

Атанас Атанасов Павлов - ст.н.с., к.в.м.н.
Районна ветеринарна станция гр. Русе

През периода 1983-1985 год. са изследвани проби месо и органи от редовно заклани прасета и телета, за наличие на *Yersinia enterocolitica* (*Y. enterocolitica*). Изследваните материали включват смивове от определени части на трупа, от събреци, сърца, чер дроб, езици (включително и тонзили), както и мезентериални лимфни възли. При прасетата *Y. enterocolitica* е установена в 14,6% от изследваните проби месо, в 1,9% вътрешни органи и при 36,8% от смивовете на езици и тонзили. Патогенните за човека серотипове *Y. enterocolitica* 0:3 и 0:9 са изолирани от езици, тонзили и една проба мезентериални лимфни възли. В смивовете от другите органи тези серотипове не са установени.

При закланите телета *Y. enterocolitica* е изолирана само от проби месо. В смивовете от събреци, сърца, чер дроб, езици и в мезентериалните лимфни възли не е установено наличие на този микроорганизъм. Дискутират се методите за изолиране на *Y. enterocolitica* и епидемиологичното значение на месото като източник на йерсиниоза по хората.

Йерсиниозата причинена от *Yersinia enterocolitica* (*Y. enterocolitica*) заема все по-значителен дял от заболяванията по хората /7, 18, 19/. Описани са групови и спорадични случаи с най-разнообразна клиника. Като най-вероятен път за предаване на инфекцията много автори считат хранителните продукти, или контакта с болни /6, 10, 12, 13, 15/. *Y. enterocolitica* е изолирана от месо /4, 8, 9, 14, 16, 17, 20, 23/, езици /3, 21/, смивове от фарингса /22/, лимфни възли /5, 23/ и от вътрешни органи /16/ на прасета. Inoue и Kurose /11/ установяват този микроорганизъм в телешко месо, а Hanna и кол. /8/ - във вакуумно опаковано агнешко и телешко месо. При проучване пътищата за предаване на инфекциите по хората, причинени от *Y. enterocolitica* някои автори изолират патогенните за човека серотипове 0:3 и 0:9 от животни и хранителни продукти от животински произход /4, 11, 19, 23/. Особено често тези серотипове се установяват в месо и вътрешни органи на клинично здрави прасета /3, 16, 21, 23/. Изолирани са и от телешко месо /11/. У нас проучванията върху наличието на *Y. enterocolitica* в хранителни продукти от животински произход са малко. Микроорганизмът е изолиран от сурово краве мляко /1/.

Цел на настоящото проучване е да се установи наличието на *Y. enterocolitica* в месо и вътрешни органи на заклани клинично здрави прасета и телета, както и приложимостта на някои методи за изолиране на този микроорганизъм.

СОБСТВЕНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

През периода 1983 - 1985 год. бяха изследвани за наличие на *Y. enterocolitica* проби месо и вътрешни органи от редовно заклани клинично здрави прасета и телета. Материалите включваха смивове от определени части на трупа (областта на бута, плешката, шията, вътрешността на коремната и тазовата кухина), от събреци, сърца, чер дроб, езици, тонзили и мезентериални лимфни възли. Общо бяха изследвани 661 проби (табл. 1). Смивовете се вземаха чрез обтриване на съответната повърхност с марленоректн върху диференциращи индикаторни агарови среди (MacConkey, Endo, Salmonella-Shigella и Deoxycholat citrat agar), или в набогатителни среди (фосфатно буферен физиологичен разтвор (ФБФР) с pH 7,6, модифициран бульон на Rappaport (МБР), селективен бульон на Lee и набогатителна среда на Christenson и Jansen). Набогатяването на пробите и третирането с 0,5% разтвор на КОН извършвахме по методи, опи-

сани в друга наша работа /1/. От всяка петриева паничка избирахме по 5 колонии, по-казващи характерна за *Y. enterocolitica* морфология и определяхме биохимичните им свойства по конвенционалните методи /2/. Всички идентифицирани щамове изпитвахме серологично с анти-0:3 и анти-0:9 серуми.

РЕЗУЛТАТИ

При изследване на 661 проби месо и вътрешни органи от заклани клинично здрави прасета и телета в 71 от тях (10,7%) установихме наличие на 75 щама *Y. enterocolitica* - (табл.1). По-често изолирахме микроорганизма от прасета (18,7% от изследваните проби) и по-рядко от телета (2,7%).

При прасетата най-много положителни за *Y. enterocolitica* проби установихме в смивовите от езици (40,0%) и тонзили (33,3%). Сравнително често изолирахме този микроорганизъм от трупа и вътрешните органи - в 26,7% от смивовите на коремната кухина и черния дроб, 16,7% от обречи, 16,1% от бутове, 13,4% от тазовата кухина и др. Интересно е да се отбележи, че в 4 смива (3 броя от тонзили и 1 от език) установихме повече от 1 серотип *Y. enterocolitica* - включително 0:3 и 0:9.

При телетата *Y. enterocolitica* изолирахме от различни области на трупа. В смивовите от плешка, бут и коремна кухина положителните случаи бяха съответно 10,0%, 6,7% и 6,7%. От вътрешни органи *Y. enterocolitica* не беше изолирана.

Резултатите от серологичното изследване на изолираните 66 щама *Y. enterocolitica* от месо и органи на прасета показват (табл.1), че 14 броя (21,2%) се отнасят към патогенните за човека серотипове 0:3 и 0:9. Серотип 0:3 установихме при 6 проби тонзили (20,0%), 5 броя езици (16,7%) и 1 проба мезентериални лимфни възли (3,3%). Серотип 0:9 изолирахме от 1 проба тонзили (3,3%) и 1 брой езици (3,3%). При месо и органи от телета не установихме тези серотипове.

При директно посяване на пробите върху твърди диференциращи индикаторни среди *Y. enterocolitica* изолирахме само от прасета. Микроорганизмът беше установен в 3 смива от трупа (по 1 брой от областта на бута, плешката и коремната кухина), в 2 проби тонзили и 2 броя езици. Изолираният щам от едната проба тонзили беше типизиран като серотип 0:3. Всички положителни за *Y. enterocolitica* проби при директни посевки (7 броя) бяха установени върху MacConkey агар.

Степента на изолиране на *Y. enterocolitica* от пробите месо и вътрешни органи не е еднаква при използваните различни набогатителни среди. Така чрез набогатяване във ФБР изолирахме 84,0% от щамовете, при използване на МБР - 48,0%, средата на Christenson и Jansen - 36,0% и най-малко със селенитовия бульон на Lee и кол.

ТАБЛИЦА 1.

Наличие на <i>Y. enterocolitica</i> в месо и вътрешни органи от прасета и телета							
П Р О Б И	изследвани броя	положителни за <i>Y. enterocolitica</i>					
		брой	%	серотип 0:3	серотип 0:9	брой	%
1. От прасета - общо	331	62	18,7	12	19,4	2	3,2
- смивове от бут	31	5	16,1	0		0	
плешка	30	3	10,0	0		0	
шия	30	2	6,7	0		0	
коремна кухина	30	8	26,7	0		0	
тазова кухина	30	4	13,4	0		0	
обречи	30	5	16,7	0		0	
сърца	30	4	13,3	0		0	
чер дроб	30	8	26,7	0		0	
езици	30	12	40,0	5	41,7	1	8,3
тонзили	30	10	33,3	6	60,0	1	10,0
- мезентериални лимфни възли	30	1	3,3	1	100,0	0	
2. От телета - общо	330	9	2,7	0		0	
- смивове от бут	30	2	6,7	0		0	
плешка	30	3	10,0	0		0	
шия	30	1	3,3	0		0	
коремна кухина	30	2	6,7	0		0	
тазова кухина	30	1	3,3	0		0	
обречи	30	0	0	0		0	
сърца	30	0	0	0		0	
чер дроб	30	0	0	0		0	
езици	30	0	0	0		0	
тонзили	30	0	0	0		0	
- мезентериални лимфни възли	30	0	0	0		0	
О Б Щ О	661	71	10,7	12	16,9	2	2,8

-32%. Най-добри резултати получихме чрез двустъпално набогатяване на пробите (14 дни на 4°C във ФБР и след това 4 дни на 22°C в МБР). По този метод изолирахме 96,6% от всички шамове *Y. enterocolitica* включително 12 броя серотип 0:3 и 2 броя 0:9.

Препосояването на култивирани набогатителни среди върху диференциращите индикаторни среди показва, че последните притежават различна способност за изолиране на *Y. enterocolitica*. Чрез преосевки върху MacConkey агар изолирахме 98,7% от шамовите, върху Endo - 90,7%, *Salmonella-Shigella* - 57,3% и *Deoxycholat citrat* агар - 48,0%. При това само върху MacConkey агар изолирахме 6 шаме, а само върху Endo - 1 брой.

При третиране на култивирани набогатителни среди с КОН непосредствено преди препосояването им, върху диференциращите индикаторни агарови среди прорастаха сравнително малък брой колонии, които след това в 90,0% от случаите идентифицирахме като *Y. enterocolitica*.

ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от нашите изследвания сочат, че месото и вътрешните органи на заклани клинично здрави животни са сравнително често обсеменени с *Y. enterocolitica*. Микроорганизмът особено често се изолира от прасета (средно 18,7% от изследваните проби) и по-рядко от телета (2,7%). Тези данни са в съгласие с резултатите от изследванията на други автори /4, 5, 8, 9, 16, 22/, които сочат, че един от основните резервоари на *Y. enterocolitica* в природата са прасетата. При изследване на свинско месо Asakawa и кол. /3/ установяват микроорганизма в 3 проби, Leistner и кол. /14/ - в 68,9%, а Tsubokura и кол. /20/ - в 23,3% от пробите. Narucka и Westendoorp /16/ изолират *Y. enterocolitica* от тонзили (13,5%) и чер дроб (0,6%). Wauters и Janssens /21/ намират, че 53,8% от пробите езици са положителни за този микроорганизъм. При изследване на 22 смива от тонзили на прасета Hanna и кол. /9/ установяват *Y. enterocolitica* в 8 броя (36,4%). Bockemuhl и кол. /5/ намират, че 1,2% от пробите мезентериални лимфни възли са обсеменени с този микроорганизъм, а Zen-Yoji и кол. /23/ - 0,5%.

Данните от нашите изследвания сочат, че макар и в по-малка степен в сравнение със свинското месо, *Y. enterocolitica* се изолира и от телешко месо. Така при смивките от областта на плешката установихме този микроорганизъм в 10,0%, а от областта на бутата и коремната кухина в 6,7% от изследваните проби. Тези резултати са близки с данните от изследванията на други автори. Inoue и Kurose /11/ изследват 61 проби телешко месо и в 15 броя (24,6%) установяват *Y. enterocolitica*. Опитите

на Zen-Yoji и кол. /23/ да изолират този микроорганизъм от мезентериални лимфни възли на телета са неуспешни. Leistner и кол. /14/ установяват *Y. enterocolitica* в 10 проби (27,0%) от изследваните общо 37 броя, а Tsubokura и кол. /20/ - в 23,3%. Данните от изследванията на Hanna и кол. /11/ сочат, че 24,6% от вакуумно опакованото телешко месо съдържа този микроорганизъм.

При серологичното изследване на изолираните от прасета 66 шаме *Y. enterocolitica* установихме, че 18,2% от тях се отнасят към серотип 0:3 и 3,0% - към 0:9. Много автори /3, 16, 19, 21, 22, 23/ също намират патогенни за човека серотипове в свинско месо и вътрешни органи на заклани клинично здрави прасета. При изследване на проби от свинско месо Asakawa и кол. /4/ изолират 2 шаме серотип 0:3. Zen-Yoji и кол. /23/ изследват 917 проби мезентериални лимфни възли и установяват в 4 броя, като в 3 от случаите се касае за 0:3. Wauters и Janssens /21/ установяват, че 52,1% от изследваните смивове от езици съдържат *Y. enterocolitica* серотип 0:3. Същият серотип Wauters и кол. /22/ намират в 11,0% от изследваните смивове от фарингси. Narucka и Westendoorp /16/ установяват серотип 0:3 в 11 проби тонзили, а серотип 0:9 - в 1 проба чер дроб и 3 броя тонзили. Inoue и Kurose /11/ изолират серотипове 0:3 и 0:8 (често причиняващ заболявания по хората в САЩ от телешко месо. Според авторите контаминираното с тези серотипове месо може да бъде причина за спорадични и групови случаи на гастроентерити по хората.

През последните години много автори /6, 12, 13, 15/ сочат, че разпространението на *Y. enterocolitica* се осъществява главно чрез хранителните продукти от заклани клинично здрави животни. Според Zen-Yoji и кол. /23/ месото и вътрешните органи от заклани клинично здрави прасета заемат най-голям дял като източници на йерсиниоза по хората. Това мнение се потвърждава от факта, че значителна част от изолираните шаме *Y. enterocolitica* се отнасят към патогенните за човека серотипове 0:3 и 0:9 - при нашето проучване - 21,2%. От друга страна способността на *Y. enterocolitica* да се размножава при хладилни температури (0 - 4°C) и в сравнително високи концентрации на NaCl (6 до 7%) допринася за екологична селекция на микрофлората в месото по време на съхранението и преработката му. В резултат на това този микроорганизъм може да стане един от преобладаващите, което крие сериозна опасност за здравето на консуматора.

Чрез директно посояване на пробите върху диференциращите индикаторни агарови среди изолирахме само 9,3% от всички шамове, което най-вероятно се дължи на много слабата първоначална контаминация на месото с *Y. enterocolitica*. Тези резултати са близки с данните от изследванията на други автори /1, 3, 6, 14, 19, 22/, които рядко изолират този микроорганизъм чрез директни посеви върху твърди среди.

В нашите изследвания най-добри резултати получихме чрез двустъпално набогатяване на пробите. По този метод изолирахме 75 щама *Y. enterocolitica* от 71 проби. Предимствата на двустъпалното набогатяване се обуславят от съчетаването на нискотемпературното култивиране във ФБР с високата селективност на МБР /1, 19/.

Резултатите от нашите проучвания върху пригодността на различни диференциращи индикаторни среди за изолиране на *Y. enterocolitica* сочат, че най-подходящи са MacConkey и Endo агар. Върху тези среди изолирахме съответно 98,7% и 90,7% от щамовете. Предимствата на тези 2 среди се обуславят от незначителните им инхибиторни свойства спрямо микроорганизма /3, 15, 17, 20/.

Третирането на култивираните набогатителни среди с 0,5% разтвор на КОН неопосредствено преди посяване улеснява значително изолирането на *Y. enterocolitica*. След прилагане на тази процедура върху диференциращите индикаторни среди прорастаха типични колонии, които с малки изключения бяха идентифицирани като *Y. enterocolitica*. В случаите когато не третирахме с КОН, повърхността на индикаторните среди бързо обрасна с колонии на странична микрофлора, които скриваха бавно нарастващите колонии на *Y. enterocolitica*.

Резултатите от нашите изследвания сочат, че месото и вътрешните органи на заклинани клинично здрави животни (особено прасета), са сравнително често обсеменени с *Y. enterocolitica*. Изолирането на патогенните за човека серотипове 0:3 и 0:9 показва, че свинското месо може да има определен дял в появата на спорадични и групови заболявания по хората, причинени от *Y. enterocolitica*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Павлов, А. Вет-мед. науки, 22, 3, 63, 1985
2. Хаджидимова, Д. Микробиологична диагностика. III изд. Медицина и физкултура. С., 1975.
3. Asakawa, Y., S. Akahane, N. Kagata, K. Shiozawa, T. Honma. Contrib. Microbiol. Immunol., 5, 1979.
4. Asakawa, Y., S. Akahane, N. Kagata, Japan. J. Bacteriol., 29, 624, 1974.
5. Bockemuhl, J., H. Schmitt, J. Roth, E. Saupe. Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A 244, 494, 1979.
6. Bryan, F. J. Food Protection, 40, 45, 1977.
7. Gutman, L. T., E. A. Ottesen, T. J. Quan, P. S. Noce, S. L. Katz. New Engl. J. Med., 288, 1372, 1973.
8. Hanna, M. O., D. L. Zink, Z. L. Carpenter, C. Vanderzant. J. Food Sci., 41, 1254, 1976.
9. Hanna, M. O., G. C. Smith, L. C. Hall, C. Vanderzant, B. Childers. J. Food Protection, 43, 1, 23, 1980.
10. Hanna, M. O., J. C. Stewart, D. L. Zink, Z. L. Carpenter, C. Vanderzant. J. Food Sci., 42, 5, 1180, 1977.
11. Inoue, M., M. Kurose. Japan. J. Vet. Sci., 37, 91, 1975.
12. Laboratory Center for Disease Control. Dis. Weekly Rept., 2, 41, 1976.
13. Laboratory Center for Disease Control. Dis. Weekly Rept., 2, 73, 1976.
14. Leistner, L., H. Hechelmann, M. Kashiwazaki, R. Albertz. Fleischwirtschaft, 55, 1599, 1975.
15. Makula, A., P. Gatti, H. H. Mollaret, J. Vandepitte. Bull. Soc. Pathol. Exotique, 62, 452, 1969.
16. Narucka, U., J. F. Westendoorp. Tijdschr. Diergeneesk., 102, 5, 299, 1977.
17. Pedersen, K. B. Acta pathol. microbiol. scand., Sect. B 84, 317, 1976.
18. Sonnenwirt, A. C., R. E. Weaver. New Engl. J. Med., 283, 1468, 1970.
19. Toma, S., V. R. Deidrick. J. Clin. Microbiol., 2, 478, 1975.
20. Tsubokura, M., T. Fukuda, K. Otsuki, M. Kubota, K. Itagaki, S. Tanamachi. Japan. J. Vet. Sci., 37, 213, 1975.
21. Wauters, G., M. Janssens. Med. Mal. Infect., 6, 517, 1976.
22. Wauters, G., P. Pohl, J. Stevens. Med. Mal. Infect., 6, 484, 1976.
23. Zen-Yoji, H., S. Sakai, T. Maruyama, Y. Yanagawa. Japan. J. Microbiol., 18, 1, 103, 1974.