata, čija je primjena u uobičajenim koncentracijama onemogućavala rast i razmnožavanje *Y. enterocolitica*.

### Uvod

U svrhu sprečavanja oboljenja ljudi koja su prouzročena bakterijama uzročnicima trovanja hranom, naši propisi limitiraju nalaz samo nekih bakterija u namirnicama, dok u inozemnoj, pa i u domaćoj literaturi ima podataka o uzročnicima koji nisu obuhvaćeni propisom pa se njihova nazočnost u rutinskim postupcima mikrobiološke pretrage namirnica ne utvrđuje. Takav je slučaj prije svega s vrstama *Campylobacter*, *Listeria* i *Yersinia*. Podataka o nazočnosti ovih bakterija u namirnicama u nas je veoma malo i uglavnom se svode na povremena istraživanja i izvještaje pojedinih

Prof. dr. Mirza Hadžiosmanović, prof. dr. Jospip Živković, Zavod za higijenu i tehnologiju animalnih namirnica, Veterinarski fakultet, Zagreb; Marija Noso, Bakteriološki laboratorij MI „Gavrilović“, Petrinja.

laboratorija. Jednako tako teško je iz postojećih podataka dobiti sliku o stvarnoj ugroženosti populacije ovim bakterijama te uočiti stvarnu potrebu rutinskih bakterioloških pretraga namirnica zbog prisutnosti ovih vrsta bakterija.

U posljednjem desetljeću broj oboljenja ljudi što je prouzročila *Y. enterocolitica* u znatnom je porastu, a izvještaji o sporadičnim infekcijama u kojima je optužena hrana objavljeni su u mnogim zemljama (Lee i sur., 1981; Pai i sur., 1979; Black i sur., 1978; Tauxe i sur., 1987.).

Klinička slika u opisu bolesti proširena je a u porastu je i broj životinjskih vrsta i drugih vektora okoline u kojima je utvrđena prisutnost *Y. enterocolitica*. Određena geografska rasprostranjenost sigurno patogenih sojeva dokazana je napose u Evropi, Kanadi, Japanu i Južnoj Africi (Bottone, 1977.; Mollaret i sur., 1979.). Izolacija *Y. enterocolitica* iz namirnica rijetko je bila uspješna ali njena nazočnost u životinja koje se upotrebljavaju u ishrani ljudi upućivala je na potrebu neprekidnog opreza (Davey i sur., 1983.; Hunter i Huges, 1983.; Brewer i Corbel, 1983.). *Y. enterocolitica* često je utvrđena u svinja (Wauters, 1979.; Pedersen, 1979.).

Epidemiološki izvještaji humane yersiniose pokazuju da su voda, životinje, hrana i drugi vanjski izvori rezervoari, ali način prijenosa i uloga atipičnih sojeva u oboljenjima ljudi nije potpuno razjašnjena (Bercovier i sur., 1978.; Bottone, 1978.; Caprioli, i sur., 1978.; Huges, 1980.). U literaturi nalazimo nekoliko izvještaja otrovanja hranom koji se pripisuju vrsti *Y. enterocolitica*. To se odnosi na tri pojedinačne epidemije: oboljenje nekoliko stotina školske djece u Japanu (Asakava i sur., 1973.; Žen Yoji i sur., 1973). epidemični febrilni gastroenteritis djece u Češko-slovačkoj (Olosovsky i sur., 1975.), te na nekoliko država u SAD gdje je otrovanje zahvatilo više tisuća ljudi u kojim je onečišćeno mlijeko nakon pasterizacije bilo sumnjivo kao izvor infekcije (Aulisio i sur., 1982.; Tacket i sur., 1984.). No ni u jednosj od spomenutih infekcija izvori nisu bili sa sigurnošću utvrđeni.

Black i sur. (1978.) opisali su infekciju s *Y. enterocolitica* u djece nakon konzumiranja čokoladnog mlijeka. Mlijeko je sadržavalo isti serotip *Y. enterocolitica* koji je bio izoliran iz rektalnih brisova pacijenata.

Istraživanja su pokazala da mnogi sojevi *Y. enterocolitica* tvore termostabilni enterotoksin (ST) koji je sličan termostabilnom enterotoksinu enteropatogenih sojeva *E. coli*. Utvrđeno je da se taj toksin stvara uglavnom pri inkubaciji na 22-25 °C (Feeley i sur., 1979.; Okamoto, 1980.). Nadalje, Kapperud i Langeland (1981.) opisali su sojeve koji mogu stvarati enterotoksin na 4°C. Enterotoksin *Y. enterocolitica* je acidorezistentan i termostabilan. Podnosi temperaturu od 121°C -30' ili 100°C/60' (Boyce i sur., 1979; Kapperud, 1981.; Okamoto, 1980.).

Kao što je u uvodu spomenuto, svrha ovog istraživanja bila je da se utvrdi stupanj zagađenja svježeg mesa, mesnih prerađevina, umutrašnjih organa i pribora s *Y. enterocolitica* u jednom mesoprerađivačkom pogonu. U vezi s navedenim bilo je neophodno komparativno istraživati postupke za dokaz i izolaciju *Y. enterocolitica* koji su danas u primjeni, tim više, što u mikrobiologiji; namirnica nije bilo zadovoljavajućih iskustava.

### Materijal i metode

Kao materijal u istraživanju upotrijebili smo:

- 400 uzoraka svinjskog mesa uzetih na liniji klanja, u hladnjači i u rasjekavaonici tijekom rasijecanja;
- 200 uzoraka govedeg mesa također s linije klanja, iz hladnjače i tijekom rasijecanja;
- 111 uzoraka unutrašnjih organa (jezik, tonzile, mandibularni limfni čvorovi, pluća, jetra, slezena, gušterača, bubrezi, tanko crijevo, mezenterijalni limfni čvorovi i slijepo crijevo sa sadržajem) neposredno nakon klanja;
- 135 uzoraka brisova s različitih površina na liniji klanja, obrade i prerade svinjskog mesa;
- 138 uzoraka brisova također s različitih površina linije klanja, obrade i prerade govedeg mesa.

U izboru najprikladnije hranjive podloge za izolaciju sojeva *Y. enterocolitica* upotrebljavali smo prije svega one koje se najčešće primjenjuju u rutinskom radu a potom i one koje se u novije vrijeme preporučuju zbog veće selektivnosti i boljeg uvida u stupanj zagađenja materijala. U tom smislu upotrebljavali smo sojeve *Y. enterocolitica* (0:3 i 0:9) koji su nabavljeni u Zavodu za zaštitu zdravlja grada Zagreba. Sojeve smo potom presađivali na slijedeće hranjive podloge:

- Salmonella - Shigella agar (SS-agar, gotova dehidrirana podloga Torlak);
- MacConkey - agar (gotova dehidrirana podloga Torlak), i
- Enterogel - rapid - test (ERT - podloga) eksperimentalne proizvodnje Biokemijsko - Farmaceutskog fakulteta u Zagrebu (P- 1400/88).

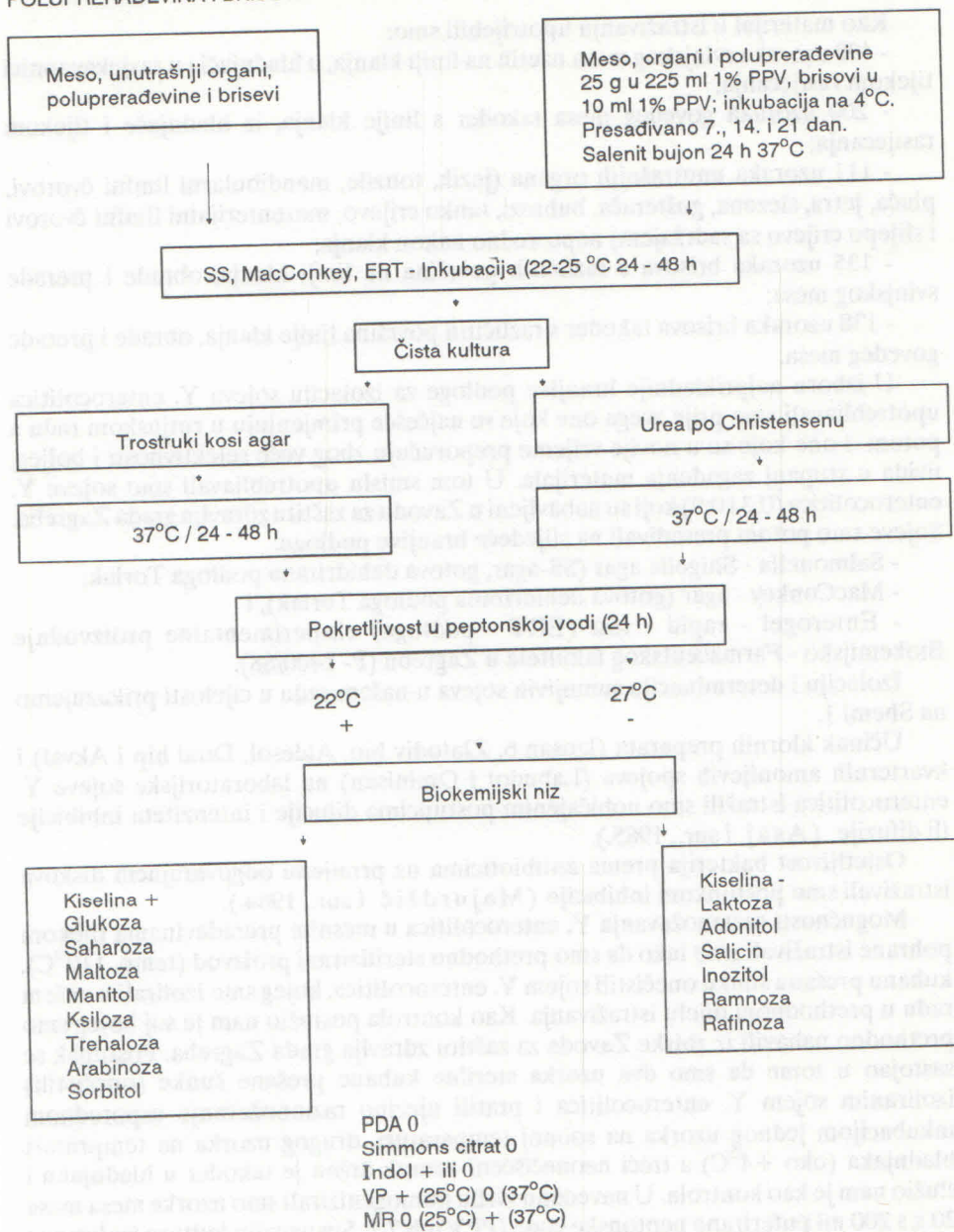
Izolaciju i determinaciju sumnjivih sojeva u našem radu u cijelosti prikazujemo na Shemi 1.

Učinak klornih preparata (Izosan 6, Zlatodiv bio, Aldesol, Dital hip i Akval) i kvarternih amonijevih spojeva (Labudol i Ominisan) na laboratorijske sojeve *Y. enterocolitica* istražili smo uobičajenim postupcima dilucije i intenziteta inhibicije ili difuzije (Asaj i sur., 1985.).

Osjetljivost bakterija prema antibioticima uz primjenu odgovarajućih diskova istraživali smo postupkom inhibicije (Majurđić i sur., 1984.).

Mogućnosti razmnožavanja *Y. enterocolitica* u mesnim prerađevinama tijekom pohrane istraživali smo tako da smo prethodno sterilizirani proizvod (temp. 110°C), kuhanu prešanu šunku onečistili sojem *Y. enterocolitica*, kojeg smo izolirali u našem radu u prethodnom dijelu istraživanja. Kao kontrola poslužio nam je soj kojeg smo prethodno nabavili iz zbirke Zavoda za zaštitu zdravlja grada Zagreba. Postupak se sastojao u tome da smo dva uzorka sterilne kuhane prešane šunke (onečistili) izoliranim sojem *Y. enterocolitica* i pratili njezino razmnožavanje usporednom inkubacijom jednog uzorka na sobnoj temperaturi, drugog uzorka na temperaturi hladnjaka (oko +4°C) a treći neonečišćeni uzorak držan je također u hladnjaku i služio nam je kao kontrola. U navedenu svrhu homogenizirali smo uzorke mesa mase 20 g s 200 ml puferirane peptonske vode (PPV) pH 7,2. Suspenziju kulture izoliranog soja *Y. enterocolitica* priredili smo tako da smo s kosog agara, prethodno nasadenog sojem *Y. enterocolitica* (24 sata/37°C) isprali kulturu 1 ml hranjivog bujona i to

Shema 1. PRIKAZ IZOLACIJE Y. ENTEROCOLITICA IZ MESA UNUTRAŠNJIH ORGANA, POLUPRERAĐEVINA I BRISOVA



Aqlutinacija na predmetnom stakalcu s antiserumima Y. enterocolitica 0:3 i 0:9

pomiješali s 9 ml bujona i dobro homogenizirali. Broj mikroorganizama u supenziji određivali smo nasadivanjem na hranjivi agar. Po 1 ml suspenzije kulture unijeli smo u uzorak kuhane prešane šunke s 200 ml PPV i inkubirali u hladnjaku (+4°C), a drugi uzorak također onečišćen 1 ml suspenzije inkubirali smo na sobnoj temperaturi. Početni broj bakterija s kojim smo onečistili uzorak iznosio je 72 000 bakterija u 1 ml. Uzorci su presađivani na hranjivi agar do razređenja 10-20 svakih 48 sati inkubacije u trajanju od 75 dana.

### *Rezultati i razmatranje*

Rezultate istraživanja nazočnosti *Y. enterocolitica* u mesu životinja za klanje, polupreradevinama, unutrašnjim organima, radnim površinama, te rezultate istraživanja mogućnosti razmnožavanja *Y. enterocolitica* u gotovim proizvodima tijekom pohrane, te učinka dezinfekcijskih sredstava osjetljivosti prema antibioticima prikazali smo na tabl. 1 - 3 i graf. 1.

U tabl. 1 prikazali smo ukupne rezultate našeg istraživanja *Y. enterocolitica*, odnosno sumnjivih sojeva koji su porasli na hranjivim podlogama (SS-agar, Mac-Conkey-agar, ERT-podloga) što su nam poslužile u preliminarnom testu za izolaciju *Y. enterocolitica*. Iz tih se rezultata vidi da smo u našem radu iz ukupno 1224 uzorka izolirali ukupno 951 soj različitih vrsta bakterija. Od toga kao Enterobacter determinirali smo 425 ili 44,6 %, Citrobacter 404 ili 42,4 %, Klebsiella 19 ili 1,9 %, Proteus 46 ili 4,8 %, E. coli ili 1,3 % i Pseudomonas 43 ili 4,3 %. Morfološki i biokemijski veoma bliskih i sumnjivih sojeva na vrstu *Y. enterocolitica* izolirali smo ukupno 6. Ove smo sojeve poslali na identifikaciju u Centre National des Yersinia, Institut Pasteur, Paris. Tamo je utvrđeno da samo jedan soj, izoliran iz pluća svinja, pripada vrsti *Y. enterocolitica*. Ostali su sojevi pripadali vrstama Pseudomonas i Citrobacter a bili su izolirani iz jezika, slezene, slijepog crijeva i svinjskog mesa.

Rezultate učinka dezinfekcije prikazali smo na tabl. 2. Iz tih se rezultata vidi da gotovo sve koncentracije većine sredstava za dezinfekciju koje se primjenjuju u mesnoj industriji sa sigurnošću sprečavaju rast i razmnožavanje *Y. enterocolitica* osim kod primjene Akvala, Labudola i Omnisana, gdje nije bilo odgovarajućeg učinka. Usprkos njihovoj primjeni prema uputi proizvođača došlo je do porasta laboratorijskih sojeva *Y. enterocolitica*.

Istraživanje povećanja i pada broja *Y. enterocolitica* tijekom pohrane onečišćene kuhane prešane šunke (KPS) na temperaturi od 4°C, odnosno sobnoj, prikazali smo na graf. 1. Iz tih se rezultata vidi da intenzitet razmnožavanja *Y. enterocolitica* tijekom pohrane u vremenu od 75 dana na sobnoj temperaturi i na temperaturi od 4°C značajno varira. Ove su varijacije naročito uočljive tijekom pohrane na temperaturi od 4°C, tako da u različitim periodima vidimo veoma intenzivno razmnožavanje a potom nagli pad toga intenziteta (6., 26., 40., 67. i 71. dan). Pri sobnoj temperaturi također smo zabilježili različiti intenzitet razmnožavanja tijekom inkubacije u vremenu do 75. dana. To se odnosi na nagle skokove povećanja broja *Y. enterocolitica* u periodima 4., 12., 22., 28., 36., 50., 67. i 73. dana.

Tabl. 1. - VRSTA BAKTERIJA PORASLIH U POSTUPKU IZOLACIJE Y. ENTEROCOLITICA IZ SIROVE MASE ZA NADJEV KOBASICA, UNUTRAŠNJIH ORGANA I BRISOVA

Vrsta uzoraka	Broj uzoraka	Y. enterocolitica		Enterobacter		Citrobacter		Klebsiella		Proteus		Pseudonas		E. coli	
		br.	%	br.	%	br.	%	br.	%	br.	%	br.	%	br.	%
meso	600	2*		270	(45)	275	(45,8)	10	(1,7)	20	(3,33)	17	(2,8)	8	(1,33)
nadjevi za kobasice	240			110	(45,8)	88	(36,7)	5	(2,1)	21	8,7	13	(5,4)	3	(1,2)
unutrašnji organi	111	1+3*	(0,9)	45	(40,5)	41	(36,9)	4	(3,6)	5	(4,5)	13	(11,7)	2	(1,8)
brisevi	273	0													
ukupno uzoraka	1224	1+5*		425	(44,6)	404	(42,4)	19	1,99	46	4,8	43	(4,5)	13	(1,3)

\* sumnjivi spojevi

Tabl. 2. - UČINAK DEZINFEKCIJSKIH SREDSTAVA NA MOGUĆNOST RAZMNOŽAVANJA *Y. ENTEROCOLITICA*

Vrsta dezinfekcijskog sredstva	Koncentracija u %	Vrijeme i efikasnost djelovanja u minutama			
		10	15	20	30
Izosan G	0,02	-	-	-	-
	0,04	-	-	-	-
	0,06	-	-	-	-
Zlatodiv Bio	0,03	-	-	-	-
	0,06	-	-	-	-
Aldesol	1	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-
Dital Hip	1	-	-	-	-
Akval	Koncentr.	.++	.++	.++	.++
Labudol	Koncentr.	nema zone inhibicije			
Omnisan	0,2	nema zone inhibicije			
	0,3	nema zone inhibicije			
	0,6	nema zone inhibicije			

Rezultate osjetljivosti izoliranog soja *Y. enterocolitica* u odnosu na antibiotike koji su najčešće u primjeni u veterinarskoj humanoj medicini prikazali smo na tab. 3.

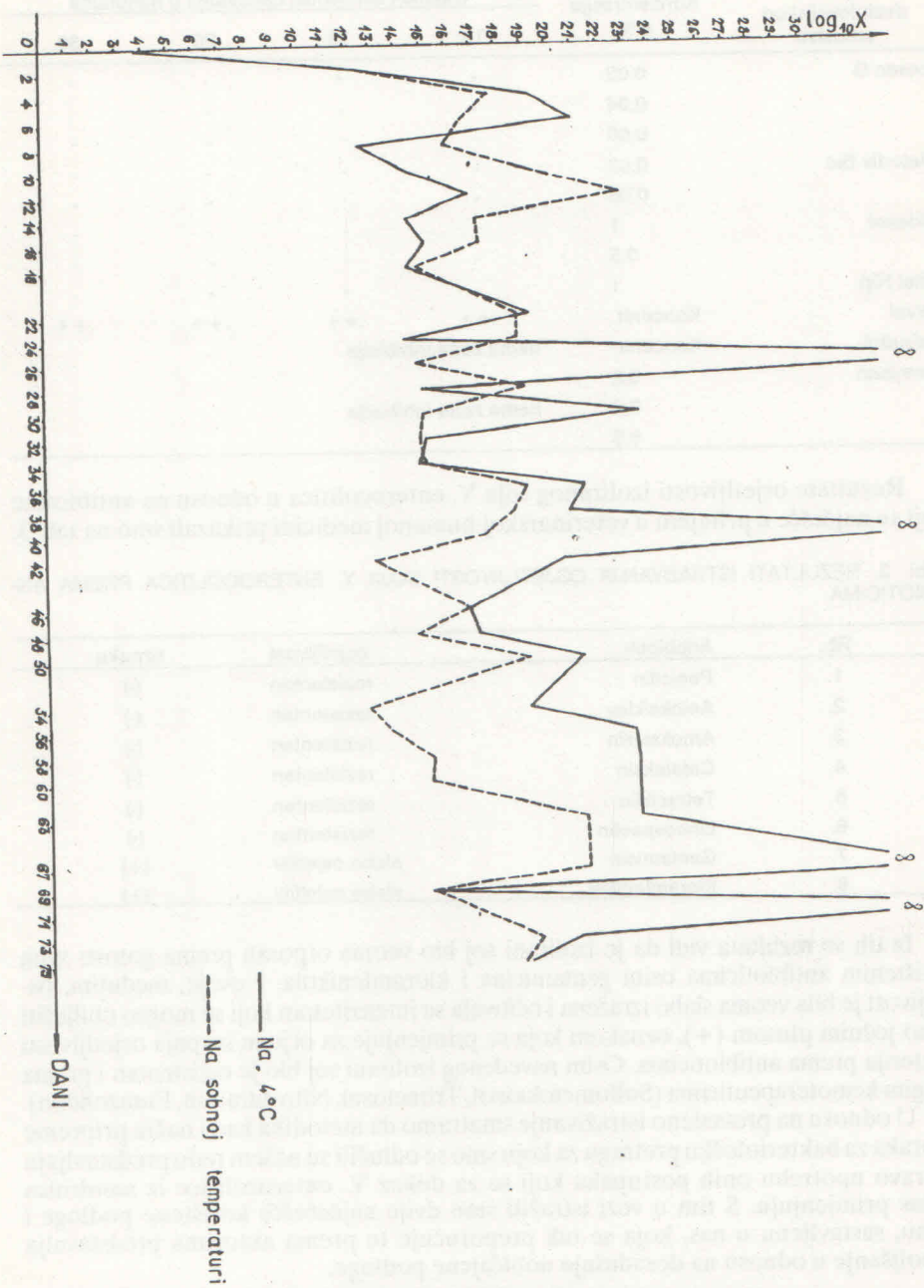
Tabl. 3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA OSJETLJIVOSTI SOJA *Y. ENTEROCOLITICA* PREMA ANTIBIOTICIMA

Rb.	Antibiotik	osjetljivost	oznaka
1.	Penicilin	rezistentan	(-)
2.	Amoksiklav	rezistentan	(-)
3.	Amoksicilin	rezistentan	(-)
4.	Cefaleksin	rezistentan	(-)
5.	Tetraciklin	rezistentan	(-)
6.	Lincospectin	rezistentan	(-)
7.	Gentamicin	slabo osjetljiv	(+)
8.	Kloramfenikol	slabo osjetljiv	(+)

Iz tih se rezultata vidi da je izolirani soj bio veoma otporan prema gotovo svim korištenim antibioticima osim gentamicina i kloramfenikola. I ovdje, međutim, osjetljivost je bila veoma slabo izražena i očitivala se intenzitetom koji se mogao obilježiti samo jednim plusom (+), oznakom koja se primjenjuje za ocjenu stupnja osjetljivosti bakterija prema antibioticima. Osim navedenog izolirani soj bio je rezistentan i prema drugim kemoterapeuticima (Sulfometoksazol, Trimetosul, Nitrofurantoin, Furazolidon).

U odnosu na provedeno istraživanje smatramo da metodika kao i način pripreme uzoraka za bakteriološku pretragu za koju smo se odlučili su našem radu predstavljaju zapravo upotrebu onih postupaka koji se za dokaz *Y. enterocolitice* iz namirnica danas primjenjuju. S tim u vezi istražili smo dvije najčešće korištene podloge i jednu, sastavljenu u nas, koja se tek preporučuje te prema autorima predstavljala poboljšanje u odnosu na dosadašnje uobičajene podloge.

Graf. 1 - SPOSOBNOST RASTA I RAZMNOŽAVANJA *Y. ENTEROCOLITICA* NA 4°C I SOBNOJ TEMPERATURI I VREMENU OD 75 DANA U KPŠ + PPV (KPŠ - KUHANA PREŠANA ŠUNKKA)





Na sve tri podloge (SS, MacConkey, ERT) porast test soja *Y. enterocolitica* bio je uobičajen s razlikama u pogledu morfoloških karakteristika opisanih u literaturi. Ipak, kada se radi o čistom soju *Y. enterocolitica* na SS-podlozi kolonije su bile uočljivije tek nakon 48 sati. Pri radu s uzorcima namirnica gdje pored *Yersinia* ima i drugih bakterija najbolji porast pokazao se na ERT-podlozi, jer su se sumnjive kolonije po svom izgledu jasno razlikovale od drugih iz pretraženih uzoraka. Sa stanovišta mikrobiologije namirnica ovo smatramo značajnom prednošću jer je brzina indikacije u procjeni higijenske kakvoće namirnica odlučna za ocjenu njihove upotrebljivosti. U tom pogledu SS-podloga kao i MacConkeyeva podloga nisu se pokazale dovoljno prikladnim. Činjenica je naime, da nam je ERT-podloga omogućila brzu selekciju sumnjivih sojeva pa tako skratila cjelokupan postupak mikrobiološke pretrage. Ovo je u skladu s istraživanjima Zuraka i Pepeljnjaka (1985.) i Pepeljnjaka i Zuraka (1987.; 1990.), koji su preporučili navedenu podlogu za izolaciju *Y. enterocolitica*. Naša istraživanja intenziteta porasta *Y. enterocolitica* pri inkubaciji na temp. od 37°C i na sobnoj temperaturi, iako skromna, pokazala su zadovoljavajući porast na ovim temperaturama, te nismo u stanju iznijeti razloge o prednosti inkubacije na jednoj od spomenutih temperatura u radu s namirnicama. U pogledu pouzdanosti biokemijskog niza, kao zaključnog testa za dokaz *Y. enterocolitica* u našem redu, iako u određenom broju slučajeva nismo bili sigurni u pouzdanosti reakcija, upotrebljeni biokemijski niz pokazao se zadovoljavajućim.

Naime, i mi smo biokemijskim nizom s velikom sigurnošću zaključili da samo jedan od sumnjivih sojeva pripada vrsti *Y. enterocolitica* što je naknadnom fagotipizacijom i potvrđeno. Drugi sumnjivi sojevi, koje smo zbog nedovoljnog iskustva označili kao *Y. enterocolitica*, pokazivali su veća ili manja odstupanja u pogledu morfoloških i biokemijskih karakteristika, te kasnijim postupkom identifikacije nisu uključeni u spomenutu vrstu.

Mikroskopskom pretragom uočili smo značajni polimorfizam što nam je katkada otežavalo brzu identifikaciju sumljivih sojeva. Ipak, najznačajnijom poteškoćom u radu pri izolaciji *Y. enterocolitica* iz mesa i mesnih prerađevina smatramo nazočnost velikog broja drugih sojeva bakterija koje su nam katkada onemogućavale zadovoljavajuću interpretaciju. S tim u vezi značajno je spomenuti da su neki od sumnjivih sojeva u morfološkim pa i biokemijskim karakteristikama pokazivali veliku sličnost sa sojevima *Y. enterocolitica*.

U pogledu stupnja nazočnosti *Y. enterocolitica* u mesu i drugom istraživanom materijalu, što smo istražili na velikom broju uzoraka (1224) vidi se da je on veoma malen, gotovo zanemariv, jer smo izolirali samo jedan soj i tek nekoliko sumnjivih. To tim više što u mesu i mesnim polupreradevinama nismo dokazali niti jedan soj *Y. enterocolitica*.

Ako usporedimo rezultate naših istraživanja mesa i mesnih polupreradevina, po kojima u uzorcima na našem poligonu nema *Y. enterocolitica*, s rezultatima drugih autora. (Greenwood i Hooper, 1985.; Wauters i Janssens, 1976.; Weber i Lembke, 1981.; Lombin i sur., 1985.; Wauters i sur., 1988.) mogli bismo zaključiti da opasnosti od jersinioze uzrokovane konzumiranjem namirnica iz navedenog pogona nema. No, s obzirom da se radi o uzorcima mesa i mesnih polupreradevina koji su potjecali od zdravih životinja, prethodno pregledanih, iz pogona gdje se postupci sanitacije i pripreme sirovina za izvoz provede pod strogim veterinarsko-sanitarnim nadzorom, moguće je da ovi čimbenici limitiraju prisutnost *Y. enterocolitica* u mesu i prerađevinama koje potječu iz navedenog pogona. Ipak, dokaz soja *Y. enterocolitica* iz pluća svinja pokazuje mogućnost zagađenja neprovođenjem odgovarajućih veterinarsko-

sanitarnih mjera. Rizik dakle postoji, pa se s pravom može pretpostaviti da bi u drugim uvjetima i drugim uzorcima nalaz *Y. enterocolitica* mogao biti mnogo češći. Razloge negativnog nalaza *Y. enterocolitica* u pretraženim uzorcima mesa i polupreradevina po našem mišljenju treba prvenstveno pripisati upotrebi odgovarajućih dezinfekcijskih sredstava za koja smo u ovom radu dokazali da s velikom sigurnošću onemogućavaju rast i razmnožavanje spomenute vrste bakterija.

Kako smo u literaturi našli podatke o mogućnosti rasta i razmnožavanja *Y. enterocolitica* pri nižim temperaturama, te kako je po nekim autorima (Maruyama, 1973.; Mollaret i sur., 1964.; Nilehn, 1973.) *Y. enterocolitica* svrstana u skupinu psihrotrofnih mikroorganizama, smatrali smo potrebnim istražiti mogućnosti njena porasta pri čuvanju namirnica na nižim temperaturama koje su uobičajene pa i odgovarajućim propisima obaveznim pri uskladištenju nekih vrsta mesnih prerađevina. Ovi su rezultati pokazali značenje mogućnosti razmnožavanja *Y. enterocolitica* na niskim temperaturama, te čak upućuju na neprikladnost njihove primjene u navedenu svrhu. U našem smo radu, naime, na temperaturi do +4°C zabilježili nagle periode intenzivnog razmnožavanja tijekom čuvanja kuhane prešane šunke u periodu do 75 dana i to: 6., 26., 40., 67. i 71. dan. Ovi rezultati pokazuju da je opasnost od jersinioze uzrokovane mesnim prerađevinama dugotrajna, te da uobičajeni, zakonom propisani načini čuvanja namirnica u tom smislu nisu zadovoljavajući.

### Zaključci

1. Najboljom podlogom za dokaz i izolaciju *Y. enterocolitica* iz mesa prerađevina, odnosno iz zagađenog sadržaja, nakon prethodnog obogaćivanja, od tri u literaturi opisane podloge pokazala se ERT (enterogel-rapid-test) podloga, jer su se na toj podlozi sumnjive kolonije bolje uočavale već u vremenu od 24 sata što je za stanovišta higijene namirnica, zbog brzine indikacije njihove upotrebljivosti izuzetno značajno.

2. Stupanj zastupljenosti *Y. enterocolitica* u mesu i mesnim polupreradevinama u različitim fazama proizvodnje u našem radu bio je vrlo malen. Ukupno je izolirano 6 sumnjivih sojeva koji su po mnogim karakteristikama odgovarali vrsti *Y. enterocolitica*, no naknadnom serološkom tipizacijom i biokemijskom determinacijom utvrđeno je da samo jedan soj pripada spomenutoj vrsti.

3. Istraživanja mogućnosti rasta i razmnožavanja *Y. enterocolitica* u mesnim prerađevinama tijekom pohrane, pokazala su se za pojmove uobičajene prakse čuvanja namirnica neočekivanim. Naime, niske temperature u praksi do sada su smatrane optimalnim za produženje održljivosti mesa i većine živežnih namirnica. Naprotiv, ova istraživanja su pokazala, a to je u skladu s istraživanjima drugih autora, da uobičajeni način čuvanja mesnih prerađevina na temp. oko +4°C povoljno djeluje na mogućnost razmnožavanja *Y. enterocolitica*.

4. Kemijska dezinfekcijska sredstva koja se upotrebljavaju u mesnatoj industriji u programima sanitacije pokazala su se u ovim istraživanjima u odnosu prema vrsti *Y. enterocolitica* veoma učinkovitim.

Osobito se to odnosi na upotrebu klornih preparata čija je primjena u uobičajenim koncentracijama onemogućavala rast i razmnožavanje *Y. enterocolitica*.

5. Izolirani soj *Y. enterocolitica* bio je gotovo potpuno rezistentan na većinu antibiotika i kemoterapeutika koji se upotrebljavaju u veterinarskoj i humanoj medicini osim gentamicina i kloramfenikola na koje je pokazao slabu osjetljivost.

#### LITERATURA

1. Asaj, A., Mirja Vučemilo, Alenka Hadžiosmanović (1985): Dezinfekcija staja Al-disolom. 12. Simpozij iz DDD, neškodljivog uklanjanja i utilizacije otpadne animalne tvari. Crikvenica 10-12.04. 1985. Zbornik radova, str. 45-51.
2. Asakawa, Y., Akahane, S., Karara, R., Noguchi, M., Sakazaki, R., Tamura, K. (1973): Two community outbreaks of human infection with *Yersinia enterocolitica*. J. Hyg. Camb. 71, 715-723.
3. Aulisio, C. C. C., Lanier, J. M., Chappell, M. A. (1982): *Yersinia enterocolitica* C:13 associated with outbreaks in three southern states. J. Food Protect. 45, 1263-1265.
4. Bercovier, H., Brault, J., Barre, N., Treignier, M., Alonso, J. M., Mollaret, H. (1978): Biochemical, serological and phage typing characteristics of 459 *Yersinia* strains isolated from a terrestrial eco system. Curr. Microbiol. 1, 353-357.
5. Black, R. E. Jackson, R. J., Tsai, T., Medvesky, M., Shayegani, M. Feeley, J. C., MacDeod, K. I. E., Wakelle, A. M. (1978): Epidemic *Yersinia enterocolitica* infection due to contaminated chocolate milk. New Engl. J. Med. 298, 76-79.
6. Bottone, E. J. (1977): *Yersinia enterocolitica* a panoramic view of charismatic microorganism. Crit. Rev. Microbiol. 5, 211-241.
7. Boyce, J. M., Evans, D. J., Evans, D. G., DuPont, H. L. (1979): Production of heat stable methanol-soluble enterotoxin by *Yersinia enterocolitica*. Infection and Immunity 25, 532-537.
8. Brewer, R. A., Corbel, M. J. (1983): Characterization of *Yersinia enterocolitica* strains isolated from cattle, sheep and pigs in the United Kingdom. J. Hyg. Cambridge 90, 425-433.
9. Caprioli, T., Drapeau, A. J., Kasatya, S. (1978): *Yersinia enterocolitica*: serotypes and biotypes isolated from humans and environment in Quebec, Canada. J. Clin. Microbiol. 8, 7-11.
10. Davey, G. M., Bruce, J., Drysdale, E. M. (1983): Isolation of *Yersinia enterocolitica* and related species from the faeces of cows. J. Appl. Bacteriol. 55, 439-443.
11. Feeley, J. C. Wells, J. G., Tsai, T. F. Phur, N. D. (1979): Detection of enterotoxigenic and invasive strains of *Yersinia enterocolitica*, Contr. Microbiol. Immunol. 5, 329-334.
12. Greenwood, Melody, H. Hooper, W. L. (1985): *Yersinia* spp in foods and related environments. Food Microbiol. 2, 263-269.
13. Hughes, D. (1980): Repeated isolation of *Yersinia enterocolitica* from pasteurised milk in vat a particular dairy factory. J. Appl. Bacteriol. 48, 383-385.
14. Hunter, D., Hughes, S. (1983): Isolation of *Yersinia enterocolitica* from pigs in the United Kingdom. Veterinary Rec. April 2, 1983.
15. Kapperud, G. (1980): Studies on pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like bacteria. I. Enterotoxin production at 22°C and 37°C by environment and human isolates from Scandinavia. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B, 88/5, 287-291.
16. Kapperud, G., Langeland, G. (1981): Enterotoxin production at refrigeration temperature by *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like bacteria. Curr. Microb. 5, 119-122.
17. Lee, W. H., Vanderzant, C., Stern, N. (1981): The occurrence of *Yersinia enterocolitica* in foods. Ed. E. J. Bottone (In *Yersinia enterocolitica*) CRC Press, Boca Raton Fla. p. 162-171.
18. Lombin, L. H., Adesiyin, A., Agbonlahor, D. E., Kwaga, J. K. P. (1985): Isolation of *Yersinia* species from pigs in Nigeria. Vet. Rec. 117, 364.
19. Majurđić, Đ., Mirna Koščec, Hadžiosmanović, M., Katarina Knapp (1984): Istraživanje nazočnosti antibiotika u mesu i organima bolesne junadi. Veterinarska stanica 14, 40-44, 1985.
20. Maruyama, T. (1973): Studies on biological characteristics and pathogenicity of *Yersinia enterocolitica*. I. Comparison of growth temperature range between *Yersinia enterocolitica* and other enteropathogenic bacteria. Jpn. J. Bacteriol. 28, 434-349.
21. Mollaret, H. W., Chavelier, Z. A., Deplanche, M. C. (1964): Contribution a l'etude d'un nouveau groupe des germes proches du bacille de Malasses et Vignal. I. Caracters culturaux biochemiques. Ann. Inst. Pasteur 107, 424-429.
22. Mollaret, H. H., Bercovier, H., Alonso J. M. (1979): Summary of the data received to the WHO reference center for the *Yersinia enterocolitica*. Contr. Microbiol. Immunol. 5, 174-184.
23. Nilehn, B. (1973): Host range, temperature characteristic and serologic relationships among *Yersinia* phages. Contr. Microbiol. 2, 59-67.

24. Okamoto, Ichikala, H., Kawamoto, Y., Miyama, A., Yoslin, S. (1980): Heat stable enterotoxin produced by *Yersinia enterocolitica* isolated from patients. *Microbiol. Immunol.* 24, 401-408.
25. Pai, C. H., Sorger, S., Lafleur, L., Lackman, L. Marks, M. S. (1979): Efficiency of cold enrichment techniques for recovery of *Yersinia enterocolitica* for human stools. *J. Clin. Microbiol.* 6, 712-715.
26. Pedersen, K. B., Winbland, S. (1979): Studies on *Yersinia enterocolitica* isolated from swine and dogs. *Acta path. Microbiol. Scand. Sect. B*, 87, 137-140.
27. Pepeljnjak, S., Zurak, I. (1987): Identifikacija Enterobakterija. Skripta I. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 1987.
28. Pepeljnjak, S., Zurak, I. (1990): Identifikacija Enterobakterija. Skripta III. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 1990.
29. Tacket, C. O., Narain, J. P., Sattin, R., Loffgreen, J. P., Konigsberg, C., Rendtorff, R. C. Rausa, A., Davis, B. R., Cohen, M. L. (1984): A multistate outbreak of infections caused by *Yersinia enterocolitica* transmitted by pasteurised milk. *J. Amer. Med. Assoc.* 251, 483-486.
30. Tauxe, R. V. Vandepitte, J., Wauters, G., Martin, S., Grossens, V., DeMol, P., VanNoynen, R., Thiers, G. (1987): *Yersinia enterocolitica* infections and pork the missing link. *Lancet* 1, 1129-1132.
31. Wauters, G. (1979): Carriage of *Yersinia enterocolitica* serotype 3 by pigs as a source of human infection. *Contr. Microbiol. Immunol.* 5, 249-252.
32. Wauters, G., Goossens, V., Janssens, M., Vandepitte, J. (1988): New enrichment method for isolation of pathogenic *Yersinia enterocolitica* serogroup O:3 from pork. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 851-854.
33. Weber, A., Lembke, C. (1981): Anwendung von zwei Anreicherungsverfahren und fünf selektiv nährboden zur Isolierung von *Yersinia enterocolitica* aus Tonsillen von Schlachtschweinen. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A* 250, 72-77, 1981.
34. Zen-Yoji, H., Maruyama, T., Sakai, S., Kimura, S., Mizuno, T., Momose, T. (1973): An outbreak of enteritis due to *Yersinia enterocolitica* occurring at a junior high school. *JPN. J. Microbiol.* 17, 220-225.
35. Zurak, I., Pepeljnjak, (1985): Brza orijentaciona dijagnoza Gramnegativnih mikroorganizama upotrebom diferencijalne podloge Fa-GLM/6. 5. Kongres Mikrobiologa Jugoslavije, Poreč, 24-28.9. 1985.
36. Patent: P-1400/88- Postupak za pripremu hranjivih podloga kao selektivno diferencijalno hanilište gramnegativnih vrsta mikroorganizama (ERT) CPT-Zagreb.

## OCURRENCE OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA* IN MEAT AND MEAT PRODUCTS

### Summary

Suitable methods, degree of meat and meat products contamination at various stages in production, surfaces and equipment contaminated with *Yersinia enterocolitica* were investigated in this work with particular emphasis on growth and multiplication of *Yersinia enterocolitica* in meat products in storage, growth dynamic at various temperatures and susceptibility to disinfectants and antibiotics.

Results of investigations on the suitable methods comparatively applied on three different culture media showed that the ERT (Enterogel-rapid-test) medium was most suitable to find out rapidly the degree of meat products contamination with *Yersinia enterocolitica* as well as for isolation of suspicious colonies.

From the total of 1224 samples of meat and meat semiproducts and smears from surfaces and equipment, 6 suspicious strains of *Yersinia enterocolitica* were isolated but after a subsequent serologic typisation and biochemical determination only one strain belonging to this species was established.

The investigations also showed that the usual method of storing food at the temperature of +4°C favours development of *Yersinia enterocolitica* in food. Chemical disinfectants used in sanitation programmes in meat industry proved to be very efficacious in case of *Yersinia enterocolitica*. This refers particularly to chlorine preparations whose application in usual concentrations prevented growth and multiplication of *Yersinia enterocolitica*.

Primljeno: 16. 3. 1992.