

Prevalencija i rezistencija bakterija roda *Campylobacter* iz mesa peradi



Blanka Pružinec Popović, Palmira Gregorović Kesovija, Maja Abram i Darinka Vučković*

Sažetak

Cilj rada bio je ustvrditi prevalenciju bakterija roda *Campylobacter* u pilećem mesu u maloprodaji grada Rijeke te ispitati njihovu osjetljivost na antibiotike. Usporediti dobivene rezultate s učestalošću i profilom otpornosti na antibiotike humanih izolata kampilobaktera. Ukupno 60 uzoraka pilećeg mesa bakteriološki je analizirano standardiziranim postupcima odvajanja i identifikacije za detekciju kampilobaktera u hrani. Ispitana je osjetljivost svih izolata na ampicilin, eritromicin, ciprofloksacin, gentamicin i tetracikline. Rezultati su uspoređeni s humanim izolatima kampilobaktera izdvojenih u istom periodu iz 6444 uzoraka stolice bolesnika s akutnom dijarealnom bolešću. U pilećem mesu prevalencija kampilobaktera iznosi 31,7 %, a u ljudi 4,2 %. Prevladavao je *C. jejuni* (78,9 % u mesu peradi i 89 % u stolici bolesnika). Svi izolati bili su osjetljivi

na gentamicin. Oko četvrtina izolata iz mesa peradi bila je otporna na eritromicin, dok su humani izolati bili osjetljivi. 33 % *C. jejuni* iz peradi, a 55 % humanih izolata bilo je otporno na ciprofloksacin, dok je 53 % *C. jejuni* iz mesa peradi za razliku od 9 % humanih izolata bilo otporno na tetracikline. U pilećem mesu u maloprodaji prisutne su bakterije roda *Campylobacter* koje predstavljaju značajan rizik u za pojavu kampilobakterioze u ljudi. Rezultati ispitivanja osjetljivosti na antibiotike ovih bakterija upućuju na važnost ograničavanja uporabe antimikrobnih sredstava kao promotora rasta u peradi kako bi se spriječio rast bakterijske rezistencije i prijenos rezistencije s izolata iz pilećeg mesa na sojeve kampilobaktera koji izazivaju oboljenje u ljudi putem hranidbenog lanca.

Ključne riječi: antibiotici, *C. jejuni*, pileće meso, rezistencija, stolica

Uvod

Bakterije roda *Campylobacter* (uglavnom *C. jejuni* i *C. coli*) važni su bakterijski uzročnici gastroenteritisa ljudi diljem

svijeta. U razvijenim zemljama češće se izoliraju od ostalih crijevnih patogena (salmonela, šigela) te predstavljaju važan

Mr. sc. Blanka PRUŽINEC POPOVIĆ, dr. med., mr. sc. Palmira GREGOROVIĆ KESOVIIJA dr. med., Nastavni Zavod za javno zdravstvo PGŽ, Rijeka, Hrvatska; dr. sc. Maja ABRAM, dr. med., redovita profesorica, dr. sc. Darinka VUČKOVIĆ*, (dopisni autor, e-mail: darinka.vuckovic@medri.uniri.hr), dr. med., redovita profesorica, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Hrvatska

javno-zdravstveni problem sa značajnim socioekonomskim posljedicama (Kaakoush i sur., 2015.).

Kampilobakterioza je primarno zoonoza. Najčešće se prenosi kontaminiranom hranom i vodom, a nedovoljno termički obrađeno pileće meso važan je izvor zaraze kampilobakterom (Kaakoush i sur., 2015.). Unatrag 60 godina, radi bržeg prirasta i iz preventivnih razloga, u hranu peradi dodavane su niske doze antibiotika (neterapijska primjena) što je pogodovalo razvoju bakterijske rezistencije na antibiotike koji se primjenjuju i u humanoj medicini (Philips i sur., 2004., Meek i sur., 2015.). Uporaba antibiotika pri proizvodnji pilećeg mesa dovodi do rezistencije ne samo kampilobaktera, već i drugih bakterija prisutnih u probavnom sustavu pilića, kao što su *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp. i *Enterococcus* spp. te putem konzumacije pilećeg mesa može doći do prijenosa rezistencije i ozbiljnih posljedica za zdravlje ljudi (Oliveira i sur., 2010.).

U Republici Hrvatskoj 2010. godine započinje studija propisana od Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja (u daljnjem tekstu Ministarstvo) koja se provodi u odabranim laboratorijima s ciljem utvrđivanja prevalencije i praćenja osjetljivosti na antibiotike sojeva kampilobaktera izoliranih iz pilećeg mesa tijekom uzgoja na farmama (Narodne Novine (NN) 31, 2010.). Humana kampilobakterioza u Republici Hrvatskoj prijavljuje se kao zarazna bolest od 13. srpnja 2007. godine (NN 79, 2007.). Prema posljednjim javno dostupnim podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) u 2016. godini prijavljeno je 1539 potvrđenih slučajeva humane kampilobakterioze (HZJZ, 2017.).

Kako bi ustanovili prisustvo bakterija roda *Campylobacter* te ispitali njihovu osjetljivost na antibiotike koji se koriste u humanoj i veterinarskoj

medicini, bakteriološki su analizirani uzorci pilećeg mesa iz maloprodaje na području grada Rijeke. Zastupljenost i osjetljivost na antibiotike dobivenih izolata kampilobaktera iz pilećeg mesa uspoređeni su s brojem i osjetljivošću izolata iz uzoraka stolice ljudi oboljelih od kampilobakterioze u vrijeme provođenja studije.

Materijali i metode

Uzorci pilećeg mesa. Bakteriološki je pregledano sirovo meso peradi u trupovima, prikupljeno u maloprodaji na području grada Rijeke u razdoblju od 1. siječnja do 31. prosinca 2011. godine. Zastupljeni su razni hrvatski proizvođači, a uzorkovan je po jedan uzorak, sukladno Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu propisanom od Ministarstva (Benussi-Skukan i sur., 2011.). Mjesečno je obrađeno po 5 uzoraka, kako bi zastupljenost broja uzoraka kroz svih 12 mjeseci bila jednaka. Mikrobiološki je analizirano 60 trupova pilećeg mesa metodama koje se primjenjuju za izolaciju bakterija roda *Campylobacter* iz hrane.

Mikrobiološka obrada uzoraka. Uzorci su aseptički odvagani u težini od 25 g, i homogenizirani u CampyFoodBroth bujonu (bioMerieux, Marcy l'Étioile, Francuska) te inkubirani u mikroaerofilnim uvjetima (GENbox microae, bioMerieux, Marcy l'Étioile, Francuska) 48 sati na 42 °C. Po završetku faze predobogaćivanja, 10 µL ispitivane bujonske kulture nasadeno je na kromogeni, selektivni, CampyFoodID agar (bioMerieux, Marcy l'Étioile, Francuska) koji je ponovo inkubiran u istim uvjetima. Inicijalna identifikacija je provedena temeljem pozitivnih testova katalaze i oksidaze te testom hipurata za diferencijaciju *C. jejuni* od *C. coli*. Identifikacija je potvrđena API Campy biokemijskim nizom (bioMerieux, Marcy l'Étioile, Francuska) sukladno uputstvu proizvođača.

Ispitivanje antimikrobne osjetljivosti. Svim izolatima ispitana je osjetljivost na antimikrobne lijekove disk difuzijskom metodom korištenjem sljedećih diskova antibiotika: ampicilin 10 µg, eritromicin 15 µg, ciprofloksacin 5 µg, gentamicin 10 µg i tetraciklin 30 µg. Inokulirane podloge inkubirane su na 42 °C u mikroaerofilnim uvjetima, te se nakon 18-24 sata očitavala zona inhibicije rasta bakterija. Rezultati su interpretirani prema standardima američkog *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (CLSI, 2008.).

Humani izolati kampilobaktera. Podatci o broju, mjesečnoj raspodjeli i osjetljivosti na antibiotike *C. jejuni* i *C. coli* izoliranih iz uzoraka stolice bolesnika za ispitivano razdoblje dobiveni su retrospektivnom analizom podataka iz Laboratorija za crijevne infekcije Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije (NZZJZ PGŽ).

Statistička obrada. Statistička obrada podataka provedena je korištenjem programa *Statistica* 9.0 (StatSoft Inc., Tulsa, SAD) i *MedCalc* (Med Calc Inc., Mariakerke, Belgija). Značajnosti razlika u broju izolata u pojedinim kalendarskim mjesecima ustvrđene su χ^2 testom. Razlike između broja izolata s obzirom na njihovo podrijetlo (pileće ili humano) ispitane su *t*-testom za proporcije. Ako su utvrđene statističke značajnosti nakon provedenog χ^2 testa u *post-hoc* analizi korišten je *t*-test razlike proporcija. Korelacijske analize između temperature i broja izolata, kod izolata iz pilećeg mesa ili humanih izolata, učinjene su pomoću Spearmanovog rank R koeficijenta. U primijenjenim statističkim analizama rezultati su smatrani statistički značajnim na razini $P < 0,05$.

Rezultati

Izolati kampilobaktera iz pilećeg mesa. Iz maloprodaje na području grada

Rijeke prikupljeno je 60 uzoraka trupova svježih pilića, koji su ispitani na prisustvo bakterija roda *Campylobacter*. Od ukupnog broja obrađenih uzoraka, iz njih 19 (31,7 %) izoliran je *Campylobacter* spp., od čega je *C. jejuni* bio zastupljen u 15 (79 %), a *C. coli* u 4 uzorka (21 %). Prateći mjesečnu učestalost kampilobaktera u pilećem mesu nije uočen statistički značajno različit broj izolata *C. jejuni* ($\chi^2=3,64$; $P=0,888$) niti *C. coli* ($P=1,00$) s obzirom na pojedine mjesece u godini (Tabela 1). Međutim, uočena je pozitivna i statistički značajna korelacija ($R=0,881$; $P < 0,001$) između prosječne mjesečne temperature i broja izolata *C. jejuni* u pilećem mesu. Kod više temperature u ljetnim mjesecima u pilećem mesu bila značajno veća učestalost *C. jejuni*, odnosno niže temperature u zimskim mjesecima bile su povezane sa značajno manjim brojem izolata *C. jejuni* iz pilećeg mesa.

Izolati kampilobaktera iz uzoraka stolice bolesnika. Retrospektivnom analizom ustanovljeno je kako je, u Laboratoriju za dijagnostiku crijevnih infekcija NZZJZ PGŽ, u 2011. godini, zbog sumnje na kampilobakteriozu, obrađeno 6444 uzoraka stolice bolesnika s akutnim proljevom. Od toga broja su iz 270 uzoraka (4,2 %) izolirani kampilobakteri. *C. jejuni* bio je dokazan statistički značajno češće u odnosu na *C. coli* (*C. jejuni* vs. *C. coli*: 89,3 % vs. 10,7 %; $P < 0,001$). Za humane izolate potvrđena je statistički značajna razlika u mjesečnoj distribuciji, kako za *C. jejuni* ($\chi^2=16,59$; $P=0,035$) tako i za *C. coli* ($\chi^2=10,66$; $P=0,024$) (Tabela 1). Humani izolati *C. jejuni* javljali su se tijekom zimskih mjeseci (siječanj, veljača i prosinac) značajno rjeđe u odnosu na sve ostale mjesece ($P < 0,05$ u odnosu na bilo koji mjesec). Izolati *C. coli* su bili najčešći u travnju u odnosu prema svim ostalim mjesecima ($P < 0,05$).

Također je i za humane izolate *C. jejuni* ustvrđeno da postoji pozitivna i statistički značajna korelacija ($r=0,838$,

$P=0,001$), tj. da su više temperature u ljetnim mjesecima povezane sa značajno većim brojem izolata *C. jejuni* iz kliničkih uzoraka stolice oboljelih od akutne dijarealne bolesti. Za *C. coli* takva ovisnost o temperaturi nije utvrđena ($r=0,005$, $P=0,999$).

Ispitivanje osjetljivosti izoliranih kampilobaktera na antibiotike. Usporedba antimikrobne osjetljivosti kampilobaktera pokazala je da su obje vrste kampilobaktera izoliranih iz pilećeg mesa bile značajno otpornije na eritromicin (*C. jejuni* $P<0,001$, *C. coli* $P=0,006$) te da je *C. jejuni* iz pilećeg mesa bio značajno rezistentniji na tetraciklin ($P<0,001$) u odnosu na humane izolate. Rezistencija na gentamicin nije detektirana ni u humanih niti u izolata iz pilećeg mesa, dok je rezistencija na ampicilin bila nešto viša u izolata iz pilećeg mesa, no statistički značajna

razlika nije postignuta. Iako rezultati nisu statistički značajni, rezistencija prema fluorokinolonima, odnosno ciprofloksacinu viša je u humanih izolata *C. jejuni* (55,2 %) kao i u *C. coli* (58,6 %) u odnosu na iste vrste izolirane iz pilećeg mesa (*C. jejuni* 33,3 %; *C. coli* 25 %) (Tabela 2).

Rasprava

Kampilobakterioza je zoonoza prenosiva putem lanca hrane, gdje je pileće meso glavni izvor zaraze, budući da su kampilobakteri uobičajeni komenzali u probavnom sustavu peradi (EFSA Panel on Biological Hazards, 2011., Kaakoush i sur., 2015.). Infekcija u ljudi najčešće je posljedica konzumiranja nedovoljno termički obrađenog pilećeg mesa ili križne kontaminacije pri pripremi drugih vrsta hrane u domaćinstvu, a

Tabela 1. Mjesečna raspodjela izolata *C. jejuni* i *C. coli* iz pilećeg mesa i stolica bolesnika s proljevom.

Mjeseci	Broj izolata <i>n</i> (%)					
	<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>		<i>Campylobacter spp.</i>	
	Pileće meso	Stolica	Pileće meso	Stolica	Pileće meso	Stolica
Siječanj	1 (5,3)	7 (2,6)	0	0	1 (5,3)	7 (2,6)
Veljača	0	11 (4,1)	0	5 (1,8)	0	16 (5,9)
Ožujak	0	16 (5,9)	0	0	0	16 (5,9)
Travanj	2 (10,5)	16 (5,9)	3 (15,8)	13 (4,8)	5 (26,3)	29 (10,7)
Svibanj	2 (10,5)	29 (10,7)	0	1 (0,4)	2 (10,5)	30 (11,1)
Lipanj	2 (10,5)	31 (11,5)	0	1 (0,4)	2 (10,5)	32 (11,9)
Srpanj	2 (10,5)	25 (9,3)	0	2 (0,7)	2 (10,5)	27 (10,0)
Kolovoz	3 (15,8)	26 (9,6)	0	1 (0,4)	3 (15,8)	27 (10,0)
Rujan	2 (10,5)	23 (8,5)	0	2 (0,7)	2 (10,5)	25 (9,2)
Listopad	1 (5,3)	26 (9,6)	1 (5,3)	2 (0,7)	2 (10,5)	28 (10,3)
Studeni	0	20 (7,4)	0	1 (0,4)	0	21 (7,8)
Prosinac	0	11 (4,1)	0	1 (0,4)	0	12 (4,5)
Ukupno	15 (78,9)	241 (89,3)	4 (21,1)	29 (10,7)	19 (100)	270 (100)
Statistika	$P=0,888$	$P=0,035$	$P=1,00$	$P=0,024$	$P=0,924$	$P=0,045$

niska infektivna doza olakšava zarazu kampilobakterima (Mylius i sur., 2007.).

U Republici Hrvatskoj do 2010. godine rađena su samo sporadična istraživanja o prisustvu kampilobaktera u pilećem mesu. Rezultati su bili kontradiktorni: u nekim istraživanjima kampilobakteri nisu izolirani, a u nekima su pak bili dokazani u velikom broju uzoraka pilećeg mesa (Kožačinski i sur., 2006., Granić i sur., 2009.). Ministarstvo je propisalo Osnovnu studiju utvrđivanja prevalencije i otpornosti bakterija *Campylobacter* spp. na antimikrobne pripravke u jatima tovnih pilića u 2010. godini (NN 31, 2010.). Od 400 uzoraka trupova tovnih pilića namijenjenih javnoj potrošnji njih 72 % bilo je pozitivno na kampilobakter (MPRH, 2011.). Prema podacima hrvatske agencije za hranu, slični su rezultati dobiveni i 2015. godine (HAH, 2017.). Istraživanjem provedenim na području grada Rijeke, odnosno PGŽ, analizirano je 60 uzoraka trupova svježih pilića iz maloprodaje i utvrđena prevalencija kampilobaktera od 31,7 %. Iako se razlike u prevalenciji ne mogu točno objasniti, smatramo da razlog sigurno nisu način uzorkovanja ili primijenjene metode, jer su se koristili

standardizirani postupci za izolaciju i identifikaciju bakterija roda *Campylobacter* iz hrane. Za razliku od ukupnog broja kampilobaktera, raspodjela vrsta sasvim je u skladu s podacima ostalih studija. *C. jejuni* izoliran je u 79 %, a *C. coli* u 21 % slučajeva, što nije neočekivano kod uobičajenog uzgoja pilića na farmama u nastambama gdje je *C. jejuni* dominantna vrsta. Kod slobodnog ili organskog uzgoja pilića *C. coli* se izolira znatno češće, od 43-92 % (Granić i sur., 2009., EFSA, 2010.).

Sezonsko obilježje kampilobakterioze u ljudi i češća pojava humanih infekcija tijekom toplih mjeseci, podudara se i s učestalijim izolacijama kampilobaktera u jatima tovnih pilića (Allain i sur., 2014., Wei i sur., 2015.). Povećana kolonizacija pilića kampilobakterom u ljetnim mjesecima povezuje se s uvjetima okoliša, jer se za toplih mjeseci nastambe za uzgoj pilića više ventiliraju, a i potrošnja vode zbog visokih temperatura je veća (Jore i sur., 2010.). Prema izvješću Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA) iz 2010. godine sezonska varijacija prisutnosti kampilobaktera u pilićima zamijećena je u zemljama sjeverne Europe (Švedska, Danska, Norveška) s vrhuncem

Tabela 2. Otpornost na antibiotike kampilobaktera izoliranih iz pilećeg mesa i iz stolica bolesnika s proljevom

Antibiotik	Rezistencija izolata					
	<i>C. jejuni</i> (%)		<i>P</i>	<i>C. coli</i> (%)		<i>P</i>
	Pileće meso (n=15)	Stolica bolesnika (n=241)		Pileće meso (n=4)	Stolica bolesnika (n=29)	
AMP	13,3	15,0	0,858	25,0	17,2	0,707
E	26,7*	0	<0,001	25,0*	0	0,006
CIP	33,3	55,2	0,100	25,0	58,6	0,215
G	0	0		0	0	
TE	53,3*	8,7	<0,001	50,0	34,5	0,550

Legenda: AMP = ampicilin, E = eritromicin, CIP = ciprofloksacin, G = gentamicin, TE = tetraciklin
* statistički značajna razlika

tijekom ljeta (EFSA Panel on Biological Hazards, 2011.). U studiji Ministarstva, opažena je izrazita sezonska pojavnost kampilobaktera poglavito u razdoblju od lipnja do rujna (MPRH, 2011.). U našem istraživanju nije dokazana značajna razlika u ukupnom broju izoliranih kampilobaktera po pojedinim mjesecima. No, ipak, ustvrđeno je da postoji pozitivna, statistički značajna korelacija između pojavnosti *C. jejuni* i prosječne mjesečne temperature zraka. Za *C. coli* isti fenomen nije bio prisutan. S višim temperaturama zraka češće su izolirani i kampilobakteri iz uzoraka stolice bolesnika. S obzirom na to da PGŽ ima klimu mediteranskog tipa s visokim temperaturama od svibnja do kolovoza, upravo je to razdoblje s povećanim brojem humane kampilobakterioze (Đurić i sur., 2008., Vučković i sur., 2011.).

Kampilobakterioza se u ljudi uglavnom manifestira kao blaži enteritis koji spontano prolazi, antimikrobna terapija nije uvijek nužna. U terapijskim protokolima najčešće se spominju makrolidi, a alternativno fluorokinoloni, tetraciklini, kloramfenikol, ampicilin i gentamicin. Pojava i porast rezistencije povezuje se s primjenom antibiotika u veterini, akvakulturi i pri uzgoju peradi (Meek i sur., 2015.). Prije 1990. godine rezistencija kampilobaktera na kinolone vrlo rijetko se bilježila. Uvođenjem fluorokinolona u veterinarsku i humanu medicinu, bilježi se brzorastuća rezistencija na ove antimikrobne pripravke (Moore i sur., 2006., van Hess i sur., 2007., Kittl i sur., 2013.). U vrijeme ispitivanja, rezistencija na ciprofloksacin ustvrđena je u trećine (33,3 %) izolata *C. jejuni* i četvrtine (25 %) *C. coli* iz pilećeg mesa. Slični su rezultati i u Republici Hrvatskoj, gdje je ustvrđena fluorokinolonska rezistencija od 38 % za *C. jejuni* i 30 % za *C. coli* izoliranih iz pilećeg mesa (MPRH, 2011.). Istovremeno među humanim sojevima rezistencija na ciprofloksacin iznosila je 55,2 % za

C. jejuni, odnosno 58,6 % za *C. coli*. U Hrvatskoj, rezistencija u humanih izolata kampilobaktera se prati na nacionalnoj razini u posljednjih nekoliko godina. Prema izvješću Odbora za praćenje rezistencije Akademije medicinskih znanosti Hrvatske (AMZH) za 2016. godinu navodi se da 60 % izolata *C. jejuni* kao i 60 % *C. coli* pokazuje rezistenciju prema ciprofloksacinu (Tambić Andrašević i Tambić, 2017.). Ovako visoki postotak rezistencije ograničava primjenu ciprofloksacina u empirijskom liječenju oboljelih te je jedan od razloga uvođenja ispitivanja osjetljivosti kampilobaktera u rutinsku mikrobiološku praksu.

Rezistencija na ampicilin je u našoj studiji bila nešto izraženija u izolata iz pilećeg mesa, no razlika u odnosu na humane izolate nije bila statistički značajna. Također, nije detektirana rezistencija prema gentamicinu niti u jednog testiranog soja kampilobaktera. Ti su podatci gotovo u potpunosti suprotni od rezultata Ministarstva o 100%-tnoj rezistenciji na gentamicin u *C. jejuni* i 50%-tnoj u *C. coli* izoliranih iz uzoraka pilića (MPRH, 2011.). Podatci o rezistenciji kampilobaktera na makrolide variraju u različitim dijelovima svijeta (Karikari i sur., 2017., Post i sur., 2017.). U našem istraživanju u humanih izolata kampilobaktera nije zabilježena rezistencija. Rezultati su u skladu i s rezultatima aktualnih praćenja rezistencije u RH, s obzirom na to da je i u 2016. godini rezistencija prema makrolidima stabilna i kreće se u rasponu od 1 do 3 % (Kittl i sur., 2013.). Prema monitoringu Ministarstva, makrolidna rezistencija u jatima tovnih pilića prisutna je u više od četvrtine svih sojeva kampilobaktera, što odgovara i našim rezultatima na uzorcima pilećeg mesa (MPRH, 2011.). Iako rezistencija u humanih izolata još uvijek nije zabrinjavajuća, svakako je potrebno daljnje praćenje i nadzor primjene eritromicina u veterini, posebno

peradarstvu, zbog mogućeg prijenosa rezistencije na humane bakterije putem lanca hrane. Rezistencija kampilobaktera na tetracikline pokazuje veliku raznolikost u svijetu, od 32 % u putnika koji su boravili u Zapadnoj Africi do 65 % u onih koji su posjetili Zapadnu Europu (Post i sur., 2017.). U PGŽ naši rezultati pokazali su da je, među humanim izolatima, rezistencija višestruko izraženija u *C. coli* (34,5 %) u odnosu na *C. jejuni* (8,7 %). Nažalost, među izolatima iz pilećeg mesa, rezistencija prema tetraciklinima je iznenađujuće visoka i prisutna u polovine svih testiranih sojeva.

Prikazani rezultati su do sada neobjavljeni, a dio su istraživanja provedenog za izradu znanstvenog magistarskog rada prve autorice. Budući da, prema našem saznanju, nema novijih podataka za PGŽ, ne može se odrediti postoji li trend povećanja ili smanjivanja prevalencije kampilobaktera te antimikrobne rezistencije u pilećem mesu. S obzirom na to da, u ljetnim mjesecima, povećanu učestalost izolacije kampilobaktera iz konzumnog pilećeg mesa prati povećanje broja slučajeva humane kampilobakterioze, nameće se potreba edukacije potrošača o riziku oboljevanja i izbjegavanju križne kontaminacije namirnica. Uporaba antimikrobnih lijekova prilikom uzgoja peradi mora biti ciljana, ograničena na liječenje bolesti i pod nadzorom stručnjaka kako bi se spriječio rast i prijenos rezistencije na humane izolate.

Zaključci

Bakteriološkom analizom uzoraka pilećeg mesa prikupljenog u maloprodaji grada Rijeke tijekom 2011. godine utvrđena je prevalencija kampilobaktera od 31,7 %. Učestalost izolata iz pilećeg mesa, kao i onih iz kliničkih, humanih uzoraka pokazuju pozitivnu korelaciju s prosječnim vrijednostima temperature

zraka. U toplim mjesecima, od svibnja do kolovoza, češću izolaciju kampilobaktera iz konzumnog pilećeg mesa prati i povećana učestalost kampilobakterioze u ljudi.

Rezistencija na antimikrobne lijekove koji se koriste u humanoj medicini i veterini, u PGŽ je prisutna u kampilobaktera izoliranih iz pilećeg mesa, kao i onih izoliranih iz uzoraka stolice. Među humanim izolatima najviše su stope rezistencije prema ciprofloksacinu, dok su u kampilobaktera iz pilećeg mesa najviše prema tetraciklinima. Iako u humanih izolata nismo detektirali rezistenciju prema makrolidima, ona je prisutna u četvrtine svih sojeva kampilobaktera iz pilećeg mesa te postoji mogućnost budućeg širenja rezistentnih klonova što predstavlja potencijalnu prijetnju javnom zdravlju.

Napomena

Ovo istraživanje je izrađeno u sklopu projekta Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa (MZOŠ) "Patogeneza eksperimentalne kampilobakterioze" 062-0621273-0949.

Literatura

1. ALLAIN, V., M. CHEMALY, M. J. LAISNEY, S. ROUXEL, S. QUESNE and S. LE BOUQUIN (2014): Prevalence of and risk factors for *Campylobacter* colonisation in broiler flocks at the end of the rearing period in France. *Br. Poult. Sci.* 55, 452-459.
2. BENUSSI-SKUKAN, A., K. BOROŠ, D. BRLEK-GORSKI, N. GRIZELJ, P. HEGEDUŠIĆ, B. HENGL, A. HUMSKI, T. KARAČIĆ, I. KOVAČEK, K. MAJUĆ i sur., (2011): Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 3. izmijenjeno izdanje, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja Republike Hrvatske (MPRRR RH).
3. CLINICAL and LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI) (2008): Performance standards for disk and dilution susceptibility testing from bacteria isolated from animals 31-A3. *Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA*, 28, 65-76.
4. ĐURIĆ, D., P. GREGOROVIĆ-KESOVIIJA, M. AABRAM, B. TIĆAC and D. VUČKOVIĆ (2008): Učestalost i sezonska raspodjela izvanbolničke

- kampilobakterioze u Primorsko-goranskoj županiji tijekom 2007. godine. Med. glasnik 5, 79-85.
5. EUROPSKA AGENCIJA ZA SIGURNOST HRANE (EFSA) (2010): Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008, part A: *Campylobacter* and *Salmonella* prevalence estimates. EFSA Journal 8, 1505.
 6. EUROPSKA AGENCIJA ZA SIGURNOST HRANE (EFSA) PANEL on BIOLOGICAL HAZARDS (BIOHAZ) (2011): Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. EFSA Journal 9, 2105.
 7. GRANIĆ, K., D. KRČAR, S. UHITIL and S. JAKŠIĆ (2009): Determination of *Campylobacter* spp. in poultry slaughterhouses and poultry meat. Vet. arhiv 79, 491-497.
 8. HRVATSKA AGENCIJA ZA HRANU (HAH) (2017): Radna grupa za zoonoze HAH. Godišnje izvješće o zoonozama u Hrvatskoj za 2015./16. godinu. Grafika, Osijek, str. 21-23.
 9. HRVATSKI ZAVOD ZA JAVNO ZDRAVSTVO (HZZZ) (2017): Hrvatski zdravstveno-statistički ljetopis 2016. g. Zagreb, str. 191.
 10. JORE, S., H. VILJUGREIN, E. BRUN, B.T. HEIER, B. BORCK, S. ETHELBERG et al. (2010): Trends in *Campylobacter* incidence in broilers and humans in six European countries, 1997-2007. Prev. Vet. Med. 93, 33-41.
 11. KAAKOUSH, N. O., N. CASTANO-RODRIGUEZ, H.M. MITCHELL and S. M. MAN (2015): Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. Clin. Microbiol. Rev. 28, 687-720.
 12. KARIKARI, A. B., K. OBIRI-DANSO, E.H. FRIMPONG and K. A. KROGFELT (2017): Antibiotic Resistance of *Campylobacter* Recovered from Faeces and Carcasses of Healthy Livestock. Biomed. Res. Int. 2017:4091856 doi: 10.1155/2017/4091856
 13. KITTL, S., B.M. KORCZAK, L. NIEDERER, A. BAUMGARTNER, S. BUETTNER, G. OVERESCH and P. KUHNERT (2013): Comparison of genotypes and antibiotic resistances of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* on chicken retail meat and at slaughter. Appl. Environ. Microbiol. 79, 3875-3878.
 14. KOZAIČINSKI, L., M. HADŽIOSMANOVIĆ and M. ZDOLEC (2006): Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. Vet. arhiv 76, 305-313.
 15. MEEK, R. W., H. VYAS and L. J. PIDDOCK (2015): Nonmedical Uses of Antibiotics: Time to Restrict Their Use? PLoS Biol. 13(10):e1002266. doi: 10.1371/journal.pbio.1002266.
 16. MYLIUS, S. D., M. J. NAUTA and A. H. HAVELAAR (2007): Cross-contamination during food preparation: a mechanistic model applied to chicken-borne *Campylobacter*. Risk Anal. 27, 803-813.
 17. MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE REPUBLIKE HRVATSKE (MPRH) (2011): Program praćenja bakterija roda *Campylobacter* spp. i njihove otpornosti na antimikrobne pripravke u jatima i trupovima tovnih pilića u Republici Hrvatskoj. Dostupno na: <http://www.mps.hr>. Pristupljeno 7. veljače 2012.
 18. MOORE, J. E., M. D. BARTON and J. S. BLAIR (2006): The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. Microbes Infect. 8, 1955-1966.
 19. NARODNE NOVINE (NN), Službeni list Republike Hrvatske (79/2007): Zakon o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti. Narodne novine d.d. Zagreb.
 20. NARODNE NOVINE (NN), Službeni list Republike Hrvatske (31/2010): Pravilnik o utvrđivanju prevalencije i otpornosti bakterija roda *Campylobacter* spp. na antimikrobne pripravke u jatima tovnih pilića i utvrđivanju prevalencije bakterija *Campylobacter* spp. i *Salmonella* spp. u trupovima tovnih pilića. Narodne novine d.d. Zagreb.
 21. OLIVEIRA, M., V. SANTOS, A. FERNANDES, F. BERNARDO and C. L. VILELA (2010): Antimicrobial resistance and *in vitro* biofilm-forming ability of enterococci from intensive and extensive farming broilers. Poult. Sci. 89, 1065-1069.
 22. PHILIPS, I., M. CAEWELL, T. COX, B. DE GROOT, C. FRIIS, R. JOUES et al. (2004): Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. J. Antimicrob. Chemother. 53, 28-52.
 23. POST, A., D. MARTINY, N. VAN WATERSCHOOT, M. HALLIN, U. MANIEWSKI, E. BOTTIEAU et al. (2017): Antibiotic susceptibility profiles among *Campylobacter* isolates obtained from international travelers between 2007 and 2014. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 36, 2101-2107.
 24. TAMBIĆ ANDRAŠEVIĆ, A. and T. TAMBIĆ (2017): Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2016. g. Zagreb: Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 59-60.
 25. VAN HESS, B. C., M. J. VELDMAN-ARIESEN, B. M. DE JONGH, M. TERSMETTE and W. VAN PELT (2007): Regional and seasonal difference in incidence and antibiotic resistance of *Campylobacter* from a nation wide surveillance study in the Netherlands: an overview of 2000-2004. Clin. Microbiol. Infect. 13, 305-310.
 26. VUČKOVIĆ, D., P. GREGOROVIĆ-KESOVIIJA, G. BRUMINI, B. TIĆAC and M. ABRAM (2011): Epidemiologic characteristics of human campylobacteriosis in the County Primorsko-goranska (Croatia), 2003-2007. Coll. Antropol. 35, 847-853.
 27. WEI, W., G. SCHUPBACH and L. HELD (2015): Time-series analysis of *Campylobacter* incidence in Switzerland. Epidemiol. Infect. 143, 1982-1989.

Prevalence and resistance of *Campylobacter* spp. in retail poultry meat

Blanka PRUŽINEC POPOVIĆ, MD, MSc, Palmira GREGOROVIĆ KESVIJA MD, MSc, Teaching Institute of Public Health of PGC, Rijeka, Croatia; Maja ABRAM, MD, PhD, Full Professor, Darinka VUČKOVIĆ, MD, PhD, Full Professor, Faculty of Medicine University of Rijeka, Croatia

The objective of study was to determine the prevalence of *Campylobacter* spp. in retail poultry meat in Rijeka and to investigate bacterial susceptibility to antibiotics. The goal was to associate resistance to certain antimicrobial agents of poultry meat isolates with the resistance to antibiotics of human isolates. During 2011, a total of 60 retail chickens of various suppliers in Rijeka were collected. Bacteriological analyzes have been carried out using standard methods of separation and identification for the detection of campylobacters in food. At the same time 6444 stool samples from diarrhoeal patients were examined for the presence of campylobacters. The sensitivity of all isolates to ampicillin, erythromycin, ciprofloxacin, gentamicin and tetracycline was investigated. Campylobacters were detected in 31.7% poultry samples and in 4.2% human stools. *C. jejuni* was dominant species (78.9% of

poultry isolates and 89% of human isolates). All isolates were sensitive to gentamicin. Approximately 25% of poultry meat isolates were resistant to erythromycin, while human isolates were susceptible. 33% of *C. jejuni* from poultry and 55% of human isolates were resistant to ciprofloxacin whereas 53% *C. jejuni* from poultry meat in contrast to 9 % of human isolates were resistant to tetracycline. In retail poultry meat, *Campylobacter* spp. are present which pose a significant risk for the occurrence of campylobacterosis in humans. The results of antibiotic susceptibility tests indicate the importance of limiting the use of antimicrobial agents as growth promoters in poultry to prevent the growth of bacterial resistance and its potential transfer from chicken meat isolates to human strains through the food chain.

Key words: antibiotics; *C. jejuni*; poultry; resistance; stool