

Yersinia enterocolitica

[01. Genel Bilgiler](#)

[02. Aranması / Sayılması](#)

[03. Doğrulanması](#)

[04. Kullanılan Besiyerleri](#)

[04.01. Yersinia Selective Enrichment Broth](#)

[04.02. CIN Agar](#)

[04.03. ITC Broth](#)

[04.04. SSDC Agar](#)

01. Genel Bilgiler

Enterobacteriaceae familyası üyesi olan *Yersinia enterocolitica* ve buna yakın akraba olan bakteriler toprak, su, hayvanlar ve pek çok gıda maddesinden sıklıkla izole edilirler. Bu grup biyokimyasal testler açısından heterojenlik gösterir. *Y. enterocolitica* gıda kaynaklı hastalıklara neden olan en önemli *Yersinia* türüdür. Soğukta depolanmış gıdalar psikrotrofik bir bakteri olan *Y. enterocolitica* açısından potansiyel tehlikedir. *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* 'ya oranla daha az yaygındır ve sıklıkla hayvanlardan izole edilirken gıdalar, toprak ve suda nadiren bulunur.

Yersinia 'ların neden olduğu infeksiyöz hastalıklara son yıllarda giderek daha fazla rastlanmaktadır. *Yersinia pseudotuberculosis* 'in Avrupa 'da özellikle yabani hayvanlarda görülen bir suş olmasına karşılık *Yersinia enterocolitica* insanlarda infeksiyöz hastalığa neden olmaktadır. "Yersiniosis" denilen hastalık lenf bezleri ve lenf düğümlerinden kendini gösterir, bağırsak kolitleri olarak ortaya çıkar. Eklem iltihaplarında ve kan zehirlenmesi olaylarında da yersiniaların rolü fazladır.

1966 yılında dünyada çeşitli bölgelerde olmak üzere 66 izolasyon gerçekleştirilmiştir, 1974 de ise izolasyon sayısı 4000 'in üzerine çıkmıştır. Danimarkalı ve Çek bilim adamları "Yersiniosis" in "Salmonellosis" e çok benzerlik gösterdiğini ifade etmektedirler.

Yersinia enterocolitica 'nın gıda maddelerine nereden bulaştığı üzerine yapılan çalışmaların sınırlı olduğu zamanlarda, mezbahada kesilen domuzların kontaminasyon kaynağı olduğu düşünülmüştür. Zamanla kesilmiş diğer hayvanlardan ve kümes hayvanlarından da bu bakteri izole edilmiştir. Genellikle vakumlu veya vakumsuz paketlenmiş taze etlerden, süttten, dondurmadan, balıktan, midye başta olmak üzere bazı deniz ürünlerinden ve de içme sularından *Yersinia enterocolitica* 'nın izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

Belli bir gıdanın enfeksiyon kaynağı olduğu gösterilen toplu zehirlenme olayı 1976 yılında New York 'da meydana gelmiştir. 218 okul çocuğu çikolatalı süt ile beslenmelerinin ardından topluca ateşlenmişlerdir. Şiddetli karın ağrısı ve bazılarında da diyare görülmüştür. Semptomları apandisit sancısına çok fazla benzediğinden 13 çocuk operasyona tabi tutulmuş ve apandisitleri alınmıştır. *Yersinia enterocolitica* 'nın varlığı hem hastalarda hem de arta kalan çikolatalı sütlerde gösterilebilmiştir. Bu ve benzer vakalar nedeni ile de bir müddet bu etmenin vektörü olarak süt görülmüştür.

Yersinia 'nın neden olduğu enfeksiyonda patojenitenin mekanizması henüz anlaşılmamıştır. *Y. enterocolitica* 'nın canlı kalabilme yeteneği oldukça yüksek ancak ısı ile kolayca ölmektedir. 4 °C de çoğalabildiğinden soğukta muhafaza edilen gıdalardan taze et, tavuk ve süt ürünlerinde de çoğalabilmekte veya en azından canlılığını korumaktadır. Mikroorganizmanın bu psikrotrof özelliğinden onun saf halde elde edilmesinde yararlanır. Fosfatla tamponlanmış olan tuzlu su çözeltisinde 3 hafta boyunca +4 °C' da inkübasyona bırakılan gıda süspansiyonlarından belli zamanlarda örnek alınarak selektif katı besiyerleri üzerine ekimleri yapılır.

Yersinia ile ilgili daha fazla genel bilgi için [burayı tıklayın](#).

02. Aranması / Sayılması

Gıda maddelerinde *Y. enterocolitica* genellikle aranır. Sayım gerekli ise EMS yöntemi uygulanabilir. Önceleri *Y. enterocolitica* aranması için 10 gün 10 °C 'da soğuk zenginleştirme yöntemi uygulanırken selektif besiyerlerindeki gelişmeler nedeni ile artık doğrudan analize başlanılmaktadır.

Y. enterocolitica aranması veya EMS yöntemiyle sayılmasında selektif sıvı besiyerinde zenginleştirme ve selektif katı besiyerine ekim olmak üzere iki aşama vardır. İzole edilen kolonilerin biyokimyasal olarak doğrulanması ile arama/ sayma işlemi tamamlanır. Selektif zenginleştirme besiyeri olarak *Yersinia Selective Enrichment Broth acc. to Osmer* (Merck 1.16701) kullanılır. Standart ekimden sonra 30 °C' da 24 saat inkübasyona bırakılan tüplerde gelişme olması *Y. enterocolitica* olasılığını gösterir. CIN Agar (Merck 1.16434) besiyerine standart şekilde sürme yapıp 30 °C' da 24 ve gerekirse 48 saat inkübasyona bırakılır. *Y. enterocolitica* CIN Agar besiyerinde koyu kırmızı merkezli ve saydam kenarlı koloniler yapar. Koloni boyutu ve şekli serotiplere göre önemli ölçüde değişir. Bazı *Enterobacteriaceae* üyeleri ile *Pseudomonas* türleri zayıf gelişme gösterebilirler.

Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO) 10273 nolu standarda uygun olarak geliştirilmiş ITC (Irgan- Ticarcillin – Chlorate) Broth (Merck 1.16723) ve SSDC (Salmonella – Shigella Agar with Sodium Deoxycholate and Calcium Chloride) Agar (Merck 1. 16724) besiyerleri de özellikle *Y. enterocolitica* O:3 serotipi analizinde yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Yersinia ile ilgili daha fazla analiz bilgisi için [burayı tıklayın](#).

03. Doğrulanması

CIN Agar besiyerinde tipik koloniler izole edilir ve bunların doğrulanması için bir seri biyokimyasal test yapılır. Bu testlerin çoğu ancak gelişmiş gıda mikrobiyolojisi laboratuvarlarında yapılabilir. Bu aşamada parantez içindeki + ve - işaretleri *Y. enterocolitica* için biyokimyasal reaksiyon sonuçları olmak üzere üre-triptofan besiyerinde üre (+), triptofan deaminaz (-) ; Kligler Iron Agar besiyerinde glikoz (+), glikozdan gaz oluşumu (-), laktoz (- ; bazen süt ürünlerinden elde edilenler pozitif sonuç vermektedir), H₂S (-) ; oksidaz (-) testleri ile analizlere başlandığı, bu testler ile *Y. enterocolitica* için sonuçlar doğrulandıktan sonra analizlere lizin dekarboksilaz (-) ; ornithin dekarboksilaz (+) ; sakkaroz (+) ; ramnoz (-) ; Simmons sitrat agarda sitrat (-) testleri ile devam edildiği ve en sonrada patojenite testleri

yapılması gerektiği bilinmelidir. Dolayısı ile gıda işletmelerinde bulunan mikrobiyoloji laboratuvarları için analiz sonucunun "CIN Agar besiyerinde tipik *Yersinia* kolonisi bulundu / bulunmadı" şeklindeki rapor yeterli olmaktadır.

Yersinia ile ilgili daha fazla analiz bilgisi için [burayı tıklayın](#).

04. Kullanılan Besiyerleri

04.01. Yersinia Selective Enrichment Broth (Merck 1.16701)

Dehidre besiyeri 38,7 g/l olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak eritilir. Bu besiyeri içinde zor eriyen bileşenler vardır. Dolayısıyla eğer besiyeri tüplere dağıtılacak ise iyice eridiğinden emin olunmalıdır. Otoklavda 121 °C' da 15 dakika sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri translusent ve hafif sarı-kahve renklidir. *Y. enterocolitica* gelişimi özel seçilmiş peptonlar ve diğer substratlar ile desteklenirken refakatçi floranın gelişimi irgasan ve bazitrasin ile engellenir. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 1292 tüp hazırlanır. Bu besiyeri ile ilgili daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.02. CIN Agar (Merck 1.16434)

500 ml distile su içinde 29,25 g dehidre besiyeri gerekirse ısıtılarak eritilip manyetik taş ile birlikte otoklavda 121 °C' da 15 dakika sterilize edilir. 50 °C' a soğutulup üzerine 1 ml steril distile su ve 1 ml etil alkol karışımı ile çözülmüş 1 şişe Yersinia Selective Supplement (Merck 1.16466) ilave edilir. Manyetik karıştırıcıda iyice karıştırılıp steril petri kutularına 12,5' er ml dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak ve kırmızıdır. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 17 adet 500 ml besiyeri ve dolayısı ile 680 petri hazırlanabilir. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri için 18 adet Yersinia Selective Supplement (Merck 1.16466) gerekir. Bu katkı 16 şişelik paket olarak pazarlanmaktadır. "Yersinia Selective Agar Base acc. to Schiemann" adı ile de bilinen bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.03. ITC Broth (Merck 1. 16723)

Bu besiyeri "Irgasan – Ticarcillin – Chlorate Broth base acc. to Wauters" adı ile de bilinir. ISO 10273 'e uygundur. Hazırlanması için 480 ml destile su içinde 22 g dehidre besiyeri çözülür, otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilir. Oda sıcaklığına soğutulup üzerine 20 ml **ITC selektif katkı** ilave edilir. Selektif katkı Irgasan, Ticarcillin ve Potassium chlorate bileşiminde olup, hazırlanması için şişe üzerine 18 ml steril destile su ve 2 ml saf alkol (Merck 1.00986) eklenir, iyice karıştırılır. Katkısı eklenmiş besiyeri oksijenin minimum girişini sağlamak amacıyla tercihen sterilize edilmiş dar boyunlu erlenlere 100 ml olacak şekilde dağıtılır. Hazırlanmış besiyeri ile gıdanın %1 düzeyinde inokülasyonu önerilmektedir. Analizi yapılacak gıdanın önce Tamponlanmış Peptonlu Su (Merck 1.07228) besiyerinde 1:4 oranında seyreltilmesi, burada alınacak 5 ml sıvının ITC besiyerine aktarılması ile daha doğru sonuçlar alındığı bildirilmektedir. Seyreltme işleminin tamponlanmış besiyeri içinde hafifçe çalkalama ile yapılması gerekmektedir. İnoküle edilen erlenler 25 °C 'da 48 saat inkübe edilir. Bu süre sonunda besiyerinin orijinal mavi renginin yeşilimsi maviye dönüşmesi patojenik *Yersinia*

serotiplerinin varlığına işaret eder. Buradan CIN Agar ya da ISO 10273 'e uygun olarak SSDC Agar besiyerine sürme yapılması gerekmektedir. Besiyeri bileşimindeki kazein peptonu ve maya ekstraktı *Yersinia* için optimum gelişme koşullarını sağlarken, antibiyotikler magnezyum klorür ve malahit yeşili besiyerine selektif özellik katar. 500 g olan bir kutu dehidre besiyeri ile 113 adet 100 ml erlen hazırlanabilir. Katkı 12 şişelik ambalajda pazarlandığına ve 1 şişe 5 adet 100 ml erlen hazırlanmasında kullanıldığına göre 1 kutu dehidre besiyeri için 2 kutu katkı gerekmektedir. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.04. SSDC Agar (Merck 1.16724)

"Salmonella – Shigella Agar with Sodium Deoxycholate and Calcium Chloride" adı ile de bilinen bu besiyeri ISO 10273 'e göre patojenik *Yersinia* serotiplerinin ve özellikle *Y. enterocolitica* O:3 serotipinin izolasyonu ve tanımlanması için uygundur. Dehidre besiyeri kaynar su banyosunda tümüyle eriyinceye kadar sürekli karıştırılır. Su banyosunda 1 saati geçmeyecek şekilde 50 °C 'a soğutulur ve Petri kutularına 20 ml dağıtılır. Besiyerinin aşırı ısıtılmasından kaçınılmalıdır. Hazırlanmış besiyeri berrak ve kırmızı kahve renklidir. Buzdolabında ve karanlıkta olmak kaydı ile 1 gün depolanabilir. Yüzey kurutması sırasında aşırı kuruma olmamasına dikkat edilmelidir. Tek koloni elde edilecek şekilde yüzeye öze ile sürme ya da spatülle yayma yapılır, 30 °C 'da 24 – 48 saat inkübasyon sonunda 1 mm çaplı renksiz yuvarlak koloniler muhtemel *Yersinia* kolonileridir. 10 büyütme güçlü büyüteç ile bakıldığında merkezde granül yapı gözlenir. Besiyeri bileşimindeki brilliant green, safra tuzları, tiyosülfat ve sitrat çoğu refakatçi floranın gelişimini engeller. Hidrojen sülfür oluşumu tiyosülfat ve demir iyonları ile belirlenir. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 20 ml/petri hesabı ile 328 petri kutusu hazırlanabilir. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).