

# Campylobacter spp. u koži vrata tovnihi pilića



S. Furmeg\*, Ž. Cvetnić, M. Bukvić, J. Sokolović, M. Mikulić, M. Cvetnić i V. Jaki Tkalec

## Sažetak

Kampilobakterioza je zoonoza koja se na ljude prenosi sa životinja i proizvoda životinjskog podrijetla, a prouzroči ju bakterija iz roda *Campylobacter*. Kampilobakteri su sveprisutni mikroorganizmi te ih možemo naći u svim vrstama mesa i proizvodima od mesa, sirovom mlijeku i mliječnim prerađevinama, rjeđe u jajima te u kontaminiranoj vodi. Kampilobakterioza je učestalija ljeti jer više temperature pogoduju rastu uzročnika ove bolesti. Tijekom ljetnog razdoblja (lipanj, srpanj, kolovoz) 2020. godine u tri klaonice sakupljeno je 60 uzoraka kože vratova tovnihi pilića koji su pretraživani na bakterije iz roda *Campylobacter*. Od ukupnog broja pretraženih uzoraka, 28 (46,67 %) uzoraka bilo je iznad granične vrijednosti (1000 cfu/g) prema Uredbi (EU) 2017/1495, u 21,67 % određen je broj

*Campylobacter* spp., ispod granične vrijednosti, a u 19 uzoraka je rezultat bio <100 cfu/g. Uzorci su obrađeni prema standardnom postupku određivanja broja kolonija *Campylobacter* spp. S obzirom na patogenost bakterija iz roda *Campylobacter*, od izuzetnog su značenja termička obrada hrane, dezinfekcija vode, sprječavanje križne kontaminacije te higijena prostora u kojem se hrana priprema s ciljem osiguranja zdravstvene ispravnosti hrane. Provođenje biosigurnosnih mjera i praćenje prevalencije kampilobaktera nužni su u klaoničkim objektima kako bi se smanjila učestalost pojave ove zoonoze.

**Ključne riječi:** *Campylobacter* spp., koža vratova tovnihi pilića, kontaminacija, dobra higijenska praksa

## Uvod

Bakterije roda *Campylobacter* (*C.*) uzročnici su kampilobakterioze, zoonoze koja se na ljude prenose sa životinja i proizvoda životinjskog podrijetla. Kampilobakterioza je najčešće prijavljena bolest koja se prenosi hranom u Europskoj Uniji i svijetu te predstavlja značajan

problem u javnom zdravstvu (Silva i sur., 2011., EFSA i ECDC, 2018.). Najčešćim uzročnicima kampilobakterioze u ljudi smatraju se pripadnici termotolerantnih kampilobaktera, najčešće *C. jejuni*, manje *C. coli*, *C. lari* i *C. upsaliensis* (Mikulić i sur., 2016.a). Vrste kampilobaktera

Sanja FURMEG\*, dipl. sanit. ing., (dopisni autor, e-mail: furmeg.vzk@veinst.hr), dr. sc. Željko CVETNIĆ, dr. med. vet., akademik, dr. sc. Maja BUKVIĆ, mag. ing. bioproc., mag. ing. agr., Jadranka SOKOLOVIĆ, dr. med. vet., viša stručna suradnica, Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Križevci, Hrvatska; dr. sc. Marina MIKULIĆ, dr. med. vet., znanstvena suradnica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; Marija CVETNIĆ, dr. med. vet., Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; dr. sc. Vesna JAKI TKALEC, dr. med. vet., znanstvena suradnica, Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Križevci, Hrvatska

za razliku od ljudi, u različitim vrsta domaćih i divljih životinja iznimno rijetko prouzroče bolesti iako su često i u velikom broju prisutne u izmetu. Smatra se da su dobro prilagođene uvjetima života u crijevnom dijelu probavnog sustava. Kao najčešći rezervoar vrste *C. jejuni* je domaća perad, a osobito kokoši (Mikulić i sur., 2016.b); *C. coli* se najčešće nalazi u svinja i njihovoj okolini (Saenz i sur., 2000.), *C. lari* u populaciji galebova i divljih ptica i peradi (Matsuda i Moore, 2011.), a glavni rezervoari *C. upsaliensis* je izmet bolesnih i zdravih pasa i mačaka (Labarca i sur., 2011.). Kampilobakteri su Gram-negativne bakterije zavijene poput zarez, ne stvaraju spore, imaju po jedan bič na jednoj ili obje strane što im omogućuje veliku pokretljivost (Cvetnić i sur., 2013.). Mikroaerofilne su bakterije, što znači da im za rast trebaju uvjeti sa smanjenom količinom kisika, odnosno atmosferski uvjeti s otprilike 10 % CO<sub>2</sub>, 5 % O<sub>2</sub> i 85 % N<sub>2</sub> što ih razlikuje od ostalih uzročnika koji se prenose hranom (Mikulić i sur., 2017.a). Vrste *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* i *C. upsaliensis* nazivaju se još i termotolerantni kampilobakteri jer najviše rastu pri temperaturama od 41 °C do 43 °C, ali ne pokazuju odlike pravih termofilnih bakterija budući da ne rastu pri temperaturama od 55 °C i višim (Levin, 2007.). Najbolje rastu na temperaturi inkubacije od 42 °C, što je vjerojatno posljedica prilagodbe njihovom normalnom staništu - probavnom sustavu ptica (Vučković i Abram, 2009.). Preživljavanje *C. jejuni* u aerobnim uvjetima pripisuje se metaboličkom kometalizmu s bakterijama roda *Pseudomonas* i stvaranju zaštitnog biofilima (Joshua i sur., 2006., Hilbert i sur., 2010.). *Campylobacter* spp. pokazuje osjetljivost na temperature kuhanja, pasterizacije, sušenja, niski pH i koncentracije soli, a osjetljiv je i na uobičajene dezinficijense, kloriranje vode te postupak smrzavanja koji može umanjiti njegovu koncentraciju u

određenoj namirnici (Marinculić i sur., 2009.).

Kampilobakteri su sveprisutni mikroorganizmi, a nalazimo ih u: mesu peradi i domaćih životinja, mesnim i mliječnim prerađevinama, sirovom mlijeku, pitkoj vodi; možemo ih naći i u potocima, rijekama i vodama stajaćicama što je pokazatelj onečišćenja izmetom divljih ptica ili stoke. Nalaze se i u crijevima peradi. Prilikom klaoničke obrade kampilobakteri onečiste pileće meso i u njemu preživljavaju tijekom lanca proizvodnje te tako postaju rizik za ljudsko zdravlje. Zbog toga se meso peradi smatra najvažnijim izvorom ovog patogena, osobito nedovoljno termički obrađeno meso te gotova hrana koja je bila u kontaktu sa sirovim mesom peradi (Levak, 2015., Mikulić i sur., 2017.a). Pileće meso predstavlja jeftin i lako dostupan izvor visokokvalitetnih bjelančevina, aminokiselina, vitamina i minerala. Potrošnja pilećeg mesa često je povezana s pojavom kampilobakterioze, osobito u djece i starijih osoba. Dokazano je da je smanjena potrošnja pilećeg mesa dovela do pada, a povećana do porasta oboljelih ljudi od kampilobakterioze (Mikulić i sur., 2016.c). Tijekom različitih faza u procesu klanja i obrade mesa peradi, velika mogućnost kontaminacije javlja se i u kasnijim fazama proizvodnje kao što su: čupanje perja, evisceracija, pranje, pohranjivanje, rashlađivanje i zamrzavanje te kontaminacija putem ruku radnika, opreme ili same okoline, stoga je od izuzetnog značenja provedba higijensko-sanitarnih mjera te pravilno čišćenje i dezinfekcija objekata (Levak, 2015.). Koža peradi predstavlja jedan od glavnih izvora ovog patogena (Musgrove i sur., 1997.), a ukoliko je koža kontaminirana, vjerojatnost da je i meso kontaminirano je 35 puta veća u odnosu na kožu koja nije kontaminirana (Jeffrey i sur., 2001.). Kampilobakterioza je vodeća zoonoza u Europi koja se najčešće širi konzumacijom pilećeg mesa, a zbog

načina klaoničke obrade koža vratova peradi je potencijalno najveći izvor *Campylobacter* spp. Cilj našeg istraživanja bio je u nekoliko klaonica pilića na području sjeverne Hrvatske pretražiti uzorke koža vratova tovnih pilića te standardnim mikrobiološkim postupkom ustvrditi učestalost i objektivno odrediti broj *Campylobacter* spp.

## Materijali i metode

### Materijali

Tijekom ljetnog razdoblja 2020. godine (lipanj, srpanj i kolovoz) prikupljeno je 60 uzoraka kože vratova tovnih pilića u tri klaonice na području sjeverne Hrvatske. Kože vratova tovnih pilića uzimane su slučajnim odabirom nakon faze evisceracije i rashlađivanja. Uzorci su uzorkovani višekratno u različite radne dane, dostavljeni u laboratorij u prijenosnom hladnjaku u kontroliranim uvjetima uz održavanje hladnog lanca i istog su dana stavljeni u obradu. Uzorkovanje kože vratova tovnih pilića provedeno je prema standardnom postupku uzimanja uzoraka s trupova (HRN EN ISO 17604:2015).

### Metode

Za izdvajanje bakterija korištena je horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Campylobacter* spp. – 2. dio: Postupak određivanja broja kolonija (ISO 10272-2:2017; EN ISO 10272-2:2017). Ispitni dio sačinjavao je 25 g uzorka kože vrata koji je razrijeđen sa 225 mL puferirane peptonske vode (engl. *Buffered Peptone Water*; BPW, Biokar, Francuska). Nakon toga uzorak je homogeniziran. Iz početnog razrijeđenja napravljeno je niz decimalnih razrijeđenja kako bi se odredio točan broj kolonija. Za rast kampilobaktera korištena je selektivna podloga mCCDA (engl. *modified charcoal cefoperazone deoxycholate agar*) proizvođača Oxoid Ltd, Basingstoke, UK na koju

je inokuliran 0,1 mL predobogaćenog bujona sa uzorkom. Tako naciepljene ploče inkubirane su u mikroaerofilnim uvjetima pri 41,5 °C tijekom 48 sati.

Tipične kolonije na mCCD agaru su sivkaste, ponekad i metalnog sjaja, plosnate i vlažne, često konfluirajuće. Prepoznavanje kolonija *Campylobacter* spp. u velikoj mjeri je stvar iskustva, jer njihov izgled može varirati. Porasle sumnjive kolonije naciepljene su na krvni agar (Biognost, Hrvatska) koji je inkubiran u aerobnim uvjetima na temperaturi od 25 °C tijekom 48 sati. Izostanak rasta kulture *Campylobacter* spp. na krvnom agaru jedan je od potvrdnih pokazatelja prisutnosti *Campylobacter* spp. u uzorku. Zbog brzog propadanja *Campylobacter* spp. u aerobnim uvjetima, postupci potvrde moraju se izvršiti u što kraćem vremenu. Tijekom potvrde korišteni su testovi oksidaze (Merck, Njemačka) te mikroskopski pregled nativnog preparata s pokrovnicom na kojem se jasno vidi tipičan oblik zavojitih ili zakrivljenih štapića i karakteristična pokretljivost bakterija roda *Campylobacter*.

## Rezultati

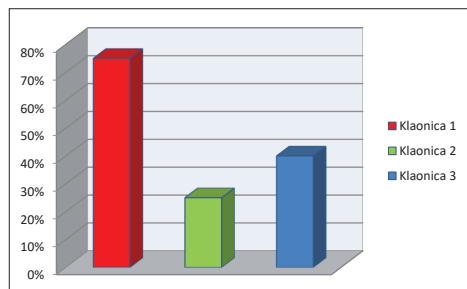
U pretraženim uzorcima kože vratova tovnih pilića *Campylobacter* spp. određen je na temelju izgleda rasta na selektivnom agaru, pozitivnim testovima oksidaze, mikroskopskom pretragom te izostanku rasta na krvnom agaru u aerobnim uvjetima na 25 °C. Od ukupno 60 pretraženih uzoraka kože vratova tovnih pilića u klaonicama peradi rezultat za 28 (46,67 %) uzoraka je bio iznad granične vrijednosti navedene u Uredbi Komisije (EU) 2017/1495 (1000 cfu/g). U 13 (21,67%) uzoraka određen je broj *Campylobacter* spp. manji od 1000 cfu/g, a u 19 (31,66 %) uzoraka nije bilo porasta kolonija na mCCDA pločama što znači vrijednost <100 cfu/g *Campylobacter* spp. u obrađenim uzorcima (tabela 1., grafikon 1 i 2.).

**Tabela 1.** Prikaz broja *Campylobacter* spp. u različitim vrijednostima tijekom istraživanja

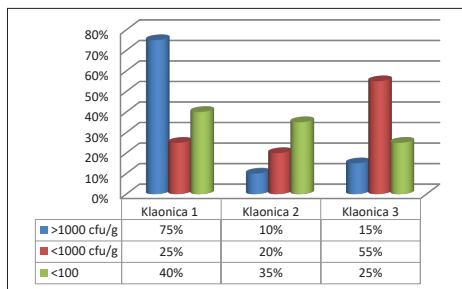
| Mjesto uzorkovanja | Prikaz <i>Campylobacter</i> spp. iznad granične vrijednosti (1000 cfu/g) |         | Prikaz <i>Campylobacter</i> spp. ispod granične vrijednosti (1000 cfu/g) |         | Prikaz rezultata <i>Campylobacter</i> spp. (<100 cfu/g) |         | Ukupan broj pretraženih uzoraka |       |
|--------------------|--|---------|--|---------|---|---------|---------------------------------|-------|
|                    | Broj   | %       | Broj   | %       | Broj  | %       | Broj                            | %     |
| Klaonica 1         | 15   | 75 %    | 2  | 10 %    | 3   | 15 %    | 20                              | 100 % |
| Klaonica 2         | 5  | 25 %    | 4  | 20 %    | 11  | 55 %    | 20                              | 100 % |
| Klaonica 3         | 8  | 40 %    | 7  | 35 %    | 5   | 25 %    | 20                              | 100 % |
| UKUPNO             | 28   | 46,67 % | 13   | 21,67 % | 19  | 31,66 % | 60                              | 100 % |

**Tabela 2.** Prikaz raspona vrijednosti cfu/g kod uzoraka iznad i ispod granične vrijednosti (EU 2017/1495) tijekom istraživanja

| BROJ | <i>Campylobacter</i> spp. iznad granične vrijednosti | BROJ | <i>Campylobacter</i> spp. ispod granične vrijednosti |
|------|--|------|--|
|      | >1000 cfu/g  |      | <1000 cfu/g  |
| 1.   | 2545   | 29.  | 636  |
| 2.   | 3273   | 30.  | 273  |
| 3.   | 4091   | 31.  | 818  |
| 4.   | 2818   | 32.  | 727  |
| 5.   | 2182   | 33.  | 364  |
| 6.   | 1727   | 34.  | 636  |
| 7.   | 3545   | 35.  | 818  |
| 8.   | 2182   | 36.  | 455  |
| 9.   | 1545   | 37.  | 182  |
| 10.  | 4727   | 38.  | 909  |
| 11.  | 5909   | 39.  | 545  |
| 12.  | 3909   | 40.  | 727  |
| 13.  | 1182   | 41.  | 636  |
| 14.  | 2000   | 42.  | <100   |
| 15.  | 1636   | 43.  | <100   |
| 16.  | 4182   | 44.  | <100   |
| 17.  | 1364   | 45.  | <100   |
| 18.  | 2455   | 46.  | <100   |
| 19.  | 3000   | 47.  | <100   |
| 20.  | 3727   | 48.  | <100   |
| 21.  | 5364   | 49.  | <100   |
| 22.  | 1727   | 50.  | <100   |
| 23.  | 2364   | 51.  | <100   |
| 24.  | 2909   | 52.  | <100   |
| 25.  | 3545   | 53.  | <100   |
| 26.  | 4273   | 54.  | <100   |
| 27.  | 2182   | 55.  | <100   |
| 28.  | 3727   | 56.  | <100   |
|      |  | 57.  | <100   |
|      |  | 58.  | <100   |
|      |  | 59.  | <100   |
|      |  | 60.  | <100   |

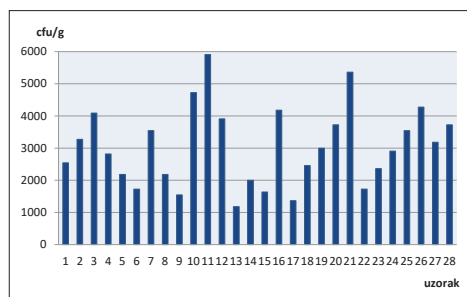


**Grafikon 1.** Prikaz rezultata *Campylobacter* spp. prema mjestu uzorkovanja



**Grafikon 2.** Prikaz *Campylobacter* spp. u pojedinim klaonicama iznad i ispod granične vrijednosti (EU 2017/1495)

Raspon vrijednosti iznad granične vrijednosti *Campylobacter* spp. kretao se od 1364 cfu/g sve do 5909 cfu/g. U 13 uzoraka određen je broj *Campylobacter* spp., no vrijednosti su bile manje od granične vrijednosti prema Uredbi 2017/1495. Raspon dobivenih rezultata kretao se od 182 cfu/g do 909 cfu/g. U 19 uzoraka nije bilo porasta *Campylobacter* spp., a budući da se radi o metodi brojenja i za početno razrjeđenje korišteno je 0,1 mL, vrijednost rezultata se izražava <100 cfu/g (tablica 2, grafikon 3.).



**Grafikon 3.** Prikaz dobivenih rezultata (cfu/g) iznad granične vrijednosti [EU 2017/1495] *Campylobacter* spp. tijekom istraživanja

## Rasprava

Posljednjih desetljeća u razvijenim i zemljama u razvoju ustvrđeno je znatno povećanje incidencije i prevalencije kampilobakterioze. Dramatičan porast ustvrđen je u Sjevernoj Americi, u

Europi i Australiji je alarmantan, a podatci iz dijelova Afrike, Azije i Bliskog istoka ukazuju da je kampilobakterioza endemična na tim područjima, posebno u djece. Uz *C. jejuni*, sve je više prepoznata klinička važnost novih vrsta, poput *Campylobacter concisus* i *Campylobacter ureolyticus*. Kampilobakterioza je jedna od zaraznih bolesti koja će vjerojatno izazvati veliki globalni interes stručnjaka iz javnoga zdravlja u godinama koje dolaze (Kaakoush i sur. 2015.).

Intenzivan uzgoj brojlera predstavlja glavni izvor i rezervoar kampilobakterioze. Smatra se da je horizontalni prijenos najznačajniji uzrok kolonizacije brojlerskih jata, a dokazano je da je okoliš najčešći izvor onečišćenja brojlerskih tovilišta (Bull i sur., 2006.). Radnici na farmi mogu širiti infekciju iz uzgoja u uzgoj ne mijenjajući prilikom istovara pilića odjeću, a izvor su i transportni kavezi za tovne piliće na klaonicu koji nisu na odgovarajući način očišćeni i dezinficirani (Bull i sur., 2006., Ellerbroek i sur., 2010., Hayama i sur., 2011.). Crijeva brojlera, osobito slijepa, mogu sadržavati veliki broj kampilobaktera (Berrang i sur., 2001.). Kao mjera smanjenja broja bakterija u klaonicama redovito se koriste šurionici u kojima temperatura vode iznosi 72 °C (Zglavnik i Sokolović, 2009.). Nakon šurenja trupovi prolaze kroz aparat za linijsko čupanje perja, a potom slijedi

evisceracija prilikom koje može doći do puknuća crijeva. Prilikom puknuća crijeva može doći do onečišćenja trupova peradi i kože. U klaoničkim objektima od izuzetne je važnosti pridržavanje higijensko - sanitarnih uvjeta, redovito čišćenje i dezinfekcija opreme i pribora u cilju smanjenja pojavljivanja bakterija iz roda *Campylobacter* u mesu peradi (Zglavnik i Sokolović, 2009., Levak, 2015.). Koža peradi predstavlja jedan od glavnih izvora *Campylobacter* spp. zbog slijevanja sadržaja s površine trupova te se pretpostavlja da je to područje trupa peradi najčešće kontaminirano bakterijama. *Campylobacter* spp. ostaju na koži i mogu stvarati biofilm što im pruža povoljan okoliš za opstanak i daljnje onečišćenje (Chantarapanont i sur., 2003.). Kože vrata brojlera su dobri pokazatelji onečišćenja pilića vrstama *Campylobacter* spp. (Berndtson i sur., 1992.).

Tijekom istraživanja u lipnju, srpnju i kolovozu 2020. godine u tri različite klaonice brojlera tijekom klanja uzorkovano je 60 uzoraka vratova pilića u kojih je u 28 (46,67 %) uzoraka dokazana prisutnost *Campylobacter* spp. U klaonici 1 u čak 75 % uzoraka, u klaonici 2 u 10 % i u klaonici 3 u 15 % obrađenih uzoraka. Mikulić i sur. (2016.a) godine proveli su istraživanje na prisutnost *Campylobacter* spp. u Hrvatskoj na 241 uzoraka svježeg pilećeg mesa (trupovi i vratovi). Rezultati istraživanja pokazali su visoku prevalenciju termotolerantnih kampilobaktera od 73,86 %. *C. jejuni* je dokazan u 53,53 %, a *C. coli* u 15,35 % uzoraka. Istraživanja su se pokazala sličnim onima u zemljama Europske Unije i u ostatku svijeta. Slične rezultate poput naših u svojim su istraživanjima opisali Hadžiabdić i sur. (2013.) koji su prisutnost bakterija iz roda *Campylobacter* spp. ustvrdili u 58,1 % pilećih koža u klaonicama u Bosni i Hercegovini. Alagić i sur. (2016.) su dokazali u *Campylobacter* spp. u 27,4 % trupova pilića

u jednoj od najvećih klaonici u Bosni i Hercegovini. Istraživanje u Francuskoj je pokazalo da je 44,8 % uzoraka brojlera prikupljenih tijekom klanja u klaonicama kontaminirano *Campylobacter* spp., dominirala je vrsta *C. jejuni* u 87,5 %, a u koži vratova pilića vrsta *C. jejuni* je dokazana u svim obrađenim uzorcima (Denis i sur., 2001.). U Tajlandu je provedeno istraživanje na prisutnost kampilobakterioze na farmama pilića, klaonicama pilića i trgovinama pilića, uzorkovano je 849 uzoraka, a *Campylobacter* spp. dokazan je u 415 (48,9 %) uzoraka (Meeyam i sur., 2004.). Naše je istraživanje provedeno tijekom ljetnih mjeseci lipnja, srpnja i kolovoza. Ranijih godina provedeno je istraživanje kako bi se istražio učinak okolišnih temperatura tijekom različitih godišnjih doba na preživljavanje *C. jejuni* u peradi. Od svibnja do listopada ustvrđeno je od 87 do 97 % pozitivnih uzoraka, a najmanje je ustvrđeno u prosincu 7 %, i siječnju 33 % (Wills i Murray, 1997.). Dokazivanjem pojedinih genotipova moguće je koristiti u svrhu izbivanja bolesti te se često dokazuju u životinja i ljudi. U Hrvatskoj su 2016. dokazani i opisani novi ST i CC *C. jejuni* i *C. coli* podrijetlom iz pilećeg mesa (Mikulić, 2017.b).

U tabeli 2. i grafikonu 3. prikazan je raspon dobivenih vrijednosti kod uzoraka kod kojih su se vrijednosti kretale od 1364 cfu/g a najviša koncentracija iznosila je 5909 cfu/g. Isto tako u 13 uzoraka određen je broj *Campylobacter* spp., no vrijednosti su bile manje od granične vrijednost, a raspon dobivenih rezultata kretao se od 182 cfu/g do 909 cfu/g. Prema nekim ranijim istraživanjima neki autori su smatrali da infektivna doza za *C. jejuni* iznosi 500 cfu/g (Robinson, 1981.). Black i sur. (1988.) na zdravim dobrovoljcima potvrdili su infektivnu dozu od 800 cfu/g. Uzimajući u obzir infektivnu dozu koja može ovisiti o fizičkom statusu i dobi pacijenta dobivene vrijednosti

nisu zanemarive. U Španjolskoj je ukupno pretraženo 150 uzoraka kože vratova iz ohlađenih trupova broilera, od kojih je 66 (44 %) bilo nesukladno, 53 (84 %) u rasponu između 1000 i 10 000 cfu/g, dok je 13 uzoraka imalo više od 10 000 cfu/g (EFSA i ECDC, 2018). Rezultati našeg istraživanja prema broju nezadovoljavajućih uzoraka koža vratova vrlo su slični rezultatima istraživanja u Španjolskoj, ali vrijednosti u našim istraživanjima nisu prelazile više od 5909 cfu/g dok su u Španjolskoj te vrijednost bile često i iznad 10 000 cfu/g.

Godine 1972. godine klinički mikrobiolozi u Belgiji prvo su izdvojili kampilobaktere iz uzoraka stolice bolesnika s proljevom. Razvoj selektivnih hranjivih podloga za rast ovog mikroorganizma 1970-ih omogućio je da se u mnogo više laboratorija istražuje ovaj mikroorganizam. Uskoro je potvrđeno da je *Campylobacter* spp. uobičajeni patogen u ljudi. Vrsta *C. jejuni* vodeći je uzrok želučano crijevnih infekcija zabilježenih u SAD-u i diljem svijeta (Altekruse i sur., 1999.). Kampilobakterioza se može javiti u pojedinačnim slučajevima ili manjim obiteljskim epidemijama. Glavnu opasnost u domaćinstvu predstavlja križno onečišćenje svježe i hrane spremne za konzumaciju kako izravno tako i neizravno preko ruku, radnih površina, kuhinjskih pomagala, kao i nedovoljno toplinski obrađena hrana (Mikulić i sur., 2016.b). Kampilobakterioza je učestalija ljeti jer više temperature pogoduju rastu uzročnika ove bolesti (Patrick i sur., 2004.).

Prema najnovijim podacima Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA) i Europskog centra za sprečavanje i kontrolu bolesti (ECDC), humana alimentarna kampilobakterioza je najzastupljenija zoonoza još od 2005. godine. Broj prijavljenih slučajeva humane kampilobakterioze na području Europe u 2017. godini iznosio je 246

158 slučajeva. U posljednjih pet godina bilježi se usporavanje rasta broja oboljelih te se u 2017. godini bilježi pad u broju oboljelih od kampilobakterioze (64,8 slučajeva na 100 000 stanovnika) što je neznatno smanjenje u odnosu na 2016. (66,3/100 000 stanovnika). Najviša incidencija zabilježena je za 2017. godinu u Češkoj (230/100 000), Slovačkoj (127,8), Švedskoj (106,1) i Luksemburgu (103,8). Najniži postotci u 2017. zabilježeni su u Bugarskoj, Cipru, Latviji, Poljskoj, Portugalu i Rumunjskoj ( $\leq 5,8$  na 100 000). Od ukupnog broja potvrđenih kampilobakterioza, *C. jejuni* je najčešći uzročnik dokazan u 84,4 % slučajeva, *C. coli* u 9,2 %, *C. lari* 0,1 %, a *C. upsaliensis* u 0,1 %, slučajeva (EFSA i ECDC, 2018.). Prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, godine 2018. prijavljen je 1971 slučaj, a 2019. godine 1732 slučaja kampilobakterioze u Republici Hrvatskoj (HZJZ, 2020.).

## Zaključak

Kampilobakterioza predstavlja važan javno-zdravstveni problem koji zauzima vodeće mjesto prema broju oboljelih u Europskoj Uniji kao najčešća bolest koja se prenosi hranom. Dosadašnja istraživanja ukazuju na moguću visoku pojavnost bakterija iz roda *Campylobacter* tijekom različitih faza proizvodnje mesa perad. Rezultati ovog istraživanja potvrđuju pojavnost *Campylobacter* spp. u 46,67 % uzoraka koža vratova tovnih pilića. Dobiveni rezultati se slažu s prethodno provedenim istraživanjima na području Europe i pokazuju visoku pojavnost *Campylobacter* spp. S obzirom da je broj slučajeva kampilobakterioze u Hrvatskoj u stalnom porastu, od izuzetne je važnosti kontrola prisutnosti *Campylobacter* spp. u peradarskoj proizvodnji. Provođenje biosigurnosnih mjera i praćenje prevalencije kampilobaktera nužni su u klaoničkim objektima kako bi se smanjila učestalost pojave ove zoonoze.

## Literatura

- ALAGIĆ, D., A. SMAJLOVIĆ, M. SMAJLOVIĆ, Z. MAKSIMOVIĆ, E. ČLANAK, K. ČAKLOVICA, S. TANKOVIĆ, E. VELJOVIĆ, I. LJEVAKOVIĆ-MUNSLADIN I M. RIFATBEGOVIĆ (2016): Učestalost onečišćenja mesa brojlera s bakterijama roda *Campylobacter*. Meso 18, 335-340.
- ALTEKRUSE, S. F., J. S. NORMAN, P. I. FIELDS and D. L. SWERDLOW (1999): *Campylobacter jejuni* - An emerging foodborne pathogens. Emerg. Infect. Dis. 5, 28-35.
- BERRANG, M. E., R. J. BUHR, J. A. CASON and J. A. DICKENS (2001): Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. J. Food Prot. 64, 2063-2066.
- BERNDTSON, E., M. TIVERAMO and A. ENGVAL (1992): Distribution and numbers of *Campylobacter* in newly slaughtered broiler chickens and hens. Int. J. Food Microbiol. 15, 45-50.
- BLACK, R. E., M. M. LEVINE, M. L. CLEMENTS, T. P. HUGHES and M. J. BLASER (1988): Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. J. Infect. Dis., 157, 472-479.
- BULL, S. A., V. M. ALLEN, G. DOMINGUE, F. JORGENSEN, J. A. FROST, R. URE, R. WHYTE, D. TINKER, J. E. L. CORRERY, J. GILLARD-KING and T. J. HUMPHREY (2006): Sources of *Campylobacter* spp. colonizing housed broiler flocks during rearing. Appl. Environ. Microbiol. 72, 645-652.
- CHANTARAPANONT, W., M. BERRANG and J. F. FRANK (2003): Direct microscopic observation and viability determination of *Campylobacter jejuni* on chicken skin. J. Food Prot. 66, 2222-2230.
- CVETNIĆ, Ž., M., OSTOJIĆ I A. KVESIĆ (2013): Specijalna bakteriologija. U: Mikrobiologija i parazitologija. Mostar, str. 33-98.
- DENIS, M., J. R. PETTON, M. J. LAISNEY, G. ERMEL and G. SALUAT (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 i ECDC (2018): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. EFSA Journal 16: 5500, 10-22.
- ELLERBROEK, L. I., J. A. LIENAU and G. KLEIN (2010): *Campylobacter* spp. In broilers flocks at farm level and the potential for cross-contamination during slaughter. Zoonoses Public Health. 57, e81-e88.
- HADŽIABDIĆ, S., E. REŠIDBEGOVIĆ, I. GRUNTAR, D. KUŠAR, M. PATE, L. ZAHIROVIĆ, A. KUSTURA, A. GAGIĆ, T. GOLETIĆ and M. OCEPEK (2013): *Campylobacter* in broiler flocks in Bosnia and Herzegovina: Prevalence and genetic diversity. Slov. Vet. Res. 50, 45-55.
- HAYAMA, Y., T. YAMAMOTO, F. KASUGA and T. TSUTSUI (2011): Simulation model for *Campylobacter* cross-contamination during poultry processing at slaughterhouses. Zoonoses Public Health, 58, 399-406.
- HILBERT, F., M. SCHERWITZEL, P. PAULSEN and M. P. SZOSTAK (2010): Survival of *Campylobacter jejuni* under conditions of atmospheric oxygen tension with the support of *Pseudomonas* spp. Appl. Environ. Microbiol. 76, 5911-5917.
- HRN EN ISO 10272 - 2:2017 - Mikrobiologija u lancu hrane - Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Campylobacter* spp. - 2. Dio: Postupak određivanja broja kolonija (izvornik: International Organization for Standardization, ISO 10272 - 2:2017; EN ISO 10272 - 2:2017)
- HRN EN ISO 17604 - 2015 - Mikrobiologija lanca hrane - Uzorkovanje životinjskih trupova za mikrobiološku analizu (ISO 17604:2015; EN ISO 17604:2015).
- HZJZ (2020): Hrvatski zdravstveni statistički ljetopis za 2019. godinu. Prijava epidemija u 2019. godini. Str. 175.
- JEFFREY, J. S., K. H. TONOOKA and J. LOZANO (2001): Prevalence of *Campylobacter* spp. from skin, crop and intestine of commercial broiler chicken carcasses at processing. Poultry Sci. 80, 1390-1392.
- JOSHUA, G. W. P., C. GUTHRIE - IRONS, A. V. KARLYSHEV and B. W. WREN (2006): Biofilm formation in *Campylobacter jejuni*. Microbiology 152, 387-396.
- KAAKOUSH, N. O., N. CASTANO-RODRIGUEZ, H. M. MITCHELL and S. MING MAN (2015): Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. Clin. Microbiol. Rev. 28, 687-720.
- LABARCA, J. A., J. STURGEON, L. BORENSTEIN, N. SALEM, S. M. HARVEY, E. LEHNERING, R. REPORTER and L. MASCOLA (2001): *Campylobacter upsaliensis*: Another pathogen for consideration in the United States. Clin. Infect. Dis. 34, 59-60.
- LEVAK, S. (2015): *Campylobacter* spp. u mesu peradi. Meso XVII, 558-565.
- LEVIN, R. E. (2007): *Campylobacter jejuni*: A Review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection. Food Biotechnol. 21, 271-347.
- MARINCULIĆ, A., B. HABRUN, LJ. BARBIĆ I R. BECK (2009): Biološke opasnosti u hrani. Hrvatska agencija za hranu, Osijek.
- MATSUDA, M. and M. MOORE (2011): The epidemiology and zoonotic transmission of thermophilic *Campylobacter lari*. Br. Microbiol. Res. J. 1, 104-121.
- MEEYAM, T., P. PADUNGTOOD and J. B. KANEENE (2004): Molecular characterisation of *Campylobacter* isolated from chickens and humans in northern Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 35, 670-675.
- MIKULIĆ, M., A. HUMSKI, B. NJARI, M. OSTOVIĆ, S. DUVNJAK and Ž. CVETNIĆ (2016a): Prevalence of Thermotolerant *Campylobacter* spp. in Chicken Meat in Croatia and Multilocus Sequence Typing of a Small Subset of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Isolates. Food Technol. Biotechnol. 54, 475-481.



28. MIKULIĆ, M., A. HUMSKI, B. NJARI, M. OSTOVIĆ i Ž. CVETNIĆ (2016b): Termotolerantni *Campylobacter* spp. – uzročnici kampilobakterioze (I. dio). Vet. stn. 47, 327-334.
29. MIKULIĆ, M., A. HUMSKI, B. NJARI, M. OSTOVIĆ i Ž. CVETNIĆ (2016c): Termotolerantni *Campylobacter* spp. – uzročnici kampilobakterioze (II. dio). Vet. stn. 47, 447-454.
30. MIKULIĆ, M., A. HUMSKI, B. NJARI, D. STOJEVIĆ, L. JURINOVIĆ, S. ŠPIČIĆ, S. DUVNJAK and Ž. CVETNIĆ (2017a): Methods for the isolation and identification of bacteria of the genus *Campylobacter* - classical and molecular methods (Part I). Vet. stn. 48, 297-303.
31. MIKULIĆ, M., A. HUMSKI, B. NJARI, D. STOJEVIĆ, L. JURINOVIĆ, S. ŠPIČIĆ, S. DUVNJAK and Ž. CVETNIĆ (2017b): Methods for isolation and identification of bacteria of the genus *Campylobacter* - genotyping methods (Part II). Vet. stn. 48, 357-363.
32. MUSGROVE, M. T., J. A. CASON, D. L. FLETCHER, N. J. STERN, N. A. COX and J. BAILEY (1997): Effect of cloacal plugging on microbial recovery from Partially processed broilers. Poultry Sci. 76, 530-533.
33. PATRICK, M. E., L. E. CHRISTIANSEN, M. WAINO, S. ETHELBERG, H. MADSEN and H. C. WEGENER (2004): Effects of climate on incidence of *Campylobacter* spp. in humans and prevalence in broiler flocks in Denmark. Appl. Environ. Microbiol. 70, 7474-7480.
34. ROBINSON, D. A. (1981): Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. Br. Med. J. 282, 1584.
35. SILVA, J., D. LEITE, M. FERNANDES, C. MENA, P. A. GIBBS and P. TEIXEIRA (2011): *Campylobacter* spp. As a Foodborne Pathogen: A Review. Front Microbiol. 2:200.27. doi:10.3389/fmicb.2011.00200
36. SAENZ, Y., M. ZARAZAGA, M. LANTERO, M. H. GASTANERES, F. BAQUERO, and C. TORRES (2000): Antibiotic resistance in *Campylobacter* strains isolated from animals, foods, and humans in Spain in 1997-1998. Antimicrob. Agents Chemother. 44, 267-271.
37. Uredba komisije (EU) 2017/1495 o izmjeni Uredbe (EZ) br. 2073/2005 u pogledu *Campylobacter* u trupovima brojlera. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R1495&from=EN>. Pristupljeno 15.01.2019.
38. VUČKOVIĆ, D. i M. ABRAM (2009): Kampilobakteri - najčešći uzročnik bakterijskog proljeva u ljudi širom svijeta. Medicina 45, 344-350.
39. ZGLAVNIK, T. i M. SOKOLOVIĆ (2009): Pojavnost *Campylobacter* spp. u fecesu, brisevima s pilećih trupova i otpadne vode na liniji klanja. „Peradarski dani 2009 (Poreč 25. – 28. ožujka 2009.)”. Zbornik, str. 184-190.
40. WILLS, W. L. and C. MURRAY (1997): *Campylobacter jejuni* seasonal recovery observations of retail market broilers. Poult. Sci. 76, 314-317.

## **Campylobacter** spp. in the skin of broiler neck

Sanja FURMEG, B.Sc. Sanit. Ing., Expert Associate, Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Academician, Maja BUKVIĆ, PhD, Mag. Ing. Bioproc., Mag. Agr., Expert Associate, Jadranka SOKOLOVIĆ, DVM, Expert Associate, Croatian Veterinary Institute, Veterinary Department Križevci, Croatia; Marina MIKULIĆ, DVM, PhD, Research Associate, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Marija CVETNIĆ, DVM, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Vesna JAKI TKALEC, DVM, Croatian Veterinary Institute, Veterinary Department Križevci, Croatia

*Campylobacteriosis* is a zoonosis transmitted to man from animals and products of animal origin, caused by bacteria of the genus *Campylobacter*. *Campylobacter*s are ubiquitous microorganisms that can be found in all types of meat and meat products, raw milk and dairy products, less frequently in eggs, and in contaminated water. *Campylobacteriosis* is more frequent in summer since the higher temperatures stimulate the growth of the causative agent of this disease. During summer 2020 (June, July, August), 60 samples of the skins of broiler necks were collected in three slaughterhouses and tested for *Campylobacter* bacteria. Of the total number of samples tested, 28 (46.67%) were inconsistent (> 1000 CFU/g), *Campylobacter* spp. was proven in 21.67%

of samples, though at lower concentrations < 1000 CFU/g, and 19 samples did not contain *Campylobacter* spp. All samples were processed according to the standard method for detecting the presence and determining the number of *Campylobacter* spp. Considering the pathogenicity of bacteria belonging to the genus *Campylobacter*, thermal treatment of food, water disinfection, prevention of cross contamination, and hygiene of food preparation areas are of paramount importance to ensure food safety. Implementation of biosecurity measures and monitoring for the prevalence of *Campylobacter*s are necessary in slaughterhouses to reduce the frequency of occurrence of this zoonosis.

**Key words:** *Campylobacter* spp.; skins of broiler necks; contamination; good hygiene practice