

Pojavnost *Campylobacter* spp. u koži vratova i u svježem pilećem mesu kao vodećeg uzročnika bakterijskog trovanja hranom



S. Furmeć*, K. Markov, Ž. Cvetnić, M. Benić i V. Jaki Tkalec

Sažetak

Jedan od vodećih mikroorganizama koji uzrokuje bakterijsko trovanje hranom su bakterije roda *Campylobacter* koje prouzroče kampilobakteriozu, zoonozu koja je od 2005. godine najčešće prijavljivana bolest uzrokovana hranom u Europskoj uniji te kao takva predstavlja javno-zdravstveni problem. Najprisutnijim izvorom ovog patogena smatra se pileće meso s obzirom da su kampilobakteri uobičajeni komenzali u probavnom sustavu peradi. S obzirom da se nalaze u crijevima peradi, osim prilikom procesa klanja i obrade mesa, velika mogućnost kontaminacije javlja se u kasnijim fazama proizvodnje kao što su: čupanje perja, evisceracija, pranje, pohranjivanje i hlađenje te

kontaminacija putem ruku radnika, opreme ili same okoline, a pretpostavlja se da upravo koža peradi predstavlja glavni izvor ovog patogena. U ovom je radu određivan broj bakterija *Campylobacter* spp. u uzorcima kože vratova tovnih pilića, pilećih prsa bez kože, pilećih krilaca i pilećih bataka – zabataka. Za određivanje broja kolonija korištena je standardna metoda za određivanje broja *Campylobacter* spp. prema ISO normiranoj metodi HRN EN ISO 10272 – 2:2017.

Ključne riječi: *Campylobacter* spp., pileće meso, koža vratova tovnih pilića, kontaminacija, sigurnost hrane

Uvod

Bakterije roda *Campylobacter* (*C.*) među vodećim su uzročnicima bakterijskih infekcija koje se prenose hranom i vodom te su jedan od glavnih uzročnika bakterijskih gastrointestinalnih infekcija diljem svijeta.

Uzročnici su kampilobakterioze koja je vodeća zoonoza u Europskoj uniji i svijetu. Diljem svijeta, patogene vrste kampilobaktera odgovorne su za više od 400-500 milijuna infekcija svake godine (Igwaran i Okoh, 2019.).

Sanja FURMEĆ*, mag. sanit. ing., univ. spec. techn. alimet. (dopisni autor, e-mail: furmeć.vzk@veinst.hr), Veterinarski zavod Križevci, Hrvatski veterinarski institut, Hrvatska; dr. sc. Ksenija MARKOV, dipl. ing. biotehnoł., redovita profesorica, Prehrambeno-biotehnołoški fakultet, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Željko CVETNIĆ, dr. med. vet., akademik, Veterinarski zavod Križevci, Hrvatski veterinarski institut, Hrvatska; dr. sc. Miroslav BENIĆ, znanstveni savjetnik u trajnom izboru, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb; Vesna JAKI TKALEC, dr. med. vet., viša znanstvena suradnica, Veterinarski zavod Križevci, Hrvatski veterinarski institut, Hrvatska

Većina kampilobaktera je termofilna, ali ih visoke temperature kao i temperatura pasteurizacije brzo uništavaju; dobro podnose niske temperature pa u smrznutom pilećem mesu mogu preživjeti i do 3 mjeseca. Optimalni pH iznosi od 6,0 do 8,0. Većina kampilobaktera može rasti uz koncentraciju kuhinjske soli (NaCl) od 1,5 %, a termofilni kampilobakteri otporni na naldiksinsku kiselinu mogu rasti uz koncentraciju NaCl i do 4 %. Metabolizam *Campylobacter* nije fermentativan, niti oksidativan, a razgradnjom aminokiselina dobivaju potrebnu energiju. Sve vrste *Campylobacter* spp. izlučuju oksidazu, ne razgrađuju ugljikohidrate i biokemijski su slabo aktivni (Mlinarić Galinović i sur., 2003.).

S epidemiološkog aspekta, kampilobakterioza je široko rasprostranjena zoonoza. Postoji mnogo izvora zaraze, a najčešće je meso peradi i meso domaćih životinja, sirovo mlijeko, mesne i mliječne prerađevine, jaja, pitka voda i dr. Kampilobakteri ekskretima mogu dospjeti u okoliš (tlo, otpadne vode). Na taj način postaju ubikvitarni i ubrajaju se među najčešće uzročnike crijevnih infekcija. Njihovoj ubikvitarnosti u prirodi pridonosi i njihova sposobnost brze prilagodbe na različite uvjete okoliša zahvaljujući hipervarijabilnosti genetskog materijala (Gutić, 2015.). Zbog nepridržavanja određenih higijenskih mjera, osobe koje su često u kontaktu sa životinjama (radnici na farmama i radnici u klaonicama), često se mogu inficirati bakterijama roda *Campylobacter* (Aung i sur., 2015.). Identifikacija i razumijevanje putova prijenosa infekcije kampilobakterima ključni su za prevenciju i kontrolu kampilobakterioze (Newell i sur., 2017.). Uobičajeni i glavni putovi prijenosa kampilobaktera su: fekalno-oralni put (Rosner i sur., 2017.), konzumacija kontaminiranog nedovoljno kuhanog ili pečenog mesa i konzumacija kontaminirane vode (Grzybowska-Chlebowczyk i sur., 2013.).

Najčešćim se uzročnicima kampilobakterioze u ljudi smatraju pripadnici termotolerantnih kampilobaktera, najčešće *C. jejuni*, manje *C. coli*, *C. lari* i *C. upsaliensis* (Mikulić i sur., 2016.). Meso i proizvodi od mesa peradi prouzroče približno 60 % - 80 % slučajeva kampilobakterioze u svijetu (EFSA, 2022.). Zakonskom regulativom kontrola *Campylobacter* spp. provodi se u kožama vratova kao kriterij higijene procesa, a prati se i prevalencija *C. coli* i *C. jejuni* na razini primarne proizvodnje iz cekuma brojlera i tovnih pura. Proizvodnja i potrošnja mesa peradi i proizvoda od mesa peradi pokazuje rastući trend, a upravo je meso peradi glavni izvor bakterija roda *Campylobacter*, a to zahtijeva odgovarajuću kontrolu u svim fazama, od uzgoja peradi, klaoničkim objektima, pogonima za preradu i trgovinama. I potrošači su važan faktor za mikroorganizme koji se prenose hranom i načinom na koji čuvaju i pripremaju hranu. Učinkovit način prevencije bolesti koje se prenose hranom je praćenje mikrobiološke kakvoće mesa peradi i mesnih proizvoda tijekom proizvodnje, skladištenja i distribucije (Kozačinski i sur., 2006.). S obzirom na visoku pojavnost kampilobakterioze prema podacima Europske komisije za sigurnost hrane cilj je ovog rada bio standardiziranom metodom HRN EN ISO 10272 - 2:2017 u tri klaonice pilića na području sjeverne Hrvatske pretražiti uzorke kože vratova tovnih pilića, pilećih prsa bez kože, pilećih krilca i pilećih bataka - zabataka podrijetlom iz uzgoja u Republici Hrvatskoj da bi se odredio broj *Campylobacter* spp.

Materijali i metode

Materijali

Istraživanje je provedeno na ukupno 120 uzoraka od kojih je 30 uzoraka kože vratova tovnih pilića, 30 uzoraka svježih pilećih prsa bez kože, 30 uzoraka svježih pilećih krilaca, te 30 uzoraka svježih pile-

ćih bataka - zabataka različitih klaoničkih lotova. Uzorci su uzorkovani u tri klaonice. Navedeni uzorci podrijetlom su od različitih proizvođača mesa peradi s područja sjeverozapadne Hrvatske. U svakoj klaonici uzorkovano je ukupno 40 uzoraka (10 uzoraka kože vratova, 10 uzoraka pilećih prsa bez kože, 10 uzoraka pilećih krilaca i 10 uzoraka pilećih bataka – zabataka). Uzorci su pakirani u sterilne vrećice, dostavljeni u laboratorij u prijenosnom hladnjaku uz održavanje temperaturnog režima i istog su dana stavljeni u obradu.

Metode

Za određivanje broja kolonija korištena je standardna metoda za određivanje broja *Campylobacter* spp. prema ISO normiranoj metodi HRN EN ISO 10272-2:2017. Ispitni dio bio je 10 g uzorka koji je razrijeđen s 90 mL puferirane peptonske vode (engl. *Buffered Peptone Water*; BPW, Biokar, Francuska) što predstavlja početno razrjeđenje uzorka. Poslije toga uzorci su homogenizirani u homogenizatoru (Smasher, Biomérieux, Francuska). Da bi se odredio broj kolonija iz početnog razrjeđenja napravljena su daljnja razrjeđenja. Za izradu svih razrjeđenja korištena je puferirana peptonska voda. Za rast kampilobaktera korištena je selektivna podloga mCCDA (engl. *modified charcoal cefoperazone deoxycholate agar*) proizvođača Oxoid Ltd, Basingstoke, Velika Britanija. Poslije toga nacijepljene ploče stavljene su u posude s GENbox microaer vrećicom (proizvođač Biomérieux, Francuska) za postizanje mikroaerofilnih uvjeta i u termostat na temperaturu od 41,5 °C kroz 40-48 h. Poslije inkubacije sukladno metodi za određivanje broja izbrojane su karakteristične kolonije. Tipične kolonije na mCCD agaru su:

sivkaste, glatke, vlažne, sjajne, plosnate, često nepravilnog rasta. Svaka odabrana karakteristična kolonija nacijepljena je na Columbia agar s dodatkom 5 % defibrinirane ovčje krvi (Biognost, Republika Hrvatska) i inkubirana u mikroaerofilnim uvjetima na temperaturi od 41,5 °C tijekom 18-24 sati. Pripadnost *Campylobacter* spp. određena je na temelju morfološkog izgleda naraslih kolonija na selektivnoj podlozi mCCDA (engl. *modified charcoal cefoperazone deoxycholate agar*), pozitivnog testa oksidaze (Merck, Njemačka), mikroskopskom pretragom određivana je karakteristična pokretljivost i izgled te izostanak rasta na krvnom agaru u aerobnim uvjetima na 25 °C.

Dobiveni rezultati obrađeni su statističkim programom Stata 13.1 (USA, Stata Corp.). Razlike u učestalosti izdvajanja bakterija roda *Campylobacter* iz različitih kategorija pilećeg rasjeka provjerene su hi-kvadrat testom. Razlike cfu vrijednosti testirane su: Kruskal-Wallis neparametrijskim testom i Dunn-ovim testom.

Rezultati

Sukladno metodi za određivanje cfu/g (engl. *colony forming unit/gram*) vrijednosti bakterija iz roda *Campylobacter* pretraženo je ukupno 120 uzoraka od kojih je 30 uzoraka kože vratova tovnih pilića, 30 uzoraka svježeg mesa peradi - pileća prsa bez kože, 30 uzoraka pilećih krilaca i 30 uzoraka pilećih bataka – zabataka. Pripadnost *Campylobacter* spp. određena je na temelju morfološkog izgleda poraslih kolonija na mCCD agaru, pozitivnog testa oksidaze, mikroskopske pretrage i izostanka rasta na krvnom agaru u aerobnim uvjetima na 25°C. Rezultati istraživanja prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1. Pojavnost *Campylobacter* spp. u pretraženim uzorcima

| Uzorak | Utvrđena pojava rodu <i>Campylobacter</i> spp. | | Nije utvrđena pojava rodu <i>Campylobacter</i> spp. | | Ukupan broj pretraženih uzoraka | |
|---------------------------|--|-------|---|-------|---------------------------------|-----|
| | Broj | % | Broj | % | Broj | % |
| Koža vratova tovni pilića | 22 | 73,33 | 8 | 26,67 | 30 | 100 |
| Pileća prsa bez kože | 7 | 23,33 | 23 | 76,67 | 30 | 100 |
| Pileća krilca | 14 | 46,67 | 16 | 53,33 | 30 | 100 |
| Pileći batak – zabatak | 16 | 53,33 | 14 | 46,67 | 30 | 100 |
| UKUPNO | 59 | 49,17 | 61 | 50,83 | 120 | 100 |

Tabela 2. Rezultati određivanja broja kolonija u uzorcima koža vratova tovni pilića prema mjestu uzorkovanja

| Uzorak: koža vratova tovni pilića | Utvrđena pojava rodu <i>Campylobacter</i> spp. | | Raspon vrijednosti cfu/g |
|-----------------------------------|--|--------------|--------------------------|
| | Mjesto uzorkovanja | <i>n</i> /10 | |
| KLAONICA 1 | 8 | 80,00 | 636-4273 |
| KLAONICA 2 | 9 | 90,00 | 545-5182 |
| KLAONICA 3 | 5 | 50,00 | 2364-10636 |
| UKUPNO (<i>n</i> =30) | 22 | 73,33 | 545-10636 |

Tabela 3. Rezultati određivanja broja kolonija u uzorcima pilećih prsa bez kože prema mjestu uzorkovanja

| Uzorak: pileća prsa bez kože | Utvrđena pojava rodu <i>Campylobacter</i> spp. | | Raspon vrijednosti cfu/g |
|------------------------------|--|--------------|--------------------------|
| | Mjesto uzorkovanja | <i>n</i> /10 | |
| KLAONICA 1 | 2 | 20,00 | 636-1182 |
| KLAONICA 2 | 3 | 30,00 | 272-818 |
| KLAONICA 3 | 2 | 20,00 | 818-1090 |
| UKUPNO (<i>n</i> =30) | 7 | 23,33 | 272-1182 |

Tabela 4. Rezultati određivanja broja kolonija u uzorcima pilećih krilaca prema mjestu uzorkovanja

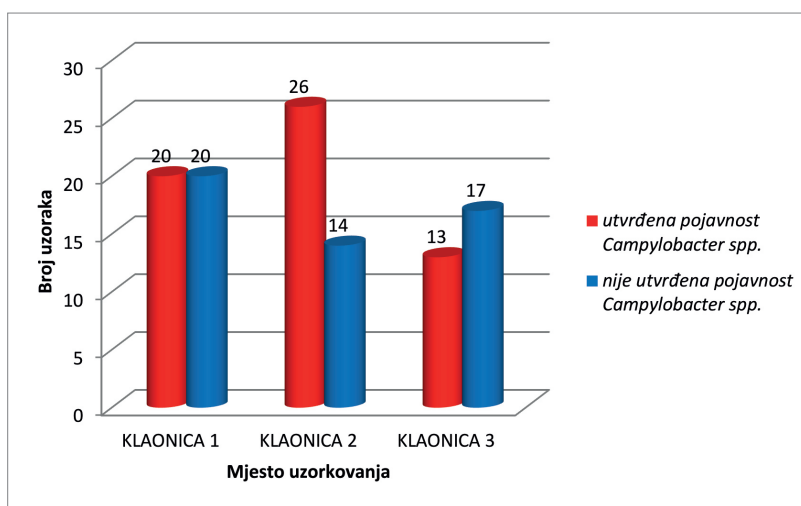
| Uzorak: pileća krilca | Utvrđena pojavnost <i>Campylobacter</i> spp. | | Raspon vrijednosti cfu/g |
|--------------------------|--|-------|-----------------------------|
| | Mjesto uzorkovanja | n/10 | |
| KLAONICA 1 | 5 | 50,00 | 455-2364 |
| KLAONICA 2 | 6 | 60,00 | 1000-2364 |
| KLAONICA 3 | 3 | 30,00 | 1636-2182 |
| UKUPNO (n=30) | 14 | 46,67 | 455-2364 |

Tabela 5. Rezultati određivanja broja kolonija u uzorcima pilećih bataka – zabataka prema mjestu uzorkovanja

| Uzorak: pileći batak - zabatak | Utvrđena pojavnost <i>Campylobacter</i> spp. | | Raspon vrijednosti cfu/g |
|-----------------------------------|--|-------|-----------------------------|
| | Mjesto uzorkovanja | n/10 | |
| KLAONICA 1 | 5 | 50,00 | 636-2182 |
| KLAONICA 2 | 8 | 80,00 | 455-1909 |
| KLAONICA 3 | 3 | 30,00 | 1364-1727 |
| UKUPNO (n=30) | 16 | 53,33 | 455-2182 |

Raspon vrijednosti svih analiziranih uzoraka kod kojih je utvrđena pojavnost

bakterija roda *Campylobacter* spp. kretao se od 272 cfu/g sve do 10636 cfu/g.



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

Rasprava

Dugi niz godina kampilobakterioza je najčešće prijavljivana zoonoza u Europskoj uniji, te od 2005. godine zauzima vodeće mjesto po broju oboljelih. Broj prijavljenih potvrđenih slučajeva pojave kampilobakterioze u 2021. godini iznosio je 127,840 oboljelih uz stopu od 41,1 oboljelih/100 000 stanovnika. U 2019. godini u dvije trećine država članica EU-a smanjen je broj potvrđenih slučajeva kampilobakterioze. Pad slučajeva je primijećen i 2020. godine, vjerojatno i zbog pandemije COVID-19 i zatvaranja granica diljem Europe, kao i međunarodna ograničenja mobilnosti prouzročena zatvaranjem zračnih, morskih i kopnenih granica u nekim zemljama, a i izlaska Ujedinjenog Kraljevstva iz Europske unije. U razdoblju od 2017. godine do 2021. godine ukupan trend kampilobakterioze nije pokazao statistički značajan porast ili pad (EFSA, 2022.). U Republici Hrvatskoj trend kretanja kampilobakterioze prati trendove u Europske uniji, a lagani pad broja oboljelih zabilježen u 2019. i 2020. godini vjerojatno je zbog pandemije COVID-19. Prema posljednjim javno dostupnim podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) u 2021. godini prijavljeno je 1159 slučajeva humane kampilobakterioze (HZJZ, 2022.). Iako se pileće meso smatra glavnim izvorom kampilobakteria, zakonskom regulativom nije propisano bakteriološko ispitivanje pilećeg mesa na bakterije iz roda *Campylobacter*. Kontrola kampilobakteria provodi se u klaoničkim objektima kao kriterij higijene mikrobiološkog procesa što je definirano Uredbom Komisije (EU) 2017/1495 od 23. kolovoza 2017. o izmjeni Uredbe (EZ) br. 2073/2005 u pogledu *Campylobacter* u trupovima brojlera gdje je propisana granična vrijednost kao kriterij higijene mikrobiološkog procesa od 1000 cfu/g na koži vratova tovnih pilića. Cilj kriterija higijene procesa za *Campylobacter* u trupovima brojlera je stalno praćenje učestalosti

ove bakterije u klaoničkim objektima da bi se na vrijeme mogle poduzeti korektivne mjere u svrhu poboljšanja higijene klanja, podrijetla životinja i biosigurnosnih mjera na farmama (EUR-LEX, 2017.).

Uzorci su uzorkovani u tri klaonice, a pretraženo je 120 uzoraka. *Campylobacter* spp. u koži vratova utvrđena je u 18,34 % uzoraka, u svježim pilećim batcima i zabatcima u 13,33 %, u svježim pilećim krilcima u 11,67 % te svježim pilećim prsima bez kože u 5,83 %. Raspon vrijednosti svih analiziranih uzoraka kod kojih je utvrđena pojavnost bakterija *Campylobacter* spp. kretao se od 272 cfu/g do 10636 cfu/g. Najveći raspon je zabilježen kod uzoraka kože vratova i iznosio je od 545 cfu/g do 10636 cfu/g, najmanji kod uzoraka pilećih prsa bez kože s vrijednostima od 272 cfu/g do 1182 cfu/g, a kod uzoraka pilećih krilaca i pilećih bataka - zabataka raspon dobivenih vrijednosti kretao se od 455 cfu/g do 2364 cfu/g, odnosno 455 cfu/g do 2182 cfu/g.

Posebnu pozornost u proizvodnji mesa peradi treba posvetiti činjenici da su žive životinje domaćini velikog broja različitih mikroorganizama koji se nalaze na njihovoj koži, perju i u probavnom sustavu. Tijekom klaoničke obrade većina se ovih mikroorganizama uništi, ali je moguća kontaminacija u kasnijim fazama procesa proizvodnje (od čupanja perja, evisceracije, pranja, pohranjivanja, rashlađivanja do zamrzavanja), putem ruku radnika, opreme ili iz same okoline (Živković, 2001., Levak, 2015.). Poznato je da bakterije iz roda *Campylobacter* mogu preživjeti u okolišu, posebice u netretiranoj površinskoj vodi. Primarno se prenosi na trupove peradi putem tekućine i fecesa iz gastrointestinalnog trakta ptica, zbog velikog broja organizama koji se nalazi u tim tekućinama (Franco i Williams, 2001.), tako ostaju na koži i u krajnjem proizvodu (Benefield, 1997.). 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 (Chantapanont i sur., 2003.). Ovi podatci upućuju na to da je koža peradi glavni izvor kampilobaktera. Kože vrata brojlera su dobri pokazatelji onečišćenja pilića vrstama *Campylobacter* spp. (Berndtson i sur., 1992.). Da koža peradi predstavlja izvor *Campylobacter* spp. pokazuje i ovo istraživanje s visokim postotkom pojavnosti u uzorcima koža vratova. Povrh toga u uzorku kože vrata određena je najviša vrijednost *Campylobacter* spp. od 10636 cfu/g.

Odvajanje i uklanjanje kože od mesa trupova dovodi do značajnih smanjenja u broju kampilobaktera (Berrang i sur., 2002.), a to se i pokazalo dobivenim rezultatima ovog istraživanja gdje je broj bakterija utvrđen u 7 (23,33 %) uzoraka pilećih prsa bez kože. Kod uzoraka pilećih prsa bez kože uočena je najmanja vrijednost *Campylobacter* spp. od 272 cfu/g. Prihvaćeno je mišljenje da kampilobakteri onečišćuju pileće meso tijekom proizvodnog procesa preživljavajući unutar lanca proizvodnje te tako postaju rizik za zdravlje ljudi. Dokazano je da tijekom proizvodnje, zbog križnog onečišćenja uzročnikom koji se nalazi u crijevima, prije svega onečiste se površinski dijelovi pilećeg mesa te su vrijednosti na površinama značajno veće u odnosu na unutrašnjost (Luber i Bartolet, 2006., Mikulić, 2013.). Smatra se kako svježja piletina može učestalo biti onečišćena bakterijama roda *Campylobacter*, često s prisutnošću višom od 50 % (Wilson, 2002.).

U tabelama 2-5 prikazani su rezultati pojavnosti i rasponi vrijednosti cfu/g za *Campylobacter* spp. prema mjestu uzorkovanja. Od svih pretraženih uzoraka najve-

ći broj uzoraka kod kojih je određen broj bakterija bio je u klaonici 2 s ukupno 26 uzoraka, zatim u klaonici 1 20 uzoraka, dok je u klaonici 3 u 13 uzoraka utvrđena pojava bakterija iz roda *Campylobacter*. Prema rasponu dobivenih vrijednosti s obzirom na mjesto uzorkovanja, u klaonici 1 raspon dobivenih vrijednosti kretao se 455 cfu/g do 4273 cfu/g, u klaonici 2 od 272 cfu/g do 5182 cfu/g, a u klaonici 3 od 818 cfu/g do 10636 cfu/g. Iz dobivenih rezultata vidljivo je da je raspon vrijednosti približan u klaonicama 1 i 2, dok je u klaonici 3, iako je *Campylobacter* spp. dokazan u manjem broju uzoraka, vrijednost cfu/g znatno veća u odnosu na vrijednosti u klaonicama 1 i 2. S obzirom da se tijekom dužeg vremenskog razdoblja prati higijena navedenih objekata kroz parametar *Campylobacter* spp. u koži vratova tovnih pilića, dobiveni rezultati prate pojavnost i u ostalim dijelovima pilećeg rasjeka.

Dobiveni rezultati ukazuju na visoku pojava kampilobaktera u svježem pilećem mesu. Uspoređujući rezultate ostalih istraživanja diljem Europske unije i ostalih zemalja diljem svijeta može se reći kako kampilobakteri zahtijevaju veliku pozornost u smislu bakteriološkog ispitivanja pilećeg mesa koje se smatra glavnim izvorom kampilobaktera. Pružinec Popović i sur. (2019.) su u svom istraživanju ispitali ukupno 60 uzoraka trupova svježih pilića uzorkovanih u maloprodaji na području grada Rijeke gdje su uočili prisutnost od 31,7 %. U istraživanju koje su proveli Alagić i sur. (2016.) utvrđena je prisutnost *Campylobacter* spp. u 27,4 % uzoraka pilećih trupova s pripadajućom jetrom. Hadžiabdić i sur. (2013.) u uzorcima koža i trupova brojlera na liniji klanja u Bosni i Hercegovini utvrdili su prisutnost kampilobaktera od 58,1 %. Prema istraživanju Kozačinski i sur. (2006.) prikazano je ispitivanje mikrobiološke kakvoće mesa peradi u prodaji na tržištu Republike Hrvatske. Bakteriološkom analizom pretra-

ženo je 66 uzoraka svježeg pilećeg mesa u maloprodaji od kojih je 21 uzorak pileća prsa bez kože – "file", 19 uzoraka pilećih prsa s kožom, te smrznuto mljeveno pileće meso (26 uzoraka). Uzorci su ispitani na prisutnost bakterija *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae*, *Campylobacter* spp. i sulfitreducirajuće klostridije. Bakterije iz roda *Campylobacter* nisu pronađeni ni u jednom od analiziranih uzoraka. U istraživanju koje su proveli Granić i sur. (2009.), ispitali su 15 uzoraka pilećeg mesa, od kojih je 66,6 % bilo pozitivno na prisutnost *Campylobacter* spp. U konzumnom mesu peradi Suzuki i Yamamoto (2009.) dali su pregled prisutnosti u svježem mesu peradi diljem svijeta pa je tako u Sjevernoj Americi prisutnost kampilobaktera iznosila 63,8 %, u Srednjoj i Južnoj Americi 82,3 %, u Europi 53,3 %, u Africi 73,1 %, u Aziji 60,3 % dok je u Oceaniji iznosila visokih 90,4 %.

Prilikom statističke obrade podataka korišten je hi-kvadrat test, Kruskal-Wallis neparametrijski test te Dunn-ov test. Hi-kvadrat testom utvrđeno je da je učestalost izdvajanja kampilobaktera iz različitih kategorija pilećeg mesa statistički značajna ($P=0,02$). Određene su minimalne, maksimalne i srednje vrijednosti dobivenih rezultata iz kojih je Kruskal-Wallis neparametrijskim testom dobivena statistički značajna razlika između različitih dijelova pilećeg mesa i kože ($P=0,006$). Dunn-ovim testom uspoređene su dobivene vrijednosti cfu/g između dijelova pilećeg mesa kojim je utvrđena statistički značajna razlika između kože vratova i prsa bez kože ($P=0,003$). Iz dobivene statističke obrade vidljivo je da je koža vratova najviše kontaminirana bakterijama *Campylobacter* spp. što su objasnili i mnogi autori, koji se ujedno pretražuju kao kriterij higijene procesa u klaoničkim objektima, dok su pileća prsa bez kože najmanje kontaminirana što je vidljivo iz dobivenih rezultata. Do-

kazano je kako se u koži zadržava najveći broj mikroorganizama.

Gotovo polovica danas poznatih patogenih mikroorganizama koji se prenose hranom otkriveno je posljednjih 30-tak godina, a čemu je pridonijela i povećana konzumacija mesa i mesnih proizvoda (Tauxe, 2002., Gutić, 2015.). Glavni cilj Europske komisije za sigurnost hrane je osigurati visoku razinu sigurnosti ljudskog zdravlja provođenjem kontrola „od polja/farme do stola“. Stoga je za sprječavanje širenja bolesti povezanih s hranom važno kontrolirati mikrobiološku kakvoću mesa peradi i njegovih proizvoda tijekom proizvodnje, pohrane i distribucije na tržište (Kožačinski i sur., 2006., Levak, 2015.). Osim toga, za učinkovito djelovanje pri postupku klanja i preradi moraju se poznavati kritične točke kontaminacije, što zahtijeva dobro promišljeno, pažljivo planirano i ciljano istraživanje. Važno je prenijeti znanje u praksu, a to zahtijeva dobru suradnju s proizvođačima peradi kao i vlasnicima i radnicima koji se bave klanjem i obradom peradi te stavljanje gotovog proizvoda na tržište. U istraživanju koje su proveli Pate i Očepek (2015.) u Sloveniji, utvrđeno je da se tijekom procesa klanja kontaminiraju gotovo svi trupovi, a najveći udio kontaminacije dogodi se još prije ulaska u evisceracijski dio linije klanja, kod omamljivanja, šurenja i čupanja. Upravo taj dio procesa klanja je onaj kad je moguće kontaminaciju smanjiti i na taj način pridonijeti sigurnosti gotovog proizvoda. Potvrđeno je da postojeći tradicionalni tehnološki procesi (pranje, hlađenje) smanjuju stupanj kontaminacije, ali ne dostatno. Za smanjenje kontaminacije mesa peradi nije dovoljna samo poboljšana tehnologija i higijena klanja, nego je bitna i visoka osposobljenost radnika u proizvodnji. Osim toga, održavanje hladnog lanca, dobra higijenska praksa u pripremi hrane, odgovarajuća termička obrada namirnica osnovne

su mjere kojima bi se spriječile infekcije prouzročene hranom.

Zaključak

Kampilobakterioza je dugi niz godina najprisutnija zoonoza. Prema literaturnim podacima najčešćim izvorom zaraze smatra se sirovo pileće meso. Ovim istraživanjem kampilobakteri su izolirani u 49,17 % uzoraka. Najveći broj pozitivnih uzoraka odnosi se na uzorke kože vratova tovnih pilića, zatim uzorke pilećih bataka-zabataka, pilećih krilaca, dok je *Campylobacter* spp. u najmanjem postotku potvrđen iz uzoraka pilećih prsa bez kože. Najveće vrijednosti cfu/g za *Campylobacter* spp. utvrđene su u uzorcima kože vratova, a najmanje u uzorcima pilećih prsa bez kože. Dobiveni rezultati u suglasju su s provedenim istraživanjima diljem Europe. Zbog stalnog povećanja broja slučajeva kampilobakterioze važno je provoditi stalni nadzor u peradarskoj proizvodnji, pridržavati se svih sanitarno - tehničkih mjera, pridržavati se dobre higijenske i proizvođačke prakse i provoditi kontinuiranu edukaciju stanovništva u vezi bolesti koje se prenose hranom.

Zahvala

Provedeno istraživanje financirano je sredstvima Ministarstva znanosti i obrazovanja u okviru namjenskog institucijskog financiranja znanstvene djelatnosti preko manjeg istraživačkog projekta „Pojavnost *Campylobacter* spp. u kožama vratova i u svježem pilećem mesu kao vodećeg uzročnika bakterijskog trovanja hranom“, voditeljica projekta: Sanja Furmeg, mag. sanit. ing., univ. spec. techn. alimet. pod mentorstvom akademika Željka Cvetnića. Provedeno istraživanje i dobiveni rezultati iskorišteni su i u svrhu izrade završnog rada „Izolacija i identifikacija *Campylobacter* spp. iz pilećeg mesa“ na poslijediplomskom specijalističkom studiju „Kvaliteta i sigurnost hrane“ na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Ksenije Markov.

Literatura

1. ALAGIĆ, D., A. SMAJLOVIĆ, M. SMAJLOVIĆ, Z. MAKSIMOVIĆ, E. ČLANAK, K. ČAKLOVICA, S. TANKOVIĆ, E. VELJOVIĆ, I. LJEVAKOVIĆ-MUSLADIN i M. RIFATBEGOVIĆ (2016): Učestalost onečišćenja mesa brojlera s bakterijama roda *Campylobacter*. Meso XVIII, 335-340.
2. AUNG, W. W., A. A. SALEHA, Z. ZUNITA, M. MURUGAIVAH, A. B. ALIYU, D. M. GONI and A. M. MOHAMED (2015): Occurrence of *Campylobacter* in dairy and beef cattle and their farm environment in Malaysia. Pakistan Vet. J. 35, 470-473.
3. BENEFIELD, R. D. (1997): Pathogen reduction strategies for elimination of Foodborne pathogens on poultry during processing. MS Thesis Auburn Univ., AL.
4. 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. 10.1016/0168-1605(92)90134-O
5. BERRANG, M. E., R. J. BUHR, J. A. CASON and J. A. DICKENS (2002): Microbiological consequences of skin removal prior to evisceration of broiler carcasses. Poultry Sci. 81, 134-138. 10.1093/ps/81.1.134
6. 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. 10.4315/0362-028X-66.12.2222
7. EFSA (European Food Safety Authority) (2022): The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. EFSA Journal. 20 (12), 7666. summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. EFSA Journal, 16 (12): 5500, 10-22. 10.2903/j.efsa.2022.7666
8. EUR - LEX (Pristup zakonodavstvu Europske unije (2017): Uredba komisije (EU) 2017/1495 od 23. Kolovoza 2017. O izmjeni Uredbe (EZ) br. 2073/2005 u pogledu *Campylobacter*a u trupovima brojlera. Službeni list Europske unije. L 218, 24.8.2017.
9. FRANCO, D. A. and C. E. WILLIAMS (2001): *Campylobacter* jejuni. In: Foodborne Disease Handbook (2nd ed.), Hui, Z. H., Pierson, M. D., Gotham, J. R. (Eds.), Marcel Dekker Inc., New Yourk, NY (2001), pp. 83-106.
10. GRANIĆ, K., D. KRČAR, S. UHITIL and S. JAKIŠIĆ (2009): Determination of *Campylobacter* spp. in poultry slaughterhouses and poultry meat. Vet. arhiv 79, 491-497.
11. GRZYBOWSKA-CHLEBOWCZYK, U., B. KALITA, A. FLAK-WANCERZ, M. JASIELSKA, S. WIECEK, M. WOJCIESZYN, S. HOROWSSKA-ZIAJA, W. CHLEBOWCZYK and H. WOŚ (2013): Clinical course of *Campylobacter* infections in children. Pediatría Polska 88, 329-334. 10.1016/j.papo.2013.05.004
12. GUTIĆ, S. (2015): Značaj bolesti koje se prenose hranom. Meso XVII, 361-366.

13. HADŽIABDIĆ, S., REŠIDBEGOVIĆ, E., GRUNTAR, I., KUŠAR, D., PATE, M., ZAHIROVIĆ, L., KUSTURA, A., GAGIĆ, A., GOLETIĆ, T. and M. OCEPEK (2013): *Campylobacter* in broiler flocks in Bosnia and Herzegovina: Prevalence and genetic diversity. *Slov. Vet. Res.* 50, 45-55.
14. HRN EN ISO 10272 (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)
15. HZJZ (Hrvatski zavod za javno zdravstvo) (2022): Hrvatski zdravstveno - statistički ljetopis za 2021. godinu. (dostupno na: www.hzjz.hr) [22. veljače 2023]
16. IGWARAN, A. and A. I. OKOH (2019): Human campylobacteriosis: A public health concern of global importance. *Heliyon* 5, e02814. 10.1016/j.heliyon.2019.e02814
17. KOZAČINSKI, L., M. HADŽIOSMANOVIĆ and N. ZDOLEC (2006): Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. *Vet. arhiv* 76, 305-313.
18. LEVAK, S. (2015): *Campylobacter* spp. u mesu peradi. *Meso XVII*, 558-565.
19. LUBER, P. and E. BARTELET (2006): Enumeration of *Campylobacter* spp. on the surface and within chicken breast fillets. *J. Appl. Microbiol.* 102, 313-318. 10.1111/j.1365-2672.2006.03105.x
20. MIKULIĆ, M. (2013): Određivanje termotolerantnih vrsta roda *Campylobacter* u svježem pilećem mesu i tipizacija izdvojenih sojeva *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli*. Doktorska disertacija. Veterinarski fakultet, Zagreb, Hrvatska
21. MIKULIĆ, M., A. HUMSKI, B. NJARI, M. OSTOVIĆ, S. DUVNJAK and Ž. CVETNIĆ (2016): 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. 10.17113/ftb.54.04.16.4647
22. MLINARIĆ GALINOVIĆ, G., M. RAMLJAK ŠEŠO i sur. (2003): Specijalna medicinska mikrobiologija i parasitologija, Zagreb, udžbenik visoke zdravstvene škole, str. 59-63.
23. NEWELL, D. G., L. MUGHINI-GRAS, R. S. KALUPAHANA and J. A. WAGENAAR (2017): *Campylobacter* epidemiology-sources and routes of transmission for human infection. *Campylobacter* 2017, 85-110. 10.1016/b978-0-12-803623-5.00005-8.
24. PATE, M. and M. OCEPEK (2015): Bakterijske zoonoze koje se prenose hranom. (Znanstveno - stručni simpozij: "Klasične bakterijske i parazitarne zoonoze- što nas očekuje?", HAZU, Zagreb, 22. listopada 2015.).
25. PRUŽINEC POPOVIĆ, B., P. GREGOROVIĆ KESOVIIJA, M. ABRAM and D. VUČKOVIĆ (2019): Prevalence and resistance of *Campylobacter* spp. in retail poultry meat. *Vet. str.* 50, 549-557. (In Croatian).
26. ROSNER, B. M., A. SCHIELKE, X. DIDELOT, F. KOPS, J. BREIDENBACH, N. WILLRICH, G. GÖLZ, T. ALTER, K. STINGL, C. JOSEPHANS, S. SUERBAUM, and K. STARK (2017): A combined case-control and molecular source attribution study of human *Campylobacter* infections in Germany, 2011-2014. *Sci. Rep.* 7, 5139. 10.1038/s41598-017-05227-x
27. SUZUKI, H. and S. YAMAMOTO (2009): *Campylobacter* Contamination in Retail Poultry Meats and By-Products in the World: A Literature Survey. *Public Health.* 10.1292/jvms.71.255
28. TAUXE, R. V. (2002): Emerging foodborne pathogens. *Int. J. Food Microbiol.* 78, 31-41. 10.1016/S0168-1605(02)00232-5
29. WILSON, I. G. (2002): Salmonella and *Campylobacter* contamination of raw retail chickens from different producers: a six year survey. *Epidemiol. Infect.* 129, 635-645. 10.1017/S0950268802007665
30. ŽIVKOVIĆ, J. (2001): Higijena i tehnologija mesa, veterinarsko sanitarni nadzor životinja za klanje mesa. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska.

Occurrence of *Campylobacter* spp. in neck skins and fresh chicken meat as a leading cause of bacterial food poisoning

Sanja FURMEG, Grad. San. Eng., Univ. Technical Spec. Alimet., Croatian Veterinary Institute - Branch Veterinary Institute Križevci, Croatia; Ksenija MARKOV, PhD, Full Professor, Faculty of Food and Biotechnology, Zagreb, Croatia; Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Academician, Croatian Veterinary Institute - Branch Veterinary Institute Križevci, Croatia; Miroslav BENIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor in permanent selection, Croatian Veterinary Institute, Zagreb; Vesna JAKI TKALEC, DVM, PhD, Senior Research Associate, Croatian Veterinary Institute - Branch Veterinary Institute Križevci, Croatia

One of the leading microorganisms causing bacterial food poisoning are the *Campylobacter* bacteria that cause campylobacteriosis, a zoonosis that has

been the most frequently reported food-borne disease in the European Union since 2005, making it a public health concern. Chicken meat is considered

the most important source of this pathogen, given that campylobacters are common commensals in the digestive system of poultry. They are found in the intestines of poultry, and in addition to the slaughtering and meat processing stages, a high possibility of contamination occurs in the later stages of production, such as plucking feathers, evisceration, washing, storing and cooling, and contamination through the hands of workers, equipment, or the environment itself, and it is believed that the skin of poultry is

the main source of this pathogen. In this paper, the number of *Campylobacter* spp. bacteria was determined in samples of the neck skins of broiler chickens, skinless chicken breasts, chicken wings and chicken drumsticks. To determine the number of colonies, the standard method for determining the number of *Campylobacter* spp. according to the ISO standard method HRN EN ISO 10272 – 2:2017 was used.

Key words: *Campylobacter* spp.; chicken meat; broiler neck skins; contamination; food safety