

## Beyaz Peynir ve Pastörize Sütlerden İzole Edilen Virulent ve Virulent Olmayan *Yersinia enterocolitica* İzolatlarının Ayrımı

Dr. Z. Yeşim ÖZBAŞ — Dr. S. Aykut AYTAÇ

H.Ü. Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü — ANKARA

### ÖZET

Bu çalışmada, beyaz peynir ve pastörize süt örneklerinden izole edilen toplam 27 adet *Yersinia enterocolitica* kültürünün virulent karakter taşıyıp taşımadıkları araştırılmıştır. Kültürlere kalsiyum bağımlılığı, otoaglutinasyon ve serum duyarlılığı testleri uygulanmıştır. Sonuç olarak beyaz peynirlerden izole edilen yedi, pastörize sütlerden izole edilen iki izolatın tüm testlere olumlu sonuç verdikleri bulunmuştur. Ayrıca otoaglutinasyon testinin virulent özelliğin belirlenmesinde kullanılabilecek, fazla zaman almayan ve pratik bir test olduğu da gözlenmiştir.

### SUMMARY

In this study, 27 *Yersinia enterocolitica* strains isolated from white cheese and pasteurized milk were investigated for their virulent characteristics. For this purpose, cultures were examined for calcium dependency autoagglutination and serum sensitivity tests. As a result, 7 strains isolated from white cheese and 2 strains isolated from pasteurized milk were found to be positive for all tests. Autoagglutination test was also found to be more practicable and less time consuming test than that of the other tests used for determination of virulence character.

### 1. GİRİŞ ve KAYNAK TARAMASI

*Yersinia enterocolitica*, *Enterobacteriaceae* familyasının bir üyesidir. Düz basil ya da kokobasil (genellikle pleomorfik) şeklinde Gram negatif, fakültatif anaerob, oksidaz negatif, katalaz pozitif bir bakteridir (BANWART, 1989). *Y. enterocolitica*, patojen bir bakteri olarak alışılmışın dışında buzdolabı sıcaklıklarında çok iyi gelişebilme yeteneğine sahiptir (MOUSTAFA ve ark., 1983). Önceleri hayvanlardan izole edilerek *Pasteurella pseudotuberculosis rodentium*, *P. pseudotuberculosis type b*, *Pas-*

*teurella x*, *P. pseudotuberculosis atypique*, *Germe x* ve *Yersinia x* gibi çeşitli adlar verilen *Y. enterocolitica* son zamanlarda insanlarda oluşturduğu çeşitli klinik tablolarla büyük önem kazanmıştır (BİLGEHAN, 1986; GILMOUR ve WALKER, 1988). *Y. enterocolitica* tarafından oluşturulan klinik belirtilerde, konakçının yaşı, fizyolojik durumu ve bakterinin patojenlik özellikleri gibi faktörler önemli olmaktadır. Tüm dünyada akut gastroenteritis, klinik yersiniosis'in en yaygın belirtisini oluşturmaktadır. Hastalık diare, karın ağrısı, kusma, ateş ile seyretmektedir (GILMOUR ve WALKER, 1988). Bu belirtiler genellikle kısa sürelidir. Ateş ve kusma 2-4 gün içerisinde sona ererken diare ve karın ağrısı 1-2 hafta sürebilmekte olay apendisitis tablosuyla karıştırılabilmektedir. Bu belirtiler dışında hastalık, özellikle bacaklar ve gövdenin alt bölümlerinde ağrılı şişlikler ve kızartılı lekeler, arthrit (mafsal iltihabı), septisemi, menenjit, deri ve göz enfeksiyonları şeklinde de ortaya çıkabilmektedir (STERN ve PIERSON, 1979; PALUMBO, 1986; GILMOUR ve WALKER, 1988).

*Y. enterocolitica*'nın patojenitesi üzerinde yapılan çalışmalar, bakterinin hem invaziv hem de toksijenik mekanizmaları içerdiğini ortaya koymuştur (GEMSKI ve ark., 1980; GILMOUR ve WALKER, 1988). Bazı *Y. enterocolitica* varyeteleri enterotoksijenik *Escherichia coli*'nin oluşturduğuna benzeyen, ısıya dayanıklı enterotoksin üretebilmekte (YeST) ve ayrıca çeşitli hayvan denemelerinde konakçı doku hücrelerine de saldırılabilmektedirler.

*Y. enterocolitica* tarafından konakçının istilasını şu basamakları izlemektedir; vücuda alım ileum'a aktarıma (ince bağırsağın bir bölümü) ve Peyer's plaklarının mukoz yüzeylerine tutunma, epitel hücrelere nüfuz ederek hücrenin bazik karakterli bölgelerine yerleşme, lamina propria içine nüfuz etme ve bakterinin bunu izleyen gelişmesi (GILMOUR ve WALKER, 1988). Bu çoğalma da bağırsaklarda daha ön-

ceden tanımlanan klinik tablolarla sonuçlanmaktadır. *Y. enterocolitica*'nın invaziv yeteneğinden molekül ağırlığı  $40-48 \times 10^6$  D arasında değişen plazmidlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir (PRIPIC ve ark., 1983; PRIPIC ve ark., 1985; GILMOUR ve WALKER, 1988). Enterotoksin üretimi ise, virulent özelliğinin aksine kromozomlar üzerindeki genler tarafından yönlendirilmektedir. *Y. enterocolitica*'nın çevreden (gıdalar dahil) izole edilen varyeteleri ve bazı *Y. enterocolitica* benzeri bakterilerin (özellikle *Y. krintensii*) 4, 22, 25 ve 37°C'lerde YeST oluşturabildikleri belirlenmiştir (PAI ve ark., 1978). *Y. enterocolitica* bazı gıdalarda bulunabilmektedir. Gıdalardan izole edilen (bazı domuz ürünleri dışında) varyetelerin büyük çoğunluğunun patojenik olmadıkları bildirilmiştir (DELMAS ve VIDON, 1985). Özellikle belirli bazı bi-serotiplerin (örneğin; 4 / O:3, 2 / O:9, 1 / O:8) gıdalarda bulunması durumunda, insanlarda oluşan bağırsak kökenli hastalıkların en önemli etmeni oldukları kabul edilmektedir. *Yersinia* antiserumunun ticari olarak elverişli olmadığı bildirilmektedir (GILMOUR ve WALKER, 1988).

*Y. enterocolitica*'nın insanlarda bağırsak rahatsızlıklarına neden olan asıl patojenik mekanizması kabul edilen invaziv yeteneğini incelemek için önceleri «Sereny Test» gibi hayvan deneylerinden yararlanılmıştır (PRIPIC ve ark., 1985). Ancak daha sonra çeşitli nedenlerle bu testler yerlerini invitro testlere bırakmışlardır. UNE (1977), *Y. enterocolitica*'nın patojenik varyetelerinin kültüre edilmiş HeLa hücrelerine nüfuz etme yeteneğinde olduklarını, patojenik olmayanların ise bunu yapamadıklarını göstermiştir. Son yıllarda *Y. enterocolitica*'nın doku hücreleri kullanılarak virulent özelliğini belirlemeye yönelik testlerindeki yaygınlığını yitirdiği belirtilmektedir (GILMOUR ve WALKER, 1988). *Y. enterocolitica*'nın virülanslık özelliğini belirleyen plazmidin stabil olmadığı ve kolaylıkla kaybedilebileceği bildirilmiştir (GEMSKI ve ark., 1980). Virülanslık özelliğini ortaya koymada halen kullanılan bir yöntemde jel elektroforez yöntemi ile plazmidin saptanmasına dayanmaktadır (PRIPIC ve ark., 1985).

PRIPIC ve arkadaşları (1983), tarafından geliştirilen Congo Red Agar besiyeri patojeni-

tenin saptanabilmesi için basit bir yöntem olarak önerilmişse de bazı virulent olmayan varyetelerin de virulentlar gibi reaksiyon verdikleri daha sonra yapılan çalışmalarda belirlenmiştir. Bu nedenle, araştırmacılar tarafından yöntemin yalnızca basit ayırım işlemlerinde kullanılabileceği belirtilmektedir (PRIPIC ve ark., 1985).

GEMSKI ve arkadaşları (1980), tarafından yapılan bir çalışmada *Y. enterocolitica*'da virülanslık özelliğini belirleyen plazmidle ilişkili olarak *Y. pestis*'dekine benzeyen bir kalsiyum bağımlılığı saptanmıştır. *Y. enterocolitica*'nın virulent olan varyeteleri kalsiyum içermeyen ortamlarda 37°C'de üreme göstermez ya da çok küçük koloniler şeklinde ürerlerken, 25°C'de gelişebilmektedirler. Virulent olmayanlar ise, her iki sıcaklık derecesinde de bu ortamda gelişebilmektedirler.

LAIRD ve CAVANAUGH (1980), *Y. enterocolitica*'nın virulent varyetelerinin, doku kültürü ortamlarında 37°C'de geliştiklerinde kendiliklerinden aglutine olma (otoaglutinasyon) özelliğinde olduklarını bulmuşlardır. Otoaglutinasyon olayının virulent olmayan tiplerde de virulent tiplerde de 25°C'de gerçekleşmediği saptanmıştır. Bu olayın virülanslık özelliği kazandıran plazmid varlığı ve kalsiyum bağımlılığı ile ilişkili olduğu da belirtilmektedir (LEE ve ark., 1981).

Virülanslık özelliğini belirlemeye yönelik diğer bir test ise, serum duyarlılık testi olarak bildirilmektedir (PAI ve DE STEPHANO, 1982). Virulent tipler insan ya da tavşandan elde edilmiş serumda 37°C'de bir gece bırakıldıklarında canlılıklarını koruyabilirken virulent olmayan tiplerin bu serumlara karşı dirençli oldukları saptanmıştır.

Trypticase - Soya agar'da koloni morfolojisi ve gaz-likit kromotografisinde prolysis gibi yöntemlerin de virulent ve virulent olmayan tiplerin ayırımında kullanılabildiği, ancak virulens karakterin saptanmasında yaygın olarak kullanılan testlerin otoaglutinasyon ve kalsiyum bağımlılık testleri olduğu belirtilmiştir (GILMOUR ve WALKER, 1988).

## 2. MATERYAL ve YÖNTEM

### 2.1. Materyal

Bu araştırmada daha önce yapılan bir çalışmadan elde edilen *Y. enterocolitica* kültürlerinden yararlanılmıştır (AYTAÇ ve ÖZBAŞ, 1992). Çalışmada, Ankara piyasasından toplanan 66 beyaz peynir numunesinden elde edilen 21 ve bir pastörize süt fabrikasından sağlanan 60 pastörize süt örneğinden izole edilen 5 izolat kullanılmıştır.

### 2.2. Yöntem

Virulent ve virulent olmayan *Y. enterocolitica* izolatlarının ayırımı için aşağıdaki yöntemler kullanılmıştır.

#### 2.2.1. Kalsiyum Bağımlılığı Testi

Kalsiyum bağımlılığı testi, Magnezyum Oxalat Agar (MOX) besiyerinde PRIPIC ve arkadaşları (1983)'nin, önerdiği yöntemle yapılmıştır. MOX Agar besiyerinde 37°C'de bir gece inkübasyona bırakılan kültürlerde, besiyerinde gelişme göstermeyen ya da iğnebaşı büyüklüğünde koloniler veren *Y. enterocolitica* izolatları belirlenmiştir. Yöntemde, gelişmenin kısıtlanmasının inkübasyon sıcaklığından kaynaklanıp kaynaklanmadığının belirlenebilmesi için kontrol besiyeri olarak Columbia Agar Base (CA) besiyeri (Oxoid; CM 331) kullanılmıştır (PRIPIC ve ark., 1985).

#### 2.2.2. Otoaglutinasyon Testi

Çalışmada, *Y. enterocolitica* izolatlarına otoaglutinasyon testi de uygulanmıştır (LAIRD ve CAVANAUGH, 1980; PAI ve DE STEPHANO, 1982; AULISIO, 1983). *Y. enterocolitica* kültürlerinden Metil Red-Voges Proskauer ortamını içeren 2'şer tüpe ekim yapılmış, tüplerden biri 37°C, diğer ise 25°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmışlardır. Süre sonunda tüplerdeki bulanıklık incelenmiş, 37°C'deki tüplerde dipte çökme, üst kısımda berrak faz olan ve 25°C'de homojen bulanıklığa sahip olan kültürler pozitif, homojen bulanıklığa sahip olan veya her iki sıcaklık derecesinde de aglutinasyon gösteren kültürler negatif olarak değerlendirilmiştir.

#### 2.2.3. Serum Duyarlılık Testi

*Y. enterocolitica* izolatlarının, normal insan serumuna karşı olan dirençleri PAI ve DE STEPHANO (1982)'nin önerdiği yöntemle göre test edilmiştir. Ancak yöntemde kullanılan «Hanks tamponlanmış tuz çözeltisi» yerine yine % 0,1 jelatin içeren «Earle» medium kullanılmıştır. Bu testte, kültürler önce bir gece Tryptone Yeast Extract Broth (TYE) besiyerinde 25°C'de çalışılmalı olarak inkübe edilmişlerdir (PRIPIC ve ark., 1983). Süre sonunda kültürlerden % 0,1 jelatin ve % 10 taze normal insan kan serumu içeren Earle medium'lara aşılama yapılmıştır (yaklaşık 10<sup>7</sup> CFU/ml). Kontrol olarak serum içermeyen aynı reaksiyon ortamı kullanılmıştır. 37°C'de inkübe edilen reaksiyon ortamlarından belirli zaman aralıklarında (0, 60 ve 120 dakika) Tryptic Soy Agar besiyerlerine ekimler yapılmış, 24 saat inkübasyona bırakılarak sayımları gerçekleştirilmiş ve kültürlerin serum duyarlılıkları incelenmiştir.

## 3. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Çalışmadan elde edilen sonuçlar Çizelge 1'de gösterilmiştir. Sonuçların incelenmesinden de görülebileceği gibi, beyaz peynirlerden izole edilen *Y. enterocolitica* izolatlarından 7 tanesi, pastörize sütlerden elde edilenlerin ise 2 tanesi, bu çalışmada virulentliğin belirlenmesinde kullanılan tüm testlere olumlu sonuç vermişlerdir.

Kalsiyum bağımlılığı testinde, MOX Agar besiyerinde 37°C'de bir gece inkübasyona bırakılan, beyaz peynirden elde edilen izolatların 14'ü (% 21), pastörize sütlerden elde edilenlerin ise 4'ü (% 80) iğne başı büyüklüğünde koloniler vermişlerdir. Virulent olma özelliğini taşıyan *Y. enterocolitica* kültürlerinin 37°C'de gelişebilmeleri için kalsiyuma gereksinim duydukları, MOX Agar besiyerinde ise kalsiyum şelatının oluşması nedeniyle meydana gelen sınırlayıcı koşullarda üremenin zayıfladığı bilinmektedir (STERN ve DAMARE, 1982). Beyaz peynir örneklerinden izole edilen 7, pastörize süt örneklerinden elde edilen 1 izolatın ise bu besiyerinde belirtilen koşullarda daha

**Çizelge 1. Beyaz peynir ve pastörize sütlerden elde edilen *Y. enterocolitica* izolatlarına ait virulansla ilgili test sonuçları**

	İzolat sayısı / Toplam izolat	Aglutinasyon 37°C / 25°C	Kalsiyum Bağımlılığı	Serum Duyarlılığı
<b>Pastörize süt örnekleri</b>				
	*2 (5)	+/-	+	-
	1 (5)	+/-	-	+
	1 (5)	+/-	+	+
	1 (5)	-/+	+	-
<b>Beyaz peynir örnekleri</b>				
	*7 (21)	+/-	+	-
	1 (21)	-/+	-	+
	2 (21)	+/+	-	-
	1 (21)	+/-	-	-
	2 (21)	+/+	-	-
	3 (21)	+/-	+	+
	1 (21)	+/+	+	+
	2 (21)	+/+	+	-
	1 (21)	-/-	+	+
	1 (21)	+/-	-	+

\* Her üç testte de olumlu sonuç veren izolatlar.

büyük koloniler verdikleri belirlenmiştir. Bu testte kullanılan CA besiyerlerinin kontrolü sonucunda ise, kültürler üzerinde inkübasyon sıcaklığından kaynaklanan bir inhibisyon olmadığı gözlenmiştir.

Virulent özelliğın belirlenmesinde kullanılan diğer bir test olan otoaglutinasyonda ise, peynir kaynaklı 12 (% 18), pastörize süt kaynaklı 4 (% 80) *Y. enterocolitica* kültürünün pozitif sonuç verdikleri belirlenmiştir. MR-VP besiyerinde ve iki farklı sıcaklık derecesinde yürütülen deneme ise, 37°C'de aglutinasyon özelliğı gösteren ancak 25°C'de bu özelliğı göstermeyen kültürler pozitif olarak değerlendirilmiştir (LAIRD ve CAVANAUGH, 1980). Çizelge 1'in incelenmesinden de görülebileceğı gibi, her iki gıda maddesinden elde edilen izolatlar için 37°C'de negatif, 25°C'de pozitif, her iki sıcaklık derecesinde negatif ve her iki sıcaklık derecesinde pozitif sonuç alınan kül-

türler ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Beyaz peynir örneklerinden elde edilen 7 kültürün her iki sıcaklık derecesinde de aglutinasyon özelliğı gösterdiğı belirlenmiştir. AULISIO ve arkadaşları (1983), tarafından yapılan bir çalışmada «tofu» dan elde edilen 5 *Y. enterocolitica* izolatından 3'ünün aglutinasyon testinde her iki sıcaklık derecesinde de pozitif sonuç verdikleri bildirilmiştir. LAIRD ve CAVANAUGH (1980)'e göre, her iki sıcaklık derecesinde de aglutinasyon olması, «yalancı-pozitiflik» olarak değerlendirilmekte ve virulent özelliğı taşıyan plazmidin bulunmadığını dolayısıyla patojen olmama karakterini işaret etmektedir. Yine aynı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmada, aglutinasyon özelliğı gösteren ve göstermeyen bazı *Y. enterocolitica* suşlarının virulent özellikleri hayvan denemeleri ile incelenmiştir. Sonuçta, aglutinasyon özelliğı pozitif olan tüm suşların farelerde diare ve ölüme yol açan sistemik enfeksiyona neden ol-

duğu, negatif olanların ise bu etkiler göstermedikleri belirlenmiştir. Çalışmada incelenen 180 *Y. enterocolitica* suşundan 25'inin aglutinasyon yeteneğinin pozitif olduğu ve bunların ağız yolu ile alındığında fareler için virulent karakterde oldukları saptanmıştır. Aglutinasyon testi negatif olan tüm suşların ise virulent karakterde olmadıkları belirtilmiştir. Her iki sıcaklık derecesinde de pozitif sonuç veren 9 suşun ise yine virulent karakterde olmadıkları bulunmuştur.

Aglutinasyonun virulent plazmid varlığı ve kalsiyum bağımlılığı ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (LEE ve ark., 1981). Sonuçlarımız bu açıdan incelendiğinde, toplam 26 izolattan 13 ünün her iki teste de pozitif, 5'inin ise her iki teste de negatif sonuç verdikleri belirlenmiştir. STERN ve DAMARE (1982), tarafından yapılan bir çalışmada çeşitli kaynaklardan elde edilmiş *Y. enterocolitica* suşlarından yararlanılarak virulentliğin belirlenmesinde kullanılan bazı testler karşılaştırılmıştır. Çalışılan 31 *Y. enterocolitica* suşundan 29'u kalsiyum bağımlılığı testine olumlu sonuç verirlerken, 34 kültürden tümünün otoaglutinasyon testine pozitif sonuç verdikleri bildirilmiştir.

Serum duyarlılığı testinde ise, peynirlerden elde edilen izolatların 14'ü (% 67), pastörize sütlerden elde edilenlerin ise 3ü (% 60) serum duyarlılığı testine negatif sonuç vermişlerdir. Dolayısıyla bu kültürlerin normal insan kan serumuna karşı dirençli oldukları belirlenmiştir.

Virulent özelliğın bir belirteci olarak kabul edilen serum direnci, kan serumu içeren reaksiyon ortamında 37°C'de canlı kalabilme yeteneğı olarak belirtilmektedir (PRIPIC ve ark., 1983). Serum direnci, canlı kalabilen suşların iki saat sonra çoğalmaya başladıkları, serum duyarlı olan virulent olmayan suşların

ise yaklaşık bir saat içerisinde inhibe oldukları da bildirilmektedir. Virulent suşların insan kan serumunun bakterisidal etkisine karşı dirençli olmalarına rağmen, bu direncin 37°C'de gözlenebildiği ve virulent özelliğın yitirilmesi ile kaybolduğı ifade edilmektedir (PAI ve DES-TEPHANO, 1982).

Çalışmamızda virulentliğın belirlenmesinde kullanılan bütün testler dikkate alındığında, her iki gıda maddesinden izole edilen toplam 26 *Y. enterocolitica* kültüründen 9 tanesinin tüm testlere olumlu cevap verdikleri ve büyük olasılıkla virulent olma karakterini taşıdıkları bulunmuştur. Hayvan denemeleri yapılmamış olmakla birlikte, bu durum virulent olma özelliğini taşıyabilen *Y. enterocolitica*'nın gıdalarla taşınabileceğı ve uygun koşullar gerçekleştiğinde toplum sağlığını tehlikeye sokabileceğini düşündürmektedir. Özellikle psikrofil karakteri nedeniyle süt ve hammadde olarak sütün kullanıldığı bazı gıda maddelerinde sorun yaratabilecek olan bu bakteri için öncelikle hijyenik kurallara dikkatle uyularak kontaminasyonunun engellenmesi ve ısı işlem görmüş hammadde kullanımını önerilebilir.

Araştırmamızdan elde edilen diğeri bir sonuç ise, bir karşılaştırma çalışması yapılmamış olmakla birlikte virulentlik indikatörü olarak kullanılan testlerden otoaglutinasyon testinin diğeri oranla daha az zaman alıcı ve pratik olduğunun belirlenmesidir. Bu test özellikle gıda kaynaklı izolatlardan patojen karakterde olan *Y. enterocolitica*'nın belirlenmesinde önerilmektedir (STERN ve DAMARE, 1982). Gıdalardan *Y. enterocolitica* izolasyonu için yapılan çalışmalarda, elde edilen izolatlara otoaglutinasyon testinin uygulanması ile virulent karakter taşıma özelliğinin ortaya konulmasının sonuçları olumlu yönde destekleyeceğı de düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- AULISIO, C. C. G., J. T. STANFIELD; S. D. WEAGANT; W. E. HILL, 1983. Yersiniosis associated with tofu consumption: Serological, biochemical and pathogenicity studies of *Yersinia enterocolitica* isolates. *J. Food Protection*. 46 (3): 226 - 230.
- AYTAÇ, S. A., Z. Y. ÖZBAŞ, 1982. Beyaz peynirlerden ve pastörize sütlerden *Yersinia enterocolitica* izolasyonu ve tanımlanması üzerine araştırmalar. *gıda* 17 (1): 47 - 52.
- BANWART, G. J., 1989. *Basic Food Microbiology*. Van Nostrand Reinhold Comp., New York, 773 sayfa.
- BİLGEHAN, H. 1986. *Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*. Barış Yayınları, Bilgehan Basımevi, İzmir, 559 sayfa.
- DELMAS, C. L.; D. J. M. VIDON, 1985. Isolation of *Yersinia enterocolitica* and related species from foods in France. *App. and Environ. Microbiol.* 50 (4): 767 - 771.
- GEMSKI, P., J. R. LAZERE; T. CASEY, 1980. Plasmid associated with pathogenicity and calcium dependency of *Yersinia enterocolitica*. *Infection and Immun.* 27 (2): 682 - 685.
- GILMOUR, A., S.; J. WALKER, 1988. Isolation and identification of *Yersinia enterocolitica* and the *Yersinia enterocolitica* - like bacteria. *J. App. Bacteriol. Symposium Supplement*. 213 - 236.
- LAIRD, W. J.; D. C. CAVANAUGH, 1980. Correlation of autoagglutination and virulence of *Yersinia*. *J. Clinical Microbiol.* 11 (4): 430 - 432.
- LEE, W. H., R. E. SMITH; J. M. DAMARE; M. E. HARRIS; R. W. JOHNSTON, 1981. An evaluation of virulence test procedures for *Yersinia enterocolitica* recovered from foods. *J. App. Bacteriol.* 50: 529 - 539.
- MOUSTAFA, M. K., A. A. H. AHMED; E. H. MARTH, 1983. Behaviour of virulent *Yersinia enterocolitica* during manufacture and storage of Colby - like cheese. *J. Food Protection*. 46 (4): 318 - 320.
- PAI, C. H.; V. MORS; S. TOMA, 1978. Prevalance of enterotoxigenicity in human and non-human isolates of *Yersinia enterocolitica*. *Infection and Immun.* 22, 334 - 338.
- PAI, C. H.; L. DESTEPHANO, 1982. Serum resistance associated with virulence in *Yersinia enterocolitica*. *Infection and Immun.* 35 (2), 605 - 611.
- PALUMBO, S. A., 1986. Is refrigeration enough to restrain foodborne pathogens. *J. Food Protection*. 49 (12): 1003 - 1009.
- PRIPIC, J. K., R. M. ROBINS BROWNE; R. B. DAVEY, 1983. Differentiation between virulent and avirulent *Yersinia enterocolitica* isolates by using Congo red agar. *J. Clinical Microbiol.* 18 (3): 486 - 490.
- PRIPIC, J. K., R. M. ROBINS - BROWNE; R. B. DAVEY, 1985. Invitro assesment of virulence in *Yersinia enterocolitica* and related species. *J. Clinical Microbiol.* 22 (1): 105 - 110.
- STERN, N. J., M. D. PIERSON, 1979. *Yersinia enterocolitica*: A review of the psychrotrophic water and foodborne pathogen. *J. Food Sci.* 44: 1736 - 1742.
- STERN, N. J., J. M. DAMARE, 1982. Comparison of selected *Yersinia enterocolitica* indicator tests for potential virulence. *J. Food Sci.* 47: 582 - 588.
- UNE, T., 1977. Studies on the pathogenicity of *Yersinia enterocolitica*: 1. Experimental infection in rabbits. *Infection and Immun.* 21, 249 - 363.