

FIL /IDF - ref. S. I. 9405

## Značaj patogenih mikroorganizama u sirovom mlijeku

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

### CAMPYLOBACTER JEJUNI

#### 1. Uvod

Od mikroorganizama uzročnika enteritisa ljudi i životinja *Campylobacter jejuni* se nije prepoznao do početka 1980. U međuvremenu o toj je vrsti utvrđeno da je patogena bakterija što se najčešće javlja u hrani poput *Salmonellae*. Nedovoljnom poznavanju izoliranja, epidemiologije i identifikacije vjerojatno je uzrok prekratko razdoblje poznavanja te bakterije.

Razvoj klasifikacije roda *Campylobacter*:

1909. - izoliranje iz materijala pobačaja ovce (naziv "*Vibrio*" zbog tipičog oblika)

1918. - slični su mikroorganizmi otkriveni kao uzročnici pobačaja krava (*Vibrio fetus*)

1931. - izoliranje iz crijeva bolesne teladi (*Vibrio jejuni*)

1938. - oboljenje 151 osobe uz žestoke simptome, vjerojatno inficiranih sirovim mlijekom

1944. - otkrivanje u crijevu svinje (*Vibrio coli*)

#### 2. Klasifikacija

Stručni izraz "*Campylobacter*" 1963. su predložili Seband i Veron. Aktualna je klasifikacija slijedeća:

Porodica: ništa (ranije *Spirillaceae*)

Rod: *Campylobacter*

Vrsta: *C. fetus*, *C. jejuni*, *C. coli*, *C. sputorum*, *C. concisus* uključivo i neke podvrste

*C. jejuni* jedina je vrsta relevantna za enteritis ljudi.

#### 3. Karakteristike

##### 3.1. Morfologija i uzgoj

Morfologija: Gram-negativni, svinuti, tanki, pokretni (s jednom ili dvije polarne flagele) štapići.

**Uvjeti uzgoja i rasta:** na čvrstim podlogama različite, ne-hemolitičke kolonije:

- plosnate, sivkaste kolonije, promjera do 10 mm, sklone spajanju

- gladak, sjajan (1-2 mm), rast bez spajanja

Optimalna temperatura rasta 42°C (*C. jejuni* i *C. coli*) u semiaerobnoj atmosferi (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>) koji se može postići smjesom plinova "pripremljenih za upotrebu". Trajanje inkubacije 48-72 sata.

### 3.2. Biokemija

*Campylobacter* spp. ne mogu koristiti ugljikohidrate. Zbog toga se diferenciranje i identificiranje provode upotrebom različitih aminokiselina i reagiranjem na temperaturu, soli, antibiotike i druge tvari (pogledati 4.3.)

### 3.3. Serologija

Antigena struktura *C. jejuni* očito je vrlo komplicirana i još nije posve jasna kako učiniti dostupnom jedinstvenu shemu tipiziranja za epidemiološka istraživanja. Zbog toga je predloženo nekoliko shema, koje temelje na antigenima ekstrahiranim na različite načine.

Najobičnije su sisteme predložili Penner i Lior.

Penner i Hennessy (1) su koristili prema toplini stabilne somatske antigene (ekstrahirane iz *C. jejuni* sojeva pri 100°C i EDTA) vezane na eritrocite ovce za titiranje seruma tehnikom pasivne hemaglutinacije. Odnosni serumi specifični za tip mogu se koristiti u aglutiniranju na stakalcu. Ovom se metodom može općenito razlikovati oko 60 serotipova. Lior et al. (2) koristio je antigene prema toplini labilne izolirane iz flagela. Aglutiniranjem na stakalcu može se razlikovati oko 90 serotipova.

Optimalni se rezultati mogu postići kombiniranjem obe sheme. Ipak, ovaj je posao o dostupnosti čitavog kompleta antiseruma ekstenzivan, pa je tako ograničen na specijalne laboratorije.

### 3.4. Otpornost i osjetljivost prema antibioticima

Ponašanje *C. jejuni* u različitim uvjetima okoline uglavnom se ne može utvrditi. Općenito preživljavanje i aktivnost rasta bakterija ne ovisi samo o jednom faktoru već zapravo o uzajamnom utjecaju temperature, pH, atmosfere, vrste podloge i drugog. Zbog toga se navode specijalni faktori. U odnosu na glavnu temu ove monografije raspravlja se većinom o rezultatima za mlijeko i mliječne proizvode.

Temperatura:

- Optimalna temperatura 42°C i obično pri 45°C, toplinsko inaktiviranje pri 48°C (3)

- D-vrijednosti u mlijeku pri 48°C 7,2 do 12, 8 minuta, pri 55°C 0,74 do 1,0 minuta (4)

- Inaktiviranje od 106/ml u sirovom mlijeku 80 sekundi/60°C (5)

- Ne preživljavanje pri minimalnim temperaturama pasterezacije

- Rast *C. jejuni* između 30 i 45°C

- Preživljavanje je oko pet puta više u hlađenim nego u zamrznutim tkivima (6)

Aktivnost Na-klorida i vode:

- *C-jejuni* je općenito neosjetljiv prema Na-kloridu

- Neki sojevi rastu pri 1,5%, ali ne pri 2,0% (7)

- Čini se da je optimalna koncentracija za ozdravljenje 0,5% NaCl

- Pri temperaturama zamrzavanja *C. jejuni* može preživjeti tjednima sa 6,5% NaCl (3)

Sušenje i skladištenje:

- *C-jejuni* je prilično osjetljiv na sušenje pri sobnoj temperaturi. 107/ml ne može se nadoknaditi poslije 24 sata u sredini bez vode

ph vrijednost (4):

- *C-jejuni* se usmrćuju pri pH 3,0-4,5, više pri povišenim temperaturama (42°C) nego pri oko 4°C

- Rast je optimalan između pH 6,5-7,5

- Rast je minimalan pri pH 4,9

Atmosfera:

- Očito je optimalna hranjiva mikroaerobna atmosfera (5% kisika, 10% ugljičnog dioksida, 85% dušika), zapravo neovisna o vrsti uzorka

- Preživljavanje je najbolje pri 100% N<sub>2</sub>, najgore pri 100% O<sub>2</sub> (3)

- Umatanja pri različitim uvjetima atmosfere pokazuje samo male razlike u odnosu na osjetljivost

Sredstva za dezinfekciju:

- U odnosu na uobičajena sredstva za dezinfekciju *C. jejuni* ne pokazuje posebnu otpornost prema bilo kojoj tvari.

Osjetljivost prema antibioticima:

- Obično su sojevi *C. jejuni* normalno osjetljivi prema gentamicinu, eritromicinu, aminoglukozidima, klindamicinu i tetraciklinima. Obično su otporni prema penicilinu, cefalosporinima i trimetoprimu.

## 4. IZOLIRANJE I IDENTIFICIRANJE

### 4.1. Obogaćivanje

Potrebni su posebni postupci obogaćivanja za izoliranje uzorka *C. jejuni* iz kontaminiranog materijala, na pr. hrane, vode, fecesa i drugog. Dostupni su mnogi učinkoviti postupci i sastojci, čija efikasnost ovisi o vrsti materijala koji valja istraživati. Za sada nema jedne optimalne metode za sve potrebe, kao na pr. za *Salmonellae*. Zato se u nastavku navode neke metode za koje se čini da bi mogle biti korisne za izoliranje *C. jejuni* iz hrane, posebno mlijeka i mliječnih proizvoda. Prije svega, otpornost *C. jejuni* prema antibioticima temelj je uspješnog izoliranja. Različite kombinacije osnovnih podloga, nadopuna i uvjeti inkubacije su premnogobrojni da bi se detaljno opisivali. Zato se prikazuju prijedlozi kao natuknice koje mogu biti korisne za specifične probleme.

Tekući supstrati tioglikolat, Na-selenit, jetreni supstrat za *Brucellae* mogu se koristiti kao osnovne podloge. Kao zamjenice preporučuju se FBP (željezni sulfat, Na-metabisulfit, Na-piruvate) lizirana konjska krv (7%) i različite kombinacije antibiotika kao vankomicin, trimetoprim, polimiksin B i ciklohemiksid.

Doyle i Roman (7) su razvili postupak obogaćivanja za utvrđivanje neznatne zastupljenosti *C. jejuni* u mlijeku. Postupak se sastoji od tekućeg hranjivog supstrata za *Brucellae*, lisirane konjske krvi (7%), Na-sukcinata (0,3%), cisteinhidroklorida (0,01%), vankomicina (15 mg/l), trimetropina (5mg/l), polimiksina B (20 000 U/l) i ciklohemiksida (50 mg/l). Inokulira se 10 - 25 ml uzorka u oko 100 ml obogaćenog tekućeg supstrata i inkubira 16 - 18 sati/42°C u mikroaerobnoj

atmosfera. Između 1 i 4 *C. jejuni* se može otkriti u sirovom mlijeku subkulturom, na pr. na Campy-BAR-agaru (48 sati pri 42°C).

Lo v e t t et al. (8) predlažu modifikacije u pripremanju uzoraka, koje uključuju centrifugiranje i inokuliranje sedimenta i dodatno filtriranje (0,65 $\mu$ m) tekućeg supstrata za rast i subkultur na selektivnim supstratima. K o i d i s i D o y l e (9) preporučuju dodavanje Na-bisulfit (0,01%) i Na-tioglikolata (0,15%) u tekući supstrat za obogaćivanje i inokulaciju u 100% N<sub>2</sub> za uzorke koje valja istraživati poslije skladištenja.

#### 4.2. Selekcija

Za subkultur iz tekućeg supstrata za obogaćivanje, odnosno direktno nasadivanje na ploče iz uzoraka, postoje različiti kruti supstrati i različiti postupci. Od tih će se formulacija navesti one koje su predložili B u t z l e r et al. (10), S k i r r o w (11) Campy BAP (12) i P r e s t o n supstrat bez krvi. Kao temelj obično se koristi Brucella-agar kome se dodaju antibiotici i slične tvari u različitim kombinacijama, kao što su vankomicin, polimiksin, trimetoprim, amfotericin B, cefalotini, bacitracin, kolistin sulfat, novobiocin i cikloheksimid. Supstrati i dodaci se mogu nabaviti na tržištu.

Postupak izoliranja, to jest, suspenzija uzorka i atmosfera inkubacije, trajanje inkubacije i temperatura uglavnom je identičan, ali ponekad varira ovisno o primijenjenom postupku.

#### 4.3. Identifikacija

Diferenciranje *Campylobacter* vrsta te *C. jejuni* temelje na karakteristikama prikazanim u Tablici 1.

### 5. Mehanizam kontaminiranja

#### 5.1. Zaraženo vime

H u d s o n et al. (14) su prvi opisali prirodno zaražene mliječne žlijezde krave. Nisu se mogli otkriti simptomi mastitisa, ali je konzumiranje sirovog mlijeka tih krava uzrokovalo enteritis nekih osoba. H u t c h i n s o n et al. (15) također su iz zbirnih uzoraka dvije krave izolirali *C. jejuni* i to bez ikakvih simptoma na filterima za mlijeko te iz teladi hranjene tim mlijekom. M o r g a n et al. (16) opisali su mastitis izazvan pomoću *C. jejuni*. Do 10<sup>4</sup> kolonija po jedinici/ml može se izolirati iz zaražene četvrti. Isti mikroorganizmi (serotip PEN 2) može se naći na filterima za mlijeko i u zbirnom mlijeku. 18 je osoba oboljelo od enteritisa poslije konzumiranja kontaminiranog mlijeka.

U pokusu zaražene četvrti s vrlo malo bakterija (2,6 jedinica koje stvaraju kolonije) uzrokovale su različite stupnjeve upale i razmnožavanja. Do 8,4x10<sup>5</sup> jsk/ml moglo se izolirati iz odgovarajućih uzoraka (17,18). U drugom se pokusu moglo dokazati da je *C. jejuni* u 20 inficiranih četvrti mogao rasti, uzrokovati infekcije i zadržavati se u četvrti do najmanje 127 dana (19).

Šest od sedam sojeva *C. jejuni* različitog porijekla u 22 krave uzrokovalo je mastitis različitog stupnja do akutnih žestokih infekcija. Mikroorganizmi su se

razmnažali u žlijezdama i mogli su se izolirati za 3 do 73 dana uz različite razine (18).

## 5.2. Kontaminacija poslije lučenja

Odnos između vrlo rijetkih nalaza prirodno inficiranih vimena i infekcija ljudi izazvanih sirovim mlijekom ukazuje na kontaminacije poslije lučenja.

Zbog toga je istražen niz uzoraka sirovog mlijeka kako bi se odredilo učinak kontaminiranog mlijeka. Ukratko, pozitivni su rezultati bili vrlo rijetki. Od između 100 i 1500 uzoraka iz četvrti i skupnog sirovog mlijeka pozitivnih je bilo ništa ili najviše 1,5% (19). Razlozi za ove rezultate i kontradiktornost niza izvještaja o infekcijama ljudi može biti: (1) premalo je mikroorganizama određeno uobičajenim postupcima i (2) čudno ponašanje *C. jejuni*, koji se u mlijeku brzo inaktivira, ovisno o temperaturi skladištenja (19).

Tablica 1. Karakteristike za identificiranje *Campylobacter* i diferenciranje *Campylobacter* vrsta

	<i>C. fetus</i> <sup>a</sup>	<i>C. jejuni</i>	<i>C.coli</i>	<i>C.sputorum</i> <sup>b</sup>	<i>C. concisus</i>
Mobilnost	+	+	+	+	+
O/F	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Oksidaza	+	+	+	+	+
NO <sub>3</sub> red.	+	+	+	+	+
MR	-	-	-	-	-
VPR	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-
Lipaza	-	-	-	-	-
Gelatinaza	-	-	-	-	-
Ureaza	-	-	-	-	-
Katalaza	+	+	+	-	-
NO <sub>2</sub> red.	-	-	-	+	+
H <sub>2</sub> S prod. <sup>c</sup>	-	-	-	+	+
H <sub>2</sub> S prod. <sup>d</sup>	V	+	+	+	+
Hipurat hidr.	-	+	-	-	?
Rast u/uz					
Glicin 1%	V	+	+	V	-
NaCl 3,5%	-	-	-	V	-
25°C	+	-	-	(-)	-
42°C	-	+	+	V	-
Tolerira					
Nalidiksičnu					
kiselinu	+	-	-	V	+
Cefalotin	-	+	+	-	?

a, b uključujući podvrste C TS/SIM d Pb-acetat strip (trak)

Činjenica da se *C. jejuni* većinom nalazi u crijevima ljudi i životinja nameće pitanje da li i u kojoj mjeri je moguća kontaminacija mlijeka izmetinama poslije lučenja.

*C. jejuni* se nije mogao naći u nijednom od 1501 uzorka mlijeka krava s mastitisom u UK. Ipak, u 74 uzorka fecesa goveda *C. jejuni* je izoliran iz 13% uzoraka ljeti i 51% zimi. To je druga indikacija da feces može inficirati mlijeko (20).

Rezultati odnosnih istraživanja ukazuje na širok raspon od 0 do 42% iz 31 do 638 uzoraka u različitim zemljama (19). Zbog toga se čini da je kontaminacija sirovog mlijeka fecesom očita. Ipak postoje i rijetki kontradiktorini nalazi u uzorcima sirovog mlijeka.

U Nizozemskoj je *C. jejuni* nađen u 2 uzorka zbirnog mlijeka među 200, te niti u jednoj od 600 kanti za mlijeko pa čak niti od 750 krava s mastitisom (21).

*C. Jejuni* se u Nizozemskoj mogao izolirati iz 22% od 904 uzorka fecesa i 4,5% uzoraka kravljeg zbirnog mlijeka (22).

## 6. PATOGENOST ZA ČOVJEKA

### 6.1. Mehanizmi patogenosti

U skladu sa svrhom ove monografije valja sažeti niz istraživanja provedenih s tog aspekta u nekoliko izvještaja, koje valja i pojednostaviti.

Minimalna doza infekcije oko 500 za život sposobnih mikroorganizama *C. jejuni* (23-25).

Za trajanja infekcije proizvodi se mnogo serum antitijela IgG i IgM, ukazujući da do kontakta mikroorganizama i imuno sistema sokova dolazi izvan probavnog trakta.

Zaštitno se antitijelo može naći u bolesnim kao i u zdravim ljudima izloženim mogućnosti oboljenja. Ipak, raspored je IgA, IgG i IgM različit ovisno o tijeku infekcije (26, 27).

Enterotoksični, odnosno invazivni mehanizmi mogu se prikazati usporedivo s intoksoinfekcijama *E. coli* i *V. cholerae*, odnosno sa *Shigellama* i *Salmonellama* (28-31).

*C. jejuni* može se znatno razvijati u crijevima te naseliti ili prodrijeti u sloj sluznice.

Mogu se dokazati mehanizmi kemijskog i flagelnog prianjanja (32-34).

Razmnažanje i proizvodnja toksina bitno ovise o dostupnosti željeza kao i u drugim patogenim mikroorganizmima (35).

Endotoksin može poslužiti i kao dodatni faktor virulentnosti.

## 7. Epidemiologija

Razlogom vrlo kompliciranih epidemioloških odnosa je globalno prevladavanje *C. jejuni* u ljudi te pojavljivanje u domaćim, divljim i laboratorijskim životinjama i

pticama. Kampilobakterioza se općenito može promatrati kao zoonozna, odnosno, do infekcije čovjeka može doći direktno dodirima sa životinjama ili kontaminiranom hranom. U vezi s navedenim valja napomenuti da se u seoskim predjelima bolest pojavljuje gotovo dvostruko češće nego u urbanim predjelima. Direktna infekcija između ljudi nisu uobičajene. Ipak, bezuvjetni dokaz infekcije komplicira niz bio- i serotipova različitog patogenog značaja. Na tom temelji pretpostavka da je perad najpremoćniji izvor infekcije, dok je svinja znatno manje važna u tom pogledu.

Najočitija je ipak veza kampilobakterioze ljudi i konzumiranja sirovog mlijeka i mliječnih proizvoda. Poseban je problem inaktiviranje *C. jejuni* u uzorcima mlijeka poslije par dana je 10 na nekoliko potencija. Zbog toga se izvor infekcije često može shvatiti samo kao "dokaz na temelju indicija".

Najvažnija masovna oboljenja izazvana mlijekom i mliječnim proizvodima i njihove epidemiološke sheme mogu se zacrtati kako slijedi.

Usprkos visokom obimu kontaminiranja zaklanih životinja naročito peradi (do 100%) i mogućnosti infekcije ljudi kontaminiranim mesom, prienos *C. jejuni* konzumiranjem sirovog mlijeka je očito najvažniji put u epidemiologiji ljudi campylobacteriozom.

U tablici 2. navodi se nekoliko slučajeva.

Osobitost infekcija izazvanih mlijekom je velik broj osoba koje bolest zahvaća, a ovisno o metodi distribucije mlijeka mnogim pojedincima. Napadna je činjenica da se većina epidemija dogodila u zemljama u kojima pasterezacija mlijeka nije ili nije bila zakonom propisana.

Neke su epidemije opisane detaljnije.

Najveća je epidemija opisana u Vel. Britaniji gdje je 2500 školske djece oboljelo poslije konzumiranja sirovog mlijeka (36). Dva soja *C. jejuni* izolirana su iz djece, ali niti jedan iz mlijeka. Također u Vel. Britaniji u dvije epidemije mlijeko nije moglo biti pasterezirano zbog tehničkih razloga. Rezultati te dvije epidemije bili su 100 i 648 oboljelih pojedinaca. Referira se o vrlo jakoj epidemiji 1983. u Švicarskoj. Poslije jednog orijentacijskog natjecanja 659 učenika dobilo je za "osvježenje" čokoladni mliječni napitak, ilegalno pripremljen od sirovog mlijeka: oboljelo je 510 osoba. Mlijeko je pomuzeno na farmi s 44 krave, od kojih je 7 lučilo *C. jejuni* istog serotipa. *C. jejuni* se nije mogao otkriti u preostalim napicima (37).

Dvofaznu je pojavu bolesti izazvalo nezagrijano mlijeko inficirano mlijekom dvije krava oboljele od mastitisa. Odgovorni sojevi su bili izolirani iz bolesnika, mlijeka i faecesa krava, filtera za mlijeko, zbirnog i raspodijeljenog mlijeka. ELISA postupkom (15) se moglo utvrditi visoke titre antitijela u sirutci kravljeg mlijeka.

*C. jejuni* je izoliran iz 60 od 116 ljudi s gastroenteritisom između više od 250 uključenih. Očito razlog je bio konzumiranje sirovog mlijeka. Povišeni titri antitijela mogli su se otkriti, a *C. jejuni* je izoliran iz 66% ljudi što su pili sirovo mlijeko te iz rektalnih briseva "odgovornih" krava (38).



Tablica 2. Izvještaji o slučajevima kampilobakterioze ljudi izazvane konzumiranjem mlijeka

Zemlja	Broj slučajeva	Izoliranje faeces	(Goveda) mlijeko ili filter za mlijeko	Izvor
GB	ab. 100	-	-	(45)
GB	63	+	-	(51)
GB	14	n.r.	+	(51)
GB	648	-	+	(52)
GB	ab. 2500	n.r.	-	(36)
GB	13	n.r.	-	(45)
GB	4	n.r.	+	(45)
GB	14	n.r.	n.r.	(45)
GB	ab. 30	n.r.	-	(45)
GB	2	n.r.	-	(45)
GB	68	+	-	(39)
GB	ab. 75	+	+	(15)
GB	18	+	+	(16)
USA	3	n.r.	-	(53)
USA	3	+	-	(12)
USA	52	n.r.	n.r.	(54)
USA	ab. 60	+	-	(55)
USA	ab. 200	+	-	(56)
USA	50	+	-	(46)
USA	ab. 250	+	-	(38)
USA	25	-	-	(47)
USA	15	+	-	(42)
USA	15	n.r.	n.r.	(57)
USA	57	n.r.	n.r.	(58)
USA	8	+	+	(14)
CDN	64	-	+	(59)
CH	ab. 500	+	-	(37)
NZ	88	n.r.	-	(60)

n.r. = Not reported

Više od 50 stanovnika jednog sela u Derbyshire (UK) te mjesec dana kasnije još 22 osobe oboljelo je od akutnog gastroenteritisa. *C. jejuni* je izoliran samo iz 12 osoba kao mikroorganizam uzročnik. Izvor je bila jedna farma koja je predavala sirovo mlijeko. Poslije uvođenja pasteurizacije nisu identificirani i drugi slučajevi (39).

U Engleskoj i Wales-u je 1982. bilo 18 epidemija, a izvještaji su uključili više od 1012 slučajeva: 18 izazvanih sirovim mlijekom, a samo jedan pasteuriziranim mlijekom, 15 su izazvale *Salmonellae*, 4 *C. jejuni*. Zaključak je bila preporuka uvođenja pasteuriziranja mlijeka (40).



Za trajanja posjete 28 djece i 8 odraslih mljekari, koja je opremala sirovo mlijeko, kušali su različite proizvode, među ostalim i sirovo mlijeko s potvrdom o ispravnosti, pa je 9 djece i 3 odrasla oboljelo od groznice i gastroenteritisa. *C. jejuni* je izoliran iz 9 osoba (41).

15 slučajeva gastroenteritisa i jedna epidemija mogla se pripisati konzumiranju sirovog mlijeka jedne mljekare. Izoliranje *C. jejuni* iz dva pacijenta ukazalo je na isti serotip kao u zaraženoj kravi, koja je jedina bila "odgovorna" za oboljenje (42).

Za pojave gastroenteritisa u Škotskoj, *C. jejuni* je izoliran iz 148 oboljelih osoba, ali također i iz 57 osoba bez simptoma. Svi su oni konzumirali sirovo kravlje mlijeko, ali je *C. jejuni* izoliran samo iz jednog od 16 filtara, a niti jedan iz uzoraka zbirnog mlijeka. Očito je da je kontaminacija izazvana slučajno faecesom (43).

Tijekom jednogodišnje studije u SAD izoliran je *C. jejuni* u 5,5% ispitanika sa simptomima enteritisa. Od svih mogućih izvora (meso, povrće, voda i dr.) te ovisno o higijenskim uvjetima bolest je većinom izazvalo konzumiranje sirovog mlijeka (44).

*C. jejuni* se može naći u jednoj četvrti krave sa subkliničkim simptomima tijekom najmanje 12 tjedana. Identificiran je isti soj iz 18 osoba koje su pile zbirno mlijeko i razvile simptome gastroenteritisa (16). Trinaest epidemija *Campylobacteriose* u različitim predjelima Vel. Britanije sve su bile izazvane sirovim ili nedovoljno pasteriziranim mlijekom. Podrobni izvještaji sažimlju epidemiološke razloge i puteve epidemioloških zahvata 13 do 3500 osoba početkom 1980-tih. Dok je za mlijeko dokazano da je uzrokovalo sve slučajeve, kontaminacija samog mlijeka uz pretpostavku da je mlijeko inficirala sama krava, nije uvijek bila jasna. Usprkos činjenici da su mnoge uporne infekcije krava bile bez simptoma u dva stada tijekom jedne godine, nije se moglo utvrditi kontaminaciju takvim mlijekom (45).

U Vermontu, SAD, u tri od devet domaćinstava koja su redovito kupovala sirovo mlijeko na samo jednoj farmi, najmanje jedna osoba, a također i 4 do 10 ljudi koji su pili to mlijeko u kavi obolilo je djelovanjem *C. jejuni*. Taj je mikroorganizam izoliran iz zbirnog mlijeka jedne od 6 krava koje nisu pokazivale nikakve simptome mastitisa. Također faeces te krave i 19 teladi hranjene tim mlijekom sadržali su *C. jejuni* PEN 2, LIO 4 (14).

Gastrointestinalne simptome izazvao je *C. jejuni* iz sirovog mlijeka koje je pilo 50 pojedinaca iz 30 domaćinstava. Mikroorganizam se nalazio u faecesu upletenih krava i u mljekari, ali ipak ne i u samom mlijeku. Sve mogućnosti i postupci u mljekari odgovarali su propisima objekta za proizvodnju mlijeka kvalitete A (46).

Četrdeset dvoje od 49 djece i 3 od 21 odrasle osobe oboljeli su od akutnog enteritisa izazvanog s *C. jejuni* poslije posjete jednoj mliječnoj farmi. Do infekcije je očito došlo prilikom konzumiranja sirovog mlijeka, a možda i ručnom mužnjom krava. Postojao je određen odnos između oštine bolesti i količine konzumiranog mlijeka. Mikroorganizam je izoliran iz faecesa 4 oboljela djeteta i jednog zdravog koji se nije razboljelo. *C. jejuni* se nije našao na opremi za mlijeko (47).

Također tijekom posjete mliječnoj farmi razboljelo se od gastroenteritisa uzrokovanog s *C. jejuni* 19 od 31 studenta koji su pili sirovo mlijeko. Od 25 ljudi koji su prvi puta u životu pili sirovo mlijeko oboljelo je 22, ali 10 osoba naviklih na sirovo mlijeko nije pokazalo nikakvih simptoma, osim visokih titara antitijela, koja su očito spriječila infekciju (48).

Zahvaljujući kvaru uređaja za pasterezaciju u mljekari u Vermont-u, SAD, 35% osoba, koje su odgovarale na upitnik, oboljelo je od gastroenteritisa. Umjesto zagrijavanja mlijeka 30 minuta pri 63°C, ono je bilo grijano samo 5 minuta pri 57°C. Isti serotip soja *C. jejuni*, uzročnika oboljenja nađen je u oboljelim osobama i u stadu (49).

Za infekcije ljudi nije odgovorno samo kravlje mlijeko. Hutchinson et al. (15) izvještavaju da je troje djece oboljelo od Campylobacterioze pijuci sirovo kozje mlijeko. Soj je izoliran iz faecesa životinja i s filtera za mlijeko. Tijekom 6 tjedana šest slučajeva enteritisa izazvanog s *C. jejuni* u SAD bilo je posljedica konzumiranja sirovog kozjeg mlijeka. Sero tip *C. jejuni* uzročnika oboljenja izoliran je iz faecesa 3 koze i 5 pacijenata (50).

## 8. Simptomi

Pojavljivanje enteritisa koji širom svijeta izaziva *C. jejuni* odgovara onome koji izazvaju *Shigellae* i *Salmonellae*. Glavni simptomi su slični i nizaju se smanjenjem obima frekvencije: diareja (98%), bol želuca (87%), umor (81), groznica (78), indispozicija (70%), glavobolja (70%). Do povraćanja dolazi rijetko. Proljev traje u prosjeku oko 10 dana, groznica oko 3 dana. Značajno je da od bolesti u poređenju s ostalim slučajevima enteritisa češće oboljevaju mladi (13-15%) nego stariji (3,5%).

Kao što je već napomenuto oštri su enteritisi ljudi izazvani s *C. jejuni* poznati oko 10 godina. Specifične infekcije domaćih životinja često se označavaju kao enzootičke bolesti, na primjer goveda (enteritis), ovce (pobačaj), češće svinja i koza (pobačaj), pasa i mačaka (enteritis) i peradi (kronične infekcije).

## 9. Terapija

Infekcije ljudi sprečavaju se običnim metodama eliminiranja patogenih mikroorganizama iz hrane. Ipak, zbog velike raširenosti *C. jejuni* u svim vrstama domaćih životinja te u okolišu, potrebne su intenzivnije mjere da se mikroorganizmi drže daleko od domaćih životinja.

Umjereni enteritisi ljudi izazvani s *C. jejuni* ne trebaju terapiju antibioticima. U teškim slučajevima preporuča se uzimanje eritromicin smjesa ili gentamicin. Pomoći mogu aminoglikozidi, klindamicin i tetraciklini. Većina sojeva je ipak otporna prema penicilinu, cefalosporinima i trimetoprimu.

## Literatura

- 1 PENNER, J.L. & HENNESSY, J.N. Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* on the basis of soluble heat-stable antigens. *Microbiol.* 12: 732-737 (1980).
- 2 LIOR, H., WOODWARD, D.L., EDGAR, J. A., LAROCHE, L.J. & Gill, P. Serotyping *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. *Clin. Microbiol.* 15: 761-768 (1982).
- 3 STERN, N.J. & KAZMI, S.U. *Campylobacter jejuni*. In: M. P. Doyle (Editor), *Foodborne Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker Inc., New York, Basel, pp. 71-110 (1989).
- 4 DOYLE, M.P. & ROMAN, D.J. Growth and survival of *Campylobacter fetus* subsp as a function of temperature and pH. *J. Food Prot.* 44 (8): 596-601 (1981).
- 5 GILL, K.P.W., & BATES, P.G. & LANDER, K.P. The effect of pasteurization on the survival of *Campylobacter* species in milk. *Br. Vet. J.* 137: 578-584 (1981).
- 6 STERN, N.J., GREEN, S.S., THAKER, N., KROUT, D.J. & Chiu, J. Recovery of *Campylobacter jejuni* from fresh and frozen meat and poultry collected at slaughter. *J. Food Prot.* 47 (5):372-374 (1984).
- 7 DOYLE, M.P. & ROMAN, D.J. Response of *Campylobacter jejuni* to sodium chloride. *Appl. Environ. Microbiol.* 43 (3): 561-565 (1982).
- 8 LOVETT, J., FRANCIS, D.W. & HUNT, J.M. Isolation of *Campylobacter jejuni* from raw milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 46: 459-462 (1983).
- 9 KOIDIS, P. & DOYLE, M.P. Procedure for increased recovery of *Campylobacter jejuni* from inoculated unpasteurized milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 47: 455-460 (1984).
- 10 DEKEYSER, P., GOSSUIN-DETRAIN, M., BUTZLER, J.-P. & Sternon J. Acute enteritis due to related vibrio: first positive stool cultures. *J. Infect. Dis.* 125: 390-392 (1972).
- 11 SKIRROW, M.B. *Campylobacter enteritis*: a "new" disease. *Br. Med. J.* 2: 9-11 (1977).
- 12 BLASER, M.J., BERKOWITH, I.D., LaForce, F.M., CRAVENS, J., RELLER, L.B. & Wrang *Campylobacter enteritis*: clinical and epidemiologic features. *Ann. Int. Med.* 91(2) 179-185 (1979).
- 13 BOLTON, F.J. & Coates, D. Development of a blood-free *Campylobacter* medium screening tests on basal media and supplements, and the ability of selected supplements of facilitate aerotolerance. *J. Appl. Bacteriol.* 54: 115-125 (1983).
- 14 HUDSON, P.J. VOGT, R.L., Brondum, J. & Patton, C.M. Isolation of *Campylobacter jejuni* from milk during an outbreak of *Campylobacteriosis*. *J. Infect. Dis.* 150 (5): 789 (1984).
- 15 HUTCHINSON, D.N., BOLTON, F.J., HINCHLIFFE, P.M., DAWKINS, H.C., HORSLEY, S.D., Jessop, E.G., Robertshaw, P.A. & Counter, D.E. Evidence of udder excretion of *Campylobacter jejuni* as the cause of milk-borne *Campylobacter* outbreak. *J. Hyg.* 94 (2): 205-215 (1985).
- 16 MORGAN, G., CHADWICK, P. & GILL, K.P.W. *Campylobacter jejuni* mastitis in a cow: a zoonosis-related incident. (Correspondence.) *Vet. Rec.* 116 (4): 111 (1985).
- 17 LANDER, K.P. & GILL, K.P.W. Experimental infection of the bovine udder with *Campylobacter coli/jejuni*. *J. Hyg. Camb.* 84: 421-428 (1980).
- 18 LANDER, K.P. & Baskerville, A. *Campylobacter jejuni* mastitis in cows: bacteriology and pathology. In: A.D. Pearson et al (Editor), *Campylobacter II*. Proceedings of the Second International Workshop on *Campylobacter Infections*, Brussels, 6-9 September 1983. Public Health Laboratory Service, London, pp. 129-130 (1983).

- 19 NEUMANN, H.-J. Untersuchungen zur milchhygienischen Bedeutung von *Campylobacter jejuni*. Vet. Med. Thesis, Hannover (1986).
- 20 WATERMAN, S.C., PARK, R.W.A. & BRAMLEY, A.J. A search for the source of *Campylobacter jejuni* in milk. J. Hyg. Camb. 92: 333-337 (1984).
- 21 DE BOER, E., HARTOG, B.J. & BORST, G.H.A. Milk as a source of *Campylobacter jejuni*. Neth. Milk Dairy J. 38 (3): 183-194 (1984).
- 22 BEUMER, R.R., CRUYSEN, J.J.M. & Birtantie, I.R.K. The occurrence of *Campylobacter jejuni* in raw cow's milk. J. Appl. Bacteriol. 65 (2): 93-96 (1988).
- 23 PALMER, S.R., GULLY, P.R., WHITE, J.M., PEARSON, A.D., SUCKLING, W.G., JONES, D.M., RAWES, C.L. & PENNER, J.L. Waterborne outbreak of *Campylobacter gastroenteritis*. Lancet 1:287-290 (1983).
- 24 ROBINSON, D.A. Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. Br. Med. J. 282: 1584 (1981).
- 25 STEELE, T.W. & Mc DERMOTT, S. *Campylobacter enteritis* in South Australia. Med. J. Aust. 2 (9): 404-406 (1978).
- 26 BLASER, M.J. & DUNCAN, D.J. Human serum antibody response to *Campylobacter jejuni* infection as measured in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. Infect. Immun. 44: 292-298 (1984).
- 27 BLASER, M.J., DUNCAN, D.J., OSTERHOLM, M.T., Istre, G.R. & Vrang, W.L. Serologic study of two clusters of infection due to *Campylobacter jejuni*. J. Infect. Dis. 147 (5): 820-823 (1983).
- 28 JOHNSON, W.M. & LIOR, H. Toxins produced by *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. Lancet 1:229-230 (1984).
- 29 Mc CARDELL, B.A., MADDEN, J.M. & LEE, E.C. Production of Cholera-like toxin by *Campylobacter jejuni* / *coli*. Lancet 1: 448-449 (1984).
- 30 Mc CARDELL, B.A., MADDEN, J.M. & LEE, E.C. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* production of a cytotoxic toxin immunologically similar to cholera toxin. J. Food Prot. 47: 943-949 (1984).
- 31 RUIZ-PALACIOS, G.M. LOPEZ-VIDAL, Y., LEPOZ-VIDAL, A.B., TORRES, J. & Rubio, S. In: A.D. PEARSON, M.B. SKIRROW, B. ROWE, J.R. DAVIES & D.M. JONES (Editors), *Campylobacter* II. Public Health Laboratory Service, London, pp. 115-116 (1983).
- 32 HUGDAHL, M.B. & DOYLE, M.P. In: A.D. PEARSON, M.B. SKIRROW, H. LIOR & B. Rowe (Editors), *Campylobacter* III. Public Health Laboratory Service, London, p. 143 (1985).
- 33 DIJS, F. & DEGRAAF, F.K. In: D.G. NEWELL (Editor), *Campylobacter: Epidemiology, Pathogenesis, and Biochemistry*. MTP Press, Lancaster, UK, p. 243 (1982).
- 34 MANNIENEN, K.I., PRESCOTT, J.F. & DOHOO, I.R. Pathogenicity of *Campylobacter jejuni* isolates from animals and humans. Infect. Immunol. 38: 46-52 (1982).
- 35 McCARDELL, B.A. MADDEN, J.M. & STANFIELD, J.T. Effect of iron concentration on production in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. Can. J. Microbiol. 32: 395-401 (1986).
- 36 JONES, P.H., WILLIS, A.T., ROBINSON, D.A., SKIRROW, M.B. & JOSEPHS, D.S. *Campylobacter enteritis* associated with the consumption of free school milk. J. Hyg. Camb. 87: 155-162 (1981).

- 37 STALDER, H., ISLER, R., STUTZ, W., SALFINGER, M., LAUWERS, S. & VISCHER, W., Epidemiologie von *Campylobacter jejuni*. *Schweiz. Med. Vschr.* 113-245 (1983).
- 38 KORNBAATT, A.N., BARRETT, T., MORRIS, G.K. & TOSH, F.E. Epidemiologic and laboratory investigation of an outbreak of *Campylobacter enteritis* associated with raw milk. *Am. J. Epidemiol.* 122 (5): 844-849 (1985).
- 39 WRIGHT, E.P., TILLET, H.E. HAGUE, J.T., CLEGG, F.G., DARNELL, R., Culst Sorrell, J. A. Milk-borne *Campylobacter enteritis* in a rural area. *J. Hyg.* 91 (1983).
- 40 Public Health Laboratory Service. Disease associated with milk and dairy products 1982. *Br. Med. J.* 288: 6415, 466-467 (1984).
- 41 Index Veterinarius. *Campylobacter* outbreak associated with certified raw milk products California. *J. Am. Med. Assoc.* 252 (17):2386 (1984).
- 42 VOGT, R.L., LITTLE, A.A., PATTON, C.M. BARRETT, T.J. & ORCIARI, L.A. Serotyping and serology studies of *Campylobacteriosis* associated with consumption of raw milk, *J. chim Microbiol.* 20 (5): 998-1000 (1984).
- 43 PORTER, I.A. & REID, T.M.S. A milk-borne outbreak of *Campylobacter* infection. *J. Hyg.* 84 (3):415-419 (1980).
- 44 SCHMID, G.P., SCHAEFER, R.E., PLIKAYTIS, B.D., SCHAEFER, J. R. BRYNER, J. H. WINTER-MEYER, L.A. & KAUFMANN, A. F. A one-year study of endemic *campylobacteriosis* in a Midwestern city: association with consumption of raw milk. *J. Infect.* 218-222 (1987).
- 45 ROBINSON, D.A. & JONES, D.M. Milk-borne *Campylobacter* infection. *Br. Med. J.* 282: 1374-1376 (1981).
- 46 POTTER, M.E., BLASER, M.J., SIKES, R.K., KAUFMANN, A.F. & Wells, J. G. Human *Campylobacter* infections associated with certified raw milk. *Am. J. Epidemiol.* 117 (4): 475-483 (1983).
- 47 KORLATH, J.A., OSTERHOLM, M.T., JUDY, L.A., FORFANG, J.C. & ROBINSON, R. A point source outbreak of *Campylobacteriosis* associated with the consumption of raw milk *J. Infect. Dis.* 152 (3): 592-596 (1985).
- 48 BLASER, M.J., SAZIE, E. & WILLIAMS, L.P., Jr. The influence of immunity on raw milk associated *Campylobacter* infection. *J. Med. Assoc.* 257 (1): 43-46 (1987).
- 49 BIRKHEAD, G., VOGT, R.L., HEUN, E., EVELTI, C.M. & PATTON, C.M. A multi-strain outbreak of *Campylobacter enteritis* due to consumption of inadequately pasteurised milk *Infect. Dis.* 157 (6): 1095-1097 (1988).
- 50 HARRIS, N.V., KIMBALL, T.J., BENNETT, P., JOHNSON, V., WAKLEY, D. & RINOLAN *Campylobacter jejuni* enteritis associated with raw goat's milk. *Am. J. Ep* (2): 179-186 (1987).
- 51 ROBINSON, D.A., EDGAR, W.J., GIBSON, G.L., MATCHETT, A.A. *Campylobacter enteritis* associated with consumption of unpasteurized milk *Br. Med. J.* 1: 1171:1173 (1979).
- 52 WALLACE, J.M. Milk-associated *Campylobacter* infection. *Health Bull. (Edinburgh)* 38: 57-61 (1980).
- 53 TAYLOR, PL.R., WEINSTEIN, W.M. & BRYNER, J.H. *Campylobacter fetus* infection in human subjects: Association with raw milk. *Am. J. Med.* 66: 779-783 (1979).
- 54 TERHUNE, C., SAZI, E., KALISHMAN, N., BOBST, J., BONNLANDER, B., GOOGINS, J.A. & WILLIAMS, P. Raw-milk-associated illness - Oregon, California. *Morbidity Mortality Weekly Rep.* 30: 90-91 (1981).

- 55 TOSH, F.E., MULLEN, G.A. & WILCOX, D.E. Outbreak of *Campylobacter* enteritis associated with raw milk - Kansas. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 30: 218-220 (1981).
- 56 TAYLOR, D.N., PORTER, B.W., WILLIAMS, C.A., MILLER, H.G., BOPP, A.C. & BLAKE, P.A. *Campylobacter* enteritis: a large outbreak traced to commercial raw milk. *West. J. Med.* 137:365-369 (1982).
- 57 KLEIN, B.S., VERGERONT, J.M., BLASER, M.J., EDMONDS, P., BRENNER, D.J., JANSSEN, D. & DAVIS, J.P. An outbreak of gastroenteritis due to *Campylobacter jejuni* and thermotolerant *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*. *JAMA* 255:361-364 (1986).
- 58 BLESSING, D.J., THOMPSON, M., FISHER, B., SCHOOLEY, D., KRAMER, M.J., DeMELFI, T.M., McCARTHY, M.A., WITTE, E.J., HAYS, C.W. & Smucker, J. *Campylobacteriosis* associated with raw milk consumption - Pennsylvania. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 32: 337,328,344 (1983).
- 59 McNaughton, R.D., LEYLAND, R. & Mueller, L. Outbreak of *Campylobacter* enteritis due to consumption of raw milk. *CMA J.* 126: 657-658 (1982).
- 60 BRIESEMAN, M.A. Raw milk consumption as a probable cause of two outbreaks of *Campylobacter* infection. *N.Z. Med. J.* 97: 411-413 (1984).