

KAMPÜLOBAKTERID EESTI TOORES KANALIHAS

M. Roasto, I. Spiridonova

SUMMARY: *The presence of Campylobacter organisms in Estonian raw chicken meat. The genus Campylobacter consists of about 14 species, and the one of primary importance in foods is C. jejuni subsp. jejuni (Jay, 1997). Campylobacter organisms have been recognized as an important cause of human illness for only the last 20 years (Notermans, 1994). The most commonly identified species Campylobacter jejuni was first isolated from human diarrheal stools in 1972 by applying a filtration technique.*

C. jejuni occurs frequently and in high number in the intestinal tract of healthy pigs and poultry. During slaughter, the organisms are transferred from the intestines to meat surfaces, and in this way the consumer can be reached, particularly if poultry is involved. Campylobacter appears to be very sensitive to dry conditions. Poultry carcasses are usually chilled with the aid of water, so that Campylobacter on poultry meat can remain viable and cause human infections (Oosterom, 1994).

Detection of Campylobacter jejuni, C. coli and C. laridis in raw chicken meat and bacterial resistance to antimicrobial agents were the main objects of present investigation.

Laboratory analyses were passed at the Tartu Veterinary and Food Laboratory. NMKL Method 119:1990 was used for detection of Campylobacter species in foods and Kirby-Bauer disc-diffusion method was used for determine of antibiotic sensitivity pattern.

The number of investigated samples were 63. Twenty two samples were collected directly from meat plant and others from markets. We found out that the number of Campylobacter positive samples were 25 (39.7%), from witch C. jejuni was presented in 20 cases and C. coli in five cases. Among the tested antibiotics (erythromycin, doxycycline, chloramphenicol, nalidixic acid, oxytetracycline) the number of C. jejuni resistant strains was zero. C. coli strains from two samples were resistant to doxycycline. Raw chicken meat in Estonia is contaminated with the Campylobacter organisms.

Sissejuhatus

Kampülobakterid on kõverdunud, S-kujulised või spiraalsed kepid. Nad on gramnegatiivsed, polümorf-
sed, mikroaerofiilsed kuni anaeroobsed (3...15% O₂) ja oksüdaaspositiivsed mikroorganismid. Nad on liikuvad
tänu üksikule polaarsele viburile. Nende pikkus on 0,5...5,0 µm ning läbimõõt 0,2...0,9 µm (Nachamkin, 1999).
Kampülobakterite põhiliseks allikaks on linnud (Oosterom, 1985), samuti omavad inimeste jaoks olulist epide-
mioloogilist tähendust veised ja sead. Koduloomad on haigusetkitajate kandjateks. Linnukarjade tabandumine
kampülobakteritega ulatub mõnes riigis isegi 10...20 protsendini. Rümpade saastumine kampülobakteritega toi-
mub tapamajades kokkupuutel soolesisaldisega. Toores või ebapiisavalt kuumutatud liha on tihti haiguspuhan-
gute põhjustajaks (Butzler, Oosterom, 1991). Kampülobakterid on õrnad mikroorganismid ning eriti tundlikud
on nad kuivamise suhtes.

Kampülobakterioos on inimestel levinud soolenakkus, mille tekitajateks on perekonna *Campylobacter*
mikroobid, eelkõige *C. jejuni* ning *C. coli* (Jones *et al.*, 1990). Paljude autorite andmeil ületab kampülobakterite
leid soolestiku talitushäirete puhul sageli patogeensete ešerihhiate, šigellade ja isegi salmonellade leiu (Tauxe,
1992). Kampülobakterioosse infektsiooni uurimine on Maailma Tervishoiuorganisatsiooni soovitusel arvatud üle
ühleksakümne riigi rahvuslikku diarröavastase võitluse programmi (Notermans, 1994).

Patsiendid, kes on tabandunud *C. jejuni* või *C. coli* infektsioonist, võivad olla nii tõsiselt haiged kui ka
asümptomaatilised. Sümptomitest prevaleerivad palavik, kõhuvalu ja kõhulahtisus (sageli verine).
Ekstraintestinaalse infektsioonina või kroonilise järelhaigusena võivad esineda bakterieemia, artriidid, bursiidid,
meningiit, endokardiit, peritoniit, pankreatiit, kuseteede infektsioonid, abordid jne. *C. jejuni* on arvatavaks põh-
justajaks ka Guillain'-Barré sündroomi (GBS) tekkes, mis iseloomustub perifeerse närvisüsteemi paralüütilise
kahjustusena (Nachamkin, 1999).

Toiduainete saastatust kampülobakteritega on Eestis siiani vähe uuritud, kuid arenenud riigid pööravad
sellele järjest rohkem tähelepanu.

Materjal ja meetodika

Uurimistöõ tehti aastal 2000 Tartu Veterinaar- ja Toidulaboratooriumis. Uuritavaks materjaliks olid Eestis toodetud toored kanaliha produktid, põhiliselt jahutatud toodang. Uuriti kokku 63 proovi. Laboratoorseks uurimiseks toodud proovide nimistusse kuulusid järgnevad tooted: kanarümbad, rümpade loputusveed, kanatiivad ja pooltiivad, kanahakkliha, kana rinna- ja kintsutükid. Rümpasid ja rümpade loputusvett hangiti otse ettevõttest. Ülejäänud proovimaterjal osteti Tartu turgudelt.

Kampülobakterite isoleerimiseks kanalihast ja nende liigiliseks identifitseerimiseks kasutati NMKL 119:1990 meetodikat, mis koosnes järgnevatest etappidest.

1. Eelrikastamine Prestoni puljongis (*Nutrient Broth* nr 2 Oxoid CM 67), inkubeerimistemperatuuriks $41,5 \pm 0,5$ °C ja kestus 20...24 tundi tihedalt suletud Shotti söötmepudelites.
2. Külv CCDA agarile (Oxoid CM 739) ning inkubeerimine (40...48 tundi) temperatuuril $41,5 \pm 0,5$ °C, mikroaeroofiilsetes tingimustes.
3. Külv Brusella agarile (Hispanlab Pronadisa Cat. 1012) ning vereagarile (kinnitamistestiks). Brusella agari inkubeerimine temperatuuril $41,5 \pm 0,5$ °C, 20...24 tundi, mikroaeroofiilsetes tingimustes, ja vereagari inkubeerimine temperatuuril 37 °C, 20...24 tundi, aeroobsetes tingimustes.
4. Kinnitamistestid: liikuvuse määramine, oksüdaas- ja katalaastest, värvimine Grami järgi, biokeemiline identifitseerimine (hipuraadi hüdroolüüs, nalidiksiinhappe tundlikkus).

Tundlikkuse määramiseks antibakteriaalsete ainete suhtes kasutati Kirby-Baueri disk-difusiooni meetodit ning hinnati inhibitsioonitsooni ulatust.

Tabelis 1 on esitatud uurimises kasutatud erinevate toodete arv ja nende säilitamisviis. Tabelist on näha, et uuritud 63 proovist moodustasid jahutatud tooted 85,7% ja külmutatud tooted 14,3%.

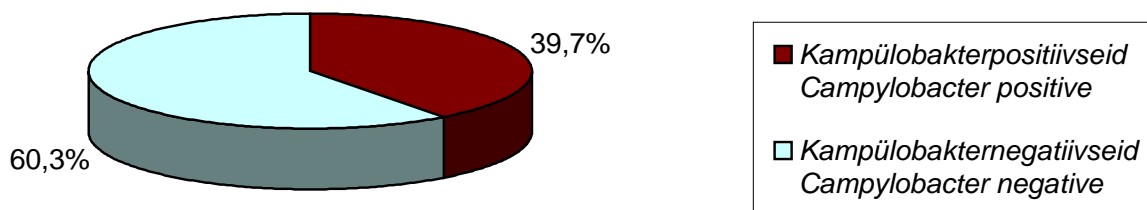
Tabel 1. Proovide iseloomustus
Table 1. Sample characterisation

Proovi nimetus <i>Sample designation</i>	Proove <i>No. of samples</i>	Säilitamisviis <i>Preservation conditions</i>	
		Jahutatud tooted <i>Number of chilled products</i>	Külmutatud tooted <i>Number of frozen products</i>
Kanarümbad <i>Chicken carcasses</i>	18	16	2
Rümpade loputusvesi <i>Rince of carcasses</i>	4	4	–
Kanahakkliha <i>Minced meat (chicken)</i>	7	–	7
Kana kintsutükid <i>Shank pieces</i>	12	12	–
Kanatiivad <i>Wing pieces</i>	14	14	–
Kana pooltiivatükid <i>Half-wing pieces</i>	6	6	–
Kana rinnatükid <i>Breast pieces</i>	2	2	–
Kokku <i>All together</i>	63	54	9

Tulemused ja arutelu

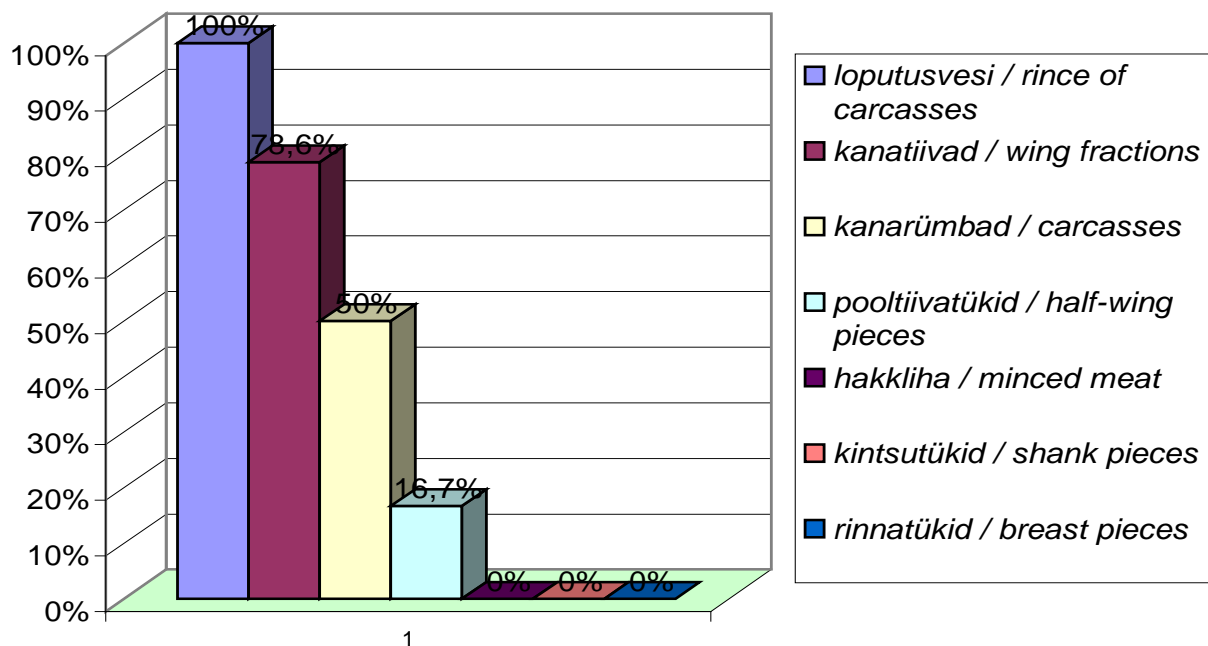
Analüüsi tulemused on toodud joonisel 1.

Diagrammilt on näha, et 39,7% uuritud toodetest olid saastunud kampülobakteritega.



Joonis 1. Kampülobakteritega saastumise analüüside tulemused
Figure 1. Campylobacter contamination, results of analyses

Protsentuaalse ülevaate erinevate toodete kampülobakteritega saastumisest annab järgnev diagramm.



Joonis 2. Erinevate toodete saastatus
Figure 2. Contamination of products

Jooniselt 2 selgub, et toodetest olid kõige rohkem saastunud kanatiivad ja kanarümbad, positiivseid proove vastavalt 70,6% ja 50%. Loputusvee analüüsides selgus, et see oli saastunud kampülobakteritest. Rümpade saastumine toimub tapamajades kokkupuutel soolesisaldisega ning määratud rümpade omakorda kannavad baktereid loputusvette. Seega tuleks tapamajades tähelepanu pöörata sellele, et sisikondade eemaldamise tehnoloogia ja sellele järgnevad protseduurid minimeeriks rooja sattumise rümpadele.

Toodete erinev saastatus kampülobakteritest võis olla tingitud sellest, et nad sisaldasid erineval määral nahka, sest nahapind on tavaliselt kõige rohkem saastunud kampülobakteritest, samuti on nahapind väga poorne ning seega ebapiisava rümpade loputamisega ei suudeta kampülobaktereid elimineerida.

Järgnev tabel annab ülevaate toodete säilitamistemperatuuride mõjust kampülobakterite isoleerimisele.

Tabel 2. Säilitamistemperatuuride mõju kampülobakterite isoleerimisele
Table 2. The influence between *Campylobacter* isolation rates and preservation conditions

Säilitamisviis <i>Preservation condition</i>	Proovide arv <i>No. of samples</i>	Proovidest positiivseid <i>No. of positive samples</i>	Proovidest negatiivseid <i>No. of negative samples</i>
Jahutatud <i>Chilled</i>	54	24	30
Külmutatud <i>Frozen</i>	9	1	8
Kokku <i>All together</i>	63	25	38

Kampülobakterid on tänu oma õrnale struktuurile väga tundlikud miinustemperatuuride ja kuivamise suhtes (Oosterom, 1985). Tabelist selgub, et külmutamine alandab kampülobakterite isoleerimise määrasid ja seega oleks kampülobakteri infektsiooni ennetamise seisukohalt õigem rümpasid säilitada miinustemperatuuridel. Külmutamise mõju võib seletada subletaalsete kahjustuste tekitamisega ning seda võimendab veekeskkonna olemasolu. Seega subletaalseid kahjustusi põhjustavad negatiivsed tegurid, nagu madal temperatuur, osmootne stress ning toitainete puudus (Humphrey, 1994).

Biokeemiliste identifitseerimistestide abil tehti kindlaks kampülobakterite liigiline kuuluvus ning seda iseloomustab järgnev tabel.

Tabel 3. Isoleeritud kampülobakteri tüvede liigiline koosseis
Table 3. The results of species differentiation from isolated *Campylobacter* strains

Liik <i>Species</i>	Positiivsete proovide arv <i>No. of positive samples</i>
<i>C. jejuni</i>	20
<i>C. coli</i>	5
<i>C. laridis</i>	–

Tabelist selgub, et positiivsetest proovidest isoleeriti *C. jejuni*'t 80% ulatuses ning *C. coli* moodustas 20%. Inglismaal ja mujal arenenud riikides on võrreldes teiste enteropatoogenide poolt põhjustatud kõhulahtisuse juhtumitega *C. jejuni* poolt põhjustatud diarröa juhtumid prevaleerivad. *C. coli* põhjustatud infektsioonid hõlmavad umbes 5...10% võrrelduna *C. jejuni*'st tingitud infektsioonidega (Nachamkin, 1999).

Analüüsides tabelis 3 esitatud andmeid võib järeldada, et *C. jejuni*'st põhjustatud infektsioonide arv on suurim, kuna *C. jejuni* isoleerimismäärad on tunduvalt kõrgemad võrreldes teiste kõhulahtisust põhjustavate kampülobakteri liikidega.

Tabel 4. *C. jejuni* ja *C. coli* tundlikkus antibiootikumide suhtes
Table 4. Antibiotic sensitivity pattern to *C. coli* and *C. jejuni*

Antibiootikum <i>Antibiotic</i>	<i>C. jejuni</i>			<i>C. coli</i>		
	Tundlik, tüvede arv <i>Sensitive, no. of samples</i>	Mõõdukalt tundlik, tüvede arv <i>Moderate sensitivity, no. of samples</i>	Resistentne, tüvede arv <i>Resistant, no. of samples</i>	Tundlik, tüvede arv <i>Sensitive, no. of samples</i>	Mõõdukalt tundlik, tüvede arv <i>Moderate sensitivity, no. of samples</i>	Resistentne, tüvede arv <i>Resistant, no. of samples</i>
Nalidiksiinhape <i>Nalidixic acid</i>	20	0	0	5	0	0
Klooramfenikool <i>Chloramphenicol</i>	20	0	0	5	0	0
Erütromütsiin <i>Erythromycin</i>	20	0	0	5	0	0
Oksütetratsükliin <i>Oxytetracycline</i>	20	0	0	5	0	0
Doksütsükliin <i>Doxycycline</i>	20	0	0	2	1	2

Analüüsid tabeli andmeid selgub, et *C. jejuni* tüvedel puudus resistentsus antibiootikumide suhtes ning resistentseteks osutusid vaid kahest proovist isoleeritud *C. coli* tüved doksütsükliini suhtes.

Soomes toodetud linnulihast isoleeritud *C. jejuni* tüved on osunud samuti suhteliselt väheresistentseteks kemoterapeutikumide suhtes. Testitud neljast humaanmeditsiinis kasutatavast antibiootikumist esines resistentsust vaid ampitsilliini suhtes. Kampülobakterite vähene resistentsus antibiootikumide suhtes on saavutatud sellega, et Soomes ei kasutata lindude haiguste raviks ja profülaktikaks neid antibiootikume, mida rakendatakse inimeste ja loomade ravimisel (Honkanen-Buzalski, Huovinen, 1999).

Arvatavasti on ka Eestis meie töös testitud antibiootikumide väga vähene resistentsus kampülobakterite suhtes saavutatud sellega, et lindude haiguste profülaktikaks ja raviks kasutatakse antibiootikume, mida ei kasutata humaanmeditsiinis ning rakendatakse antibiootikumteraapia õigeid meetodeid.

Kokkuvõte

Tulemustest selgus, et Eesti kanalihatooted on saastunud kampülobakteritega.

Kampülobakteritega saastumise suhtes uuriti kokku 63 kanalihaproovi. Kampülobaktereid avastati 25 proovist ehk proovide üldarvust 39,7% osutus saastunuks. Liigilise identifitseerimise käigus selgus, et 80% positiivsetest proovidest olid saastunud *C. jejuni*'ga ning 20% *C. coli*'ga. Teades, et kampülobakteritega saastunud toidu kaudu võib inimene haigestuda kampülobakterioosi, on sellised tulemused murettekitavad. Tapamajades tuleks erilist tähelepanu pöörata siseelundite eemaldamisele, et see toimuks soolestikku vigastamata. Soovitav on kasutada õhkjahutust, sest see kuivatab rümbe välispinna (kampülobakterid on kuivamise suhtes väga tundlikud).

Isoleeritud kampülobakteritüvede antibiootikumitundlikkuse näitajad olid väga head, sest resistentseks osutusid vaid kahest proovist isoleeritud *C. coli* tüved doksütsükliini suhtes. Antibiootikumitundlikkus määrati viie humaanmeditsiinis kampülobakterite resistentsusnäitajatele enim uuritud antibiootikumi suhtes.

Kirjandus

- Butzler, J. P., Oosterom, J. Campylobacter pathogenicity and significance in foods. – Int. J. Food Microbiology, 12, p. 1...8, 1991.
- Honkanen-Buzalski, T., Huovinen, P. Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents in Finland, FINRES, p. 16...30, Sävyaino, Helsinki 1999.
- Humphrey, T. J. Techniques for the isolation of Campylobacters from food and the environment. – In: Report on a WHO. Consultation on epidemiology and control of Campylobacteriosis, p. 79...83, The Netherlands 1994.
- Jones, K., Betaieb, M., Telford, D. J. Appl. Bacteriol., vol. 69, No. 2, p. 235...240, 1990.
- Nachamkin, J. Campylobacter and Arcobacter. – In: Manual of Clinical Microbiology, American Society for Microbiology, p. 716...722, 1999.
- Notermans, S. Epidemiology and surveillance of Campylobacter infections. – In: Report on a WHO consultation on epidemiology and control of Campylobacteriosis, p. 35...41, Bilthoven, the Netherlands 1994.
- Oosterom, J. Studies on the epidemiology of Campylobacter jejuni. – Thesis. Utrecht, The Netherlands 1985.
- Tauxe, R. V. Epidemiology of Campylobacter jejuni infections in the United States and other industrial nations. – In: Campylobacter jejuni: current and future trends, American Society of Microbiology, p. 9...12, Washington 1992.