

# Izolacija i identifikacija *Campylobacter* spp. iz pilećeg mesa

---

**Furmeg, Sanja**

**Professional thesis / Završni specijalistički**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:688753>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-13**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)





Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Sanja Furmeg

**IZOLACIJA I IDENTIFIKACIJA**  
***Campylobacter* spp. IZ PILEĆEG MESA**

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, 2022.



University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Sanja Furmeg

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF  
*Campylobacter* spp. FROM CHICKEN  
MEAT**

FINAL THESIS

Zagreb, 2022



Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Sanja Furmeg

**IZOLACIJA I IDENTIFIKACIJA**  
***Campylobacter* spp. IZ PILEĆEG MESA**

ZAVRŠNI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Ksenija Markov

Zagreb, 2022.



University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Sanja Furmeg

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF  
*Campylobacter* spp. FROM CHICKEN  
MEAT**

FINAL THESIS

Supervisor: PhD Ksenija Markov

Zagreb, 2022

Završni specijalistički rad izrađen je u Laboratoriju za mikrobiologiju hrane i hrane za životinje Veterinarskog zavoda Križevci, podružnice Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu.

Izrada završnog specijalističkog rada financirana je 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, dipl.sanit.ing. pod mentorstvom akademika Željka Cvetnića sredstvima Ministarstva znanosti i obrazovanja u okviru namjenskog institucijskog financiranja znanstvene djelatnosti.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Sveučilišni poslijediplomski studij: Kvaliteta i sigurnost hrane  
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Izolacija i identifikacija *Campylobacter* spp. iz pilećeg mesa

Sanja Furmeg, dipl. sanit. ing.

Rad je izrađen u: Veterinarski zavod Križevci u Križevcima - Hrvatski veterinarski institut  
Mentor: prof.dr.sc. Ksenija Markov

Jedan od vodećih mikroorganizama koji uzrokuje bakterijsko trovanje hranom su bakterije roda *Campylobacter* koje uzrokuju kampilobakteriozu, zoonozu koja je od 2005. godine najčešće prijavljivana bolest uzrokovana hranom u Europskoj Uniji te kao takva predstavlja javno - zdravstveni problem. Kampilobakterije su sveprisutni mikroorganizmi, te ih nalazimo u mesu peradi i domaćih životinja, mesnim i mliječnim prerađevinama, sirovom mlijeku i pitkoj vodi. Najvažniji izvor ovog patogena smatra se pileće meso s obzirom da su kampilobakterije uobičajeni komenzali u probavnom sustavu peradi. S obzirom da se nalaze u crijevu peradi, osim prilikom procesa klanja i obrade mesa, velika mogućnost kontaminacije javlja se u kasnijim fazama proizvodnje kao što je čupanje perja, evisceracija, pranje, pohranjivanje i hlađenje te kontaminacija putem ruku radnika, opreme ili same okoline, a smatra se da upravo koža peradi predstavlja glavni izvor ovog patogena. U ovom radu istraživana je prisutnost odnosno određivanje broja bakterija *Campylobacter* spp. u uzorcima koža vratova tovnih pilića, pilećih prsa bez kože, pilećih krilaca i pilećih bataka – zabataka. Za izolaciju i određivanje broja kolonija korištena je standardna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Campylobacter* spp. prema ISO normiranoj metodi HRN EN ISO 10272 – 2:2017.

**Broj stranica: 74**

**Broj slika: 3**

**Broj tablica: 17**

**Broj literaturnih navoda: 101**

**Jezik izvornika: hrvatski**

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

**Datum obrane: prosinac, 2022.**

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. Red. prof. dr. sc. Helga Medić
2. Red. prof. dr. sc. Ksenija Markov
3. Dr. sc. Vesna Jaki Tkalec

**Rad je pohranjen:** u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb i u Nacionalnoj i Sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice bb.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

Final Thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
Department of Biochemical Engineering  
Laboratory for General Microbiology and Food Microbiology  
Scientific area: Biotechnical Sciences  
Scientific field: Biotechnology

Isolation and identification of *Campylobacter* spp. from chicken meat

Sanja Furmeg, B.Sc.Sanit.Ing.

Thesis made at: Veterinary Department Križevci - Croatian Veterinary Institute  
Supervisor: PhD Ksenija Markov

One of the leading microorganisms that cause bacterial food poisoning are bacteria of the genus *Campylobacter*, which cause campylobacteriosis, a zoonosis that has been the most frequently reported foodborne disease in the European Union since 2005, and as such represents a public health problem. *Campylobacter*s are ubiquitous microorganisms that can be found in the meat of poultry and other domestic animal animals, meat and dairy product, and in drinking water. Chicken meat is considered the most important source of this pathogen, since *Campylobacter* is commonly found in the digestive system of poultry. Given that they are found in the intestines of poultry, great possibility of contamination occurs not only during slaughtering and meat processing but also 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 same environment. It is believed that the skin of poultry is the main source of this pathogen. In this work, the presence or determination of the number of *Campylobacter* spp. bacteria in samples of the skins of the necks of broiler chickens, skinless chicken breasts, chicken wings and chicken drumsticks was investigated. For the detection and enumeration of the number of colonies, standard method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. was used, according to the ISO standard method HRN EN ISO 10272 – 2:2017.

**Number of pages:** 74

**Number of figures:** 3

**Number of tables:** 17

**Number of references:** 101

**Original in:** Croatian

**Key words:** *Campylobacter* spp., chicken meat, skins of broiler necks, contamination, food safety

**Day of thesis defence:** December, 2022

**Reviewers:**

1. PhD Helga Medić, Full Professor
2. PhD Ksenija Markov, Full Professor
3. PhD Vesna Jaki Tkalec

**Thesis deposited in:** Library of Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb and National and University Library, Hrvatske bratske zajednice bb, Zagreb.



**SAŽETAK**  
**IZOLACIJA I IDENTIFIKACIJA *Campylobacter* spp. IZ PILEĆEG**  
**MESA**

Kampilobakterije su sveprisutni mikroorganizmi koji uzrokuju bolest kampilobakteriozu, vodeću zoonozu u svijetu. Kampilobakterioza se smatra prije svega gastrointestinalnim oboljenjem. Kod osoba zdravog imunološkog sustava očituje se kao blaga, samolimitirajuća bolest, s pojavom vodenastog i/ili krvavog proljeva uz rijetku pojavu težih komplikacija. Smrtnost kao posljedica kampilobakterioze je rijetka i najčešće je zabilježena kod imunokompromitiranih osoba, djece i kod starije populacije. Meso peradi, naročito svježe pileće meso, smatra se najznačajnijim izvorom infekcije za ljude. Prema zakonskoj regulativi Uredba Komisije (EU) 2017/1495 od 23. kolovoza 2017. o izmjeni Uredbe (EZ) br. 2073/2005 u pogledu bakterija iz roda *Campylobacter* u trupovima brojlera kontrola *Campylobacter* spp. provodi se jedino u kožama vratova kao kriterij higijene procesa gdje propisana granična vrijednost iznosi 1000 CFU/g stoga je svrha ovog rada odrediti prisutnost *Campylobacter* spp. u ostalim dijelovima pilećeg mesa. Kako bi se izolirale bakterije *Campylobacter* spp. i utvrdio broj, metodom HRN EN ISO 10272 – 2:2017 sveukupno je pretraženo 120 uzoraka od kojih je 30 uzoraka kože vratova tovnihi pilića, 30 uzoraka svježih pilećih prsa bez kože, 30 uzoraka svježih pilećih krilaca, te 30 svježih pilećih bataka – zabataka. Uzorci su uzorkovani u tri klaonice sa područja sjeverozapadne Hrvatske. Ustanovljena prisutnost bakterija roda *Campylobacter* iznosila je 49,17%. Najveća prisutnost *Campylobacter* spp. utvrđena je kod uzoraka kože vratova tovnihi pilića (73,33%), zatim pilećih bataka – zabataka (53,33%), nakon toga slijede pileća krilca (46,67%), te pileća prsa bez kože (23,33%). Dobiveni rezultati ukazuju na visoku pojavnost kampilobaktera u svježem pilećem mesu što je u skladu s ostalim istraživanjima u Europskoj Uniji, te istraživanjima u drugim zemljama.

**Ključne riječi:** *Campylobacter* spp., pileće meso, kože vratova tovnihi pilića, kontaminacija, sigurnost hrane

## SUMMARY

### ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *Campylobacter* spp.. FROM CHICKEN MEAT

*Campylobacter* are ubiquitous microorganisms that cause the disease campylobacteriosis, the leading zoonosis in the world. Campylobacteriosis is considered primarily a gastrointestinal disease. In people with a healthy immune system, it manifests itself as a mild, self-limiting disease, with the appearance of watery and/or bloody diarrhea with the rare appearance of more severe complications. Mortality as a result of campylobacteriosis is rare and is most often recorded in immunocompromised persons, children and the elderly population. Poultry meat, especially fresh chicken meat, is considered the most important source of infection for humans. According to the legal regulations Commission Regulation (EU) 2017/1495 of August 23, 2017 amending Regulation (EC) no. 2073/2005 regarding bacteria from the genus *Campylobacter* in broiler carcasses, the control of *Campylobacter* spp. is carried out only in the neck skins as a process hygiene criterion where the prescribed limit value is 1000 cfu/g, therefore the purpose of this work is to determine the presence of *Campylobacter* spp. in other parts of chicken meat. In order to detect and enumerate *Campylobacter* spp., 120 samples, of which 30 samples were the skin of the necks of broiler chickens, 30 samples were fresh chicken breasts without skin, 30 samples were fresh chicken wings, and 30 fresh chicken drumsticks, were analyzed according to HRN EN ISO 10272 - 2:2017 method. The samples were sampled in three slaughterhouses from the area of northwestern Croatia. *Campylobacter* spp. prevalence was 49.17%. The highest presence of *Campylobacter* spp. was found in skin samples from the necks of broiler chickens (73.33%), followed by chicken drumsticks (53.33%), followed by chicken wings (46.67%), and skinless chicken breasts ( 23.33%). The obtained prevalence data indicate that contamination of fresh chicken meat, is in conformance with the average prevalence in the European Union, as well with studies in other countries.

**Key words:** *Campylobacter* spp., chicken meat, skins of broiler necks, contamination, food safety

Tema rada prihvaćena je na 7. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno – biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu za akademsku godinu 2021./2022. održanoj 26.04.2022. godine (ad 45).

Najiskrenije se zahvaljujem dragoj mentorici prof.dr.sc. Kseniji Markov sa Prehrambeno – biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na ukazanom povjerenju, strpljenju, razumijevanju, savjetima i pomoći tijekom izrade ovog rada.

Zahvaljujem se predstojniku Veterinarskog zavoda Križevci, akademiku Željku Cvetniću koji je vjerovao u mene, kao i ravnatelju Hrvatskog veterinarskog instituta prof.dr.sc. Borisu Habrunu.

Veliko hvala mojoj dragoj dr.sc. Vesni Jaki Tkalec na ogromnom razumijevanju koja je u svakom trenutku bila na raspolaganju svojim nesebičnim savjetima i pomoći, kao i svim dragim djelatnicima Laboratorija za mikrobiologiju hrane i hrane za životinje na razumijevanju i podršci.

Veliko hvala mojoj obitelji, suprugu i sinovima koji su svakog trena bili uz mene, pružali mi podršku i ohrabivali me kada je bilo najpotrebnije.

Ovaj završni specijalistički rad posvećen je mojim najdražima, mojoj obitelji i roditeljima.

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	4
2.1. Povijesni pregled .....	5
2.2. Značajke bakterija iz roda <i>Campylobacter</i> .....	6
2.2.1. Morfološke, uzgojne i biokemijske značajke.....	6
2.2.2. Patogenost .....	7
2.3. Izvor i rasprostranjenost <i>Campylobacter</i> spp. u prirodi .....	8
2.4. Prisutnost <i>Campylobacter</i> spp. u hrani.....	10
2.4.1. Pileće meso.....	11
2.4.2. Mlijeko, voće, povrće, voda .....	14
2.5. Karakterizacija opasnosti.....	15
2.5.1. Kampilobakterioza u ljudi.....	15
2.6. Kampilobakterioza u svijetu.....	17
2.6.1. Kampilobakterioza u Republici Hrvatskoj.....	18
2.6.2. Kampilobakterioza u Europskoj Uniji i svijetu.....	20
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	22
3.1. Materijal.....	23
3.1.1. Uzorci .....	23
3.1.2. Pribor i oprema.....	24
3.1.3. Hranjive podloge i reagensi.....	25
3.2. Metode .....	25
3.2.1. Određivanje broja kolonija <i>Campylobacter</i> spp.....	25
3.2.2. Verifikacija metode HRN EN ISO 10272-2:2017 .....	29
3.3. Statistička obrada podataka .....	30

4. REZULTATI.....	31
4.1. Rezultati statističke analize uzoraka.....	42
5. RASPRAVA.....	44
6. ZAKLJUČAK.....	51
7. LITERATURA.....	53
8. ŽIVOTOPIS .....	67
9. POPIS RADOVA .....	69

## **1. UVOD**

Zdravstveno ispravna hrana ima vodeću ulogu u kvaliteti života, te je kao takva nužna za pravilan rast i razvoj svakog pojedinca. Trovanja hranom kao posljedica kontaminacije hrane su u kontinuiranom porastu, kako u zemljama u razvoju, tako i u razvijenim zemljama zapada, te predstavljaju jedan od najvažnijih javnozdravstvenih problema u svijetu. Razlog tome su promjene načina života, promjene načina proizvodnje hrane, globalizacija opskrbe i dakako, sve veće industrijsko zagađenje okoliša iz kojeg kontaminanti mogu prijeći u hranu i tako dospjeti u organizam čovjeka (Capak, 2007). Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije (*engl. World Health Organisation - WHO*) (2007) bolesti koje se prenose hranom pojavljuju se znatno češće nego ikad prije. Smatra se kako je približno 30% svih novonastalih bolesti u proteklih 60 godina uzrokovano patogenima koji se uobičajeno prenose hranom (Jones i sur., 2008).

Bolest koju od 2005. godine prati trend porasta u Europskoj Uniji i svijetu je kampilobakterioza. Kampilobakterioza zauzima vodeće mjesto kao najčešće prijavljivana zoonoza koja se prenosi hranom u Europskoj Uniji i svijetu, predstavlja značajan problem u javnom zdravstvu te uzrokuje ogromne financijske gubitke (Silva i sur., 2011).

Najčešćim uzročnicima kampilobakterioze smatraju se *Campylobacter jejuni*, u mnogo manjoj mjeri *C. coli*, a moguće su i *C. lari* i *C. upsaliensis* kao i neke druge vrste kampilobaktera (Pate i Ocepek, 2015). Bakterije roda *Campylobacter* su zakrivljeni štapići nalik slovu „S“ ili galebovim krilima i spiralama i to u prigodi kad se dvije stanice ili više njih nalazi zajedno. Stanice kampilobaktera posjeduju bič na jednom ili na oba kraja stanice što im omogućuje živahno, uglavnom rotacijsko kretanje (Naglić i sur., 2005).

Glavnim rezervoarom kampilobaktera smatraju se toplokrvne životinje koji kao komenzal boravi na sluznicama njihovih probavnih organa. Kampilobakteri su ubikvitarno prošireni u prirodi, a u okoliš dospijevaju prije svega izmetom različitih vrsta sisavaca i ptica. Izolacija sojeva dokazana je iz velikog broja različitih izvora, koji uključuju vodu, zemlju, insekte, domaće i divlje sisavce, domaću perad i divlje ptice (Levin, 2007).

Smatra se kako je izvor zaraze najčešće nedovoljno termički obrađeno meso kontaminirano tijekom obrade, nepasterizirano mlijeko, voda zagađena izlučevinama inficiranih životinja, a



također do infekcije može doći izravnim kontaktom s inficiranom životinjom bilo profesionalno ili s kućnim ljubimcem (Kapperud i sur., 2003). Iako su kampilobakteri izolirani iz različitih namirnica, meso peradi smatra se glavnim izvorom ovog patogena, a kontaminacija pilećeg mesa široko varira u cijelom svijetu. Pileće meso predstavlja relativno jeftin izvor visokokvalitetnih bjelančevina, bogat esencijalnim aminokiselinama, vitaminima i mineralima, a proteklih godina konzumacija pilećeg mesa, kao i proizvoda podrijetlom od pilećeg mesa, često je vezana s brojnim slučajevima akutne kampilobakterioze, posebice u djece te starijih i imunokompromitiranih osoba (Mikulić i sur., 2016a).

U Republici Hrvatskoj se od 2009. godine provodi program praćenja bakterija roda *Campylobacter* u primarnoj proizvodnji i klaonicama kao pokazatelj higijene procesa iz koža vratova. Budući da se pileće meso ne pretražuje na bakterije roda *Campylobacter*, a postoji potreba s obzirom na visoku pojavnost kampilobakterioze kako u svijetu tako i u Republici Hrvatskoj cilj ovog rada bio je:

1. Standardiziranom metodom HRN EN ISO 10272 – 2:2017 u tri klaonice pilića na području sjeverne Hrvatske pretražiti uzorke koža vratova tovnih pilića, pilećih prsa bez kože, pilećih krilca i pilećih bataka – zabataka podrijetlom iz uzgoja u Republici Hrvatskoj kako bi se ustvrdio broj *Campylobacter* spp.
2. Rezultate usporediti sa dostupnim podacima istraživanja u znanstvenoj literaturi

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. Povijesni pregled

Bakterije roda *Campylobacter* klasificirane su prema slijedećem rasporedu u taksonomskoj shemi:

- Domena: bakterije
- Koljeno: proteobakterije
- Razred: epsilonproteobakterije
- Red: *Campylobacterales*
- Porodica: *Campylobacteriaceae*

Riječ *Campylobacter* dolazi od grčkih riječi „*kampýlos*“ što znači savijen i „*baktería*“ što znači štapić (Naglić i sur., 2005). Smatra se kako je prvo izvješće o enteropatogenim kampilobakterima 1884. godine napisao Theodore Escherich koji ih je izolirao iz uzorka fecesa pacijenta oboljelog od proljeva (Shulman i sur., 2007). Godine 1906. *Campylobacter* su izolirala dva britanska veterinara u sluzi maternice gravidne ovce te ih opisali kao “velik broj osebujnog organizma” (Skirrow, 2006; Zilbauer i sur., 2008). Nakon toga, 1913. godine te iste mikroorganizme izolirali su McFadyean i Stockman iz pobačenih govedih fetusa naziva *Vibrio fetus*. Kasnije 1927. godine Smith i Orcutt nazvali su skupinu bakterija, izoliranu iz izmeta goveda s proljevom, *Vibrio jejuni*. Sedamnaest godina kasnije, 1944., Doyle je izolirao vibrio iz izmeta svinja s proljevom i klasificirao ga kao *Vibrio coli* (Vandamme i sur., 2010). Naziv novog roda *Campylobacter* prvi su 1963. godine predložili Sebald i Véron (Skerman i sur., 1980). Nakon toga su iz roda *Vibrio* u rod *Campylobacter* svrstani *C. jejuni* i *C. sputorum*, dok *Vibrio coli* 1973. godine postaje *C. coli*. Od svog početka, taksonomska struktura roda *Campylobacter* doživjela je opsežne promjene, čak su neki dijelovi trenutne taksonomije roda i dalje predmet kontroverzi i zahtijevaju daljnje istraživanje (On, 2001; Debruyne i sur., 2005).

## 2.2. Značajke bakterija iz roda *Campylobacter*

### 2.2.1. Morfološke, uzgojne i biokemijske značajke

Bakterije roda *Campylobacter* su gram negativni mikroorganizmi, dužine 2 do 5  $\mu\text{m}$ , promjera 0,3  $\mu\text{m}$ . Kampilobakteri su obično tanki štapići, zavijeni poput zarezala nalik galebovim krilima, ponekad spiralni ili „S“ oblika. Posjeduju po jedan bič na jednom ili na oba kraja bakterijske stanice, čime im je omogućena pokretljivost (Cvetnić i sur., 2013).

Kampilobakteri su mikroaerofilne bakterije što znači da im za rast trebaju uvjeti sa smanjenom količinom kisika, odnosno atmosferski uvjeti sa približno 10%  $\text{CO}_2$ , 5%  $\text{O}_2$  i 85%  $\text{N}_2$  te se znatno razlikuje od ostalih patogenih uzročnika bolesti koje se prenose hranom (Humphrey i sur., 2007). S obzirom da su mikroaerofilne bakterije, preživljavanje *C. jejuni* u aerobnim uvjetima pripisuje se metaboličkom komenzalizmu s bakterijama roda *Pseudomonas* i stvaranju zaštitnog biofilma (Hilbert i sur., 2010). Poznato je da u njihovom preživljavanju važnu ulogu ima sposobnost stvaranja biofilma, gdje mogu opstati u okolišu i do 24 dana, zaštićeni od za njih nepovoljnih uvjeta, ali se ne mogu razmnožavati (Joshua i sur., 2006).

Većina kampilobaktera je termofilna, ali ih visoke temperature kao i temperatura pasterizacije brzo uništavaju. Dobro podnose niske temperature, pa tako 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 naldiksičnu kiselinu mogu rasti uz koncentraciju NaCl i do 4%. Metabolizam *Campylobactera* 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).

U tablici 1 prikazane su biokemijske značajke medicinski važnih kampilobaktera.

Tablica 1. Biokemijske značajke medicinski važnih kampilobaktera (Mlinarić Galinović i sur., 2003)

Vrste kampilobaktera	Rast na 15°C	Rast na 25°C	Rast na 42°C	Redukcija hipurata	Redukcija nitrata	Indoksil-acetat	Redukcija nitrita	Osjetljivost na nalidiksičnu kiselinu	Osjetljivost na cefalotin
<i>C. jejuni</i>	-	-	+	+	+	+	-	V	R
<i>C. jejuni p. doyllii</i>	-	-	-	V	-	+	-	S	S
<i>C. coli</i>	-	-	+	-	+	+	-	S	R
<i>C. lari</i>	-	-	+	-	+	-	-	R	R
<i>C. fetus p.fetus</i>	-	+	-	-	+	-	-	V	S
<i>C. helveticus</i>	-	-	+	-	+	+	V	S	S
<i>C. upsaliensis</i>	-	-	+	-	+	+	-	S	S
<i>C. sputorum</i>	-	-	+	-	+	-	+	R	S
<i>C. hyointestinalis</i>	-	-	+	-	+	-	-	R	S

### 2.2.2. Patogenost

Specifični mehanizmi virulencije još nisu jasno razjašnjeni za *Campylobacter* spp. vjerojatno zbog nedostatka sličnosti u patogenezi između kampilobaktera i drugih patogena. Čimbenici virulencije smatraju se pokretljivost posredovana flagelama, prijanjanje bakterija na crijevnu sluznicu, invazivna sposobnost i sposobnost proizvodnje toksina (Dastia i sur., 2010). Nakon ingestije, kampilobakteri prolaze kroz želudac i adheriraju te koloniziraju distalni dio ileuma i kolon. Kao posljedica adhezije na stanice crijevnog epitela dolazi do promjene u apsorpciji crijeva. Ovisno o soju kampilobaktera i imunološkom statusu domaćina, to može biti posljedica oštećenja epitelnih stanica invazijom i/ili produkcijom toksina ili izazivanjem upalnog odgovora domaćina (Vučković i Abram, 2009).

Invazija, koja uzrokuje staničnu upalu, vjerojatno je posljedica proizvodnje citotoksina, a praćena je smanjenjem apsorpcijske sposobnosti crijeva. Smatra se da je sposobnost ovog patogena da dospije u crijevni trakt djelomično posljedica otpornosti na želučane kiseline i žučne soli (Van Deun i sur., 2007).

### **2.3. Izvor i rasprostranjenost *Campylobacter* spp. u prirodi**

Sa epidemiološkog aspekta, kampilobakterioza je široko rasprostranjena zoonoza. Postoji mnogo izvora zaraze, najčešće je to 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 svakako njihova sposobnost brze prilagodbe na različite uvjete okoliša zahvaljujući hipervarijabilnosti genetskog materijala (Miller i Mandrell, 2005; Gutić, 2015).

Uzročnici kampilobakterioze ljudi najčešće su *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* i *C. upsaliensis* koji se još nazivaju i termofilni kampilobakteri jer rastu pri temperaturama od 41°C do 43°C, ali ne pokazuju odlike pravih termofila budući da ne rastu na temperaturama od 55°C i višim (Levin, 2007). Termofilni kampilobakteri izolirani su iz različitih vodenih sustava, uključujući rijeke, jezera i potoke. Njihova prisutnost u rijekama, potocima, i jezerima pokazatelj je nedavnog zagađenja izmetom divljih ptica i/ili stoke odnosno kanalizacijskih i/ili poljoprivrednih otpadnih voda, a pojavnost je povremena i sezonski varira. U vodi mogu preživjeti duže od četiri mjeseca pri temperaturi od 4°C, ali nije dokazana mogućnost razmnožavanja (Jones, 2001). Smatra se da zaštitnu ulogu u njihovu preživljavanju u različitim vodenim sustavima imaju protozoe (Snelling i sur., 2006).

Važnim vektorima u prijenosu se smatraju insekti, posebno kućna muha koja može unositi i širiti mikroorganizme u uzgojima peradi (Hald i sur., 2008) kao i glodavci koji se nalaze unutar ili van nastambi za tov pilića (Meerburg i Kijlstra, 2007).

Kampilobakteri su široko rasprostranjeni među populacijama divljih ptica čijim izmetom dospijevaju u okoliš. Ujedno se smatra da su i glavni izvor u prirodi s obzirom da temperatura tijela u većini ptica iznosi između 40°C – 44°C (Ketley, 1997).

*Campylobacter jejuni* je kao komezal prisutan u crijevu mnogih domaćih i divljih životinja, sisavaca i ptica. U cecalnom sadržaju domaće peradi posebice kokoši može sadržavati i do 10<sup>8</sup> CFU/g (engl. Colony forming unit/gram) ovog mikroorganizma (Rosenquist i sur., 2006). Pojedine vrste kampilobaktera imaju različiti afinitet prema biološkim vrstama. Tako *C. jejuni* ima najširi raspon te ga se izdvaja kod stoke, peradi, mačaka, pasa i glodavaca. *C. coli* nalazi se kod svinja, dok je *C. lari* endemski kod galebova, poglavito vrste *Larus*, a može se naći i u školjkama. *C. upsaliensis* je nađen uglavnom kod pasa, dok *C. fetus* može prouzročiti sistemne infekcije u ljudi i djece s oslabljenim imunitetom, a neke njegove podvrste su pripadnici probavnog i spolnog sustava stoke, peradi i gmazova (Mlinarić Galinović, i sur., 2003). *C. upsaliensis* čest je laboratorijski nalaz u fecesu kako bolesnih, tako i u zdravih pasa i mačaka, s mogućim rasponom prevalencije od 5%-66% u mačaka, te 5%-48% u pasa (Hald i Madsen, 1997). Iako je u peradi zabilježena vrlo niska stopa kolonizacije s *C. upsaliensis*, također se smatra mogućim rezervoarom i uzročnikom kampilobakterijskog enteritisa ljudi (Labarca i sur., 2001). Svinje se često u literaturi navode kao glavni izvor vrste *C. coli*, i smatra se da je ta vrsta, odnosno njeni određeni genotipovi posebno prilagođeni okolišu u farmama svinja, a utvrđena prevalencija u uzgojima svinja može iznositi i do 100% (Sáenz i sur., 2000).

Tablica 2. Prikaz najvažnijih vrsta iz roda *Campylobacter*, nositelja i infekcija koje izazivaju (Cvetnić, 2013)

Vrsta	Nositelj	Obitavalište
<i>Campylobacter coli</i>	svinja čovjek	prisutan u crijevima uzrokuje enterokolitis
<i>Campylobacter helveticus</i>	pas, mačka	prisutan u izmetu
<i>Campylobacter hyoileri</i>	svinja	prisutan u izmetu
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	svinja	prisutan u izmetu
<i>Campylobacter lari</i>	pas, ptice i druge životinje čovjek	prisutan u izmetu može uzrokovati enteritis
<i>C. jejuni subsp. doyle</i>	čovjek	izdvojen iz kliničkih uzoraka
<i>Campylobacter mucosalis</i>	svinja	prisutan u izmetu
<i>C. sputorum biovar sputorum</i>	govedo, ovca	prisutan u spolnom sustavu
<i>C. sputorum biovar fecalis</i>	ovca, govedo govedo	prisutan u probavnom i spolnom sustavu izdvojena u slučajevima digitalnog dermatitisa
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	psi, mačke čovjek	prisutan u izmetu, dokazan u slučajevima s dijarejom može uzrokovati dijareju u djece
<i>Campylobacter lanienae</i>	svinja, govedo čovjek	prisutan u izmetu zdravih svinja i goveda i mesu junadi prisutan u izmetu ljudi

#### 2.4. Prisutnost *Campylobacter* spp. u hrani

Izvori infekcije kampilobakterioze su višestruki. Termički neobrađene ili nedovoljno obrađene namirnice životinjskog podrijetla, nepasterizirano mlijeko i proizvodi od nepasteriziranog mlijeka, jaja, kontaminirana voda itd. Hrana se može onečistiti primarno i sekundarno. Primarno kontaminirane namirnice potječu od zaražene životinje, primjerice mlijeko i jaja. Do sekundarne kontaminacije namirnica najčešće dolazi u klaonicama, mesnicama i kuhinjama uslijed križne kontaminacije nečistim priborom, stolovima za obradu namirnica, radnih površina itd. Također, bolesnik ili kliconoša svojim rukama može kontaminirati hranu, kao i kontakt s izmetom pasa, mačaka, ptica i ostalih životinja koje mogu biti izvor bakterija roda *Campylobacter*. Značajan udio bolesti povezanih s mesom peradi



pripisuje se lošim higijenskim navikama u kuhinjama kućanstava (Bolton i sur., 2014). Temeljito čišćenje radnih površina, suđa i pribora uz korištenje deterdženata, vruće vode i dezinficijensa važan su proces kako bi se razina kampilobaktera u kuhinji smanjila na najmanju moguću mjeru (de Jong i sur., 2008). Istraživanja su pokazala kako primjena ružmarina u kuhinji pomaže smanjivanju broja *C. jejuni* u pilećem mesu (Abramović i sur., 2012), dok primjena češnjaka djeluje inaktivirajuće na stanice kampilobaktera (Lu i sur., 2012).

#### **2.4.1. Pileće meso**

Pileće meso predstavlja značajan izvor visokokvalitetnih proteina u većini zemalja, bogato je esencijalnim aminokiselinama te vitaminima i mineralima. Međutim, konzumacija piletine i pilećih proizvoda često se povezuje s velikim brojem izbijanja akutne kampilobakterioze u ljudskoj populaciji diljem svijeta, kako u industrijaliziranim zemljama tako i u zemljama u razvoju, a posebno kod djece, starijih osoba i pacijenata s oslabljenim imunitetom (Corry i Atabay, 2001). Probavni trakt kokoši, posebno cekum (slijepo crijevo) i debelo crijevo, mogu sadržavati veliki broj *Campylobacter* spp. Tijekom obrade, crijevni trakt može procuriti ili puknuti i na taj način kontaminirati površinske dijelove mesa i kožu (Berrang i sur., 2001). Svježa piletina može učestalo biti kontaminirana bakterijama roda *Campylobacter*, često s prevalencijom višom od 50% (Wilson, 2002). Također broj kampilobaktera na svježem pilećem trupu može iznositi i više od  $10^8$  CFU/g (Jorgensen i sur., 2002). Neka istraživanja su pokazala kako je rast kampilobaktera moguć na pilećoj koži koja je pohranjena na sobnoj temperaturi u pakiranju s kontroliranom atmosferom. S time se povećava rizik za potrošače ako se kontaminirana piletina ne skladišti ili se njome ne rukuje na odgovarajući način (Lee i sur., 1998; Scherer i sur., 2006). Od izrazite važnosti u sprječavanju pojave kampilobakterioze je poštivanje načela ispravnog skladištenja kuhanih jela gotovih za konzumiranje, što se odnosi na skladištenje pri temperaturama višim od 63°C, ili skladištenje pravilnim brzim hlađenjem u cilju sprječavanja rasta patogenih mikroorganizama pri temperaturama od 5°C ili niže. U koži pilećeg mesa, u odnosu na samo meso, bakterije preživljavaju u većem broju pri temperaturama od 4°C tijekom 11 dana u

odnosu na temperaturu od -3°C tijekom 11 dana, tj. prevalencija bakterija veća je u proizvodima od pilećeg mesa s kožom nego u otkoženom mesu (Davis i Coner, 2007).

#### **2.4.1.1. Kolonizacija peradi bakterijama iz roda *Campylobacter***

Smatra se kako je intenzivan uzgoj peradi, prije svega brojlera, glavni izvor kampilobakterioze. Neprestanom razmnožavanju ovih bakterija u probavnom sustavu peradi omogućuju mikroaerofilni uvjeti i temperatura tijela od oko 42°C (Mikulić, 2006b). Kampilobakteri su prisutni u jatima koja se drže na otvorenom, kao i u jatima uzgojenim na ekološki način, gdje prevalencija može iznositi i do 100% (Vandeplass i sur., 2010). Netom izvaljeni pilići su slobodni od kampilobaktera, a važnu ulogu u zaštiti pilića od kolonizacije tijekom prvih nekoliko tjedana života imaju kampilobakter – specifična majčinska protutijela (Sahin i sur., 2003). Većina pilića podliježe kolonizaciji nakon što uđu u uzgojne objekte, ali obično ne pokazuju kliničke simptome (Newel i Fearnley, 2003). U literaturi se spominju dva prijenosa kampilobaktera, horizontalni i vertikalni prijenos. Smatra se kako je horizontalni prijenos najznačajniji uzrok kolonizacije jata tovnih pilića, a dokazano je kako je okoliš najčešći izvor kolonizacije (Bull i sur., 2006). Jedan o faktora prijenosa kampilobaktera u jatima su radnici na farmama koji ne mijenjaju odjeću i obuću prilikom utovara i istovara novo pristiglih pilića. Vertikalni prijenos nije do kraja razjašnjen jer netom izvaljeni pilići koji su potjecali od sigurno pozitivnih roditeljskih jata nisu kolonizirani (Berndtson i sur., 1996). Ukoliko perad pije zagađenu vodu, većina će ih biti zaražena unutar sedam dana. Ovako brz prijenos događa se jer infektivna doza za perad iznosi svega 35 stanica (Miller i Mandrell, 2005). Do naseljavanja bakterija u crijevima tovnih pilića najčešće dolazi od 2. do 5. tjedna starosti, pri čemu izlučivanje putem izmeta traje tjednima, a da životinja ne pokazuje nikakve znakove bolesti (Waldenström i sur., 2002; Zglavnik i Sokolović, 2009). Međutim, osim tijekom uzgoja pilića, do kontaminacije kampilobakterima može doći i tijekom klanja, pri čemu su glavne kritične točke za kontaminaciju trupova prilikom čupanja, evisceracije i prilikom pranja.

#### 2.4.1.2. Smanjenje rizika

Kako bi se doprinijelo čim većoj zaštiti jata od kolonizacije kampilobakterom, od presudne je važnosti pridržavanje svih biosigurnosnih i higijenskih mjera, pravilno čišćenje i dezinfekcija objekata. Kao preventivnu mjeru u sprječavanju kampilobakterioze na farmi, spominje se mogućnost obrade stelje pripravcima Al – sulfata ili Na – biosulfata što dovodi do smanjenja vlažnosti stelje i nepovoljnih uvjeta za daljnje održavanje bakterija (Line, 2002). Budući da su kampilobakteri česti kod divljih i domaćih životinja, a time i u okolišu, važno je minimizirati kontaminaciju objekata za uzgoj pilića iz takvih izvora. Postavljanje higijenskih barijera između vanjskog i unutarnjeg okruženja, kao što je kontrola ulaska osoblja na farmi, stroge higijenske mjere kao što su pranje i dezinfekcija ruku, mijenjanje čizama i kombinezona prije ulaska, pokazali su se učinkovitim. Isto tako uporaba probiotika i zakiseljivača u hrani za životinje smatra se prikladna u prevenciji kampilobakterioze u jatima peradi jer pomažu pri uspostavi optimalne kompetitivne antagonističke mikroflore u mlade peradi (Mead, 2002). Preporuka je smanjiti prisutnost glodavaca i insekata te ograničiti kontakt s divljim pticama.

Uzgoj pilića u sustavu slobodnog držanja ima puno veći rizik od infekcije u usporedbi s konvencionalnom proizvodnjom i stoga povećane poteškoće u kontroli (Humphrey i sur., 2007). Kako bi se izbjegla moguća kontaminacija pilećeg mesa prilikom klaoničke obrade od izuzetne je važnosti održavati higijensko – sanitarne mjere, održavati higijensku čistoću osoblja, opreme kao i prijevoznih sredstava. Tretiranje vodom na temperaturama iznad 60°C uzrokuje smanjenje broja bakterija, međutim, povećava se tijekom čupanja kada može doći do križne kontaminacije. Porast broja bakterija može se dodatno povećati tijekom evisceracije zbog izlivanja crijevnog sadržaja (Facciolá i sur., 2017). Jedna od učinkovitih mjera kontrole kampilobaktera u klaoničkim objektima je odvajanje pozitivnih i negativnih brojerskih jata prije ulaska u pogone te njihova odvojena klaonička obrada u samim pogonima. U slučajevima proizvodnje već onečišćenog mesa u cilju značajnog smanjenja broja kampilobaktera preporučuje se mjera naknadnog smrzavanja mesa (Wagenaar i sur., 2006). Odvajanje i uklanjanje kože od mesa trupova dovodi do značajnih smanjenja u broju kampilobaktera (Berrang i sur., 2002) jer 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). Uklanjanje kloake brojlera prije ulaska trupova u tankove za šurenje pokazalo se kao pozitivna mjera u redukciji broja onečišćenih pilećih trupova (Musgrove i sur., 1997). Neka od istraživanja ukazuju na smanjenje broja kampilobaktera, primjerice povećanje koncentracija klora u procesnoj vodi (Mead i sur., 1995), uporaba vodenih sprejeva s 1% mliječne kiseline (Cudjoe i sur., 1991) kao i uranjanje trupova u 10%-tnu tri-natrij-fosfatnu otopinu vode koja dovodi do 1,7 log<sub>10</sub>/g smanjenja broj *Campylobacter* spp. (Whyte i sur., 2001). Svakako se preporuča odgovarajući odmor objekta.

#### **2.4.2. Mlijeko, voće, povrće, voda**

Nepasterizirano kravlje mlijeko i mliječni proizvodi uobičajeni su prijenosnici *Campylobacter* spp. Slučajevi kampilobakterioze potvrđeni su u Los Angelesu i u Ujedinjenom Kraljevstvu uslijed konzumacije sirovog mlijeka. Iako su po prirodi termotolerantni, kampilobakteri se lako inaktiviraju toplinskom obradom i ne preživljavaju postupak pasterizacije i uobičajene kulinarske procedure (Konkel i sur., 1998). Kampilobakteri su osjetljivi na više temperature te će ih inaktivirati temperatura pasterizacije primjenjiva za svježe mlijeko (pri 60°C – 70°C tijekom minimalno 16,2 sekunde) (D'aoust i sur., 1988). Brojna istraživanja pokazala su prisutnost *C. jejuni* i *C. coli* u salati, špinatu, rotkvici i grašku. Također konzumacija voća i povrća, naročito pakiranog, važan je čimbenik rizika za kampilobakteriozu. (Facciola i sur., 2017).

## 2.5. Karakterizacija opasnosti

### 2.5.1. Kampilobakterioza u ljudi

Kampilobakterioza je zoonoza prenosiva putem lanca hrane, a glavni izvor zaraze smatra se pileće meso budući da su kampilobakteri komenzali u probavnom sustavu peradi (Kaakoush i sur., 2015). Kampilobakteriozu uzrokuju *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari* i *C. upsalinesis*. Najčešće zabilježen je *C. jejuni* (80%-85% slučajeva), zatim *C. coli* (10%-15% slučajeva), dok su najmanje zastupljeni *C. lari*, *C. fetus* i *C. upsaliensis* (Cvetnić, 2013). Infekcije kod ljudi najčešće su posljedica konzumiranja nedovoljno termički obrađenog pilećeg mesa (*C. jejuni*) ili svinjskog mesa (*C. coli*) kontaminiranog prilikom obrade, nepasteriziranog mlijeka ili vode zagađene ekskretima inficiranih životinja (Vučković i Abram, 2009).

Prema nekim ranijim istraživanjima ustanovljeno je da infektivna doza za *C. jejuni* iznosi 500 CFU/g (Robinson, 1981), dok su Black i sur. (1988) na zdravim dobrovoljcima potvrdili infektivnu dozu od 800 CFU/g. Dobivene vrijednosti sukladnih uzoraka nisu zanemarive uzimajući u obzir infektivnu dozu koja može ovisiti o fizičkom statusu i dobi pacijenta. Neka od istraživanja pokazuju kako konzumacija kontaminirane hrane koja sadrži i manji broj bakterija od navedenog može kod nekih osjetljivih pojedinaca uzrokovati bolest, dok kod nekih ta doza mora biti višestruko veća (Marinculić i sur., 2009; Levak, 2015). Smatra se kako češće obolijevaju mladi muškarci u odnosu na istu starosnu skupinu žena, što se povezuje s navikama u postupanju hranom (Altekruse i sur., 1999). Od kampilobakterioze najčešće obolijevaju imunokompromitirane osobe, djeca i starije osobe (Marinculić i sur., 2009).

Sezonska pojavnost važna je u samoj epidemiologiji kampilobakterioze. Smatra se kako svoj vrhunac u područjima umjerene klime doseže u kasno proljeće i rano ljeto (Nylen i sur., 2002). Neka od objašnjenja sezonske pojavnosti svakako su pojava migracije divljih ptica, pojava većeg broja kućnih muha i ostalih insekata kao i povezanost s porastom kontaminiranog pilećeg mesa tijekom navedenog vremenskog razdoblja (Humphrey i sur.,

2007). Osim toga, promjene u ljudskim aktivnostima tijekom toplijeg doba poput roštiljanja kao i ostala događanja koja su vezana za boravak i rekreaciju u prirodi jedan su od objašnjenja sezonske pojavnosti kampilobaktera (Nylen i sur., 2002). Također, kampilobakterioza je učestalija ljeti jer više temperature pogoduju rastu uzročnika ove bolesti (Patrick i sur., 2004).

#### **2.5.1.1. Klinička slika**

Kampilobakterioza je crijevna infekcija koja se pojavljuje kao akutna dijareja. Zaraza se u ljudi očituje već nakon 1 – 7 dana inkubacije. Klinička slika varira od blagih enterokolitisa do težih oblika bolesti. Kod osoba zdravog imunološkog sustava bolest je samo ograničavajuća i najčešće se očituje proljevom, vrućicom i abdominalnim grčevima, moguća je glavobolja i mijalgija. Tjelesna temperatura je najčešće umjereno povišena, no može biti i do 40°C i trajati do tjedan dana (Butzler, 2004). Pacijenti mogu izlučiti uzročnika fecesom i do nekoliko tjedana nakon infekcije. Bolest je teško klinički razlikovati od ostalih akutnih crijevnih infekcija poput salmoneloze i šigeloze, pa se konačna dijagnoza temelji na dokazu bakterija u fecesu bolesnika (Blaser, 1997). Naknadne posljedice mogu nastati kao komplikacija gastroenteritisa te rijetko zbog pretjerane imunološke reakcije organizma. Leukociti i eritrociti mogu se naći u stolici inficiranih osoba u 75% slučajeva. *Campylobacter* spp. najprije prijanja uz epitelne stanice jejunuma, ileuma i kolona, kolonizira crijevo, a potom napada epitelne stanice, te dovodi do njihova oštećenja. Uz intestinalne bolesti, kampilobakteri mogu uzrokovati i infekcije drugih organskih sustava, meningitis, pankreatitis, septični artritis (Vučković i sur., 2007). Kliconoštvo može trajati prosječno 14 dana, kod dojenčadi i duže. Usljed infekcije kampilobakterima mogu se razviti teži oblici bolesti kao što su Guillain-Barréov sindrom (GBS), reaktivni artritis (REA) i sindrom iritabilnog crijeva. Miller Fisherov sindrom, varijanta GBS-a, također može biti povezan s prethodnom infekcijom kampilobakterima (Facciolá i sur., 2017). Smrtnost kao posljedica kampilobakterioze je rijetka i zabilježena je najčešće kod imunokompromitiranih pacijenata, djece i starijih osoba. Slučajevi su najčešće sporadične prirode, dok su izbijanje zaraze rijetka i dovode se u vezu s konzumacijom sirovog mlijeka (Wood i sur., 1992) i zagađenim vodama (Andersson i sur., 1997). *C. jejuni* kod trudnica može uzrokovati spontani pobačaj ili prerani porod, perinatalnu sepsu i neonatalni meningitis (Jansen i sur., 2008). Moguće su fekalno –

oralne zaraze, uglavnom među djecom. Epidemiološka istraživanja pokazuju da se kao rezultat infekcije može razviti imunitet, koji može spriječiti nastanak simptoma bolesti, ali neće nužno djelovati u sprječavanju kolonizacije. Otpornost se pojavljuje u osoba koje su profesionalno izložene kampilobakterima, poput doktora veterinarske medicine, radnika na farmi ili u klaonicama (Wassenaar i Blaser, 1999.; Levak, 2015).

### **2.5.1.2. Liječenje**

Bolest se dijagnosticira na temelju bakteriološke pretrage i identifikacije uzročnika. Liječenje kampilobakterioze kod ljudi je simptomatsko, te se kao i kod svih crijevnih oblika bolesti preporuča nadoknada tekućine i elektrolita. Prilikom težih oblika bolesti koriste se antibiotici i to eritromicin, azitromicin i fluorokinoloni.

Bitne mjere za prevenciju kampilobakterioze svakako su veterinarsko – zdravstveni nadzor na farmama, klaonicama, zdravstveni nadzor u prehrambenoj industriji, kao i sanitacija vodoopskrbnih objekata.

Korištenje antibiotika u uzgoju životinja više nije prihvatljiv pristup budući da je to dovelo do pojave sojeva otpornih na antibiotike, ozbiljno ograničavajući učinkovitost antibiotika u liječenju ljudskih bolesti. Međutim, uporaba prebiotika i probiotika, tj. složenih polisaharida i sojeva bakterija mliječne kiseline, pokazala se učinkovitom (Hariharan i sur., 2004) i mogla bi se dalje ispitivati.

## **2.6. Kampilobakterioza u svijetu**

Infekcije vrstama *Campylobacter* proširene su po cijelome svijetu. Prema literaturnim podacima, u Americi se godišnje inficira oko 2 do 3 milijuna ljudi, a procjenjuje se da u zapadnoj Europi godišnje oboli oko 1% ljudi. Procjenjuje se da su *C. jejuni* i *C. coli* u svijetu uzročnici 5% do 14% dijareja. Na Novom Zelandu je vrlo visoka incidencija (578/100 000) djece u dobi od 1. do 4. godine oboljele od kampilobakterioze. Smatra se da su otvorena

igrališta na kojima borave divlje ptice česti izvor infekcije koje svojim fekalijama kontaminiraju taj prostor. U Japanu su opisani pobačaji i smrt novorođenčadi prouzročeni infekcijom žena s *C. fetus. subs. fetus*, a kao mogući se izvor uzročnika navodi sirovo mlijeko, govedina, te u jednom slučaju i pas (Cvetnić i sur., 2013).

### **2.6.1. Kampilobakterioza u Republici Hrvatskoj**

Prvi radovi o kampilobakteriozi u ljudi u Hrvatskoj počinju se pojavljivati 1982. godine, te se njima ova bolest obrađuje s mikrobiološkog i epidemiološkog gledišta. Prema rezultatima niza radova od 1982. do 1989. godine, epidemiološka obilježja bolesti kod nas odgovaraju onima u razvijenim zemljama, no epidemiološku osobitost kampilobakterioze na zagrebačkom području čini relativno češća pojava infekcija s *C. coli* u seoskim sredinama, gdje je incidencija tih infekcija 4 puta veća nego u četvrtima gradskog središta te 2 puta veća nego u perifernim dijelovima grada (Popović – Uroić, 1989.; Balen Topić, 2007).

U razdoblju od 1994. do 2002. godine u klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zagreb kampilobakterioza je dokazana u 1632 bolesnika, kojima su iz uzoraka stolica izdvojene bakterije iz roda *Campylobacter* kao uzročnik bolesti. *C. jejuni* je izdvojen kod 170 bolesnika (71,7 %), dok je *C. coli* izdvojen kod 462 bolesnika (28,3 %). Najveći broj oboljelih zabilježen je kod djece mlađe od tri godine, zatim u starosnoj skupini 18-28 godina. U svim skupinama prevladavaju muškarci osim u onoj s bolesnicima starijim od 60 godina. Najveći broj oboljelih i hospitaliziranih je tijekom lipnja i kolovoza s time da se bolest javila sporadično u njih 83,9% te u 13,1% bolesnika nakon inozemnih putovanja (Balen Topić, 2007).

U Republici Hrvatskoj, humana kampilobakterioza se obavezno prijavljuje od 2007. godine. Prema posljednjim javno dostupnim podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) u 2020. godini prijavljeno je 1082 slučajeva humane kampilobakterioze (HZJZ, 2020). U tablici 3 prikazan je broj prijavljenih slučajeva kampilobakterioze u Republici Hrvatskoj u razdoblju od 2011. do 2020. godine.



Tablica 3. Broj prijavljenih slučajeva kampilobakterioze u Republici Hrvatskoj u razdoblju od 2011. do 2020. godine

<b>GODINA</b>	<b>2011.</b>	<b>2012.</b>	<b>2013.</b>	<b>2014.</b>	<b>2015.</b>	<b>2016.</b>	<b>2017.</b>	<b>2018.</b>	<b>2019.</b>	<b>2020.</b>
<b>BROJ OBOLJELIH U REPUBLICI HRVATSKOJ</b>	1 345	1 370	1 379	1 647	1 393	1 539	1 694	1 971	1 732	1 082

U Republici Hrvatskoj, od 2011. godine pa sve do 2018. godine broj oboljelih od kampilobakterioze je bio u blagom porastu, dok se u 2019. i 2020. godini bilježi pad broja oboljelih od kampilobakterioze.

## 2.6.2. Kampilobakterioza u Europskoj Uniji i svijetu

U zemljama članicama Europske Unije, od 2011. godine pa sve do 2018. godine broj oboljelih od kampilobakterioze je bio u blagom porastu, dok se u 2019. i 2020. godini bilježi pad broja oboljelih (tablica 4).

Tablica 4. Broj prijavljenih slučajeva kampilobakterioze u Europskoj uniji u razdoblju od 2011. do 2020. godine

<b>GODINA</b>	<b>EUROPSKA UNIJA</b>
<b>2011.</b>	220 209
<b>2012.</b>	214 268
<b>2013.</b>	214 779
<b>2014.</b>	236 851
<b>2015.</b>	229 213
<b>2016.</b>	246 307
<b>2017.</b>	246 158
<b>2018.</b>	246 571
<b>2019.</b>	220 682
<b>2020.</b>	120 946

U 2020. godini 27 država članica Europske Unije (EU) prijavilo je 120 946 potvrđenih slučajeva kampilobakterioze kod ljudi, što odgovara stopi prijavljivanja u EU od 40,3 slučaja na 100 000 stanovnika. Za većinu (98,5%) prijavljenih slučajeva kampilobakterioze poznatog podrijetla, izvor zaraze je u EU. Devetnaest zemalja prijavilo je podatke o uvozu slučajeva. Udio domaćih slučajeva s poznatim podacima bio je preko 95% u svim zemljama osim u nordijskim zemljama, koje su prijavile najveći udio slučajeva povezanih s putovanjem: Finska

(49,2%), Švedska (25,6%), Danska (10,3%), Island (16,5%) i Norveška (14,8%). Od 2676 slučajeva povezanih s putovanjem među članicama Europske Unije s poznatom zemljom infekcije, 1090 slučajeva (40,7%) bilo je povezano s putovanjem unutar EU-a, a većina infekcija stečena je u Španjolskoj, Hrvatskoj, Francuskoj i Austriji. Tajland, Indija, Maroko i Indonezija bile su najčešće prijavljene zemlje vjerojatne infekcije izvan EU. Slučajevi kampilobakterioze prijavljeni su u svim dobnim skupinama, a najveći udio prijavljenih slučajeva pripada najmlađoj dobnj skupini od 0 do 4 godine (15,6%). Između 2011. i 2020. godine broj potvrđenih slučajeva kampilobakterioze prijavljenih u EU-u pokazao je jasan sezonski trend, s vrhuncem u ljetnim mjesecima. Najveći broj oboljelih tijekom zimskih mjeseci bilježi se u siječnju od 2011. do 2020. godine, iako je broj slučajeva manji od onih zabilježenih tijekom ljeta. U 2020. zabilježen je pad broja slučajeva, osobito u ožujku i travnju, vjerojatno zbog pandemije COVID-19. Međutim, ukupni trend kampilobakterioze u razdoblju od 2016. do 2020. godine pokazao je nestatistički značajan porast ili pad. Finska, Mađarska, Poljska, Slovenija i Švedska zabilježile su trendove značajnog pada ( $p < 0,01$ ) tijekom razdoblja od 2016. do 2020. godine. Latvija i Italija izvijestile su o značajno rastućim trendovima u istom razdoblju. Podaci o statusu hospitalizacije pruženi su za 33,9% svih slučajeva kampilobakterioze od strane 14 članica EU u 2020. godini, a ukupno je hospitalizirano 21% slučajeva. U 2020. godini prijavljeno je 45 smrtnih slučajeva od kampilobakterioze, što je rezultiralo stopom smrtnosti u EU od 0,05%. Prosječni postotak smrtnih ishoda ostao je nepromijenjen u posljednjih 5 godina. Informacije o spolu prikazane su za 120 514 potvrđenih slučajeva u EU: 54,1% bili su muškarci, a 45,9% žene. 20 država članica dostavilo je podatke o izolatima kampilobaktera za 64,7% potvrđenih slučajeva prijavljenih u EU-u. Od ovih slučajeva, 88,1% odnosilo se na *C. jejuni*, 10,6% *C. coli*, 0,16% *C. fetus*, 0,11% *C. upsaliensis* i 0,09% *C. lari*. Druge bakterije iz roda *Campylobacter* činile su 0,94% slučajeva, no većina tih slučajeva prijavljena je na nacionalnoj razini kao '*C. jejuni/C. coli/C. lari* - nediferenciran'. Belgija, Bugarska, Danska, Grčka, Litva, Luksemburg i Švedska nisu dale nikakve informacije o vrsti (EFSA, 2021).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. Materijal

#### 3.1.1. Uzorci

Istraživanje je provedeno na ukupno 120 uzoraka od kojih je 30 uzoraka kože vratova tovnihi pilića, 30 uzoraka svježih pilećih prsa bez kože, 30 uzoraka svježih pilećih krilaca, te 30 uzoraka svježih pilećih bataka - zabatak. Uzorci su uzorkovani u tri klaonice (tablica 5). Navedeni uzorci podrijetlom su od različitih proizvođača mesa peradi sa područja sjeverozapadne Hrvatske. Uzorci su dostavljeni u laboratorij u prijenosnom hladnjaku uz održavanje temperaturnog režima te su istog dana stavljeni u obradu.

Tablica 5. Broj prikupljenih uzoraka prema mjestu uzorkovanja

	KLAONICA 1	KLAONICA 2	KLAONICA 3	UKUPNO
<b>Koža vratova tovnih pilića</b>	10	10	10	<b>30</b>
<b>Pileća prsa bez kože</b>	10	10	10	<b>30</b>
<b>Pileća krilca</b>	10	10	10	<b>30</b>
<b>Pileći batak - zabatak</b>	10	10	10	<b>30</b>
<b>UKUPNO</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>120</b>

### 3.1.2. Pribor i oprema

Pribor i oprema koji su korišteni prilikom uzorkovanja i obrade uzoraka:

- sterilne vrećice za uzorkovanje
- sterilne škare
- rukavice
- zaštitna odjeća i obuća
- prijenosni hladnjak
- sterilne vrećice za homogenizaciju
- sterilne pipete
- sterilni L štapići
- sterilne mikrobiološke ušice
- termostati 25°C, 41,5°C (Mettler, Njemačka)
- oprema za postizanje mikroaerofilnih uvjeta (GENbox microaer – Biorad, Francuska i posuda)
- vortex
- predmetna stakalca i pokrovnice
- mikroskop (Zeiss, Njemačka)

### **3.1.3. Hranjive podloge i reagensi**

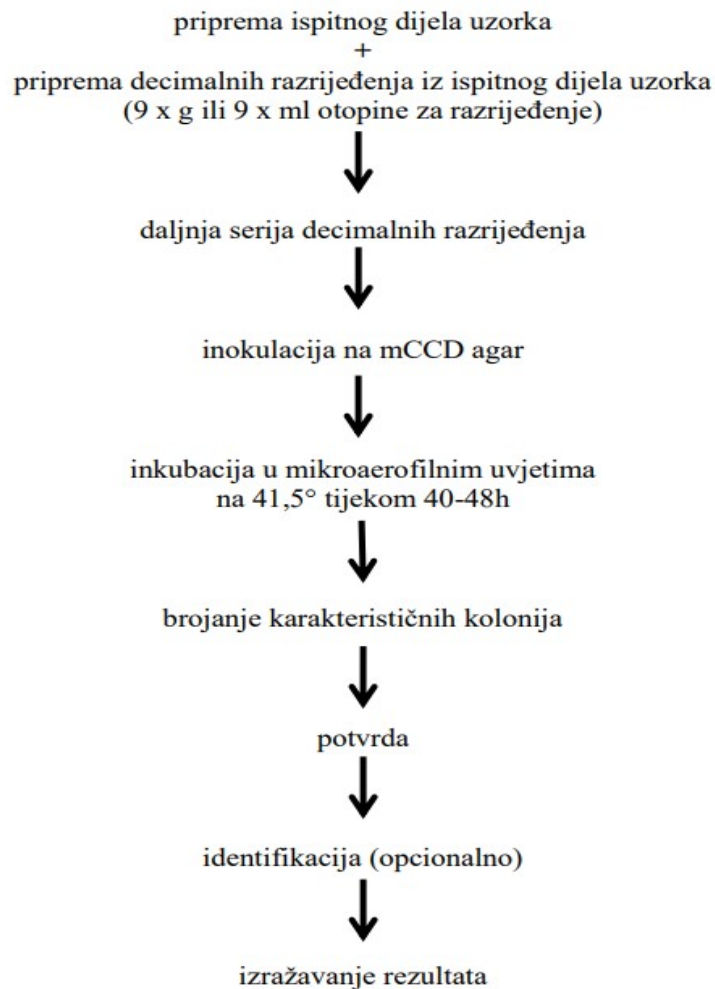
Priprema i provjera sastava hranjivih podloga kao i provjera u svrhu osiguranja kvalitete provode se u Laboratoriju za pripremu podloga i sterilizaciju u Veterinarskom zavodu Križevci. Za istraživanje su korišteni:

- puferirana peptonska voda (BPV - engl. *buffered peptone water*, Biokar, Francuska)
- fiziološka otopina (priprema u Veterinarskom zavodu Križevci, NaCl – GramMol, Republika Hrvatska)
- mCCDA (engl. *modified charcoal cefoperazone deoxycholate agar*, Oxoid,UK)
- Columbia agar (priprema u Veterinarskom zavodu Križevci, krv – Biognost, Republika Hrvatska)
- oksidaza test (Merck, Njemačka)
- katalaza (priprema u Veterinarskom zavodu Križevci, vodikov peroksid – Kemika, Zagreb, Republika Hrvatska)
- anisol (Merck, Francuska)

## **3.2. Metode**

### **3.2.1. Određivanje broja kolonija *Campylobacter* spp.**

Za izdvajanje i određivanje broja kolonija korištena je standardna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Campylobacter* spp. prema ISO normiranoj metodi (slika 1) i to Mikrobiologija u lancu hrane -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Campylobacter* spp. -- 2. dio: Postupak određivanja broja kolonija, oznake HRN EN ISO 10272 – 2:2017 (međunarodne oznake i naziva ISO 10272 – 2:2017 - Microbiology of the food chain -- Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. -- Part 2: Colony-count technique).



Slika 1. Shema postupka HRN EN ISO 10272-2:2017 metode

Laboratorij za mikrobiologiju hrane i hrane za životinje Veterinarskog zavoda Križevci koji je jedan od podružnica Hrvatskog veterinarskog instituta akreditirani je laboratorij prema zahtjevima norme EN ISO/IEC 17025. Laboratorij ima 18 akreditiranih metoda od kojih je akreditirana i metoda HRN EN ISO 10272-2:2017 prema kojoj je provedeno ovo istraživanje poštujući sva načela i zahtjeve navedene norme.

Ispitni dio sačinjavao je 10 g uzorka koji je razrijeđen sa 90 mL puferirane peptonske vode (engl. *Buffered Peptone Water*; BPW, Biokar, Francuska) što predstavlja početno razrjeđenje uzorka. Nakon toga uzorci su homogenizirani u homogenizatoru (Smasher, Biomérieux, Francuska). Iz početnog razrjeđenja napravljena su daljnja razrjeđenja kako bi se



odredio broj kolonija. 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, UK. Podloge koje su korištene u svrhu određivanja broja *Campylobacter* spp. kao i puferirana peptonska voda pripremljene su prema uputama proizvođača. Kako bi se odredio broj kolonija po gramu uzorka (CFU/g), svaki uzorak je rađen uzastopce u seriji od pet razrjeđenja u omjeru 1:10, od  $10^{-1}$  do  $10^{-5}$ . Svako razrjeđenje naciepljeno je po 0,1 mL na mCCD agaru u dvostrukom postupku te razmazano kružnim pokretima sterilnim L – štapićem. Nakon toga naciepljene ploče stavljene su u posude sa GENbox microaer vrećicom (proizvođač Biomerieux, Francuska) za postizanje mikroaerofilnih uvjeta sa približno 10% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> i 85% N<sub>2</sub> i u termostatu na temperaturu od 41,5° kroz 40-48 h. Nakon inkubacije sukladno metodi za određivanje broja izbrojane su karakteristične kolonije. Tipične kolonije na mCCD agaru su sivkaste, glatke, vlažne, sjajne, plosnate, često nepravilnog rasta (slika 2). Svaka odabrana karakteristična kolonija naciepljena 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.



Slika 2. Prikaz dobivenih kolonija na mCCD agaru (izvor: Veterinarski zavod Križevci)

Zbog brzog propadanja *Campylobacter* spp. u aerobnim uvjetima, postupci potvrde moraju se izvršiti u što kraćem vremenu. Za potvrdu bakterija roda *Campylobacter* provedeno je sljedeće:

- porasle sumnjive kolonije nacijepljene su na krvni agar koji je inkubiran u aerobnim uvjetima na temperaturi od 25 °C tijekom 48 h. Izostanak rasta kulture *Campylobacter* spp. na krvnom agaru jedan je od potvrdnih pokazatelja prisutnosti *Campylobacter* spp. u uzorku
- test oksidaze (Bactident Oxidase, Merck, Njemačka) – korištene su gotove trakice kojima se dokazuje enzim citokrom oksidaza. Sterilnom mikrobiološkom ušicom se izuzima kolonija porasla na neselektivnom agaru (Columbia agar), razmaže se po testnom dijelu. Ukoliko dođe do pojave svijetlo ljubičaste, ljubičaste ili tamno plave boje, test je pozitivan
- katalaza test – kapljica 3% - tnog vodikovog peroksida stavi se na predmetno stakalce. Nakon toga se sterilnom mikrobiološkom ušicom izuzima kolonija porasla na neselektivnom agaru (Columbia agar) i razmaže se u kapljici vodikovog peroksida. Ukoliko se pojavi reakcija, tj. dođe do nastanka mjehurića, reakcija se smatra pozitivnom.
- mikroskopski pregled nativnog preparata sa pokrovnicom - tipičan oblik zavojitih ili zakrivljenih štapića i karakteristična pokretljivost bakterija roda *Campylobacter*

Nakon potvrde bakterija *Campylobacter* spp. izračunat je broj kolonija po gramu uzorka (CFU/g) prema HRN EN ISO 10272-2:2017 i HRN EN ISO 7218:2008 (Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Opći zahtjevi i upute za mikrobiološka ispitivanja (ISO 7218:2007/Amd 1:2013, ispravljena verzija 2014-04-15; EN ISO 7218:2007/A1:2013), međunarodne oznake i naziva ISO 7218:2007/Amd 1:2013, Corrected version 2014-04-15; EN ISO 7218:2007/A1:2013 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- General requirements and guidance for microbiological examinations)

### 3.2.2. Verifikacija metode HRN EN ISO 10272-2:2017

**Verifikacija** je postupak koji se koristi kako bi se dokazalo da mikrobiološka metoda dosljedno daje ono što se očekuje s odgovarajućom točnošću i preciznošću odnosno verifikacija dokazuje da je mikrobiološka metoda prikladna za namjenu za koju se koristi. Verifikacija metode je postupak za metode koje su već validirane (npr. ISO standardi) gdje laboratorij provjerava da li svojim izvođenjem metode postiže odgovarajuće rezultate.

**Točnost** metode je postupak pravilno identificiranih uzoraka. Kod pozitivnih se naziva osjetljivost, a kod negativnih specifičnost.

**Ponovljivost (repetibilnost)** je usporedba brojčanih rezultata unutar rezultata od svakog analitičara pojedinačno koji koriste istu opremu, dobivenih uz primjenu iste metode na identičnom ispitnom materijalu.

**Obnovljivost (reproducibilnost)** je usporedba brojčanih rezultata između rezultata svih analitičara koji koriste različitu opremu, različit lot podloge, dobivenih uz primjenu iste metode na ispitnom materijalu.

**Mjerna nesigurnost (MN)** je parametar koji je povezan s rezultatom mjerenja koji karakterizira raspršenost vrijednosti koje bi razumno mogle biti pripisane mjerenoj veličini. Mjerna nesigurnost je nesigurnost brojčanih rezultata izražena kao standardna devijacija, te se izračunava kao relativna standardna devijacija obnovljivosti rezultata. Postupak određivanja mjerne nesigurnosti provodi se s ciljem osiguranja kvalitete analitičkih rezultata kako bi se sa sigurnošću moglo odrediti u kojim intervalima se kreće dobiveni rezultat određene metode. Izračunava se kao složena nesigurnost rezultata više uzoraka od najmanje dva analitičara.

U Laboratoriju za mikrobiologiju hrane i hrane za životinje Veterinarskog zavoda u Križevcima provedena je verifikacija metode HRN EN ISO 10272-2:2017 koja je ujedno i akreditirana prema zahtjevima norme EN ISO/IEC 17025. Postupak verifikacije proveden je prema internoj proceduri OP 19 – Verifikacija (validacija) mikrobioloških metoda i normi Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Smjernice za procjenu mjerne nesigurnosti oznake

HRS ISO/TS 19036: 2006 (međunarodne oznake i naziva ISO/TS 19036 – Microbiology of food and animal feeding stuffs – Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for Quantitative determinations). Parametri verifikacije metode određeni su na koži vratova brojlera. Postupkom verifikacije metode određeni su parametri: točnost (specifičnost i osjetljivost), sukladnost (ponovljivost), podudarnost (obnovljivost) i mjerna nesigurnost.

U postupku verifikacije korišteni su uzorci zaprimljeni u svrhu rutinskih laboratorijskih pretraga. Parametar točnosti određen je na uzorku prirodno kontaminiranog bakterijama, a koji ne sadrži bakterije roda *Campylobacter*. Za umjetnu kontaminaciju korištena je preko noćna kultura bakterijskog soja *Campylobacter* (RM 183/1, ploča oznake SLC LJ) na način da se čisti soj koji je namnožen preko noći u 10 mL BPV na 37°C inokulirao (1 mL -  $10^9$  CFU/mL) u 9 mL fiziološke otopine da bi se dobilo razrjeđenje  $10^{-1}$ . Zatim se napravila serija decimalnih razrjeđenja do  $10^{-9}$ . Sa jednim mililitrom svakog razrjeđenja kontaminiran je matriks (koža vrata). Postupak je ponavljan 10 puta od strane dva analitičara.

Mjerna nesigurnost određena u Laboratoriju za mikrobiologiju hrane prilikom izvođenja postupka prema HRN EN ISO 10272-2:2017 iznosi  $0,16 \log_{10}$  CFU/g, dok proširena mjerna nesigurnost iznosi  $U = 0,3 \log_{10}$  CFU/g.

### **3.3. Statistička obrada podataka**

Podaci su obrađeni 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 te Dunn-ovim testom.

## **4. REZULTATI**

Za istraživanje prisutnosti i određivanje CFU vrijednosti bakterija iz roda *Campylobacter* pretraženo je ukupno 120 uzoraka od kojih je 30 uzoraka koža vratova tovnihi pilića, 30 uzoraka svježeg mesa peradi - pileća prsa bez kože, 30 uzoraka pilećih krilaca i 30 uzoraka pilećih bataka – zabataka. Prisutnost *Campylobacter* spp. određena je na temelju izgleda rasta na selektivnom agaru, pozitivnim testom oksidaze, pozitivnim testom katalaze, mikroskopskom pretragom i izostanku rasta na krvnom agaru u aerobnim uvjetima na 25 °C. Rezultati istraživanja prikazani su u tablicama 6-10.

Tablica 6. Prisutnost *Campylobacter* spp. u pretraženim uzorcima

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

U tablici 7. prikazane su dobivene CFU vrijednosti bakterija roda *Campylobacter* iz uzoraka koža vratova tovnih pilića. Od 30 pretraženih uzoraka, u 22 uzoraka je utvrđena prisutnost bakterija roda *Campylobacter*, s rasponom vrijednosti od 545 CFU/g do 10636 CFU/g.

Tablica 7. Prisutnost *Campylobacter* spp. u kožama vratova tovnih pilića izraženo kao CFU/g

<b>REDNI BROJ</b>	<b>CFU/g</b>	<b>REDNI BROJ</b>	<b>CFU/g</b>
<b>1.</b>	2273	<b>16.</b>	<100
<b>2.</b>	1090	<b>17.</b>	1727
<b>3.</b>	<100	<b>18.</b>	1182
<b>4.</b>	<100	<b>19.</b>	3545
<b>5.</b>	727	<b>20.</b>	5182
<b>6.</b>	636	<b>21.</b>	<100
<b>7.</b>	2000	<b>22.</b>	2636
<b>8.</b>	2455	<b>23.</b>	10636
<b>9.</b>	4273	<b>24.</b>	<100
<b>10.</b>	3000	<b>25.</b>	3455
<b>11.</b>	545	<b>26.</b>	2364
<b>12.</b>	1273	<b>27.</b>	3909
<b>13.</b>	545	<b>28.</b>	<100
<b>14.</b>	818	<b>29.</b>	<100
<b>15.</b>	2273	<b>30.</b>	<100

U tablici 8. prikazane su dobivene CFU vrijednosti bakterija roda *Campylobacter* iz uzoraka pilećih prsa bez kože. Od 30 pretraženih uzoraka, u 7 uzoraka je utvrđena prisutnost bakterija roda *Campylobacter*, s rasponom CFU vrijednosti od 272 CFU/g do 1182 CFU/g.

Tablica 8. Prisutnost *Campylobacter* spp. u uzorcima pilećih prsa bez kože izraženo kao CFU/g

<b>REDNI BROJ</b>	<b>CFU/g</b>	<b>REDNI BROJ</b>	<b>CFU/g</b>
<b>1.</b>	<100	<b>16.</b>	<100
<b>2.</b>	<100	<b>17.</b>	<100
<b>3.</b>	<100	<b>18.</b>	<100
<b>4.</b>	<100	<b>19.</b>	272
<b>5.</b>	<100	<b>20.</b>	<100
<b>6.</b>	<100	<b>21.</b>	<100
<b>7.</b>	<100	<b>22.</b>	<100
<b>8.</b>	636	<b>23.</b>	<100
<b>9.</b>	1182	<b>24.</b>	<100
<b>10.</b>	<100	<b>25.</b>	<100
<b>11.</b>	<100	<b>26.</b>	<100
<b>12.</b>	818	<b>27.</b>	818
<b>13.</b>	<100	<b>28.</b>	<100
<b>14.</b>	<100	<b>29.</b>	<100
<b>15.</b>	545	<b>30.</b>	1090



U tablici 9. prikazane su dobivene CFU vrijednosti bakterija roda *Campylobacter* iz uzoraka pilećih krilaca. U 30 pretraženih uzoraka, u 14 uzoraka je utvrđena prisutnost bakterija roda *Campylobacter*, a raspon dobivenih vrijednosti kretao se od 455 CFU/g do 2364 CFU/g.

Tablica 9. Prikaz dobivenih vrijednosti *Campylobacter* spp. u uzorcima pilećih krilaca izraženo kao CFU/g

<b>REDNI BROJ</b>	<b>CFU/g</b>	<b>REDNI BROJ</b>	<b>CFU/g</b>
1.	636	16.	<100
2.	2364	17.	2364
3.	<100	18.	<100
4.	<100	19.	1091
5.	<100	20.	1727
6.	818	21.	<100
7.	1182	22.	1636
8.	<100	23.	<100
9.	<100	24.	<100
10.	455	25.	2182
11.	1727	26.	<100
12.	2091	27.	<100
13.	<100	28.	<100
14.	<100	29.	<100
15.	1000	30.	1909

U tablici 10. prikazane su dobivene CFU vrijednosti bakterija roda *Campylobacter* iz uzoraka pilećih bataka - zabataka. U 16 uzoraka je utvrđena prisutnost bakterija roda *Campylobacter*, a raspon dobivenih vrijednosti kretao se od 455 CFU/g do 2182 CFU/g.

Tablica 10. Prikaz dobivenih vrijednosti *Campylobacter* spp. u uzorcima pilećih bataka – zabataka izraženo kao CFU/g

<b>REDNI BROJ</b>	<b>CFU/g</b>	<b>REDNI BROJ</b>	<b>CFU/g</b>
<b>1.</b>	1182	<b>16.</b>	455
<b>2.</b>	636	<b>17.</b>	<100
<b>3.</b>	<100	<b>18.</b>	545
<b>4.</b>	<100	<b>19.</b>	636
<b>5.</b>	1364	<b>20.</b>	1909
<b>6.</b>	2091	<b>21.</b>	<100
<b>7.</b>	<100	<b>22.</b>	1364
<b>8.</b>	2182	<b>23.</b>	<100
<b>9.</b>	<100	<b>24.</b>	<100
<b>10.</b>	<100	<b>25.</b>	1727
<b>11.</b>	818	<b>26.</b>	<100
<b>12.</b>	909	<b>27.</b>	<100
<b>13.</b>	1545	<b>28.</b>	<100
<b>14.</b>	1636	<b>29.</b>	1636
<b>15.</b>	<100	<b>30.</b>	<100

Raspon vrijednosti svih analiziranih uzoraka kod kojih je utvrđena prisutnost bakterija roda *Campylobacter* spp. kretao se od 272 CFU/g sve do 10636 CFU/g.

Rezultati prisutnosti *Campylobacter* spp. prema mjestu uzorkovanja prikazani su u tablicama 11 - 14.

U tablici 11. prikazani su rezultati prisutnosti i raspon vrijednosti (CFU/g) za *Campylobacter* spp. u uzorcima kože vratova tovnih pilića za tri odabrane klaonice. Najveći broj pozitivnih uzoraka dokazan je u klaonici 2, zatim u klaonici 1, a najmanji u klaonici 3.

Tablica 11. % pozitivnih uzoraka kože vratova tovnih pilića i raspon CFU/g prema mjestu uzorkovanja

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

U tablici 12. prikazani su rezultati pozitivnih uzoraka pilećih prsa bez kože prema mjestu uzorkovanja. Najveći postotak pozitivnih uzoraka bio je u klaonici 2, ali s manjim rasponom CFU/g u odnosu na ostala mjesta uzorkovanja.

Tablica 12. % pozitivnih uzoraka pilećih prsa bez kože i raspon CFU/g prema mjestu uzorkovanja

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

U tablici 13. prikazani su rezultati pozitivnih uzoraka pilećih krilaca prema mjestu uzorkovanja. Najveći postotak pozitivnih uzoraka bio je u klaonici 2, zatim u klaonici 1 dok je u klaonici 3 *Campylobacter* spp. utvrđen u najmanjem broju uzoraka.

Tablica 13. % pozitivnih uzoraka pilećih krilaca i raspon CFU/g prema mjestu uzorkovanja

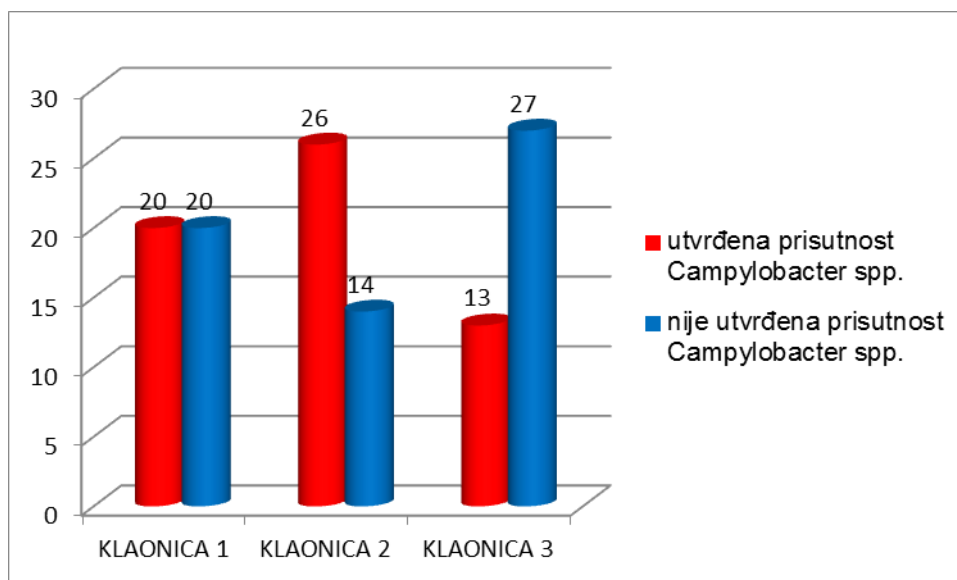
Uzorak: pileća krilca	Utvrđena prisutnost <i>Campylobacter</i> spp.		Raspon vrijednosti CFU/g
	Mjesto uzorkovanja	Broj n/10	
KLAONICA 1	5	50,00%	455-2364
KLAONICA 2	6	60,00%	1000-2364
KLAONICA 3	3	30,00%	1636-2182
UKUPNO(n=30)	14	46,67%	455-2364

U tablici 14. prikazani su rezultati pozitivnih uzoraka pilećih bataka – zabataka za tri odabrane klaonice. Najveći postotak pozitivnih uzoraka bio je u klaonici 2, zatim u klaonici 1 gdje se raspon dobivenih vrijednosti kretao do maksimalnih 2182 CFU/g. U klaonici 3 je *Campylobacter* spp. utvrđen u najmanjem broju uzoraka, ali s visokim vrijednostima CFU/g.

Tablica 14. % pozitivnih uzoraka pilećih bataka – zabataka i raspon CFU/g prema mjestu uzorkovanja

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

Na slici 3. su prikazani rezultati ukupnog broja pozitivnih uzoraka u kojima je dokazana prisutnost *Campylobacter* spp. prema mjestu uzorkovanja. U svakoj klaonici uzorkovano je ukupno 40 uzoraka (10 uzoraka koža vratova, 10 uzoraka pilećih prsa bez kože, 10 uzoraka pilećih krilaca i 10 uzoraka pilećih bataka – zabataka).



Slika 3. Broj pozitivnih uzoraka *Campylobacter* spp. prema mjestu uzorkovanja

#### 4.1. Rezultati statističke analize uzoraka

Podaci su obrađeni 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. Hi – kvadrat test se upotrebljava u većini slučajeva ako se uspoređuju kvalitativni podaci ili ako distribucija značajno odstupa od normale. Razlike CFU/g vrijednosti testirane su Kruskal-Wallis neparametrijskim testom te Dunn-ovim testom. Dunn – ov test je neparametrijski post hoc test, odnosno služi za međusobnu usporedbu skupina ako je u osnovnoj analizi uspoređeno više od dvije skupine

Tablica 15. Razlike u učestalosti izdvajanja bakterija roda *Campylobacter* iz različitih kategorija pilećeg rasjeka određene hi – kvadrat testom

KATEGORIJA	<i>Campylobacter</i> spp.	
	Pozitivni n (%)	Negativni
koža vrata	22 (73,3)	8
pileća prsa bez kože	7 (23,3)	23
pileća krilca	14 (46,67)	16
pileći batak - zabatak	16 (46,6)	14
<b>UKUPNO</b>	59 (49,1)	61
<b>P (<math>\chi^2</math> test)</b>	p=0,02	

Opažene razlike u učestalosti izdvajanja kampilobaktera iz različitih kategorija statistički su značajne (p=0,02).



Tablica 16. Broj (CFU/g) bakterija iz roda *Campylobacter* u različitim dijelovima pilećeg rasjeka određen je Kruskal – Wallis neparametrijskim testom

KATEGORIJA	n	Median	Min	Max
koža vrata	22	2273	545	10636
pileća prsa bez kože (file)	7	818	272	1182
pileća krilca	14	1681.5	455	2364
pileći batak - zabatak	16	1364	455	2182

U tablici 16. prikazani su statistički dobiveni podaci. Najviše vrijednosti CFU/g dobivene su pretragom kože vratova, a najmanje pretragom prsa bez kože. Opažene razlike u vrijednostima CFU/g iz različitih dijelova pilećeg mesa i kože statistički su značajne ( $p=0,006$ ).

Tablica 17. Prikaz rezultata Dunn – ovog testa usporedbe broja *Campylobacter* spp. između dijelova pilećeg rasjeka

USPOREDBA	z	p
koža vrata : prsa	3,293398	0,003
koža vrata : krilca	1,299872	0,5809
koža vrata : batak	2,251551	0,0731
prsa : krilca	-2,127333	0,1002
prsa : batak	-1,521276	0,3846
krilca : batak	0,807124	1,0

U tablici 17. prikazane su međusobne usporedbe vrijednosti CFU/g te je utvrđeno kako se statistički značajno razlikuju CFU/g kože vratova i prsa bez kože ( $p=0,003$ ).

## **5. RASPRAVA**

Do danas kampilobakterioza je najčešće prijavljivana zoonoza u Europskoj Uniji. Broj prijavljenih potvrđenih slučajeva pojave kampilobakterioze u 2020. godini iznosio je 120,946. U 2019. godini u dvije trećine država članica EU-a smanjen je broj potvrđenih slučajeva kampilobakterioze. Pad slučajeva također je primijećen 2020. godine, vjerojatno zbog pandemije COVID-19 i izlaska Ujedinjenog Kraljevstva iz Europske Unije. Međutim, ukupni trend kampilobakterioze u razdoblju 2016. – 2020. nije pokazao statistički značajan porast ili pad. U usporedbi s 2019. godinom uočeno je veliko smanjenje slučajeva kampilobakterioze povezanih s putovanjem. Zatvaranje granica diljem Europe, kao i međunarodna ograničenja mobilnosti uzrokovana zatvaranjem zračnih, morskih i kopnenih granica u nekim zemljama, potencijalni su razlog smanjenja slučajeva kampilobakterioze. Značajno smanjenje broja zabilježenih slučajeva u proljeće 2020. godine vjerojatno je posljedica pandemije COVID-19 i provedbe mjera karantene diljem EU-a. Unutar EU-a hospitalizirano je više od 8 500 slučajeva kampilobakterioze. Od 2020. godine postalo je obavezno prijavljivanje podataka za *Campylobacter* spp. u kožama vratova rashlađenih trupova tovnih pilića. Prema podacima Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA), pojavnost bakterija iz roda *Campylobacter* prati se u pet glavnih životinjskih vrsta, te postoji i kategorija „ostale životinje“ koju sačinjava više od 50 različitih životinjskih skupina. Od 20 891 uzoraka, pojavnost *Campylobacter* spp. bilježi se u 4 638 (22,2%) uzoraka. Ukupno je 17 država članica i četiri države članice izvijestilo o podacima, koji se prvenstveno odnose na brojlere (65,2%), a slijede goveda, pure, mačke i psi te svinje. Šesnaest zemalja prijavilo je podatke za brojlere, dok je samo nekoliko zemalja dostavilo podatke za ostale životinjske vrste. Udio pozitivnih jedinica bio je najveći kod purana (62,1%) i svinja (58,5%), zatim brojlera (24,5%), mačaka i pasa (15%) i na kraju goveda (5,1%). Iako je manji broj uzoraka testiran na "drugim životinjama", znatan udio pozitivnih uzoraka otkriven je kod ovaca (30,6%, N=1077), divljih svinja (19,6%, N=61) i divljih ptica (15,4%, N=279) (EFSA, 2021).

Stoga su u ovom radu bakteriološkom analizom prema HRN EN ISO 10272 – 2:2017 u tri klaonice pilića na području sjeverne Hrvatske analizirani uzorci koža vratova tovnih pilića, pilećih prsa bez kože, pilećih krilca i pilećih bataka – zabataka na prisutnost *Campylobacter*

spp. Ukupno je pretraženo 120 uzoraka, a u uzorcima je prisutnost bakterija roda *Campylobacter* bila 49,17%.

Dobiveni rezultati ukazuju na visoku pojavnost kampilobaktera u svježem pilećem mesu. Uspoređujući rezultate ostalih istraživanja diljem Europske Unije i ostalih zemalja diljem svijeta može se reći kako kampilobakteri i tekako zahtjevaju 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 ustanovili prisutnost od 31,7%. U istraživanju koje su proveli Alagić i sur. (2016) utvrđena je prisutnost *Campylobacter* spp. u 27,4% uzoraka pilećih trupova sa pripadajućom jetrom. Hadžiabdić i sur. (2013) u uzorcima koža i trupova brojlera na liniji klanja u Bosni i Hercegovini dobili 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 pretraženo 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%.

Gotovo polovica danas poznatih tzv. „foodborne“ patogena otkrivena je u posljednjih 30-tak godina, a čemu je pridonijela i povećana konzumacija mesa i mesnih proizvoda (Tauxe, 2002, Gutić, 2015). Proizvodnja i potrošnja mesa peradi i proizvoda od mesa peradi pokazuje rastući trend, a upravo je meso peradi glavni izvor bakterija roda *Campylobacter*. To, naravno, zahtijeva odgovarajuću kontrolu u svim fazama, od uzgoja peradi, klaoničkim objektima, pogonima za preradu i trgovinama. Potrošači su također važan faktor za

mikroorganizme koji se prenose hranom, zbog načina 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 (Kožačinski i sur., 2006).

Zakonskom regulativom nije propisano bakteriološko ispitivanje pilećeg mesa na bakterije iz roda *Campylobacter*. Kontrola kampilobaktera 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 *Campylobacteria* u trupovima brojlera gdje je propisana granična vrijednost kao kriterij higijene mikrobiološkog procesa od 1000 CFU/g na koži vratova tovnih pilića. Uzorkovanje u klaoničkim objektima provodi se svaki tjedan. Učestalost uzorkovanja na parametar *Campylobacter* spp. može se smanjiti na svaka dva tjedna ako se u 52 uzastopna tjedna dobiju zadovoljavajući rezultati. Cilj kriterija higijene procesa za *Campylobacter* u trupovima brojlera je stalno praćenje učestalosti ove bakterije u klaoničkim objektima kako ne bi došlo do kontaminacije iznad koje su potrebne korektivne mjere u svrhu poboljšanja higijene. Kontrola *Campylobacter* spp. i dalje je izazov jer se čini da vertikalni prijenos nije važan čimbenik rizika i sve ovisi o učinkovitosti biosigurnosnih mjera u uklanjanju kampilobaktera iz brojlera. U Republici Hrvatskoj se pojava humanih slučajeva kampilobakterioze službeno prati od 2007. godine. Zbog porasta broja humanih slučajeva kampilobakterioze te izrade mjera i preporuka neophodnih za sprječavanje oboljenja ljudi, Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane od 2009. godine provodi programe praćenja bakterija roda *Campylobacter* u primarnoj proizvodnji i klaonicama kao i njihove otpornosti na antimikrobne pripravke u jatima tovnih pilića u Republici Hrvatskoj.

Ovim istraživanjem ukupno je pretraženo 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 svježih pilećih bataka – zabataka. Uzorci su uzorkovani u tri klaonice. Najveća prisutnost *Campylobacter* spp. utvrđena je kod uzoraka kože vratova tovnih pilića (73,33%), zatim pilećih bataka – zabataka (53,33%), nakon toga slijede pileća krilca (46,67%), te pileća prsa bez kože (23,33%) (tablica 6). Raspon vrijednosti svih analiziranih uzoraka kod kojih je utvrđena prisutnost bakterija *Campylobacter* spp. kretao se od 272 CFU/g do 10636 CFU/g.

Najveći raspon je zabilježen kod uzoraka koža 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 (tablice 7 – 10). 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 ovih mikroorganizama biva uništena, 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, 2009; Levak, 2015). Poznato je da bakterije iz roda *Campylobacter* mogu preživjeti u okolišu, posebice u netretiranoj površinskoj vodi, no primarno se prenosi na trupove peradi putem tekućine i fecesa iz gastrointestinalnog trakta ptice, zbog velikog broja organizama koji se nalazi u tim tekućinama (Franco i Williams, 2001), tako ostaje 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 (Chantarapanont i sur., 2003). Ovi podaci 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 sa visokim postotkom prisutnosti u uzorcima koža vratova. Povrh toga u uzorku kože vrata određena je najviša vrijednosti *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 prevalencija utvrđena u 7 (23,33%) uzoraka pilećih prsa bez kože (tablica 6). Kod uzorka pilećih prsa bez kože ustanovljena je najmanja vrijednost *Campylobacter* spp. od 272 CFU/g (tablica 8) . Općenito 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 uslijed križnog onečišćenja uzročnikom koji se nalazi u crijevu prije svega onečiste površinski dijelovi pilećeg mesa, te su vrijednosti

na površinama značajno veće u odnosu na unutrašnjost (Luber i Bartelet, 2006; Mikulić, 2013). Smatra se kako svježa piletina može učestalo biti onečišćena bakterijama roda *Campylobacter*, često s prisutnošću višom od 50% (Wilson, 2002).

U tablicama 11- 14 prikazani su rezultati prisutnosti i rasponi vrijednosti CFU/g za *Campylobacter* spp. prema mjestu uzorkovanja. Od svih pretraženih uzoraka najveći broj pozitivnih uzoraka bio je u klaonici 2 s ukupno 26 uzoraka, zatim u klaonici 1 20 uzoraka, dok je u klaonici 3 u 13 uzoraka utvrđena prisutnost bakterija iz roda *Campylobacter* (slika 2). 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 klaonici 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 klaonici 1 i 2. S obzirom da se kroz duže vremensko razdoblje prati higijena navedenih objekata kroz parametar *Campylobacter* spp. u kožama vratova tovnih pilića, dobiveni rezultati prate pojavnost i u ostalim dijelovima pilećeg rasjeka. Gledajući dobivene vrijednosti, u klaonici 3 je održavan najmanji stupanj higijene što je bilo vidljivo i prilikom uzorkovanja, dok je u klaonici 1 i 2 stupanj higijene podjednak. Iako je u klaonici 3, broj uzoraka kod kojih je utvrđena prisutnost, najmanji, ali su dobivene vrijednosti CFU/g najveće, dobiveni rezultati mogli bi se objasniti rjeđim ali temeljitijem održavanjem objekta. U klaonici 1 i 2 je približan broj pozitivnih uzoraka kao i približan broj dobivenih vrijednosti CFU/g što ukazuje na učestalije održavanje pogona ali ne toliko temeljito. Dobiveni rezultati, također bi se mogli povezati i sa uzgajivačima pilića i u kakvom su stanju pilići prije klanja, da li su možda jata *Campylobacter* spp. pozitivna, ali o tome ne postoji informacija u klaoničkim objektima u kojima su uzorci uzeti.

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 je provedeno u Sloveniji utvrđeno je kako se tijekom procesa klanja kontaminiraju gotovo svi trupovi, a najveći udio kontaminacije dogodi se još prije ulaska u evisceracijski dio linija klanja, kod omamljivanja, šurenja i čupanja. Upravo taj dio procesa klanja je onaj gdje je moguće kontaminaciju još smanjiti i na taj način pridonijeti sigurnosti gotovog proizvoda. Potvrđeno je kako postojeći tradicionalni tehnološki procesi (pranje, hlađenje) smanjuju stupanj kontaminacije, ali ne dovoljno. Za smanjenje kontaminacije mesa peradi nije dovoljna samo poboljšana tehnologija i higijena klanja, nego je bitna i visoka osposobljenost proizvodnih radnika. Osim toga održavanje hladnog lanca, dobra higijenska praksa u pripremi hrane, odgovarajuća termička obrada namirnica osnovne su mjere kako bi se spriječile infekcije uzrokovane hranom (Pate i Ocepek, 2015).

Prilikom statističke obrade podataka korišten je hi – kvadrat test, Kruskal – Wallis neparametrijski test te Dunn – ov test. Hi- kvadrat testom utvrđeno je kako je učestalost izdvajanja kampilobaktera iz različitih kategorija pilećeg mesa statistički značajna ( $p=0,02$  (tablica 15). 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 ( $p=0,006$ ) (tablica 16). Dunn – ovim testom uspoređene su dobivene vrijednosti CFU/g između dijelova pilećeg mesa kojim je utvrđena statistički značajna razlika između koža vratova i prsa bez kože ( $p=0,003$ ) (tablica 17). Iz dobivene statističke obrade vidljivo je kako su kože vratova najviše kontaminirane bakterijama *Campylobacter* spp. što su objasnili mnogi autori, koje se ujedno pretražuju kao kriterij higijene procesa u klaoničkim objektima, dok su pileća prsa bez kože najmanje kontaminirana što je vidljivo iz dobivenih rezultata. Dokazano je kako se u koži zadržava najveći broj mikroorganizama.



## **6. ZAKLJUČAK**

Iz dobivenih rezultata istraživanja prisutnosti bakterija roda *Campylobacter* u uzorcima kože vratova tovnih pilića i svježeg pilećeg mesa – pileća prsa bez kože, pileća krilca i pilećih bataka – zabataka uzorkovanih u tri klaonice podrijetlom od različitih proizvođača mesa peradi sa područja sjeverozapadne Hrvatske, može se zaključiti:

1. Od ukupno 120 uzoraka u 49,17% uzoraka dokazana je prisutnost bakterija roda *Campylobacter*.
2. Najveći broj pozitivnih uzoraka odnosi se na uzorke kože vratova tovnih pilića (73,33%), slijede ih uzorci pilećih bataka – zabataka (53,33%) i pilećih krilca (46,67%), a 23,33% pozitivna uzorka su uzorci pilećih prsa bez kože.
3. Najveće vrijednosti CFU/g za *Campylobacter* spp. dokazane su u uzorcima pilećih vratova s kožom (10636 CFU/g), a najmanje u uzorcima pilećih prsa bez kože (272 CFU/g).
4. Opažene razlike u učestalosti izdvajanja kampilobaktera iz različitih kategorija pilećeg rasjeka statistički su značajne ( $p=0,02$ ).
5. Opažene razlike u vrijednostima CFU/g iz različitih dijelova pilećeg mesa i kože statistički su značajne ( $p=0,006$ ).
6. S obzirom na visoku pojavnost bakterija roda *Campylobacter* u klaonicama važno je provoditi higijensko - sanitarne mjere s ciljem sprječavanja kontaminacije pilećeg mesa.

## **7. LITERATURA**

- ABRAMOVIĆ, H., TERPINC, P., GENERALIĆ, I., SKROZA, D., KLANČNIK, A., KATALINIĆ, V., SMOLE MOŽINA, S. (2012): Antioxidant and antimicrobial activity of extracts obtained from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and vine (*Vitis vinifera*) leaves. *Croat. J. Food. Sci. Technol.* 4, 1-8.
  
- ALAGIĆ, D., SMAJLOVIĆ, A., SMAJLOVIĆ, M., MAKSIMOVIĆ, Z., ČLANAK, E., ČAKLOVICA, K., TANKOVIĆ, S., VELJOVIĆ, E., LJEVAKOVIĆ - MUSLADIN, I. i RIFATBEGOVIĆ, M. (2016): Učestalost onečišćenja mesa brojlera s bakterijama roda *Campylobacter*. *Meso*. 18, 335-340.
  
- ALTEKRUSE, S. F., NORMAN, J. S., FIELDS, P. I. and SWERDLOW, D. L. (1999): *Campylobacter jejuni* - An emerging foodborne pathogens. *Emerg. Infect. Dis.* 5, 28-35.
  
- ANDERSSON, Y., DE JONG, B., STUDAHL, A. (1997): Waterborne *Campylobacter* in Sweden: The cost of an outbreak. *Water Sci. Technol.* 35, 11-14.
  
- BALEN TOPIĆ, M., BEUS, A., DESNICA, B., VICKOVIĆ, N., ŠIMIĆ, V., ŠIMIĆ, D. (2007): Epidemiološke osobitosti kampilobakterioza u hospitaliziranih bolesnika. *Infektološki glasnik*. 27, 15-22.
  
- BENEFIELD, R. D. (1997): Pathogen reduction strategies for elimination of Foodborne pathogens on poultry during processing. MS Thesis Auburn Univ., AL
  
- BERNDSTON, E., TIVEMO, M., ENGVALL, A. (1992): Distribution and numbers of *Campylobacter* in newly slaughtered broiler chickens and hens. *Int. J. Food. Microbiol.* 15, 45-50.

- BERNDTSON, E., DANIELSSON-THAM, M. L., ENGVALL, A. (1996): *Campylobacter* incidence on a chicken farm and the spread of *Campylobacter* during the slaughter process. *Int. J. Food. Microbiol.* 32, 35-47.
- BERRANG, M. E., BUHR, R. J., CASON, J. A., DICKENS, J. A. (2001): Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. *J. Food Prot.* 64, 2063-2066.
- BERRANG, M. E., BUHR, R. J., CASON, J. A., DICKENS, J. A. (2002): Microbiological consequences of skin removal prior to evisceration of broiler carcasses. *Poult. Sci.* 81, 134-138.
- BLACK, R. E., LEVINE, M. M., CLEMENTS, M. L., HUGHES, T. P., BLASER, M. J. (1988): Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *J. Infect. Dis.* 157, 472-479.
- BLASER, M. J. (1997): Epidemiologic and clinical features of *Campylobacter jejuni* infections. *J. Infect. Dis.* 176, 103-105.
- BOLTON, D., MEREDITH, H., WALSH, D., MCDOWELL, D. (2014): Poultry food safety control interventions in the domestic kitchen. *J. Food Safety.* 34, 34-41.
- BULL, S. A., ALLEN, V. M., DOMINGUE, G., JORGENSEN, F., FROST, J. A., URE, R., WHYTE, R., TINKER, D., CORRY, J. E. L., GILLARD-KING, J., HUMPHREY, T. J. (2006): Sources of *Campylobacter* spp. Colonizing Housed Broiler Flocks during Rearing. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 645-652.
- BUTZLER, J. P. (2004): *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin Microbiol Infect.* 10:868-76.
- CAPAK, K. (2007): Sustav osiguranja zdravstvene ispravnosti hrane u Hrvatskoj. *Hrana i zdravlje.* 3 (9)

- 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.
- CORRY, J. E. L., ATABAY, H. I. (1997): Comparison of the productivity of cefoperazone amphotericin teicoplan (CAT) agar and modified charcoal cefoperazone deoxycholate (mCCD) agar for various strains of *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter pullorum*. *Int. J. Food Microbiol.* 38, 201-219.
- CUDJOE, K. S., KAPPERUD, G. (1991): The effect of lactic acid sprays on *Campylobacter jejuni* inoculated onto poultry carcasses. *Acta Vet. Scand.* 32, 491-498.
- CVETNIĆ, Ž., OSTOJIĆ, M., KVESIĆ, A. (2013): Specijalna bakteriologija. U: Mikrobiologija i parazitologija. Mostar, str. 33-98.
- D'AOUST, J. Y., PARK, C. E., SZABO, R. A., TODD, E. C., EMMONS, D. B., McKELLAR, R. C. (1988): Thermal inactivation of *Campylobacter species*, *Yersinia enterocolitica*, an hemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in fluid milk. *J. Dairy Sci.* 71, 3230-3236.
- DASTIA, J. I., TAREENA, A. M., LUGERTA, R., ZAUTNERA, A. E., GROß, U. (2010): *Campylobacter jejuni*: a brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms. *Int. J. Med. Microbiol.* 300, 205-211.
- DAVIS, M. A., CONNER, D. E. (2007): Survival of *Campylobacter jejuni* on Poultry skin and Meat at Varying Temperatures. *Poultry Sci.* 86, 765-767.
- DE JONG, A. E. I., VERHOEFF-BAKKENES, L., NAUTA, M. J., DE JONGE, R. (2008): Cross-contamination in the kitchen: effect of hygiene measures. *J. Appl. Microbiol.* 105, 615-624.

- DEBRUYNE, L., GEVERS, D., VANDAMME, P. (2005): „Taxonomy of the family Campylobacteraceae“ in *Campylobacter*, 3rd Edn, eds I. Nachamkin and M. J. Blaser (Washington, DC: ASM), 3-27.
- EFSA (2021): The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. *EFSA Journal*. 19 (12):6971.
- FACCIOLÀ, A., RISO, R., AVVENTUROSO, E., VISALLI, G., DELIA, S. A., LAGANÀ, P. (2017): *Campylobacter*: from microbiology to prevention. *J. Prev. Med. Hyg.* 58, E79-E92.
- FRANCO, D.A., C.E. WILLIAMS, C. E. (2001): *Campylobacter jejuni*. Y.H. Hui, M.D. Pierson, J.R. Gorham (Eds.), *Foodborne Disease Handbook* (2nd ed.), Marcel Dekker Inc., New York, NY (2001), pp. 83-106.
- GRANIĆ, K., KRČAR, D., UHITIL, S., JAKIŠIĆ, S. (2009): Determination of *Campylobacter* spp. in poultry slaughterhouses and poultry meat. *Vet. Arhiv.* 79, 491-497.
- GUTIĆ, S (2015): Značaj bolesti koje se prenose hranom. *Meso* 4 (XVII), 361-366.
- HADŽIABDIĆ, S., REŠIDBEGOVIĆ, E., GRUNTAR, I., KUŠAR, D., PATE, M., ZAHIROVIĆ, L., KUSTURA, A., GAGIĆ, A., GOLETIĆ, T. and OCEPEK, M. (2013): *Campylobacter* in broiler flocks in Bosnia and Herzegovina: Prevalence and genetic diversity. *Slov. Vet. Res.* 50, 45-55.
- HALD, B., MADSEN, M. (1997): Healthy puppies and kittens as carriers of *Campylobacter* spp., with special reference to *Campylobacter upsaliensis*. *J. Clin. Microbiol.* 35, 3351-3352.
- HALD, B., MADSEN, M. (2008): Influxed Insects as Vectors for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Danish Broiler Houses. *Poultry Sci.* 87, 1428-1434.

- HARIHARAN, H., MURPHY, G. A., and KEMPF, I. (2004). *Campylobacter jejuni*: public health hazards and potential control methods in poultry: a review. *Vet. Med.* 49, 441–446.
- HILBERT, F., SCHERWITZEL, M., PAULSEN, P., SZOSTAK, M. P. (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 7218: 2008/A1:2013 – Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Opći zahjevi i upute za mikrobiološka istpitivanja (izvornik: International Organization for Standardization ISO 7218:2007/Amd 1:2013, Corrected version 2014-04-15; EN ISO 7218:2007/A1:2013).
- HUMPHREY, T., O'BRIEN, S., MADSEN, M. (2007): *Campylobacters* as zoonotic pathogens: A food production perspective. *Int. J. Food Microbiol.* 117, 237-257.
- HZJZ (2020): Hrvatski zdravstveni statistički ljetopis za 2019. godinu. Prijava epidemija u 2019. godini. Str. 175.
- JANSEN, A., STARK, K., KUNKEL, J., SCHREIER, E., IGNATIUS, R., LIESENFELD, O., WERBER, D., GÖBEL U.B., ZEITZ, M., SCHNEIDER, T. (2008): Aetiology of community-acquired, acute gastroenteritis in hospitalised adults: a prospective cohort study. *BMC Infectious Disease.* 8 (143).
- JONES, K. (2001): *Campylobacters* in water, sewage and the environment. *J. Appl. Microbiol.* 90, 67-79.



- JONES, K. E., PATEL, N. G., LEVY, M. A., STOREYGARD, A., BALK, D., GITTELMAN, J. L., DASZAK, P. (2008): Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*. 451, 990-993.
- JORGENSEN, F., BAILEY, R., WILLIAMS, S., HENDERSON, P., WAREING, D. R. A., BOLTON, F. J., FROST, J. A., WARD, L., HUMPHREY, T. J. (2002): Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. *Int. J. Food Microbiol.* 76, 151-164.
- JOSHUA, G. W. P., GUTHRIE – IRONS, C., KARLYSHEV, A. V. and WREN, B. W. (2006): Biofilm formation in *Campylobacter jejuni*. *Microbiology*. 152, 387-396.
- KAAKOUSH, N. O., CASTANO-RODRIGUEZ, N., MITCHELL, H. M. and MING MAN, S. (2015): Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 28, 687-720.
- KAPPERUD, G., ESPELAND, G., WAHL, E., WALDE, A., HERIKSTAD, H., GUSTAVSEN, S., TVEIT, I, NATÅS, O., BEVANGER, L., DIGRANES, A. (2003): Factors associated with increased and decreased risk of *Campylobacter* infection: a prospective case – control study in Norway. *Am J Epidemiol.* 158(3):234-42.
- KETLEY, J. M. (1997): Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. *Microbiology*. 143:5-21.
- KONKEL, M. E., KIM, B. J., KLENA, J. D., YOUNG, C. R., ZIPRIN, R. (1988): Characterisation of the thermal stress response of *Campylobacter jejuni*. *Infect. Immun.* 66, 3666-3672.
- KOZAČINSKI, L., HADŽIOSMANOVIĆ, M., ZDOLEC, N. (2006): Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. *Vet. arhiv* 76 (4), 305-313.

- LABARCA, J. A., STURGEON, J., BORENSTEIN, L., SALEM, N., HARVEY, S. M., LEHNKERING, E., REPORTER, R., MASCOLA, L. (2001): *Campylobacter upsaliensis*: Another pathogen for consideration in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 34, 59-60.
- LEE, A., SMITH, S. C., COLOE, P. J. (1998): Survival and growth of *Campylobacter jejuni* after artificial inoculation onto chicken skin as a function of temperature and packaging conditions. *J. Food Prot.* 61, 1609–1614.
- 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.
- LINE, J. E. (2002): *Campylobacter* and *Salmonella* populations associated with chickens raised on acidified litter. *Poultry Sci.* 81, 1473-1477.
- LU, X., SAMUELSON, D. R., RASCO, B. A., KONKEL, M. E. (2012): Antimicrobial effect of diallyl sulphide on *Campylobacter jejuni* biofilms. *J. Antimicrob. Chemother.* 67, 1915-26.
- LUBER, P. BARTELET, E. (2006): Enumeration of *Campylobacter* spp. on the surface and within chicken breast fillets. *J. Appl. Microbiol.* 102, 313-318.
- MARINCULIĆ, A., HABRUN, B., BARBIĆ, LJ. i BECK, R. (2009): Biološke opasnosti u hrani. Hrvatska agencija za hranu, Osijek
- MEAD, G. C. (2002): Factors affecting intestinal colonization of poultry by *Campylobacter* and role of microflora in control. *Worlds Poult. Sci. J.* 58, 169–178.

- MEAD, G. C., HUDSON, W. R., and HINTON, M. H. (1995). Effects of changes in processing to improve hygiene control on contamination of poultry carcasses with *Campylobacter*. *Epidemiol. Infect.* 115, 495–500.
- MEERBURG, B.G., KIJLSTRA, A. (2007): Role of redents in transmission of *Salmonella* and *Campylobacter*. *J. Sci. Food Agric.* 87, 2774-2781.
- 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
- MIKULIĆ, M., HUMSKI, B. NJARI, M. OSTOVIĆ, Ž. CVETNIĆ (2016a): Termotolerantni *Campylobacter* spp. – uzročnici kampilobakterioze (II. dio). *Veterinarska stanica*, 47 (5), 447-454.
- MIKULIĆ, M., HUMSKI, A., NJARI, B., OSTOVIĆ, M., CVETNIĆ, Ž. (2016b): Termotolerantni *Campylobacter* spp. – uzročnici kampilobakterioze (I. dio). *Veterinarska stanica*, 47 (4), 327-334.
- MILLER, W.G., MANDRELL, R.E. (2005): Prevalence of *Campylobacter* in the food and water supply: incidence, outbreaks, isolation and detection. U: Ketley JM, Konkel ME (ed.) *Campylobacter, molecular and cellular biology*. Horizon Bioscience, Great Britain.
- MLINARIĆ GALINOVIĆ G., RAMLJAK ŠEŠO, M. i sur. (2003): Specijalna medicinska mikrobiologija i parasitologija, Zagreb, udžbenik visoke zdravstvene škole (str. 59-63).
- MUSGROVE, M. T., CASON, J. A., FLETCHER, D. L., STERN, N. J., COX, N. A. and BAILEY, J. (1997): Effect of cloacal plugging on microbial recovery from Partially processed broilers. *Poultry Sci.* 76, 530-533.

- NAGLIĆ, T., HAJSIG, D., MADIĆ, J., PINTER, LJ. (2005): Veterinarska mikrobiologija. Specijalna bakteriologija i mikologija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu i Hrvatsko mikrobiološko društvo., Porodica *Campylobacteriaceae*, 103-108.
- NEWEL, D. G., FEARNLEY, C. (2003): Sources of *Campylobacter* Colonization in Broiler Chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 4343-4351.
- NYLEN, G., DUNSTAN, F., PALMER, S. R., ANDERSSON, Y., BAGER, F., COWDEN, J., FEIERL, G., GALLOWAY, Y., KAPPERUD, G., MEGRAUD, F., MOLBAK, K., PETERSEN, I. R., RUUTU, P. (2002): The seasonal distribution *Campylobacter* infection in nine European countries and New Zeland. *Epidemiol. Infect.* 128, 383-390.
- ON, S. L. W. (2001): Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: curent status, future prospects and immediate concerns. *J. Appl. Microbiol.*, 90, 1S-15S.
- PATE, M., OCEPEK, M. (2015): Bakterijske zoonoze koje se prenose hranom. (Znanstveno - stručni simpozij: “Klasične bakterijske i parazitarne zoonoze- što nas očekuje?”, HAZU, Zagreb, 22. listopad 2015.).
- PATRICK, M. E., CHRISTIANSEN, L. E., WAINO, M., ETHELBERG, S., MADSEN, H. and WEGENER, H. C. (2004): Effects of climate on incidence of *Campylobacter* spp. in humans and prevalence in broiler flocks in Denmark. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 7474-7480.
- POPOVIĆ – UROIĆ, T. (1989): *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* diarrhoea in rural and urban populations in Yugoslavia. *Epidemiol Infect.* 102, 59-67.

- PRUŽINEC POPOVIĆ, B., GREGOROVIĆ KESOVIIJA, P., ABRAM, M. i VUČKOVIĆ, D. (2019): Prevalencija i rezistencija bakterija roda *Campylobacter* iz mesa peradi. *Veterinarska stanica*. 50 (6), 549-557.
- ROBINSON, D. A. (1981): Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. *Br. Med. J.* 282, 1584
- ROSENQUIST, H., SOMMER, H. M., NIELSEN, N. L., CHRISTENSEN, B. B. (2006): The effect of slaughter operations on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant *Campylobacter*. *Int. J. Food Microbiol.* 108, 226-232.
- SÁENZ, Y., ZARAZAGA, M., LANTERO, M., GASTANERES, M. H., BAQUERO, F., TORRES, C. (2000): Antibiotic resistance in *Campylobacter* strains isolated from animals, foods, and humans in Spain in 1997-1998. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44, 267-271.
- SAHIN, O., LUO, N., HUANG, S. and ZHANG, Q. (2003): Effect of *Campylobacter*-specific maternal antibodies on *Campylobacter jejuni* colonization in young chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 5372-5379.
- SCHERER, K., BARTELT, E., SOMMERFELDA, C., HILDEBRANDT, G. (2006): Comparison of different sampling techniques and enumeration methods for the isolation and quantification of *Campylobacter* spp. in raw retail chicken legs. *Int. J. Food Microbiol.* 108, 115-119.
- SHULMAN, S. T., FRIEDMANN, H. C., SIMS, R. H. (2007): Theodor Escherich: The First Pediatric Infectious Diseases Physician? *Clin. Infect. Dis.* 45, 1025-1029.
- SILVA, J., LEITE, D., FERNANDES, M., MENA, C., GIBBS, P. G., TEIXEIRA, P. (2011): *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Front. Microbiol.* 200, 1-12.

- SKERMAN, V. B. D., MCGOWAN, V., SNEATH, P. H. A. (1980): Approved Lists of Bacterial Names. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 30, 225-420.
- SKIRROW, M. B. (2006): John McFadyean and the centenary of the first isolation of *Campylobacter* Species. *Clinical Infectious Diseases.* 43 (9), 1213-1217.
- SNELLING, W. J., MCKENNA, J. P., HACK, C. J., MOORE, J. E., DOOLEY, J. S. (2006): An examination of the diversity of a novel *Campylobacter* reservoir. *Arch. Microbiol.* 186, 31-40.
- TAUXE, R. V. (2002): Emerging foodborne pathogens. *Int. J. Food Microbiol.* 78, 31-41.
- Uredba komisije (EU) 2017/1495 o izmjeni Uredbe (EZ) br. 2073/2005 u pogledu *Campylobacter* u trupovima brojlera. <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R1495&from=EN>.
- VAN DEUN, K., HAESEBROUCK, F., HENDRICKX, M., FAVOREEL, H., DEWULF, J., CELEN, L., DUMEZ, L., MESSENS, W., LELEU, S., VAN IMMERSAL, F., DUCATELLE, R., PASMANS, F. (2007): Virulence properties of *Campylobacter jejuni* isolates of poultry and human origin. *J. Med. Microbiol.* 56, 1284–1289.
- VANDAMME, P., DEBRUYNE, L., DE BRANDT, E., FALSEN, E. (2010): Reclassification of *Bacteroides ureolyticus* as *Campylobacter ureolyticus* comb. nov., and emended description of the genus *Campylobacter*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60, 2016-2022.
- VANDEPLAS, S., DUBOIS-DAUPHIN, R., PALM, R., BECKERS, Y., THONART, P., THÉWIS, A. (2010): Prevalence and sources of *Campylobacter* spp. contamination in free-range broiler production in the southern part of Belgium. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 14, 279-288.

- VUČKOVIĆ, D., ABRAM, M. (2009): Kampilobakteri - najčešći uzročnik bakterijskog proljeva u ljudi širom svijeta. *Medicina*. 45, 344-350.
- VUČKOVIĆ, D., GREGOROVIĆ – KESOVIIJA, P., TIĆAC, B., ABRAM, M. (2007): Kampilobakter kao uzročnik akutne dijareične bolesti u Primorsko – goranskoj županiji tijekom 2006. *Medicina*. 43, 72-77.
- WAGENAAR, J. A., MEVIUS, D. J., and HAVELAAR, A. H. (2006): *Campylobacter* in primary animal production and control strategies to reduce the burden of human campylobacteriosis. *Rev. Off. Int. Epizoot.* 25, 581–594.
- WALDENSTRÖM, J., BROMAN, T., CARLSSON, I., HASSELQUIST, D., ACHTERBORG, R. P., WAGENAAR, J. A., OLSEN, B. (2002): Prevalence of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, and *Campylobacter coli* in different ecological guilds and taxa of migrating birds. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 5911-5917.
- WASSENAAR, T. M., BLASER, M. J. (1999): Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* infections of humans. *Microbes. Infect.* 1, 1023-1033.
- WHYTE, P., COLLINS, J. D., MCGILL, K., MONAHAN, C., O'MAHONY, H. (2001): Quantitative investigation of the effects of chemical decontamination procedures on the microbiological status of broiler carcasses during processin. *J. Food. Protect.* 64, 179-183.
- WILSON, I. G. (2002): *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of raw retail chickens from different producers: a six year survey. *Epidemiol. Infect.* 129, 635-645.
- WOOD, R. C., MACDONALD, K. L., OSTERHOLM, M. T. (1992): Campylobacter enteritis outbreaks associated with drinking raw milk during youth activities. A 10-year review of outbreaks in the United States. *JAMA*. 268, 3228-3230.

- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2007): WHO Initiative to Estimate the Global Burden of Foodborne Diseases. First formal meeting of the Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group. Geneva. (dostupno na: [http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne\\_disease/burden\\_nov07/en/index.htm](http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/burden_nov07/en/index.htm)) [24.srpnja.2022]
- ZGLAVNIK, T., SOKOLOVIĆ, M. (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.
- ZILBAUER, M., DORRELL, N., WREN, B. W., BAJAJ – ELLIOTT, M. (2008): *Campylobacter jejuni* mediated disease pathogenesis: an update. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 120, 123-129.
- ŽIVKOVIĆ, J. (2001): Higijena i tehnologija mesa, veterinarsko sanitarni nadzor životinja za klanje mesa. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska



## **8. ŽIVOTOPIS**

Sanja Furmeg rođena je 22.07.1987. u Koprivnici. Završila je opću gimnaziju Ivana Zakmardija Dijankovečkoga u Križevcima 2006. godine. Iste godine upisala je trogodišnji preddiplomski studij Sanitarnog inženjerstva, a potom dvogodišnji specijalistički diplomski stručni studij Sanitarnog inženjerstva na kojem je diplomirala 2011. godine te stekla naziv diplomirana sanitarna inženjerka.

Od 2016. godine zaposlena je u Hrvatskom veterinarskom institutu, podružnici Veterinarski zavod Križevci u Laboratoriju za mikrobiologiju hrane i hrane za životinje gdje se bavi ispitivanjem kvalitete i zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju, hrane i hrane za životinje. Od 01. srpnja 2019 godine imenovana je zamjenicom voditeljice Laboratorija. Osim rada u Laboratoriju, radi na poslovima dezinfekcije, dezinsekcije i deratizacije u Službi za DDD Veterinarskog zavoda Križevci.

Dana 27. travnja 2018. sudjelovala je na tematskoj edukaciji „Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Campylobacter* spp. – Postupak određivanja broja kolonija, prema HRN EN ISO 10272-2:2017“. Od 29. do 30.05.2018. prisustvovala je edukaciji na temu „Uvod u metode molekularne biologije“ koja se održala na Hrvatskom veterinarskom institutu. Od srpnja 2018. godine sudjeluje u sustavu cjeloživotnog obrazovanja na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu na specijalističkom usavršavanju za utvrđivanje botaničkog podrijetla meda.

Kao autor i koautor objavila je 19 znanstvenih i stručnih radova te aktivno sudjelovala na 11 međunarodnih i domaćih skupova. Voditeljica je manjeg istraživačkog projekta (namjensko institucijsko financiranje znanstvene djelatnosti sredstvima Ministarstva znanosti i obrazovanja) „Pojavnost *Campylobacter* spp. u kožama vratova i u svježem pilećem mesu kao vodećeg uzročnika bakterijskog trovanja hranom“, pod mentorstvom akademika Željka Cvetnić.

Članica je Hrvatske komore zdravstvenih radnika – Strukovni razred za djelatnost sanitarnog inženjerstva i Hrvatskog mikrobiološkog društva – Sekcija za mikrobiologiju hrane.

## **9. POPIS RADOVA**

## **Izvorni znanstveni i pregledni radovi u CC časopisima**

Kiš, M., Vulić, A., Kudumija, N., Šarkanj, N., Jaki Tkalec, V., Aladić, K., Škrivanko, M., Furmeg, S., Pleadin, J. (2021) A two-year occurrence of Fusarium T-2 and HT-2 toxin in Croatian cereals relative of the regional weather. *Toxin* 13(1):39, doi.org/10.3390/toxins13010039

Kiš, M., Furmeg, S., Jaki Tkalec, V., Zadavec, M., Denžić Lugomer, M., Končurat, A., Benić, M., Pavliček, D. (2018) Characterisation of Croatian honey by physicochemical and microbiological parameters with mold identification. *Journal of food safety* 38 (5), 1-6. doi:10.1111/jfs.12492

Kiš, M., Furmeg, S., Jaki Tkalec, V., Zadavec, M., Benić, M., Sokolović, J., Majnarić, D. (2019) Identification of moulds from Croatian honey. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods* 11 (6), 571-576. doi:10.3920/QAS2019.1546

## **Znanstveni i pregledni radovi u drugim časopisima**

Pavliček, D., Furmeg, S., Jaki Tkalec, V., Denžić Lugomer, M., Novosel, T. (2022) Ispitivanje kakvoće meda na hrvatskom tržištu u razdoblju 2019-2021. godine. *Veterinarska stanica* 53 (5), str. 513-523.

Furmeg, S., Feher Turković, L., Mojsović Čuić, A., Jaki Tkalec, V., Kiš, M. (2021) Microbiological quality of well water from Koprivnica-križevci county in 2018. *Environmental engineering= Inženjerstvo okoliša*, 8 (1-2), str. 11-16.

Mladenović, K.G., Grujović, M.Ž., Furmeg, S., Jaki Tkalec, V., Stefanović, O.D., Kocić-Tanackov, S.D. (2021) Enterobacteriaceae in food safety with an emphasis on raw milk and meat. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(23):8615-8627. doi: 10.1007/s00253-021-11655-7

Jaki Tkalec, V., Furmeg, S., Bukvić, M., Cvetnić, M., Sokolović, J., Mustapić, P., Sokolić, K., Mikulić, M., Cvetnić, Ž. (2021) Učestalost serovarova *Salmonella* spp. u pilećem mesu s područja sjeverozapadne Hrvatske. *Veterinarska stanica* 52 (4), str. 387-396.

Furmeg, S., Sokolović, J., Bukvić, M., Sokolić, K., Mustapić, P., Benić, M., Cvetnić, Ž., Jaki Tkalec, V. (2021) Uzorkovanje hrane, vode za ljudsku potrošnju te obrisaka površina na mikrobiološku ispravnost. *Veterinarska stanica* 52 (1), str. 105-112.

Furmeg, S., Cvetnić, Ž., Bukvić, M., Sokolović, J., Mikulić, M., Cvetnić, M., Jaki Tkalec, V. (2021) *Campylobacter* spp. u koži vrata tovnih pilića. *Veterinarska stanica* 52 (3), str. 265-273.

Zadravec, M., Jaki Tkalec, V., Furmeg, S., Kiš, M., Mitak, M., Mikuš, T. (2020) Molekularna identifikacija kvasaca iz svježeg mlijeka i tradicionalno proizvedenog svježeg sira. *Veterinarska stanica* 51 (6), str. 605-610.

Cvetnić, Ž., Majnarić, D., Bačanek, B., Jurmanović, J., Sokolović, J., Pavljak, I., Sukalić, T., Jaki Tkalec, V., Končurat, A., Kiš, M., Furmeg, S. (2020) Diseases that changed the world. *BET. ЖЫПХАЖИ* 19 (2), str. 217-227.

Jaki Tkalec, V., Furmeg, S., Kiš, M., Sokolović, J., Benić, M., Cvetnić, L., Pavlinec, Ž., Špičić S., Cvetnić, Ž. (2020) Nalaz patogenih bakterija u sirovom mlijeku i mliječnim proizvodima s posebnim osvrtom na vrstu *Yersinia enterocolitica*. *Veterinarska stanica* 51 (5), 487-495.

Kiš, M., Furmeg, S., Jaki Tkalec, V., Sokolović, J., Sokolić, K., Cvetnić, Ž. (2019) Rasprostranjenost i kontrola bakterije *Listeria monocytogenes* u proizvodnji hrane. *Veterinarska stanica* 50 (6), 523-530.

Denžić Lugomer, M., Pavliček, D., Kiš, M., Jaki Tkalec, V., Furmeg, S., Sokolović, J., Majnarić, D. (2019) Water quality on farms in northwest Croatia. *Veterinarska stanica* 50 (2), 115-124.

Kiš, M., Furmeg, S., Jaki Tkalec, V., Sokolović, J., Zadravec, M., Majnarić, D., Cvetnić, Ž. (2019) Mikrobiološka analiza meda s identifikacijom plijesni. *Veterinarska stanica* 50 (2), 107-113.

Denžić Lugomer, M., Jaki Tkalec, V., Kiš, M., Pavliček, D., Furmeg, S., Sokolović, J. (2017) Water quality on cattle farms in the northwest Croatia. Hrvat. čas. prehrambenu tehnol. biotehnol. Nutr. 12 (3-4), 126-130.

### **Znanstveni i stručni radovi u zbornicima skupova s međunarodnim recenzijama**

Furmeg, S., Jaki Tkalec, V., Kiš, M., Sokolović, J., Majnarić, D., Cvetnić, Ž. (2019) Prisutnost roda *Campylobacter* u kožama vratova tovni pilića tijekom ljetnog razdoblja 2018. godine. XIII. simpozij Peradarski dani 2019. s međunarodnim sudjelovanjem, Poreč, str. 140-144. (poster, međunarodna recenzija, objavljeni rad, znanstveni).

Kiš, M., Furmeg, S., Jaki Tkalec, V., Denžić Lugomer, M., Pavliček, D., Majnarić, D., Sokolović, J. (2017) Kvaliteta vode za napajanje peradi na farmama sjeverozapadne Hrvatske. XII. Simpozij Peradarski dani 2017. s međunarodnim sudjelovanjem, Šibenik, str. 116-121. (poster, međunarodna recenzija, objavljeni rad, znanstveni).

### **Sažeci u zbornicima skupova**

Furmeg, S., Jaki Tkalec, V., Sokolović, J., Cvetnić, Ž (2022) Mikrobiološka ispravnost tradicionalno proizvedenog svježeg sira. Zbornik sažetaka 44. Hrvatskog simpozija mljekarskih stručnjaka s međunarodnim sudjelovanjem. Volarić, Vera (ur.). Zagreb: Hrvatska mljekarska udruga, (postersko priopćenje)

Furmeg, S., Feher Turković, L., Mojsović Čuić, A., Jaki Tkalec, V., Kiš, M. (2019) Mikrobiološka ispravnost bunarskih voda na području Koprivničko – križevačke županije u 2018. Book of Abstracts 8th International Conference Water for all Osijek, str. 112-112 (postersko priopćenje)

Jaki Tkalec, V., Furmeg, S., Kiš, M., Sokolović, J. (2019) Zdravstvena ispravnost vode za napajanje životinja na poljoprivrednim gospodarstvima sjeverozapadne Hrvatske. Book of Abstracts 24rd Annual Counselling of Doctors of Veterinary Medicine of Republic of Srpska (Bosnia and Hercegovina) Bijeljina, str. 145-146 (postersko priopćenje)

Kiš, M., Furmeg, S., Jaki Tkalec, V., Sokolović, J., Cvetnić, Ž. (2019) Mikrobiološki status tradicionalnih sireva sa obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava. Knjiga sažetaka s 12. međunarodnog znanstveno-stručnog skupa Hranom do Zdravlja Osijek, str. 97-97 (postersko priopćenje)

Kiš, M., Furmeg, S., Jaki Tkalec, V., Zadavec, M., Sokolović, J., Majnarić, D. (2018) Fungal contamination of Croatian honey. Abstracts of the 2nd International Congress on Food Safety and Quality 'Food Life Cycle' Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, Opatija, str. 55-55 (postersko priopćenje)

Zadavec, M., Jaki Tkalec, V., Furmeg, S., Mitak, M., Mikuš, M. (2018) Molekularna identifikacija kvasaca izoliranih iz mliječnih proizvoda. Zbornik sažetaka 43. Hrvatskog simpozija mljekarskih stručnjaka s međunarodnim sudjelovanjem. Volarić, Vera (ur.). Zagreb: Hrvatska mljekarska udruga, str. 93-94 (postersko priopćenje)

Jaki Tkalec V., Furmeg, S., Kiš, M., Majnarić, D., Sokolović, J. (2018) Prisutnost bakterijske vrste *Staphylococcus aureus* u mesu peradi. Knjiga sažetaka s 11. međunarodnog znanstveno-stručnog skupa Hranom do zdravlja, Split, str. 79-79 (postersko propćenje)

Končurat A., Sukalić, T., Majnarić, D., Bačaneč, B., Jaki Tkalec, V., Denžić Lugomer, M., Pavljak, I., Sokolović, J., Pavliček, D., Jurmanović, J., Kiš, M., Furmeg, S. (2018) 10 godina akreditacije u Veterinarskom zavodu Križevci. Iskustva laboratorija u primjeni HRN EN ISO/IEC 17025, Crikvenica (predavanje, cjeloviti rad)

Jaki Tkalec V., Furmeg, S., Kiš, M., Majnarić, D., Sokolović, J. (2018) Prisutnost bakterijske vrste *Yersinia enterocolitica* u mlijeku i mliječnim proizvodima. Zbornik sažetaka 43. hrvatskog simpozija mljekarskih stručnjaka, Lovran, str. 72-73 (postersko priopćenje).

Furmeg S., Jaki Tkalec, V., Zadavec, M., Sokolović, J., Majnarić, D. (2017) Mikološki profil nesukladnih uzoraka meda. Knjiga sažetaka 10. Međunarodni znanstveno – stručni skup Hranom do zdravlja Drago Šubarić, Midhat Jašić (ur.). Osijek i Tuzla: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek i Farmaceutski fakultet Univerziteta u Tuzli, str. 90-90 (postersko priopćenje)