

Učestalost onečišćenja mesa brojlera s bakterijama roda *Campylobacter*

Alagić, D.¹, A. Smajlović², M. Smajlović¹, Z. Maksimović³, E. Članjak¹, K. Čaklovica¹, S. Tanković⁴, E. Veljović⁵, I. Ljevaković-Musladin⁶, M. Rifatbegović³

Originalni znanstveni rad

SAŽETAK

Alimentarna kampilobakterioza najčešće je prijavljivana zoonoza u Europskoj uniji (EU), predstavlja jedan od vodećih javnozdravstvenih problema i uzrokuje ogromne finansijske gubitke (EFSA-ECDC, 2015.). Pileće meso jedan je od najvažnijih izvora uzročnika ove bolesti u globalnim okvirima. U radu je opisana kontaminacija brojlerskih jata i pilećeg mesa bakterijama roda *Campylobacter* u Bosni i Hercegovini (BiH). Cilj rada bio je istražiti učestalost kontaminacije pilećih trupova uzorkovanih na liniji klanja nakon faze evisceracije kampilobakterija. Pileći trupovi i jetra ($n=84$) uzorkovani su jednom mjesечно tijekom godine dana u jednoj od najsuvremenijih klaonica brojlera u BiH. S ciljem izolacije bakterija *Campylobacter spp.* iz svakog trupa u laboratoriju je uzet uzorak grudne muskulature, bris viseralne šupljine, kao i uzorak jetre ($n=252$). Onečišćenje kampilobakterijama utvrđeno je u 27,4 % (23/84) pilećih trupova, i to najčešće u pilećim prsim (19,0 %), nešto manje u viseralnoj šupljini (15,5 %), a najmanje u uzorcima pileće jetre (9,5 %). Ukupno, bakterije *Campylobacter spp.* izolirane su iz 37 uzoraka. Izrazita predominacija ustanovljena je za *Campylobacter jejuni* (91,9 %), dok je *Campylobacter coli* bila neznatno zastupljena (8,1 %). Rezultati ovog istraživanja podcrtavaju značaj pilećeg mesa kao potencijalnog izvora alimentarne kampilobakterioze i sugeriraju obveznu mikrobiološku kontrolu onečišćenja pilećeg mesa s bakterijama roda *Campylobacter* u BiH.

Ključne riječi: *Campylobacter spp.*, *C. jejuni*, *C. coli*, pileće meso, Bosna i Hercegovina

UVOD

Alimentarne infekcije i intoksikacije i dalje ostaju jedan od najvažnijih globalnih problema javnog zdravstva, kako u nerazvijenim tako i u razvijenijim zemljama. Brojevi zabilježenih epidemija alimentarnih oboljenja i oboljelih ljudi u stalnom su porastu. Tako je u EU u 2011. godini prijavljeno 320.000 slučajeva alimentarnih oboljenja uzrokovanih sa samo šest najučestalijih bakterijskih patogena (netifoidalne *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*,

Yersinia enterocolitica i *Brucella melitensis*), ali procjenjuje se da je stvaran broj slučajeva vjerojatno bio mnogo veći, a razlozi ovakve razmjere problema su brojni (EFSA-ECDC, 2013).

Mnogi uzročnici kontaminiraju hranu, potičući od ljudi i/ili životinja, ili iz okoline tijekom procesa proizvodnje, prerade, distribucije, skladištenja ili konzumacije hrane. Neadekvatnom manipulacijom sirovinama, poluprerađevinama i gotovim proizvodima te pod povoljnim uvjetima mikrosredine u namirnicama ili dige-

¹ dr.sc. Davor Alagić, docent, dr.sc. Muhamed Smajlović, izvanredni profesor, mr.sc. Enida Članjak, viši asistent, mr.sc. Kenan Čaklovica, viši asistent,

Univerzitet u Sarajevu, Veterinarski fakultet, Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica, Zmaja od Bosne 90, 71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

² mr.sc. Arnel Smajlović, Mesna industrija „Brovis“ d.d., Dobrinje bb, 71305 Visoko, Bosna i Hercegovina

³ dr.sc. Zinka Maksimović, docent, prof. dr. Maid Rifatbegović, izvanredni profesor, Univerzitet u Sarajevu, Veterinarski fakultet,

Katedra za mikrobiologiju sa imunologijom i zarazne bolesti sa epizootiologijom, Zmaja od Bosne 90, 71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

⁴ dr.sc. Sanin Tanković, Ured za veterinarstvo BiH, Maršala Tita 9a/l, 71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

⁵ dr.sc. Elma Veljović, docent, Univerzitet u Sarajevu, Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju, Zmaja od Bosne 8, 71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

⁶ Ivana Ljevaković-Musladin, mr.dipl.ing., Zavod za javno zdravstvo Dubrovačko-neretvanske županije, Dr. Ante Šercera 4A, 20000 Dubrovnik, R. Hrvatska

Autor za korespondenciju: davor.alagic@vfs.unsa.ba

stivnom traktu uzročnici se mogu umnožiti do kritičnog broja (obično $\geq 10^6$ /g ili mL), dovoljnog da izazove infekciju ili proizvede količinu toksina potrebnu za provokaciju kliničke manifestacije alimentarne intoksikacije. Tako, infektivna doza *C. jejuni* za čovjeka može biti manja od 500 stanica/g ili mL hrane (Robinson, 1981).

Prema izvješću Europske agencije za hranu (EFSA), humana alimentarna kampilobakterioza najprijavljivanija je zoonoza u EU, s 236,851 potvrđenih slučajeva u 2014. godini i desetpostotnim rastom broja slučajeva u odnosu na 2013. godinu (EFSA-ECDC, 2015). Ekonomski posljedice kampilobakter infekcija znatne su te je procijenjeno da ukupni godišnji EU gubitak uslijed kampilobakterioze iznosi oko 2,4 milijarde eura (EFSA-ECDC, 2013).

Kampilobakter vrste izolirane su iz različitih namirnica među kojima dominira meso peradi, a kontaminacija pilećeg mesa tim bakterijskim vrstama široko varira u cijelom svijetu. Tako Suzuki i Yamamoto (2009) opisuju širok raspon prevalencije *Campylobacter* spp. u pilećem mesu te ilustriraju sljedeće: učestalost nalaza *Campylobacter* spp. u Estoniji je iznosila 8,1 %, u Belgiji 17 %, u državama bivšeg Sovjetskog Saveza (Ukrajina, Bjelorusija i Moldavija) u prosjeku 19,1 %, u Švicarskoj 25,1 %, u Njemačkoj 45,6 %, u Francuskoj 58,8 %, u Italiji 80 %, na Novom Zelandu 89,1 %, u Oceaniji 90,4 % i u Australiji 100 %.

Procijenjena učestalost onečišćenja mesa peradi iz maloprodaje bakterijama roda *Campylobacter* u BiH u rasponu je od 34,7 % (Uzunović-Kamberović i sur., 2007) do 45,5 % (Uzunović i Smole Možina, 2013.). Također, opisana je i prevalencija nalaza bakterija *Campylobacter* spp. u uzorcima fecesa iz brojlerskih jata (62,0 %) i uzorcima kože i trupova brojlera na liniji klanja (58,1 %) u BiH (Hadžiabdić i sur., 2013). Poznato je da u klaoniciama peradi dolazi do onečišćenja mesa bakterijama *Campylobacter* spp. uslijed njegove križne kontaminacije tijekom različitih tehnoloških faza klanja i obrade, kao što je evisceracija trupova (Izat i sur., 1988; Mead i sur., 1995; Guerin i sur., 2010). S obzirom na dokazanu ulogu pilećeg mesa kao jednog od najvažnijih izvora uzročnika alimentarne kampilobakterioze te opisane kontaminacije kampilobakterijama brojlerskih jata i pilećeg mesa s linije klanja i tržišta u BiH, cilj ovog istraživanja bio je istražiti učestalost nalaza *Campylobacter* spp. i intenzitet kontaminacije pilećih trupova i jetre uzorkovanih nakon evisceracije, prije faze hlađenja, u modernoj klaonici pilića u BiH.

MATERIJAL I METODE RADA

Istraživanje je provedeno u jednoj od najvećih klaonica peradi u Bosni i Hercegovini. Proces proizvodnje u klaonici certificiran je prema odredbama standarada ISO 9001 i ISO 14001, kao i u skladu sa zahtjevima HACCP i Halal sistema za upravljanje sigurnošću i kvalitetom

hrane. Kompletan proces proizvodnje pod stalnim je veterinarskim nadzorom nadležne veterinarske inspekciјe.

Uzorci trupova brojlera uzimani su s linije klanja nakon faze evisceracije, prije faze hlađenja. Slučajno uzorkovanje obavljano je jednom mjesечно tijekom godine dana. Svakog mjeseca sedam slučajnih uzoraka trupova brojlera i njihove jetre skidani su aseptično s proizvodne linije. Da bi se u obzir uzela varijabilnost proizvodnog procesa, uzorci su uzorkovani u različite radne dane i sate. Trupovi i njihove jetre odvojeno su pakirani u sterilne plastične vrećice te istoga dana dostavljeni u laboratorij u prenosivim hladnjacima, pod kontroliranom temperaturom od 2 do 5 °C, na laboratorijske pretrage uz poštivanje hladnog lanca. Tijekom jednogodišnjeg perioda, ukupno su uzorkovana 84 trupa i 84 pripadajuće jetre. U laboratoriju je iz svakog trupa aseptično uzeti uzorak (25 g) grudnog mišića (*m. pectoralis*) i bris visceralne šupljine, koji su, kao i pripadajuća jetra, pripremljeni za izolaciju i identifikaciju bakterija *Campylobacter* spp. (n=252). Trup se smatrao pozitivnim ukoliko je u bilo kojem od uzoraka (*m. pectoralis*, bris visceralne šupljine ili jetra) utvrđena kontaminacija *Campylobacter* spp.

Za izolaciju i identifikaciju bakterija *Campylobacter* spp. slijedena je međunarodna standardna metoda ISO 10272:1995 (ISO, 1995). Inicijalne suspenzije uzorka obogaćene su u 45 mL selektivnog Preston bujona (4012862, 4240017, Biolife) s 5 % sterilne lizirane konjske krvi i inkubirani 18 sati na 42 °C u mikroaerofilnoj atmosferi (CampyGen CN0025, Oxoid). Po jedna eza bujona za obogaćivanje paralelno je inokulirana na Karmali agar (4012832, 4240035, Biolife) i Skirrow agar (M144, FD008, Himedia i 5 % lizirane ovčje krvi), koji su inkubirani 5 dana na 42 °C u mikroaerofilnoj atmosferi. Sa svake Petrijeve ploče identifikaciji je podvrgnuto do 5 presumptivnih kolonija. Izolirani sojevi *Campylobacter* spp. identificirani su na osnovu morfoloških karakterističkih kolonija i bakterijskih stanica, biokemijskih osobina i pokretljivosti te njihove rezistencije na nalidiksičnu kiselinu i cefalotin (ISO, 1995). Također, korišten je Bruce-Lla bujon (4012742, Biolife) u kojemu su izolati inkubirani na 25 °C i 42 °C u mikroaerofilnoj atmosferi do 5 dana, gdje su termotolerantne kampilobakter vrste pokazale rast na 42 °C, ali ne i na 25 °C. Za testiranje antimikrobične rezistencije izolata korišten je Mueller-Hinton agar II (4017402, Biolife) te diskovi cefalotina i nalidiksične kiseline (oba 30 µg, Liofilchem), uz inkubaciju od 24 sata na 37 °C u mikroaerofilnoj atmosferi.

REZULTATI I DISKUSIJA

Dobiveni rezultati potvrđuju kontaminaciju pilećeg mesa bakterijama *Campylobacter* spp. u fazi nakon evisceracije trupova. Ukupno su uzorkovana 84 pileća trupa s pripadajućom jetrom, od kojih je kod 23 (27,4 %) utvrđeno

Tablica 1. Distribucija *Campylobacter* spp. izolata po mjestu (uzorku) izolacije i identificiranim vrstama u kampilobakter-positivnim trupovima brojlera (n=23).

Trup	Broj <i>Campylobacter</i> spp. izolata	Broj izolata		Porijeklo izolata		
		<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>m. pectoralis</i>	bris ¹	jetra
1	1	1	-	+	-	-
2	1	1	-	+	-	-
3	2	2	-	+	+	-
4	1	1	-	-	+	-
5	2	2	-	+	-	+
6	1	-	1	-	<i>C.coli</i>	-
7	1	1	-	-	+	-
8	1	1	-	-	-	+
9	1	1	-	-	+	-
10	3	2	1	<i>C.coli</i>	+	+
11	2	2	-	+	+	-
12	3	3	-	+	+	+
13	3	2	1	+	<i>C.coli</i>	+
14	1	1	-	+	-	-
15	3	3	-	+	+	+
16	3	3	-	+	+	+
17	2	2	-	+	+	-
18	1	1	-	+	-	-
19	1	1	-	-	-	+
20	1	1	-	+	-	-
21	1	1	-	+	-	-
22	1	1	-	-	+	-
23	1	1	-	+	-	-
Total	37	34	3	16	13	8

¹: bris visceralne šupljine; +: *C.jejuni*

đena kontaminacija *Campylobacter* spp. (Tablica 1). Ranija istraživanja navode široke varijacije klaoničke kontaminacije pilećeg mesa bakterijama roda *Campylobacter* nakon evisceracije. Tako su Hartog i sur. (1983) utvrdili 27,5 % uzoraka kontaminiranog pilećeg mesa kampilobakterijama nakon evisceracije, što je gotovo identično našem nalazu (27,4 %). Dobiveni rezultati također su veoma slični rezultatima južnoafričke studije (Bartkowiak-Higgo i sur., 2006) koja je kontaminaciju tim bakterijama utvrdila nakon evisceracije kod 12 od 50 (24,0 %) pretraženih pilećih trupova. Nižu učestalost kontaminacije (6,3 %) prijavili su Karolyi i sur. (2003) nakon evisceracije pilećih trupova na proizvodnoj liniji s različitim sistemima hlađenja. S druge strane, utvrđene su i mnogo više vrijednosti i učestalost kontaminacije *Campylobacter* spp. nakon evisceracije, od 75,0 % (Adesiyun i sur., 1992) do čak apsolutne 100 % kontaminacije (Rosenquist i sur., 2006). Zanimljivo je da se rezultati dobiveni ovim istraživanjem razlikuju od rezultata Hadžiabdića i sur. (2013) koji su utvrdili 58,1 % pilećih trupova i kože onečišćenih bakterijama roda *Campylobacter* na liniji klanja u BiH. Međutim, za razliku od provedene studije, ovi autori analizirali su samo trupove brojlera iz jata pozitivnih na nalaz *Campylobacter* spp.

Kontaminacija jedino bakterijom *C.jejuni* potvrđena je kod 20 od 23 (87,0 %) kontaminirana trupa brojlera, dok je koegzistencija *C.jejuni* i *C.coli* utvrđena kod dva trupa (8,7 %). Samo je jedan trup (4,3 %) pokazao isključivu kontaminaciju *C.coli* (Tablica 1). Ukupno su bakterije *Campylobacter* spp. izolirane iz 37 uzoraka (Tablica 3), među kojima je opažena apsolutna dominacija *C.jejuni* (34/37; 91,9 %), dok je *C.coli* identificirana u svega 3 izolata (8,1 %) (Grafikon 1). Dobiven nalaz dominacije *C.jejuni* nad *C.coli* odgovara drugim studijama u kojima je ustanovljen sličan odnos ove dvije termotolerantne kampilobakter vrste u različitim uzorcima pilećeg mesa (FDA, 2010; Luu i sur., 2006; Williams i Oyarzabal, 2012; Kovačić i sur. 2013; Hadžiabdić i sur.; 2013).

U ranijem istraživanju kontaminacije brojlerskih jata i njihovih trupova *Campylobacter* spp. na liniji klanja u BiH (Hadžiabdić i sur., 2013) također je opisana jasna dominacija *C.jejuni* (79,55 %) nad *C.coli* (20,45 %) među 44 izolata *Campylobacter* spp. Ostali autori također opisuju ovu dominaciju *C.jejuni* nad *C.coli* u uzorcima pilećeg mesa uzetima u klaonicama. Nakon istraživanja zastupljenosti *Campylobacter* spp. u pilećem mesu iz klaonice i maloprodaje, Denis i sur. (2001) naveli su kako je od 49 uzoraka iz klaonice, 44,8 % pokazalo kontaminaciju kampilobakterijama, od kojih se 87,5 % odnosilo na *C.jejuni*, a 12,5 % na *C.coli*, što je u skladu s odnosom prevalencije ovih vrsta u našem istraživanju. Zanimljivo je da su Uzunović-Kamberović i sur. (2007) u svom istraživanju utvrdili veću prevalenciju *C.coli* (56,9 %) od *C.jejuni* (41,2 %) u različitim uzorcima pilećeg mesa iz maloprodaje u Zeničko-dobojskom kantonu (BiH). Ovakva razlika u rezultatima vjerojatno može nastati uslijed različitosti uzorkovanih populacija, Uzunović-Kamberović i sur. (2007) prikupili su 147 uzoraka svježeg i smrznutog pilećeg mesa (25 jetre i 122 kože nogu) iz 53 različita dućana Zeničko-dobojskog kantona, od čega je njih 14 poteklo od nacionalnih, 7 od stranih proizvođača.

Intenzitet i raširenost kontaminacije pilećih trupova i pripadajućih uzoraka jetre *Campylobacter* spp. prikazani su u Tablici 2. Najveći intenzitet kontaminacije, odnosno prisutnost bakterija *Campylobacter* spp. u sva tri uzorka (jetra, bris visceralne šupljine i *m. pectoralis*), utvrđena je kod 5 od 23 trupa pozitivna na nalaz kampilobakterija (21,7 %). Kontaminacija samo jednog od tri vrste uzoraka utvrđena je u 14 kampilobakter-positivnih trupova (60,9 %), među kojima je kontaminacija *m. pectoralis* utvrđena kod 7 od 14 trupova, pet je trupova pokazalo samo kontaminaciju visceralne šupljine, a dva su trupa pokazala kontaminaciju jetre. Kontaminacija dvije od tri vrste uzoraka utvrđena je u četiri preostala pozitivna trupa (17,4 %), gdje je *m. pectoralis* bio kontaminiran kod sva četiri trupa, a samo je u jednom trupu bila onečišćena jedino jetra. Ovi rezultati ukazuju na to

Tablica 2. Intenzitet i raširenost *Campylobacter* spp. kontaminacije u trupovima brojlera (n=84).

Intenzitet kontaminacije trupa	n	% pozitivnih	Broj kontaminiranih uzoraka		
			<i>m. pectoralis</i>	bris ¹	jetra
Jedan pozitivan uzorak	14	60,9	7	5	2
Dva pozitivna uzorka	4	17,4	4	3	1
Tri pozitivna uzorka	5	21,7	5	5	5
Ukupno	23	100,0 %	16	13	8

¹ – bris visceralne šupljine.**Tablica 3.** Distribucija *Campylobacter* spp. izolata po mjestu (uzorku) izolacije i identificiranim vrstama.

Uzorak	n	<i>Campylobacter</i> spp.		<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>	
		Broj pozitivnih	% pozitivnih	Broj pozitivnih	% pozitivnih	Broj pozitivnih	% pozitivnih
<i>M. pectoralis</i>	84	16	19,0	15	17,9	1	1,2
Jetra	84	8	9,5	8	9,5	-	-
Bris ¹	84	13	15,5	11	13,1	2	2,4
Ukupno	252	37	14,7	34	13,5	3	1,2

¹ – bris visceralne šupljine.

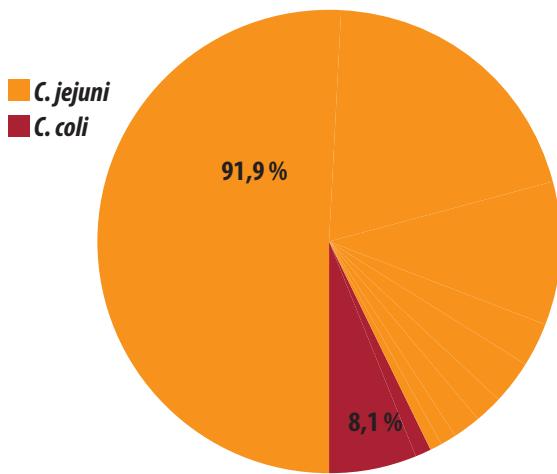
da je grudno mišićno tkivo bilo najčešće predilekciono mjesto kontaminacije pilećih trupova u našem istraživanju, dok je jetra bila najčešće kontaminirana bakterijama *Campylobacter* spp. U istraživanju provedenom u klaonici pilića u sjevernoj Njemačkoj, Stoyanchev (2004.), evidentirana je učestalost nalaza kampilobakterija u pilećim prsim (16,6 %) i jetri (53,3 %), što je suprotno našim nalazima raširenosti kontaminacije u trupovima. S druge strane, slično našim rezultatima, najučestalija vrsta bila je *C. jejuni* (65,2 %), dok je *C. coli* bila znatno manje zastupljena (30,4 %). Razlog te razlike u intenzitetu i raširenosti kontaminacije pilećih prsa i jetre između naše i njemačke studije može biti u tome što je Stoyanchev (2004) rezultate zasnivao na 30 trupova iz svega 3 brojlerskih jata, bez navođenja sezone uzorkovanja, odnosno ne uzimajući u obzir prethodno opisane sezonalne varijacije patogena u Njemačkoj (Atanassova i Ring, 1999). Odavno je poznato kako postoje značajne sezonalne razlike u prevalenciji kontaminacije pilećeg mesa *Campylobacter* spp. (Willis i Murray, 1997).

Jedan uzorak iz dubine pilećih prsa (*m. pectoralis*), bris visceralne šupljine te uzorak pripadajuće jetre od svakog pilećeg trupa bakteriološki je testiran u laboratoriju, što je ukupno činilo 252 uzorka (Tablica 3). Kontaminacija bakterijama *Campylobacter* spp. potvrđena je u 37 od 252 analiziranih uzoraka (14,7 %). *C. jejuni* identificirana je u 34 (13,5 %), a *C. coli* u tri uzorka (1,2 %).

Mikrobiološka analiza 84 uzorka pileće jetre pokazala je da je osam (9,5 %) uzorka bilo pozitivno na *Campylobacter* spp.. Iz svih osam uzorka izolirana je bakterija *C. jejuni*, odnosno niti jedan od pozitivnih uzoraka nije po-

kazao kontaminaciju s *C. coli*. S druge strane, kontaminacija visceralne šupljine utvrđena je kod 13 (15,5 %) trupova, gdje je *C. jejuni* identificirana u 11 (13,1 %), a *C. coli* u dva (2,4 %) trupa. Dobivene procjene niže su od rezultata Ivanovićeve (2001), koja je izračunala prevalenciju nalaza *C. jejuni* u 40,0 % uzoraka pileće jetre te 6,1 % *C. coli*, dok je prevalencija nalaza *C. jejuni* u visceralnoj šupljini procijenjena na 58,33 %. Međutim, to je istraživanje rađeno na trupovima pilića zaklanih u seoskom domaćinstvu bez ikakve kontrole, što je vjerojatno rezultiralo višim procjenama prevalencije. Pored toga, procjene prevalencije nalaza kontaminacije pileće jetre *Campylobacter* spp. mogu varirati u širokom rasponu, od 28,6 % (Denis i sur., 2001) do čak 92,9 % (Fernandez i Pison, 1996). Također, poznato je da učestalost nalaza bakterija *Campylobacter* spp. u brisovima pilećih trupova i visceralne šupljine može varirati u širokom rasponu. Tako kampilobakter vrste nisu detektirane niti u jednom od 75 brisova pilećih trupova (Granić i sur., 2009.), dok su Berndtson i sur. (1992.) konstatirali kontaminaciju *Campylobacter* spp. kod 93 % bri-sova visceralne šupljine.

U 16 od 84 uzorka *m. pectoralis* utvrđena je kontaminacija bakterijama *Campylobacter* spp. (19,0 %), gdje je 17,9 % uzoraka bilo kontaminirano s *C. jejuni*, dok je *C. coli* potvrđena u samo jednom uzorku (1,2 %). Ovi rezultati kontaminacije uzoraka s *C. jejuni* približni su rezultatima Kovačić i sur. (2013.), koji su utvrdili ovakvu kontaminaciju u 14,6 % od 547 uzoraka pilećeg mesa iz Dalmacije. S druge strane, Kazuaki i Katsuhiko (1999) utvrdili su učestalost kontaminacije *C. jejuni* u piletini proizvedenoj u Japanu kod 45,8 %, ali su isto tako procjenili da u uvezenoj piletini iznosi 3,7 %, što govori u prilog širokim varijacijama kontaminacije pilećih prsa s *Campylobacter* spp. Tako su Gritti i suradnici (2011) istraživali prevalenciju *Campylobacter* spp. u 24 uzorka pilećih prsa i bataka u Brazilu i nisu izolirali ove patogene niti iz jednog uzorka. S druge strane, slično istraživanje provedeno u Maleziji (Tang i sur., 2009) procijenilo je da je 95 % uzoraka pilećih prsa (n=22) kontaminirano s *Campylobacter* spp. Williams i Oyarzabal (2012) u svom su istraživanju utvrdili 41 % (n= 755) kontaminiranih uzoraka pilećeg mesa, pri čemu je *C. jejuni* nađena u 66 %, a *C. coli* u 28 % uzoraka. U vijetnamskom istraživanju (Luu i sur., 2006), *Campylobacter* spp. utvrđena je kod 31 od 100 ispitanih uzoraka svježih pilećih prsa, gdje je *C. jejuni* zastupljena u 45,2 %, a *C. coli* u 25,8 % uzoraka. U godišnjem izvješću o antimikrobnoj otpornosti bakterijskih patogena izoliranih iz mesa maloprodaje u SAD-u, u 11 saveznih američkih država, (California, Colorado, Connecticut, Georgia, Maryland, Minnesota, Novi Meksiko, New York, Oregon, Tennessee i Pennsylvania) u periodu od 2002. do 2010. godine, evidentirana je prevalencija *Campylobacter* spp. u uzorcima pilećih prsa od



Grafikon 1. Udeo identificiranih *C. jejuni* i *C. coli* među *Campylobacter* spp. izolatima (n=37).

preko 90 %, gdje je približni odnos prevalencije *C. jejuni* naspram *C. coli* bio 2:1 (FDA, 2010.). Razlike u učestalosti onečišćenja uzorka s *Campylobacter* spp analiziranih u našoj studiji i nalaza drugih autora mogu biti objašnjene činjenicom da su trupovi u našem istraživanju bili relativno brzo transportirani iz klaonice i analizirani u laboratoriju zbog čega nije bilo dovoljno vremena da patogeni s površine trupova penetriraju u druga dublja tkiva. Konačno, imajući u vidu opisane sisteme sigurnosti proizvodnje i kvalitetu proizvoda u uzorkovanoj klaonici, može se pretpostaviti i niža kontaminacija ukupnog proizvodnog procesa bakterijama roda *Campylobacter*, što svakako može biti predmet budućih istraživanja.

ZAKLJUČCI

Dobiveni rezultati potvrđuju kontaminaciju pilećeg mesa bakterijama *Campylobacter* spp. u klaoničkoj industriji u BiH, što je u skladu s nalazima drugih istraživanja klaoničkih i maloprodajnih uzorka u BiH. Utvrđena kontaminacija pilećih trupova nije bila visokog intenziteta jer su najučestaliji bili trupovi sa samo jednim kontaminiranim uzorkom, dok su rjeđe bili zastupljeni trupovi koji su pokazali dva ili tri lokaliteta kontaminacije. Najveća prevalencija kontaminacije bakterijama roda *Campylobacter* evidentirana je u pilećim prsim, nešto manja u visceralnoj šupljini, dok je najmanja prevalencija utvrđena u jetri. Apsolutnu dominaciju među *Campylobacter* spp. izolatima pokazala je *C. jejuni*, dok je *C. coli* bila neznatno zastupljena. U najvećem broju kampilobakter-pozitivnih trupova brojlera utvrđena je isključiva kontaminacija s *C. jejuni*, kontaminacija samo s *C. coli* opservirana je u jednom trupu, a kod dva se pileća trupa pokazala miješana kontaminacija s oba patogena. Rezultati našeg istraživanja svakako podcrtavaju neophodnost uključivanja bakterija *Campylobacter* spp. u planove kontrole mikrobiološke sigurnosti u peradarskoj proizvodnji u BiH te mogu inicirati slijedeća šira istraživanja problema kontaminacije hrane s tom bakterijskom vrstom.

LITERATURA

- Adesiyun, A. A., M. O. Ojo, L. Webb, C. Paul (1992):** Isolation of *Campylobacters*, *Salmonellae* and *Escherichia coli* from broilers in commercial poultry processing plants in Trinidad. In Proceedings, The 3rd World Congress on Foodborne Infections and Intoxications. Vol. 1. Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine, Berlin, Germany, 468–473.
- Atanassova V., C. Ring (1999):** Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry meat in Germany. Int. J. Food Microbiol. 51, 187–190.
- Bartkowiak-Higgo A. J., C. M. Veary, E. H. Venter, A. M. Bosman (2006):** A pilot study on post-evisceration contamination of broiler carcasses and ready-to-sell livers and intestines (mala) with *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in a high-throughput South African poultry abattoir. J. S. Afr. Vet. Assoc. 77:114–119.
- Berndtson, E., M. Tivemo., A. Engvall (1992):** Distribution and numbers of *Campylobacter* in newly slaughtered broiler chickens and hens. Int. J. Food Microbiol. 15, 45–50.
- Denis M., J.R-Petton., M.J. Laisney., G. Ermel, G. Salvat (2001):** *Campylobacter* contamination in French chicken production from farm to consumers. Use of a PCR assay for detection and identification of *C. jejuni* and *C. coli*. J. Appl. Microbiol. 91, 255–267.
- EFSA-ECDC (2013):** The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. EFSA Journal 11, 3129. [250 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2013.3129.
- EFSA-ECDC (2015):** The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2014. EFSA Journal, 13, 4329. Doi:10.2903/j.efsa.2015.4329
- FDA (2010):** U.S. Food and Drug Administration. National Antimicrobial Resistance Monitoring System. Retail Meat Report 2010. Pp.8
- Granić, K., D. Krčar, S. Uhital, S. Jakšić (2009):** Determination of *Campylobacter* spp. in poultry slaughterhouses and poultry meat. Veterinarski arhiv 79, 491–497.
- Gritti, D., C.S.L. Vaz, D. Voss-Rech, L. Alves, F. Bortolini (2011):** Thermophilic *Campylobacter* Survey in Chilled and Frozen Poultry Meat at Retail in Concórdia, Santa Catarina. ActaSciVeterinariae 39, 976.
- Guerin, M.T. C. Sir, J.M. Sargeant, L. Waddell, A.M. O'Connor, R.W. Wills, R.H. Bailey, J.A. Byrd (2010):** The change in prevalence of *Campylobacter* on chicken carcasses during processing: a systematic review. Poult. Sci. 89, 1070–1084.
- Hadžibabić, S., E. Residbegović, I. Gruntar, D. Kušar, M. Pate, L. Zahirović, A. Kustura, A. Gagić, T. Goletić, M. Ocepek (2013):** *Campylobacters* in broiler flocks in Bosnia and Herzegovina: Prevalence and genetic diversity. Slov. Vet. Res. 50, 45–55.
- Hartog, B. J., G. J. A. de Wilde, E. de Boer (1983):** Poultry as a source of *Campylobacter jejuni*. Arch. Lebensm. 34, 116–122.
- ISO (1995):** International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for detection of *Campylobacter* spp. ISO 10272:1995. International Organization for Standardization;Geneva, Switzerland, 1995.
- Ivanović, S. (2001):** Nalaz *Campylobacter jejuni* na površini visceralne šupljine i u dubini mesa kod zaklane živine, Veterinarski glasnik 55, 27–33.
- Izat, A.L., F.A. Gardner., J.H. Denton, F.A. Golan (1988):** Incidence and level of *Campylobacter jejuni* in broiler processing. Poult. Sci. 67, 1568–1572.
- Karolyi L. G., H. Medić, S. Vidaček, T. Petrák, K. Botka-Petrák (2003):** Bacterial population in counter flow and parallel flow water chilling of poultry meat. Eur. Food Res. Technol. 217, 412–415.
- Kazuaki, O., Y. Katsuhiko (1999):** Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. Int. J. Food Microbiol., 47, 211–219.
- Kovačić, A., I. Listeš, C. Vučica, L. Kozačinski, I. Tripković, I., K. Šiško-Kraljević (2013):** Distribution and Genotypic Characterization of *Campylobacter jejuni* isolated from Poultry in Split and Dalmatia County, Croatia. Zoonoses and Public Health. 60, 269–276.
- Luu, Q.H., T.H. Tran, D.C. Phung, T.B. Nguyen (2006):** Study on the prevalence of

Campylobacter spp. From chicken meat in Hanoi, Vietnam. Ann. NY A. Sci. 1081, 273-275.

Mead, G.C., W.R. Hudson, M.H. Hinton (1995): Effect of changes in processing to improve hygiene control on contamination of poultry carcasses with *Campylobacter*. Epidemiol. Infect. 115, 495-500.

Robinson, D., A. (1981): Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.) 282 (6276).

Rosenquist H., H. M. Sommer, N.L. Nielsen, B.B. Christensen (2006): The effect of slaughter operations on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant *Campylobacter*. Int. J. Food Microbiol. 108, 226-232.

Stoyanchev, T.T. (2004): Detection of *Campylobacter* using standard culture and PCR of 16S rRNA gene in freshly chilled poultry and poultry products in a slaughterhouse. Trakia Journal of Sciences, 2, 59-64.

Suzuki, H., S. Yamamoto (2009): *Campylobacter* Contamination in Retail Poultry

Meats and By-Products in the World: A Literature Survey. J.Vet.M.Sci. 71, 255-261.

Tang, J.Y.H., F.M. Ghazali, A.A. Saleha, M.Nishibuchi, R. Son (2009): Comparison of thermophilic *Campylobacter* spp. Occurrence in two types of retail chicken samples. Int. Food Res. J. 16, 277-288.

Uzunović-Kamberović, S., T. Zorman, M. Heyndrickx, S. Smole Mozina (2007): Role of poultry meat in sporadic campylobacter infections in Bosnia and Herzegovina: laboratory-based study. Croat. Med. J. 48, 842-851.

Uzunović, S., S. Smole Možina (2013): *Campylobacter* infections in Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina. Med.Glas. (Zenica) 10, 1-11.

Williams., O.A. Oyarzabal (2012): Prevalence of *Campylobacter* spp. in skinless, boneless retail broiler meat from 2005 through 2011 in Alabama, USA. BMC Microbiol., 12, 184. doi:10.1186/1471-2180-12-184.

Dostavljeno: 17.6.2016.

Prihvaćeno: 5.7.2016.

Häufigkeit der Verunreinigung von Masthühnern mit *Campylobacter*-Bakterien

ZUSAMMENFASSUNG

Lebensmittelbedingte Infektionen durch *Campylobacter* sind die am häufigsten gemeldeten Zoonosen in der Europäischen Union (EU); sie zählen zu den führenden Problemen der öffentlichen Gesundheit und verursachen erhebliche finanzielle Verluste (EFSA-ECDC, 2015). Weltweit zählt Geflügelfleisch zu den wichtigsten Quellen dieser Krankheitserreger. In dieser Arbeit wurde die Kontamination von Masthähnchen und Hähnchenfleisch mit *Campylobacter* in Bosnien und Herzegowina beschrieben. Ziel der Studie war es, die Prävalenz der Kontamination der Hähnchenrumpfe, die auf dem Schlachtbody nach der Ausweitung stichprobenartig untersucht wurden, mit *Campylobacter* festzustellen. In einem der modernsten Schlachthöfe in Bosnien und Herzegowina wurden ein Jahr monatliche Proben der Hähnchenrumpfe und Leber untersucht (n=84). Um die *Campylobacter* spp. zu isolieren, wurden aus jedem Rumpf Proben des Brustmuskels, ein Abstrich des viszeralen Hohlraums sowie eine Leberprobe (n=252) für das Labor entnommen. Die Kontamination mit *Campylobacter* spp. wurde bei 27,4 % (23/84) der Hähnchenrumpfe festgestellt. Unter den insgesamt 252 untersuchten Proben wurde die größte Prävalenz der Kontamination mit *Campylobacter* in der Hähnchenbrust (19,0 %) festgestellt, gefolgt vom viszeralen Hohlraum (15,5 %); der niedrigste Anteil wurde in der Hähnchenleber (9,5 %) festgestellt. Insgesamt wurden die *Campylobacter* spp. in 37 Proben isoliert. Eine ausgeprägte Prädominanz wurde bei *C. jejuni* (91,9 %) festgestellt, während die *C. coli* nur geringfügig vertreten war (8,1 %). Die Ergebnisse dieser Untersuchung unterstreichen die Relevanz von Hähnchenfleisch als potentielle Quelle der lebensmittelbedingten Infektionen mit *Campylobacter* und deuten auf eine unerlässliche mikrobiologische Kontrolle der Kontamination von Geflügelfleisch in Bosnien und Herzegowina durch *Campylobacter* hin.

Schlüsselwörter: *Campylobacter* spp., *C. jejuni*, *C. coli*, Hähnchenfleisch, Bosnien und Herzegowina

La frecuencia de la contaminación de la carne de los broiler por la bacteria de la cepa *Campylobacter*

RESUMEN

La campilobacteriosis alimentaria es la zoonosis más común en la Unión Europea (UE) y representa uno de los problemas principales de salud que causa grandes pérdidas financieras (EFSA-ECDC, 2015). La carne de pollo es uno de los causantes principales de esta enfermedad a nivel mundial. En este trabajo fue descrita la contaminación de los rebaños de los broiler y del pollo por el *Campylobacter* en Bosnia y Herzegovina. El objetivo de este estudio fue investigar la prevalencia de la contaminación de los abdómenes de pollo por el *Campylobacter* en la línea de matanza después de la fase de evisceración. Durante un año, mensualmente fueron tomadas las muestras de los abdómenes de pollo y del hígado en uno de los mataderos más modernos en Bosnia y Herzegovina (n=84). Con el fin de aislar el *Campylobacter* spp. de cada abdomen fueron tomadas las muestras de la musculatura pectoral, el frotis de la cavidad visceral y la muestra del hígado (n=252) en laboratorio. La contaminación por el *Campylobacter* spp. fue encontrada en 27,4 % (23/84) de los abdómenes de pollo. Entre 252 muestras analizadas, la prevalencia mayor de la contaminación por el *Campylobacter* spp. fue encontrada en la pechuga de pollo (19,0 %), menor en la cavidad visceral (15,5 %) y la menor en las muestras de hígado (9,5 %). El *Campylobacter* spp. fue aislado de 37 muestras en total. Prevaleció el *C. jejuni* (91,9 %), mientras el *C. coli* casi no estaba presente (8,1 %). Los resultados de esta investigación muestran la importancia del pollo como una fuente potencial de campilobacteriosis alimentaria y sugieren el control microbiológico obligatorio de la contaminación por el *Campylobacter* del pollo en Bosnia y Herzegovina.

Palabras claves: *Campylobacter* spp., *C. jejuni*, *C. coli*, pollo, Bosnia y Herzegovina

Frequenza della contaminazione della carne dei boiler con i batteri trasmessi da cicogne appartenente al genere *Campylobacter*

SUNTO

La campilobatteriosi alimentare è la zoonosi più frequentemente riscontrata nell'Unione europea (UE). Essa rappresenta uno dei problemi di salute pubblica più importanti e causa enormi perdite finanziarie (EFSA-ECDC, 2015). La carne di pollo è una delle fonti principali di questa infezione a livello globale. Nello studio è descritta la contaminazione da *Campylobacter spp.* delle batterie di polli da carne (i.c.d. brojler) nella Bosnia ed Erzegovina (BiH). Lo studio aveva come scopo quello di accertare la prevalenza della contaminazione da *Campylobacter spp.* nelle carcasse di pollo campionate sulla linea di macellazione dopo la fase dell'eviscerazione. La campionatura mensile delle carcasse e dei fegati del pollo è stata compiuta durante l'arco di un anno in uno dei più moderni stabilimenti di macellazione di polli da carne della BiH (n=84). Al fine di isolare il *Campylobacter spp.*, in laboratorio s'è provveduto a prelevare un campione della muscolatura del petto per ogni carcassa campionata, oltre a sottoporre le carcasse allo striscio della cavità viscerale ed al prelievo di un campione del fegato (n=252). La contaminazione da *Campylobacter spp.* è stata accertata nel 27,4 % (23/84) delle carcasse di pollo analizzate. Su un totale di 252 campioni analizzati, la massima contaminazione da *Campylobacter spp.* è stata riscontrata nel petto del pollo (19,0 %), un po' inferiore nella cavità viscerale (15,5 %) e minima nei campioni di fegato di pollo (9,5 %). In totale, il *Campylobacter spp.* è stato isolato in 37 campioni. Nei campioni contaminati è stata riscontrata la schiacciatrice predominanza del *C. jejuni* (91,9 %), mentre la presenza *C. coli* è stata ritenuta trascurabile (8,1 %). I risultati di questa ricerca sottolineano l'importanza della carne di pollo quale potenziale fonte della campilobatteriosi alimentare e suggeriscono la necessità di un controllo microbiologico obbligatorio per accettare la contaminazione da *Campylobacter spp.* della carne di pollo in BiH.

Parole chiave: *Campylobacter spp.*, *C. jejuni*, *C. coli*, carne di pollo, Bosnia ed Erzegovina

UPUTE AUTORIMA



U časopisu MESO se objavljaju sve kategorije znanstvenih radova, stručni radovi, autorski pregledi, te izlaganja sa stručnih i znanstvenih skupova, kao i drugi tematski prihvatljivi članci na hrvatskom i engleskom jeziku.

Navedene kategorije radova podlježe recenziji.

Sadržaj i opseg rukopisa

Naslov rada treba biti što kraći. Ispod naslova navode se imena i prezimena autora. Svaki autor treba navesti: akademski stupanj, naziv i adresu organizacije u kojoj radi, zvanje i funkciju u organizaciji u kojoj je zaposlen. Radi lakšeg kontakta molimo autore da navedu broj telefona, telefaksa i električnu adresu (e-mail). Brojevi telefona i telefaksa neće biti objavljeni u časopisu.

Svaki rad mora imati sažetak na hrvatskom i engleskom jeziku. Neposredno ispod sažetka treba navesti tri do pet ključnih riječi.

Autorima citiranim u tekstu navodi se prezime i godina objavljanja (u zagradi). Ako je citirani rad napisalo više od tri autora, navodi se prezime prvog autora uz oznaku i sur. te godina objavljanja (u zagradi). U popisu literature autori se navode abecednim redom, i to na sljedeći način:

a) rad u časopisu:

Cvrtila Fleck, Ž., L. Kozačinski, B. Njari, D. Marenčić, G. Mršić, K. Špiranec, D. Špoljarić, M. Jelena Čop, M. Živković, M. Popović (2015): Technological properties and chemical composition of the meat of sheep fed with *Agaricus bisporus* supplement. *Vet arhiv* 85 (6), 591-600

b) rad u zborniku:

Bratulić, M., N. Cukon, Ž. Cvrtila Fleck, B. Njari, L. Kozačinski (2015): Hygienic and technological aspects of production of traditional fermented sausages in Istra county, Croatia. International scientific conference Hygiena alimentorum XXXVI, Strbske Pleso, 13.15 May, 2015. Proceedings, 236-239

c) zbornik sažetaka:

Pinter, N., L. Kozačinski, B. Njari, B. Mioković, Ž. Cvrtila Fleck, V. Dobranić, I. Filipović, N. Zdolec (2009): Integrirani sustav upravljanja. Znanstveno-stručni sastanak Veterinarska znanost i struka. Zagreb, listopad 2009., Zbornik sažetaka str. 48-49.

d) knjiga:

Njari, B., N. Zdolec (2012): Klaonička obrada i veterinarski pregled / Herak-Perković, Vlasta (ur.). Zagreb; Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2012.

Original rada (do 15 strojem pisanih stranica) treba imati sve slike, crteže i dijagrame. Prilozi (tablice, dijagrami i slike) dostavljaju se zasebno, na posljednjoj stranici rada. Legende slika i tablica moraju biti pisani na hrvatskom i engleskom jeziku. Grafikone je potrebno dostaviti i u jednom od grafičkih ili slikovnih formata (*.xls, *.tif ili *.jpg).

Rukopis s prilozima (tablice, dijagrami, sheme i crteži) dostavljaju se Uredništvu putem elektroničke pošte na jednu od adresa:

meso@meso.hr / klidija@ef.hr / zcvrtila@ef.hr