

Krzysztof Kwiatek, Rafał Zasadny, Elżbieta Wojdat

## WYSTĘPOWANIE TERMOTOLERANCYJNYCH DROBNOUSTROJÓW Z RODZAJU *CAMPYLOBACTER* NA POWIERZCHNI TUSZ ZWIERZĄT RZEŻNYCH

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy,  
Zakład Higieny Środków Żywienia Zwierząt,  
Kierownik: Krzysztof Kwiatek

*Zbadano 599 próbek wymazów powierzchniowych tuszek drobiu, tusz wołowych oraz wieprzowych celem ilościowej i jakościowej oceny występowania termotolerancyjnych drobnoustrojów z rodzaju *Campylobacter* spp.. Wykazano, że głównym źródłem patogennych dla człowieka gatunków tj. *C. jejuni*, *C. coli* oraz *C. lari* jest mięso drobiowe.*

*Słowa kluczowe: *Campylobacter*, produkty żywnościowe, drób, wołowina, wieprzowina*  
*Key words: *Campylobacter*, food products, poultry, beef, pork*

### WSTĘP

Od ponad 30 lat termotolerancyjne drobnoustroje z rodzaju *Campylobacter* stanowią ważny problem w epidemiologii zatruc i zakażeń pokarmowych (1-5). Wg danych epidemiologicznych szeregu krajów Europy i Ameryki Północnej liczba rejestrowanych przypadków zatruc i zakażeń pokarmowych wywołanych przez *Campylobacter* spp. u ludzi jest zbliżona, a nawet dwukrotnie przewyższa analogiczne wartości zatruc powodowanych przez pałeczki z rodzaju *Salmonella* (6, 7). Z danych tych wynika, że od 3% do powyżej 35% przypadków zatruc i zakażeń pokarmowych powodowanych jest przez termotolerancyjne bakterie z rodzaju *Campylobacter*.

W badaniach przeprowadzonych w Polsce na początku lat 90-tych stwierdzono, że wśród 2443 hospitalizowanych dzieci z zaburzeniami żołądkowo-jelitowymi 68 (2,8%) zachorowań było wywołanych przez *Campylobacter jejuni* (8). Jednak badania z lat 1999-2000 wykazały już, że 11,1% przypadków zakażeń pokarmowych u dzieci wywołanych zostało przez drobnoustroje z rodzaju *Campylobacter* (9).

W obrębie rodzaju *Campylobacter* największe znaczenie epidemiologiczne ma gatunek *C. jejuni*. Pozostałe gatunki, tj. *C. coli* i *C. lari* są izolowane stosunkowo rzadko z przypadków zatruc i zakażeń pokarmowych (2, 10).

Uważa się, że głównym źródłem zatruc i zakażeń pokarmowych na tle tych drobnoustrojów jest niewłaściwie przygotowane mięso drobiowe i jego przetwory, rzadziej mleko surowe lub niedostatecznie pasteryzowane, wieprzowina czy wołowina (4,11,12). Spora-

dyczne notowane są przypadki zachorowań po spożyciu zanieczyszczonej tym zarazkiem wody lub innych produktów żywnościowych.

Pierwotnym rezerwuarem szczepów z rodzaju *Campylobacter* są liczne gatunki zwierząt domowych i dzikich, wśród których główną rolę odgrywa drób. *C. jejuni*, a rzadziej inne gatunki należące do tego rodzaju, stanowią u starszego drobiu stały składnik mikroflory przewodu pokarmowego (5, 13). Wykazano, że 1 g treści przewodu pokarmowego kurcząt rzeźnych oraz innych gatunków drobiu zawiera od 1 000 do 10 000 000 komórek *Campylobacter* spp. W trakcie uboju drobiu następuje zanieczyszczenie powierzchni tuszek oraz środowiska rzeźni (13-16). Z nielicznych badań krajowych i zagranicznych wynika, że po uboju i wychłodzeniu, odsetek zanieczyszczonych przez *Campylobacter* spp. tuszek drobiowych może wynosić nawet 100%, a liczba tych bakterii może przekraczać 10 000 000 jtk/tuszkę.

Pomimo stosunkowo częstego występowania *Campylobacter* spp. w żywności pochodzenia zwierzęcego w Polsce, w przeciwieństwie do krajów zachodnich, nie prowadzi się rutynowych badań surowców i produktów żywnościowych na obecność tego drobnoustroju. Do podjęcia szerszych badań z tego zakresu skłania również dostęp do szerokiego rynku towarów po akcesji Polski do Wspólnoty Europejskiej.

Biorąc powyższe pod uwagę podjęto badania, których celem była ocena występowania termotolerancyjnych *Campylobacter* spp. w mięsie drobiowym, wieprzowym i wołowym. Prowadzone badania miały charakter jakościowy (obecność/nieobecność) oraz ilościowy (określenie liczby zarazka). Poza tym, w ramach prowadzonych badań określono wybrane cechy hodowlane i biochemiczne, które pozwoliły na określenie przynależności gatunkowej izolatów.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło 287 tuszek drobiowych, 176 tusz wieprzowych oraz 114 tusz wołowych. Próbkę do badań jakościowych pobierano metodą tamponową. Ponadto 22 tuszki drobiowe po zakończeniu procesu schładzania immersyjnego i wychłodzeniu użyto do badań w kierunku oznaczenia całkowitej liczby *Campylobacter* spp. metodą płytkową.

Na linii uboju kurcząt w zakładach drobiarskich, pobierano wymazy z okolicy steku z powierzchni około 100 cm<sup>2</sup> przed lub po wychłodzeniu tuszek. Wymazówki umieszczano w probówce z płynem fizjologicznym, a następnie transportowano w temperaturze 0-5°C do laboratorium celem niezwłocznego dokonania posiewów. Czas pomiędzy pobraniem wymazu a posiewem nie przekraczał 4 godzin. Wymazy były posiewane sektorkowo na pożywkę mCCDA Agar (Oxoid). Po inkubacji posiewów w temperaturze 42°C przez 48 h w atmosferze mikroaerofilnej (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>) płytki odczytywano, określając obecność termotolerancyjnej mikroflory z rodzaju *Campylobacter* oraz innych drobnoustrojów nienależących do rodzaju *Campylobacter*. Atmosferę mikroaerofilną otrzymywano w kloszu do hodowli beztlenowców za pomocą gotowego zestawu CampyGen CN 35 (Oxoid).

Izolaty podejrzane o przynależność do rodzaju *Campylobacter* poddawano szczegółowym badaniom cech biochemicznych i hodowlanych. Na podstawie uzyskanych wyników identyfikowano gatunki wyizolowanych szczepów. Szczegółowa procedura badań cech biochemicznych i hodowlanych zawarta jest w Polskiej Normie PN-ISO 10272 „Mikro-

biologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania termotolerancyjnych bakterii z rodzaju *Campylobacter*” oraz metodologii własnej (17,18).

Celem oznaczenia liczby *Campylobacter* spp. pobierano próbki ( $n = 22$ ) z tuszek kurcząt brojlerów po wypatroszeniu i immersyjnym schłodzeniu metodą zmywania całej powierzchni w jałowym woreczku foliowym. Następnie dodawano 250 ml pożywki transportowej Carry-Blair lub zbuforowanej wody peptonowej, w zależności od przewidywanego czasu transportu. Po włożeniu do woreczka badanej tuszki, dodaniu pożywki, przez 2 minuty zmywano powierzchnię tuszki. Następnie usuwano tuszkę z woreczka i transportowano popłuczyny do laboratorium w temperaturze 0-5°C, w czasie nieprzekraczającym 3 godzin. Uzyskane popłuczyny po przefiltrowaniu i usunięciu resztek tkanek i zanieczyszczeń wirowano przy 4000 obr/min przez 10 minut. Otrzymany z wirowania osad po usunięciu supernatantu, zawieszano w 10 ml buforu fosforanowego o pH 7,0. Otrzymaną zawiesinę i kolejne jej rozcieńczenia dziesiętne posiewano po 0,2 ml na dwie równoległe płytki Petriego z pożywką agarową mCCDA (Oxoid). Płytki inkubowano w temperaturze 42°C przez 48h w atmosferze mikroaerofilnej (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>). Atmosferę mikroaerofilną otrzymywano za pomocą gotowego zestawu CampyGen CN 35. Po inkubacji posiewów płytki odczytywano, określając liczbę wyrosłych typowych i charakterystycznych kolonii z grupy termotolerancyjnych *Campylobacter* spp.

Z tusz wieprzowych i wołowych próbki pobierano metodą tamponową. Na linii uboju świń lub bydła w zakładach mięsnych z powierzchni tusz po wytrzewieniu i toalecie końcowej, przed przekazaniem do chłodni, pobierano wymazy z mięśni pośladowych z okolicy odbytu z powierzchni około 100 cm<sup>2</sup>. Dalsze postępowanie nie odbiega od procedury przedstawionej dla tuszek kurcząt brojlerów.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki badań tuszek drobiowych, tusz wieprzowych i wołowych w kierunku obecności, liczby oraz składu gatunkowego termotolerancyjnych *Campylobacter* spp. przedstawiono w tabelach I i II.

Tuszki kurcząt brojlerów w ponad 80% wykazywały obecność termotolerancyjnych *Campylobacter* spp., liczbowo w zakresie od  $9,5 \times 10^5$  do  $4,35 \times 10^7$  jtk/ tuszkę (tab. I). Zgodnie z danymi zawartymi w tabeli II najczęściej izolowanym gatunkiem z powierzchni tuszek kurcząt był *C. jejuni* (59,1%), rzadziej izolowano *C. coli* (34,2%), a stosunkowo rzadko wyosobniano *C. lari* (6,3%).

Otrzymane wyniki badań są zgodne z danymi innych autorów (11-13,16), w których stwierdzano równie wysoki stopień zanieczyszczenia tuszek drobiowych po uboju oraz podobne gatunki termotolerancyjnych drobnoustrojów z rodzaju *Campylobacter*. Należy podkreślić, że głównym źródłem zanieczyszczenia tuszek drobiowych drobnoustrojami z rodzaju *Campylobacter* wydaje się być treść przewodu pokarmowego, zawierająca bardzo duże ilości tego zarazka. Technologiczne uwarunkowania na linii uboju drobiu sprawiają, że treść jelita podczas wytrzewiania powoduje zanieczyszczenie powierzchni tuszek w trakcie procesu obróbki poubojowej (11,12). Z badań innych autorów wynika, że do kontaminacji wtórnej tuszek drobiowych na linii ubojowej może dochodzić również przez powietrze (15,16). Z uzyskanych przez nas danych wynika, że najczęściej izolowano gatunek *C. jejuni*, który jest głównym czynnikiem etiologicznym kampylobakterioz u ludzi. Niektórzy badacze zwracają uwagę na to, że u drobiu częściej występuje nosicielstwo

Tabela I. Występowanie i liczba bakterii z rodzaju *Campylobacter* na badanej powierzchni zwierząt rzeźnychTable I. Occurrence and number of *Campylobacter* spp. from the surface of a slaughtering animals

Rodzaj badanego materiału	Liczba badanych próbek	Liczba próbek dodatnich/ % próbek dodatnich	Poziom liczbowy zanieczyszczenia próbek dodatnich, jtk*/ tuszkę
Kurczęta brojlery	287	185/ 81,5	nie badano
Kurczęta brojlery	22	nie badano	$9,5 \times 10^5$ - $4,35 \times 10^7$
Tusze wieprzowe	176	6 / 3,4	nie badano
Tusze wołowe	114	1/ 0,9	nie badano

\*jtk – jednostki tworzące kolonie

Tabela II. Występowanie bakterii z rodzaju *Campylobacter* w mięsie zwierząt rzeźnychTable II. *Campylobacter* spp. occurrence in slaughtering animals

Rodzaj badanego materiału	Liczba badanych próbek	Liczba badanych szczepów	Liczba/ odsetek szczepów z gatunku			
			<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	inne
Mięso drobiowe	234	254	150/ 59,1	87/ 34,2	16/ 6,3	1/ 0,4
Wieprzowina	6	6	1/ 16,7	2/ 33,3	0/ 0	3/ 50,0
Wołowina	1	1	0/ 0	1/ 100	0/ 0	0/ 0

*C. jejuni* niż innych bakterii z tego rodzaju (13,19). Uzyskano też dane wskazujące na zależność występowania bakterii z rodzaju *Campylobacter* od warunków sanitarno-higienicznych zarówno w czasie hodowli jak i uboju drobiu (13,19). W związku z powyższym konieczny jest również stały monitoring mikrobiologiczny, dzięki któremu można zmniejszyć szybkość rozprzestrzeniania się *Campylobacter* spp. m. in. w stadzie drobiu.

Na ogólną liczbę 176 zbadanych tusz wieprzowych tylko 6 (3,4%) wykazywało obecność zanieczyszczenia drobnoustrojami z rodzaju *Campylobacter* (tab. I). Spośród 6 wyizolowanych szczepów jeden określono jako przynależny do gatunku *C. jejuni*, dwa szczepy jako *C. coli*, natomiast pozostałych trzech nie udało się zaklasyfikować do żadnego z wymienionych powyżej gatunków (tab. II). Spośród 114 zbadanych tusz wołowych tylko w jednym przypadku udało się wyizolować termotolerancyjne *Campylobacter* spp. określony jako *Campylobacter coli* (tab. I i tab. II).

Wydaje się, że niewielki stopień zanieczyszczenia tusz wołowych i wieprzowych wynika z przestrzegania odpowiednich warunków sanitarno-higienicznych w czasie uboju. Dane otrzymane przez innych autorów wskazują również na podobny do otrzymanych wartości odsetek tusz wieprzowych i wołowych zanieczyszczonych drobnoustrojami *Campylobacter* po uboju (20-23). Wartości te wahają się jednak w dość szerokim zakresie od 0 do 12,5%. Nieliczni autorzy wskazują na bardzo wysoki stopień zanieczyszczenia tusz wieprzowych i wołowych, przekraczający nawet 60% (24). Wydaje się, że na notowany rozrzut wartości zanieczyszczenia może mieć wpływ poziom higieny podczas uboju i obróbki poubojowej tusz zwierząt rzeźnych.

## WNIOSKI

Reasumując należy podkreślić, że otrzymane dane wskazują wyraźnie na mięso drobiowe jako najważniejsze źródło zakażenia termotolerancyjnymi *Campylobacter* spp., patogennym i dla człowieka. Wskazuje to na konieczność poprawy warunków sanitarno-higienicznych procesu uboju, przechowywania, rozbioru, przetwórstwa oraz pakowania mięsa drobiowego. Biorąc pod uwagę zagadnienie epidemiologii bakteryjnych zatruc i zakażeń pokarmowych, należy stwierdzić, że problemowi kampylobakterioz pokarmowych należy w naszym kraju poświęcić zdecydowanie więcej uwagi.

*K Kwiatek, R Zasadny, E Wojdat*

THERMOTOLERANT *CAMPYLOBACTER* OCCURRENCE  
IN SLAUGHTERING ANIMALS

## SUMMARY

The aim of the study was detection and quantification of thermotolerant *Campylobacter* spp. in swab samples taken from carcasses of slaughter animals, i.e. poultry, cattle and pig. It has been examined 287 poultry, 176 pork and 114 beef carcass samples. Additionally, 22 poultry carcasses taken directly from slaughter line operation after evisceration were examined on the level of *Campylobacter* spp. contamination. Among the 287 isolates of *Campylobacter* spp. from poultry the most frequent was *C. jejuni* (59.1%), followed by *C. coli* (34.2%) and *C. lari* (6.3%). A few isolates strains from pork or beef carcasses were classified as *C. coli* (3.4%) or *C. jejuni* (0.9%).

## PIŚMIENNICTWO

1. Frost JA, O'Brien SJ, Bolton FJ, Little C. Laboratory Health Laboratory Service data for England and Wales: Human infections and *Campylobacter* from retail foods. In Report and Proceedings of a WHO Consultation of Experts. "The increasing incidence of human *Campylobacteriosis*. Copenhagen, Denmark, November 2000;21-25.
2. Park SF. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. *Int J Food Microbiol* 2002;74:177-188.
3. Skirrow MB. 1977. *Campylobacter enteritis*: a „new” disease. *Br Med J* 1977; 2: 9-11.
4. Tauxe RV. Incidence, trends and sources of *Campylobacteriosis* in developed countries. An overview. In: Report and Proceedings of a WHO Consultation of Experts. "The increasing incidence of human *Campylobacteriosis*. Copenhagen, Denmark, November 2000;21-25.
5. Wassenaar TM, Blaser MJ. Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* infections of humans. *Microbes and Infec* 1999;1:1023-1033.
6. Frost JA, Gillespie IA, O'Brien SJ. Combining typing data and epidemiological information in *Campylobacter* surveillance – new opportunities. In: Report and Proceedings of a WHO Consultation of Experts. "The increasing incidence of human *Campylobacteriosis*". Copenhagen, Denmark, November, 2000;21-25.
7. Havelaar A. *Campylobacteriosis* in the Netherlands. In: Report and Proceedings of a WHO Consultation of Experts. "The increasing incidence of human *Campylobacteriosis*. Copenhagen, Denmark, November, 2000;21-25.
8. Gościński G, Przondo-Mordarska A, Stankiewicz, M, Mauff G. Infection with *Campylobacter jejuni* in hospitalized patients. *Wiad Lek* 1991;44:259-262.

9. Żurawska-Olszewska J, Krzesłowska I, Krzeminska Z. Infectious etiologic agents of acute diarrheas in children from the region of Łódź. Book of Abstracts XXIV Congress of the Polish Society of Microbiologists, September 2000, Białystok, 12-15.
10. Rożynek E, Dzierżanowska D. Charakterystyka szczepów *Campylobacter jejuni/ coli* odpowiedzialnych za zakażenia przewodu pokarmowego u dzieci. XXI Zjazd PTM, Olsztyn, Poland.
11. Kwiatek K, Wojton B, Stern NJ. Prevalence and distribution of *Campylobacter* spp. on poultry and selected red meat carcasses in Poland. J Food Protect 1990;2:127-130.
12. Sztajn J, Uradziński J. Wpływ chłodzenia immersyjnego na zanieczyszczenie tuszek i narządów wewnętrznych drobiu bakteriami rodzaju *Campylobacter*. Med Wet 1994;50(7):325-327.
13. Atanassova V, Ring C. Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry and poultry meat in Germany. Int J Food Microbiol 1999;51:187-190.
14. Bryan FL, Doyle MP. Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. J Food Protect 1995;58:326-344.
15. Jones DM, Sutcliffe EM, Curry A. Recovery of viable but non-culturable *Campylobacter jejuni*. J Gen Microbiol 1991;137:2477-2482.
16. Jones FT, Axtell RC, Rives DV, Schneideler SE, Tarver Jr. FR, Walker RL, Wineland MJ. A survey of *Campylobacter jejuni* contamination in modern broiler production and processing system. J Food Protect 1991;54:259-262.
17. Kwiatek K, Wojton B, Stern NJ. Metody i testy stosowane do izolowania i identyfikacji drobnoustrojów rodzaju *Campylobacter* z żywności. Puławy: Instytut Weterynarii;1988.
18. Norma PN-ISO 10272 „Mikrobiologia żywności i pasz Horyzontalna metoda wykrywania termotolerancyjnych bakterii z rodzaju *Campylobacter*”. 2002.
19. Berndtson E, Danielsson-Tham ML, Engvall A. *Campylobacter* incidence on a chicken farm and the spread of *Campylobacter* during the slaughter process. Int J Food Microbiol 1996;32: 35-47.
20. Bracewell AJ, Reagan JO, Carpenter JA, Blankenship LC. Incidence of *Campylobacter jejuni/ coli* on pork carcasses in the Northern Georgia area. J Food Protect 1985;48:808-810.
21. Korsak N, Daube G, Ghafir Y, i in. An efficient sampling technique used to detect four foodborne pathogens on pork carcasses in nine Belgian abattoirs. J Food Protect 1998;61:535-541.
22. Madden RH, Moran L, Scates P. Frequency of occurrence of campylobacter spp. In red meats and poultry in Northern Ireland and their subsequent subtyping using polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism and the random amplified polymorphic DNA method. J Appl Microbiol 1998;84:703-708.
23. Vanderlinde PB, Shay B, Murray J. Microbiological quality of Australian beef carcass meat and frozen bulk packed beef. J Food Protect, 1998;61:437-443.
24. Daczkowska-Kozon E, Janiszyn J, Walczak I, Sagalska A, Dąrowski W. *Campylobacter* spp. in some raw materials of animal origin. EJPAU, Food Sci Technol 1999;2: 1-7.

Otrzymano: 15.03.2006 r.

**Adres autora:**

doc. dr hab. Krzysztof Kwiatek  
Zakład Higieny Środków Żywnienia Zwierząt,  
Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy  
tel. (81) 886-30-51  
e-mail: [kwiatekk@piwet.pulawy.pl](mailto:kwiatekk@piwet.pulawy.pl)