

**PRISUSTVO TERMOFILNIH *Campylobacter* VRSTA KOD
BROJLERA I SVINJA NA NEKIM KLANICAMA U
REPUBLICI SRBIJI***

***PRESENCE OF THERMOPHILIC Campylobacter SPECIES IN
BROILERS AND PIGS AT CERTAIN ABATTOIRS IN REPUBLIC
OF SERBIA***

Z. Tambur, Ružica Ašanin, I. Stojanov, I. Medenica**

Ispitivanjima obavljenim u periodu od januara 2006. godine do marta 2007. godine ukupno je pregledano 449 uzoraka cekuma brojlera i cekuma i kolona svinja. Od navedenog broja 251 uzorak je poticao od brojlera, a 198 uzoraka iz cekuma i kolona svinja. Svi navedeni uzorci dobijeni su struganjem površine navedenih delova digestivnog sistema brojlera i svinja. Materijal je na mestu uzorkovanja zasejavan sa razređenjem na podlogu (Karmali agar), radi dobijanja pojedinačnih kolonija. Nakon zasejavanja podloge su odlagane u lonce za anaerobe, u kojima su mikroaerofilni uslovi postignuti primenom Campy Pak, BBL kesica. Lonci sa zasejanim podlogama po dopremanju u laboratoriju stavljeni su u termostat na temperaturu od 42°C tokom 48 časova radi inkubiranja. Nakon inkubacije izrasle kolonije su pregledane makroskopski, a zatim su od njih pripremani mikroskopski preparati koji su nakon sušenja i fiksiranja bojeni 2% karbol fuksinom. Oni izolati koji su na mikroskopskim preparatima imali oblik zareza, latinskog slova S ili galebovih krila smatrani su *Campylobacter* vrstama (slika 1 i 2). Identifikacija izolovanih termofilnih kampilobakterija vršena je primenom klasičnih i komercijalnih biohemijskih testova API Campy, proizvođača Bio Mérieux, Francuska. Primenom navedenih mikrobioloških metoda od 251. uzorka iz cekuma brojlera iz 203 (80,88%) izolovane su termofilne *Campylobacter* vrste. Takođe, od 198 uzoraka iz cekuma i kolona svinja koji su bili obuhvaćeni ispitivanjem termofilne kampilobakterije su izolovane iz 153 (77,27%). Dobijeni rezultati ukazuju na

* Rad primljen za štampu 30. 05. 2008. godine

** Dr sci. med. vet. Zoran Tambur, Institut za higijenu VMA, Beograd; dr sci. med. vet. Ružica Ašanin, redovni profesor, Katedra za mikrobiologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr sci. med. vet. Igor Stojanov, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad; dr med. Ivica Medenica, Klinika za traumatologiju VMA, Beograd

nešto veću prevalenciju ovih bakterija kod brojlera. Međutim, ovako visok procenat kolonizovanih, kako brojlera, tako i svinja termofilnim *Campylobacter* vrstama može predstavljati ozbiljan problem, posebno ako se zna da infekcije ljudi izazvane konzumiranjem nedovoljno termički obrađenog mesa brojlera i svinja nisu tako retke.

Ključne reči: brojleri, svinje, termofilne Campylobacter vrste, cekum, kolon

Uvod / Introduction

Zoonoze su bolesti zajedničke ljudima i životinjama. Jedno od najznačajnijih zoonotskih oboljenja je kampilobakterioza. Uzročnici ovog oboljenja su bakterije iz roda *Campylobacter* koji obuhvata 18 vrsta. Crevna oboljenja kod ljudi izazivaju kampilobakterije koje najbolje rastu na temperaturi od 42°C i zato se nazivaju termofilne ili termotolerantne. U ovu grupu se ubrajaju: *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* i *Campylobacter upsaliensis* (Otašević, 1989).

Glavni rezervoari termofilnih kampilobakterija su domaće i divlje životinje koje obezbeđuju kruženje bakterija u prirodi. Za jednog od glavnih nosilaca kampilobakterija označava se živina, koja je u starosti od dve do tri nedelje kolonizovana termofilnim *Campylobacter* vrstama od 50-90% (Newel, 2002). Svinje su ovom bakterijom kolonizovane u sličnom procentu kao živina. Životinje retko obole od nje ali kada se to desi bolest protiče sa blagim simptomima. Bolest najčešće nastaje nakon infekcije virulentnim sojevima, usled interkurentnih infekcija ili nakon pada imuniteta inficiranih jedinki (López i sar., 2002). Životinje kolonizovane termofilnim kampilobakterijama su značajni prenosioci uzročnika na ljude kod kojih termofilne *Campylobacter* vrste izazivaju ozbiljna intestinalna i ekstraintestinalna oboljenja (Gilbert i Slavik, 2004; Newel, 2002). Važnu ulogu u prenošenju *Campylobacter* vrsta na ljude imaju i proizvodi životinjskog porekla koji se koriste u ishrani ljudi (Otašević i sar., 2000).

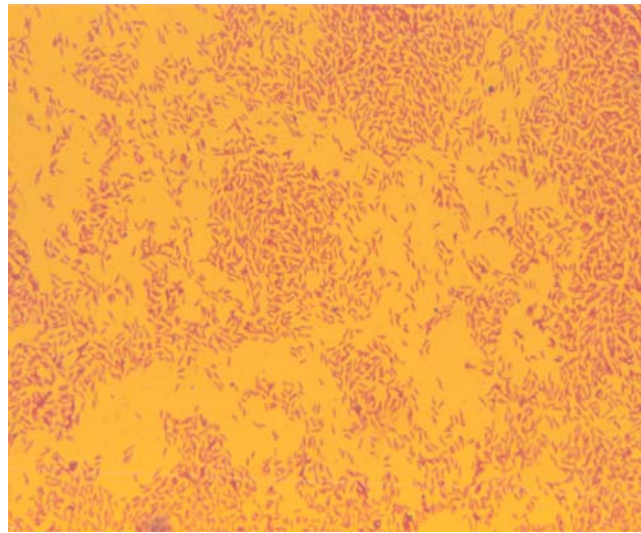
Pored toga što izaziva pobačaje ovaca, akutni enteritis teladi, pasa i mačaka *Campylobacter jejuni* izaziva i hepatitis živine. Klinički simptomi hepatitisa živine uključuju pospanost, malaksalost, česte prolive i smanjenu nosivost.

Bakterije se u živinarnik unose na čizmama i odeći osoblja (Petersen i sar., 2001). Evans i Sayers (2000) su mišljenja da kontaminirna voda, osoblje i životinje slobodne u prirodi, mogu da prenesu bolest na živinu. Muve su takođe značajne u prenošenju termofilnih *Campylobacter* vrsta među živinom. Metodom PCR dokazano je da 70,2% muva u živinarniku nosi ove mikroorganizme (Hald i sar., 2004). Dugo se smatralo da je *Campylobacter coli* uzročnik dizenterije svinja. Kasnije je dokazano da dizenteriju svinja izaziva *Treponema hyodysenteriae* sada *Brachyspira hyodysenteriae*. Ipak, kod odlučene prasadi *Campylobacter coli* može izazvati blaži oblik dizenterije svinja (Otašević i sar., 2000).

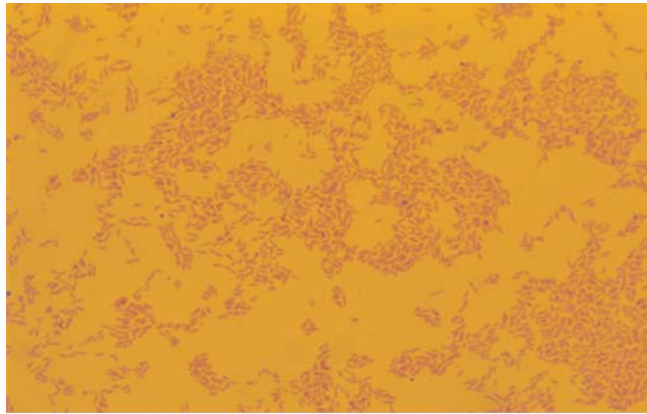
S obzirom da u Republici Srbiji nema podataka o prisustvu termofilnih *Campylobacter* vrsta kod živine i svinja, ovim ispitivanjem želeli smo da ustanovimo njihovo prisustvo, kao i prevalenciju kod navedenih vrsta životinja.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Za navedena ispitivanja korišćen je materijal prikupljen na nekoliko klanica živine i svinja. Materijal je dobijen struganjem površine cekuma živine i cekuma i kolona svinja. Materijal je zasejavan na mesta uzorkovanja sa razređenjem na podlogu (Karmali agar), radi dobijanja pojedinačnih kolonija. Nakon zasejavanja podloge su odlagane u lonac za anaerobe, a zatim su pomoću Campy Pak, BBL kesica u loncima stvoreni mikroaerofilni uslovi. Nakon dolaska u laboratoriju lonci sa zasejanim hranljivim podlogama stavljeni su u termostat i inkubirani na temperaturi od 42°C u tajanju od 48 časova. Porasle kolonije nakon inkubacije su pregledane makroskopski, a zatim su od njih pripremani mikroskopski preparati, koji su nakon sušenja i fiksiranja bojeni 2% karbol-fuksinom. *Campylobacter* vrstama smatrani su oni izolati koji su imali oblik zarez, latinskog slova S ili galebovih krila (slike 1 i 2). Identifikacija izolovanih termofilnih kampilobakterija vršena je klasičnim i komercijalnim biohemijskim testovima API Campy proizvođača Bio Mérieux, Francuska.



Slika 1. *Campylobacter* spp. – bojenje 2% karbol fuksinom (Foto Tambur Z.)
Figure 1. *Campylobacter* spp. – staining with 2% carbol fuxin (Photo Z. Tambur)



Slika 2. *Campylobacter* spp. – bojenje 2% karbol fuksinom (Foto Tambur Z.)
Figure 2. *Campylobacter* spp. – staining with 2% carbol fuxin (Photo Z. Tambur)

Rezultati rada i diskusija / Results and discussion

Ukupno je pregledano 449 uzoraka dobijenih struganjem površine cekuma brojlera i cekuma i kolona svinja. Rezultati ispitivanja su prikazani tabelarno.

Tabela 1. Zastupljenost termofilnih *Campylobacter* vrsta kod brojlera i svinja (izraženo u ukupnom broju i procentualnoj zasupljenosti)
Table 1. Presence of thermophilic *Campylobacter* species in broilers and pigs (expressed as total number and as percent presence)

Vrsta životinje / <i>Animal specie</i>	Broj pregledanih uzoraka / <i>Number of examined samples</i>	Broj pozitivnih (procentat) / <i>Number of positive (percent)</i>
Brojleri / <i>Broilers</i>	251	203 (80,88%)
Svinje / <i>Pigs</i>	198	153 (77,27%)

Iz tabele se vidi da su termofilne *Campylobacter* vrste izolovane u nešto većem procentu iz cekuma živine nego iz cekuma i kolona svinja. Na sluznici cekuma brojlera, cekuma i kolona svinja od kojih su uzimani uzorci za ispitivanje uglavnom nije bilo vidljivih patoloških promena. Izuzetak je samo pet cekuma brojlera, kod kojih je sluznica bila hemoragična i edematozna. Ovaj nalaz ide u prilog tvrdnji da životinje retko obole od crevne kampilobakterioze (Luber Petra). Naši rezultati su saglasni sa rezultatima drugih autora (Atanasova i Ring, 1999; Busselo i sar., 2004; Hald i sar., 2004; Humphrey i sar., 2005; Newel, 2002; Pacheco i sar., 1999; Wyszynska i sar, 2004). U Tajlandu su termofilne *Campylobacter* vrste izolovane iz samo 12% svinja i živine (Padungton i sar., 2003). Živina se *Campylobacter* vrstama inficira sa tri nedelje starosti, a eksperimentalno je

ustanovljeno da je samo 35 kampilobakterija potrebno uneti peroralno da bi se izazvala crevna kampilobakterioza kod pilića starih 24 časa (Wyszyńska i sar, 2004).

Zaključak / Conclusion

U ispitivanjima obavljenim u periodu od januara 2006. godine do marta 2007. godine, pregledano je 449 uzoraka od kojih je 251 uzorak bio sa površine cekuma brojlera i 198 uzoraka sa površine cekuma i kolona svinja.

Od 251. uzorka poreklom od brojlera iz 203 (80,88%) su izolovane termofilne *Campylobacter* vrste, dok su od 198 uzoraka poreklom od svinja termofilne *Campylobacter* vrste izolovane iz 153 (77,27%) uzorka. Dobijeni rezultati ukazuju na nešto veću prevalenciju ovih bakterija kod brojlera.

Međutim, ovako visok procenat kolonizovanih, kako brojlera, tako i svinja termofilnim *Campylobacter* vrstama može predstavljati ozbiljan problem, posebno ako se zna da infekcije ljudi izazvane konzumiranjem nedovoljno termički obrađenog mesa brojlera i svinja nisu tako retke.

Literatura / References

1. Atanassova V, Ring C. Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry and poultry meat in Germany. *International Journal of Food Microbiology* 1999; 51: 187-90.
2. Busselo IS, Vergara FO, Yarza-Perez EG, Palma FL, Benito AR, Andrade YA: Eritema nudoso: modificacion etiologica an las dos ultimas decades, *Ann Pediatr* 2004; 61(5) 403-7.
3. Evans SJ, Sayers AR. A longitudinal study of *Campylobacter* of broiler floks in Great Britain, *Preventive Veterinary Medicine* 2000; 46: 209-23.
4. Gilbert C, Slavik M. Determination of toxicity of *Campylobacter jejuni* isolated from humans and from poultry carcasses acquired at various stages of production. *Journal of Applied Microbiology* 2004; 97: 347-53.
5. Hald B, Skovgard B, Duong D, Pedersen K, Dybdahl J, Jespersen BJ, Madsen M: Flies and *Campylobacter* infection of broiler flocks, *Emerging Infectious Diseases* 2004; 10(8): 1490-2.
6. Humphrey JT, Jørgensen F, Frost AJ, Wadda H, Dominique G, Elviss CN, *et al*: Prevalence and Subtypes of ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* spp. in comercial poultry flocks before, during and after tretment with fluoroquinolones. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005; 49(2): 690-8.
7. López MC, Giacoboni G, Agostini A, Cornero JF, Tellechea MD, Trinidad JJ. Thermotolerant *Campylobacters* in domestic animals in a defined population in Buenos Aires, Argentina. *Preventive Veterinary Medicine* 2002; 55: 193-200.
8. Lubber P, Wagner J, Helmut H, Bartelt E. Antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated in 1991 and 2001-2002 from poultry and human in Berlin, Germany. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003; 3825-30.
9. Newell GD. The ecology of *Campylobacter jejuni* in avian and human hosts and in the environment. *International Journal of Infectious Disease* 2002; 6: 3516-21.

10. Ono K, Yamamoto K. Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. International Journal of Food Microbiology 1999; 47: 211-9.
11. Otašević M. Izolovanje i identifikacija kampilobaktera iz kliničkog materijala i materijala sa obdukcije. Doktorska disertacija, Niš 1989; 160-5.
12. Otašević M, Miljković-Selimović B, Todorović B. Kampilobakter i kampilobakterioze. Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Niš: 2000.
13. Pacheco K, Peña, Gamboa del mar M, Hernández F. Prevalence of *Campylobacter* in chickens in a tropical environment. Rev Biomed 1999; 10: 63-4.
14. Padungton P, Kaneene BJ. *Campylobacter* spp. in human, chickens, pigs and their antimicrobial resistance. Journal Vet Med Sci 2003; 65(2): 161-70.
15. Petersen L, Nielsen EM, On SLW. Serotype and genotype diversity and hatchery transmission of *Campylobacter jejuni* in commercial poultry flocks. Veterinary Microbiology 2001; 82: 141-54.
16. Wyszynska A, Raszko A, Lis M, Jagusztyn-Krynicka EK. Oral immunization of chickens with avirulent *Salmonella* vaccine carrying *C. jejuni* 72Dz/92 *cjaA* gene elicits specific humoral immune response associated with protection against challenge with wild-type *Campylobacter*. Vaccine 2004; 22: 1379-89.

ENGLISH

PRESENCE OF THERMOPHILIC *Campylobacter* SPECIES IN BROILERS AND PIGS AT CERTAIN ABATTOIRS IN REPUBLIC OF SERBIA

Z. Tambur, Ružica Ašanin, I. Stojanov, I. Medenica

Examinations were carried out during the period from January 2006 until March 2007 on a total of 449 samples of the cecum of broilers and the cecum and the colon of pigs. These samples included 251 samples originating from broilers and 198 samples of pig cecums and colons. All the listed samples were obtained by scraping the surface of these parts of the digestive system of broilers and pigs. At the site of sampling, the diluted material was sown on a medium (Karmali agar), in order to get individual colonies. After sowing, the bases were placed in anaerobic jars in which microaerophilic conditions were achieved using Campy Pak, BBL bags. On arrival at the laboratory, the jars containing the sown bases were placed in a thermostat, at a temperature of 42°C for 48 hours for the purpose of incubation. Following incubation, the grown colonies were examined macroscopically, and then microscopic preparations were made from them, which were stained with 2% carbol fuchsin after drying and fixation. Those isolates which were in the form of a comma, the letter S, or gull's wings in the microscopic preparations were considered *Campylobacter* species (Figures 1 and 2). The isolated thermophilic campylobacteria were identified using conventional and commercial biochemical tests API Campy, manufactured by Bio Mérieux, France. With the application of these microbiological methods, thermophilic *Campylobacter* species were isolated from 203 (80.88%) of the 251 samples of broiler cecums. Furthermore, thermophilic campylobacteria were isolated from 153 (77.27%) of the 198 samples from the cecum and colon of pigs taken within these investigations. The obtained results indicate that there is a somewhat greater prevalence of these bacteria among the broilers. However, such a high percentage of both broilers and pigs colonized by thermophilic *Campylobacter* species could pose a serious problem, in particular when it

is known that infections of humans caused by the consumption of insufficiently thermally processed meat of broilers or pigs are not infrequent.

Key words: Broilers, pigs, thermophilic *Campylobacter* species, cecum, colon.

РУССКИЙ

ПРИСУТСТВИЕ ТЕРМОФИЛЬНЫХ *Campylobacter* ВИДОВ У БРОЙЛЕРОВ И СВИНЕЙ НА НЕКОТОРЫХ СКОТОБОЙНЯХ В РЕСПУБЛИКЕ СЕРБИИ

З. Тамбур, Ружица Ашанин, И. Стоянов, Н. Меденица

Испытаниями, сделанными в периоде от января 2006 до марта 2007 года совокупно осмотрено нами 449 образчиков слепой кишки бройлеров и слепой кишки и толстой кишки свиней. Из приведённого числа 251 образчик происходил от бройлеров, а 198 образчиков из слепой кишки и толстой кишки свиней. Все приведённые образчики получены терением поверхности приведённых частей пищеварительной системы бройлеров и свиней. Материал на месте образчикования засеиван с разрежённостью на среду (Кармали агар), ради получения отдельных колоний. После засеивания среды откладываваны в горшки для анаэробов, в которых микроаэрофильные условия, достигнутые применением Кампи Пак, ББЛ пакетов. Горшки с засеиванными средами после доставления в лабораторию ставлены в термостат на температуре от 42°C в течение 48 часов ради инкубирования. После инкубации вырослые колонии осмотрены макроскопически, а затем из них подготавливаны микроскопические препараты, которые после сушки и фиксирования крашены 2% карбол фуксином. Те изоляты, которые на микроскопических препаратах имели форму надреза латинской буквы S или крильев чайки считаны *Campylobacter* видами (картина 1 и 2). Индентификация изолированных термофильных кампилобактерий совершена применением классических и коммерческих биохимических тестов АПИ Кампи, производителя Био Мериеух, Франция. Применением, приведённых микробиологических методов от 251 образчика из слепой кишки бройлеров из 203 (80,88%) изолированы термофильные *Campylobacter* виды. Также, от 198 образчиков из слепой кишки и толстой кишки свиней, которые были охвачены испытанием термофильные кампилобактерии изолированы из 153 (77,27%). Полученные результаты указывают на немного бóльшую превалентность этих бактерий у бройлеров инфекции людей. Между тем, так высокий процент колонизированных как бройлеров, так и свиней термофильными *Campylobacter* видами может представлять собой серьёзную проблему отдельно, если известно, что инфекции людей вызваны потреблением недостаточно термически обработанного мяса бройлеров и свиней не так редкие.

Ключевые слова: бройлеры, термофильные *Campylobacter* виды, слепая кишка, толстая кишка