

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

**A Campylobacterek előfordulása az élelmiszerláncban,
valamint környezeti tényezők hatása túlélésükre és
pusztulásukra**

PhD értekezés

Dr. Józwiak Ákos

2009

Témavezető és témabizottsági tagok:

Dr. Reichart Olivér
Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Kar
Élelmiszer-higiénia Tanszék
témavezető

Tabajdiné dr. Pintér Vera
Országos Élelmiszervizsgáló Intézet
témabizottság tagja

Dr. Lombai György
Budapest-Fővárosi Állategészségügyi
és Élelmiszer-ellenőrző Állomás
Központi Laboratórium
témabizottság tagja

Készült 8 példányban. Ez a sz. példány.

.....

dr. Józsiák Ákos

Tartalom

Rövidítések	5
1. Összefoglalás.....	6
2. Summary.....	8
3. Bevezetés	10
4. Irodalmi áttekintés	13
4.1. A <i>Campylobacter jejuni</i> általános jellemzése	13
4.1.1. Morfológia	13
4.1.2. Biokémiai tulajdonságok.....	14
4.1.3. Antigénszerkezet, genom	14
4.1.4. Növekedés	14
4.1.5. Tenyésztési protokoll.....	15
4.2. A <i>Campylobacter jejuni</i> az élelmiszerláncban	16
4.2.1. Pathogenitás állatokban	16
4.2.2. A campylobacteriosis humán vonatkozásai	16
4.2.3. A campylobacteriosis mint zoonosis epidemiológiája.....	18
4.3. A környezeti tényezők hatása a <i>Campylobacter jejuni</i> túlélésére	27
4.3.1. Hőmérséklet	27
4.3.2. Vízáktívitás	30
4.3.3. pH	33
4.4. Automatizált eljárások a mikrobaszám meghatározására.....	34
4.4.1. Az impedancia mérésen alapuló módszerek.....	34
4.4.2. A redox-potenciál mérésen alapuló mikrobaszám meghatározás	36
5. Anyag és módszer.....	40
5.1. Telepi és vágóhídi mintavétel.....	40
5.1.1. Kísérleti elrendezés	40
5.1.2. Mintavétel.....	41
5.1.3. Minták vizsgálata.....	41
5.2. <i>Campylobacter jejuni</i> élősejtszám meghatározása tenyésztéssel.....	43
5.3. <i>Campylobacter jejuni</i> élősejtszám meghatározása műszeres méréssel	44
5.3.1. A mérő-rendszer leírása	44
5.3.2. Kalibrációs görbe felvétele.....	45
5.3.3. <i>Campylobacter jejuni</i> számának műszeres meghatározása	45
5.4. Hőpusztulási kísérletek	47

5.4.1. Hőpusztulási idők meghatározása tenyésztéses vizsgálatok alapján.....	47
5.4.2. Tizedelőési idők meghatározása redoxpotenciál mérésen alapuló módszerrel ..	48
5.5. A vízakktivitás hatásának vizsgálata a <i>Campylobacter jejuni</i> túlélésére.....	48
5.6. A pH hatásának vizsgálata a <i>Campylobacter jejuni</i> túlélésére.....	49
6. Eredmények	51
6.1. Telepi és vágóhídi mintavétel eredménye	51
6.2. Hőpusztulási kísérletek	54
6.2.1. Tenyésztéses módszerrel meghatározott hőpusztulási eredmények	54
6.2.2. A redox-potenciál mérésen alapuló hőpusztulási eredmények	54
6.3. A vízakktivitás hatása a <i>Campylobacter jejuni</i> túlélésére	57
6.4. A pH, a vízakktivitás és a hőmérséklet hatása a <i>Campylobacter jejuni</i> szaporodására és túlélésére	63
6.4.1. A pH hatása.....	63
6.4.2. A pH és a hőmérséklet hatása.....	64
6.4.3. A vízakktivitás hatása.....	65
7. Következtetések	67
7.1. A <i>Campylobacter jejuni</i> előfordulása broiler telepen és vágóhídon	67
7.2. A hőmérséklet hatása a <i>Campylobacter jejuni</i> túlélésére	69
7.2.1. A hőmérséklet változásának hatása a szaporodásra	69
7.2.2. A <i>Campylobacter jejuni</i> hőpusztulása	69
7.3. A vízakktivitás hatása a <i>Campylobacter jejuni</i> túlélésére	71
7.4. A pH hatása a <i>Campylobacter jejuni</i> túlélésére	74
8. Új tudományos eredmények.....	76
9. Irodalom	78
10. A doktori kutatás eredményeinek közlései.....	85
11. Mellékletek	87
12. Köszönetnyilvánítás.....	100

Rövidítések

Rövidítés	Magyarázat
AFP	akut flaccid/petyhüdt paralízis
a_w	water activity (vízaktivitás)
C. jejuni	Campylobacter jejuni
CFU	Colony Forming Unit (telepképző egység – TKE)
EPINFO	Johan Béla Országos Epidemiológiai Központ online heti kiadványa
GBS	Guillan-Barré szindróma
GHP	Good Hygiene Practice (Jó Higiéniai Gyakorlat)
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points (Veszélyelemzés és Kritikus Szabályozási Pontok)
lgN	sejtszám logaritmusa
mCCDA	modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate Agar
NRL	Nemzeti Referencia Laboratórium
NZFSA	New-Zealand Food Safety Authority
PFGE	Pulsed Field Gel Electrophoresis (pulzáló mezejű gél elektroforézis)
TTD	Time To Detection (Detektálási idő, a detektációs kritérium eléréséhez szükséges idő)
VNC	Viable but Non Culturable (élő, de nem tenyésztető)
WHO	World Health Organization (Egészségügyi Világszervezet)

1. Összefoglalás

Napjaink élelmiszer-eredetű humán megbetegedéseinek leggyakoribb oka az élelmiszerek mikrobiális kontaminációja. Az elmúlt években a legtöbb élelmiszer által közvetített betegséget olyan mikroorganizmusok okozták, amelyek állatról emberre terjednek, a hagyományos kórokozókhoz képest enyhébb tünetekkel járnak, és széles körben okoznak fertőzéseket a humán populációban. Ezen mikroorganizmusok legfontosabb képviselői a *Salmonella* és *Campylobacter* fajok.

A *Campylobacter jejuni* a leggyakoribb élelmiszer-eredetű megbetegedést kiváltó baktérium, a világszerte előforduló enterális zoonózisok leggyakoribb okozója. Annak ellenére, hogy a *Campylobacter jejuni* viszonylag gyenge ellenálló képességű baktérium, képes az élelmiszerekben tartósan életben maradni és fertőzőképességét megőrizni. A megfelelő felügyelethez meg kell értenünk a *Campylobacter jejuni* terjedési mechanizmusát, ehhez pedig epidemiológiai vizsgálatok és a mikroba tulajdonságait célzó vizsgálatok szükségesek.

Hogy képet kapjunk a *Campylobacter* fajok hazai körülmények közötti elterjedtségéről, mintákat vettünk egy baromfiállományból, napos kortól egészen a vágásig, nyáron és télen (összesen 195 mintát). Nyáron az első két mintavételi időpontban (0 és 12 napos korban) az összes (70) minta negatív volt. A 26 napos korban vett minták (összesen 35) közül egy kloáka minta, egy szellőzőnyílás melletti falfelület-minta és egy rovarminta volt pozitív. 42 napos korban, a vágóhídon vett mintavételi pontok mindegyikén (90 minta) találtunk *Campylobacter* fajokat. A téli mintázás során sem a 0, sem a 10 és a 31. napon vett mintákból nem sikerült *Campylobacter* izolálni, de 42 napos korban, a vágóhídon már igen. A vágóhídon az élő állatok 93,3%-a volt fertőzött, a vágósor végére pedig már a minták 100%-a. A vágóhídi dolgozók kezéről és a vágóberendezésekről is sikerült *Campylobacter* kimutatni. A pozitív minták 95,5%-a *Campylobacter jejuni*-nak bizonyult.

A humán campylobacteriosis megelőzésének igen hatékony és fontos eszköze a baromfihús megfelelő hőkezelése. A *Campylobacter* fajok érzékenyek a hőkezelésre, a szokásos háztartási főzési eljárások elpusztítják, ennek ellenére a human megbetegedések leggyakoribb oka a nem megfelelően hőkezelt baromfihús.

Az értekezés a SZIE ÁOTK Élelmiszer-higiéniai Tanszékén folyó, *Campylobacter jejuni* túlélésének, pusztulásának, illetve az ezeket befolyásoló tényezőknek vizsgálatával foglalkozó kutatásokat ismerteti.

Elsőként a túlélő sejtek kimutatására alkalmazott új, gyors mikrobiológiai mérési eljárás eredményei kerülnek ismertetésre. A hőpusztulási kísérletek során az értekezés a redox-potenciál mérésen alapuló élősejtszám-meghatározási módszer eredményeit hasonlítja össze a klasszikus tenyésztéses eljárással, és megállapítja, hogy a két módszer alkalmazása a hőpusztulási paraméterek (D és z) értékeire azonos eredményt ad.

A további kísérletek során arra kerestük a választ, hogy a környezeti tényezők – ezen belül a vízaktivitás és a pH – változása milyen hatással van a baktérium szaporodására és túlélésére. Kísérletünkben hat (0,995, 0,985, 0,976, 0,946, 0,920, 0,874) vízaktivitási értéken vizsgáltuk a *C. jejuni* túlélését a szaporodási optimumnak megfelelő 42 °C hőmérsékleten. A vízaktivitási értékeket három vegyülettel (NaCl, glicerin, glükóz) állítottuk be, így lehetőségünk nyílt ugyanazon a vízaktivitási értéken a különböző anyagok *C. jejuni*-ra kifejtett hatását vizsgálni. A 0,995, 0,985, 0,976 vízaktivitásokon egyik oldatban sem változott a minta 45. percben mért mikrobaszáma a kiindulási értékhez képest. Ez az eredmény megegyezik a nemzetközi szakirodalomban publikált adatokkal. 0,946 vízaktivitási értéken már jelentős eltéréseket tapasztaltunk az egyes oldatok között. Ezen körülmények között a NaCl-os oldatban gyors és nagymértékű mikrobapusztulást figyeltünk meg, a 0. percben vett mintában gyakorlatilag már nem lehetett élő sejteket kimutatni. 0,920 vízaktivitáson már csak a glicerines és glükózos oldatokban vizsgáltunk élősejtszámot. 0,874 vízaktivitáson a glicerines oldatban azonnali és teljes baktériumpusztulást tapasztaltunk, így ezen az értéken több vizsgálatot nem végeztünk.

A pH mikroba-túlélésre gyakorolt hatásának vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a mikroba a pH-változását 4,5 és 10 között túléli, de szaporodni csak az 5,5-től 8-ig terjedő pH tartományban képes.

A környezeti tényezők hatásának vizsgálata során tapasztaltak arra világítanak rá, hogy a *Campylobacter jejuni* a hőkezelésre, a beszáradásra érzékeny baktérium, a szokásos élelmiszeripari és konyhai kezelési eljárások elpusztítják a kórokozót. Így a magas humán campylobacteriosis adatok mögött feltehetően a kenődés, keresztszennyeződés és higiéniai hiányosságok állnak. A kísérletünk eredményei és ezek magyarázata hozzájárulhat ahhoz, hogy a *Campylobacter jejuni*-ról szerzett ismeretek bővítésével közelebb jussunk a kórokozó által jelentett valós kockázatok megértéséhez és ezek hatékony kezeléséhez.

2. Summary

One of the most important risk factors of food related human diseases is the microbial contamination. In past decades the food industry made efforts to eliminate most of the classic microbial causative agents, but parallel to this they had to face a new risk: bacteria causing mild to moderate symptoms to humans, but with higher incidence and economic loss like *Salmonella* and *Campylobacter* species. From this group of bacteria *Salmonella* species have been the leading human enteric illness causatives for several years, but in the recent past more and more *Campylobacter* caused human diarrhoeal diseases were observed.

Campylobacter jejuni is the most important source of enteric zoonoses worldwide. Despite that *Campylobacter* species are described as sensitive to small changes of environmental factors, they seem to be able to survive permanently in food and to remain infectivity. To the appropriate control we need to know the spreading mechanism of *Campylobacter jejuni*, and for this there is a need for from-farm-to-fork investigations and experiments concerning the characteristics of the microbe.

During farm and slaughterhouse samples to obtain an overview of spreading of *Campylobacter* species within a flock samples were taken from broiler flocks from settling till slaughter in the summer and in the winter as well (total 195 samples). In the summer on the first two sampling days (day 0 and day 12) all samples (70) were negative. On day 26 one cloaca sample, one sample from the surface of the wall near the ventilation aperture and an insect-sample was positive. On day 42 *Campylobacters* could be detected on every sampling point (90 samples) at the slaughterhouse. In the winter sampling period, none of the farm samples were positive. On day 42, we found *Campylobacters* on every sampling point at the slaughterhouse. A total of 93.3% of the live animals' cloaca and 100% of the carcass surface samples after plucking, after washing and after chilling were positive. We could isolate *Campylobacter jejuni* from the surface of the staff's hands and from the samples from the slaughtering equipment as well. Out of the *Campylobacter* positive samples 95.5% (84 of 88) were infected with *Campylobacter jejuni*.

For the prevention of diseases caused by *Campylobacter jejuni* food preservation procedures should be developed. The changes of environmental conditions (temperature, water activity, and pH) can be used to decrease the growth of bacteria, so these methods may be the most important tools for combating foodborne human campylobacteriosis.

The thesis describes experiments carried out at Szent István University, Faculty of Veterinary Science, Department of Food Hygiene on the occurrence of *Campylobacter* species in Hungary, and on survival and destruction characteristics of *Campylobacter jejuni* and the influence of environmental factors on these.

During examination of resistance of *Campylobacter jejuni* to environmental factors the applicability of a new rapid microbiological method, the redox-potential measurement based living cell number determination, was investigated for death kinetics experiments. Based on experiment results the redox-potential rapid method is suitable for evaluation of heat destruction experiments.

Then experiments are presented on how the environmental factors, like temperature, water activity and pH, as well as combinations of these changes, impacts the bacterial growth, survival and death. During experiments on effect of water activity on survival of *Campylobacter jejuni* the change of living cell number can be observed at different water activity levels set with different substances (NaCl, glycerine and glucose), letting us to draw conclusions on microbial death. At water activities 0.995, 0.985 and 0.976 the cell number did not change significantly after 45 minutes. At water activities 0.946 and 0.920 the living cell concentration largely decreased in the moment of inoculation in case of all three substances. The level of decrease was the highest in case of NaCl, the cells practically died in the moment of inoculation. In glycerine the initial fast decrease is followed by slower changes. The glucose had not significant immediate effect on the bacterial death, but the living cell concentration decreased constantly and at 45 minutes it was at the same level as in glycerine. At water activity of 0.876 the microbe was destroyed within 15 minutes in case of glucose and glycerine as well, the microbe is sensitive for osmotic shock.

During the experiments on the effect of pH we found that *Campylobacter jejuni* is able to multiply in pH range of 5.5 – 8.0 and is able to survive circumstances between pH 5.0 – 8.5.

The experience gained during investigation of the effect of environmental factors highlights that *Campylobacter jejuni* is sensitive to heat treatment, drying, and the usual industrial and kitchen food processing destroys the microbe. Thus cross-contamination and hygiene deficiencies stand behind high human campylobacteriosis data. The results of the experiments and their explanation can contribute to the understanding of the real risks and their effective control.

3. Bevezetés

Az a felismerés, miszerint az élelmiszereknek szerepük lehet bizonyos betegségek közvetítésében, visszavezethető egészen az ókorig. A biztonságos élelmiszerek előállítására vonatkozó első írásos utalásokat az ókori egyiptomi és zsidó vallási törvényekben találjuk. Ezek a törvények elsősorban az áldozati szertartásokkal és a húsfogyasztással kapcsolatban tartalmaztak szabályozásokat és tiltásokat. A kor „élelmiszer-higiéniai szakértői” a vallási vezetők voltak, akik előzetes vizsgálatnak vetették alá a fogyasztásra kerülő áldozati állatokat, és csak az ép és tiszta egyedeket engedték levágni. A történelem későbbi időszakaiban is főként a tradíciókra alapozott törvényi szabályozások jelentették a biztonságos élelmiszerek előállításának egyetlen eszközét.

Az élelmiszer-higiénia területén a baktériumok felfedezése és a különböző betegségek kialakulásában játszott szerepük tisztázása hozott nagy áttörést. Habár a baktériumok felfedezése óta ismereteink jelentősen bővültek a mikrobiológia, fizika, technika és más tudományterületeken, az élelmiszerek mikrobiális szennyeződésének megakadályozása a mai napig kihívások elé állítja az élelmiszeripart.

Az utóbbi néhány évtizedben az élelmiszer-biztonság kérdése világszerte előtérbe került. A WHO jelentései szerint az élelmiszer-fogyasztással összefüggésbe hozható megbetegedések száma az egész világon folyamatosan emelkedik, az iparilag fejlett országokban is a lakosság 10-30%-át érinti évente, mely hazánk vonatkozásában 1-3 millió (többnyire nem bejelentett) megbetegedést jelent. A legtöbb élelmiszerral terjedő fertőzést világszerte a zoonózisok (állatról emberre terjedő fertőzések) okozzák, ami az élelmiszerek mikrobiális szennyeződésével hozható összefüggésbe. Annak ellenére, hogy a biztonságos élelmiszerek előállítására való törekvés az elmúlt években egyre hangsúlyosabbá vált, az ételmérgezési események száma a 90-es évek elejétől fokozatosan emelkedő tendenciát mutat Magyarországon, és ez a tendencia a fejlett nyugati államokban is megfigyelhető. Ez a jelenség valószínűleg az élelmiszerfogyasztásban az elmúlt két évtizedben világszerte bekövetkezett szemléletváltozással, a friss és nyers ételek iránt megnövekedett kereslettel, és az egzotikus országok és konyhák iránti érdeklődéssel magyarázható.

A legtöbb ételmérgezési esemény a magánháztartásokban fordul elő, de jelentős a közétkeztetésben részesülők (elsősorban a gyermekek) között előforduló megbetegedések száma is. Az ételmérgezések gyakoriságának növekedése nem csak közegészségügyi jelentőséggel bír, de érzékelhető hatással lehet az ország gazdasági helyzetére, hiszen a

beteges ellátásának költségei, a munkaerő-kiesés okozta károk, illetve a táppénzes állomány kedvezőtlen alakulása jelentősen növelik az egészségügyi ellátó rendszer és az államháztartás terheit.

Az elmúlt években a legtöbb élelmiszer által közvetített betegséget olyan mikroorganizmusok okozták, melyek állatról emberre terjednek, a hagyományos kórokozókhoz képest enyhébb tünetekkel járnak, és széles körben okoznak fertőzéseket a humán populációban. Ezen mikroorganizmusok legfontosabb képviselői a *Salmonella* és *Campylobacter* fajok. Az elmúlt évekig a *Salmonella*-enteritises esetek száma dominált, mára azonban a campylobacteriosis átvette a vezető szerepet. Ez a jelenség globálisan is megfigyelhető, így nem meglepő, hogy a WHO 2000-ben a *Campylobacter* fajokat – ezen belül is a *Campylobacter jejunit* – nevezte meg a világszerte előforduló enterális zoonózisok legfőbb okozójának.

Annak ellenére, hogy a *Campylobacter jejuni* csekély ellenálló képességet mutat a környezeti tényezők, számára szuboptimális irányú, viszonylag kismértékű változása iránt is, könnyen fertőzi az embert. A baktérium legfontosabb hordozói a baromfifélék, házi és vadon élő madarak, de ezekben az állatokban a mikroba nem okoz megbetegedést.

Az iparosodott országokban a campylobacter okozta megbetegedés legjelentősebb forrása a friss baromfihús (U.S. Food & Drug Administration, 2005), tehát a kórokozó valószínűleg a vágási és húsfeldolgozási folyamatok során szennyezi a friss húst és így lép be az élelmiszerláncba. A *Campylobacter* okozta megbetegedések jelentősége továbbra is növekszik, a világszerte növekvő baromfihús-fogyasztásnak köszönhetően (Devine, 2003). A *Campylobacter* fajok ritkán okoznak megbetegedést a baromfinál (WHO, 2000), így a fertőzött állatok megtalálása a vágóhídon a hagyományos húsvizsgálattal szinte lehetetlen.

Az Európai Parlament és a Tanács 2003/99/EK irányelvét (Directive 2003/99/EC, 2003) a zoonózisok és zoonózis-kórokozók monitoringjáról idézve, a közegészségüggyel összefüggő állat-egészségügyi intézkedésekkel foglalkozó tudományos bizottság úgy ítélte meg, hogy az élelmiszer-eredetű zoonózisfertőzések ellenőrzését célzó, akkor alkalmazott intézkedések nem elégségesek. Következésképpen a bizottság fejlettebb monitoring intézkedéseket ajánlott és kockázatkezelési lehetőségeket határozott meg. A bizottság véleménye szerint különösen a *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., verotoxin-termelő *Escherichia coli* (VTEC), *Listeria monocytogenes*, *Cryptosporidium* spp., *Echinococcus granulosus/multilocularis* és *Trichinella spiralis* képez közegészségügyi szempontból prioritást. A monitoringot az élelmiszerlánc azon szakaszában vagy szakaszaiban kell végezni, amely leginkább jellemző az érintett zoonózisra vagy zoonózis-kórokozóra, azaz az elsődleges termelés szintjén; és/vagy az élelmiszerlánc egyéb szakaszaiban, beleértve az élelmiszert és takarmányt is. A tagállamoknak biztosítaniuk kell, hogy a zoonózisok és

zoonózis-kórokozók, valamint az ezekkel összefüggő antimikrobás szerekkel szembeni rezisztencia előfordulására vonatkozó adatokat összegyűjtsék, elemezzék és haladéktalanul közzétegyék.

Az utóbbi években a tudományos érdeklődés középpontjába került *Campylobacter jejuni*-ról számos beszámoló és kutatás készült, de még mindig akadnak megválaszolendő kérdések a tekintetben, hogy ez a viszonylag gyenge ellenálló képességű baktérium miként képes az élelmiszerekben akár hosszú ideig is életben maradni, és fertőzőképességét megőrizni. Nem tudjuk pontosan, hogy hogyan kerül az élelmiszerláncba, hogyan reagál a környezeti tényezők változásaira, és milyen lehetőségeink vannak eliminálására. Mindezek alapján nyilvánvalóvá vált, hogy a campylobacteriosis leküzdésében a fertőzés megelőzésének van a legnagyobb szerepe. Kutatások folynak olyan bakteriofágok kifejlesztésével kapcsolatban, melyek megakadályozzák a *C. jejuni* kolonizációját a baromfi bélcsatornájában (Carrillo et al. 2005) de vakcinák létrehozására is történtek kísérletek. A védekezés egyik új és még nem kiforrott, de biztató eredményeket hozó módszere a probiotikumok használata. Másik alternatív módszert jelenthet a genetikailag ellenálló vonalak alkalmazása (Nachamkin and Blaser, 2000). A HACCP-rendszer alkalmazásával és főképpen a Good Hygienic Practice (GHP) kritériumainak betartásával a kontamináció veszélye nagymértékben csökkenthető.

A *Campylobacter jejuni* okozta megbetegedések megelőzéséhez olyan élelmiszertartósítási eljárásokat kell kidolgozni, melyek a baktérium szaporodását meggátolják, esetleg el is pusztítják a mikrobát, valamint nem befolyásolják kedvezőtlenül az élelmiszer organoleptikai tulajdonságait. A környezeti feltételek (hőmérséklet, vízaktivitás, pH) megváltoztatása felhasználható a baktérium szaporodásának visszaszorítására, így legfontosabb eszköze lehet az élelmiszer-közvetített humán campylobacteriosis leküzdésének. Ezen fontos kérdések megválaszolására a farmtól az asztalig tartó, a mikroba jellegzetességeinek, tulajdonságainak feltárását célzó vizsgálatokra és kísérletekre van szükség.

Az értekezésben bemutatásra kerül két baromfiállomány vizsgálata *Campylobacter* jelenlétére napos kortól a vágási tevékenység végéig, választ keresve az állományon belüli terjedés tulajdonságaival és a szezonalitással kapcsolatos kérdésekre.

Ezután vizsgáljuk, hogy a környezeti tényezők közül a hőmérséklet, a vízaktivitás és a pH, valamint ezek kombinációinak változása milyen hatással van a baktérium szaporodására, túlélésére és pusztulására.

4. Irodalmi áttekintés

4.1. A *Campylobacter jejuni* általános jellemzése

A baktériumról elsőként Theodor Escherich számolt be 1886-ban. Hasmenéses újszülöttek és kismacskák bélsarából és vastagbél-nyálkahártyájáról sikerült kimutatnia a kórokozót. Régebben a baktériumot a *Vibrio* genusba sorolták, majd ennek pontos definiálása után ma önálló nemzetséget alkot (Bíró, 1999). Az önálló genusba sorolás alapja a DNS-t alkotó kyszámú bázispár, microaerophil tulajdonság, valamint a metabolizmus azon sajátossága, hogy nem fermentál. Ezek alapján 1963-ban Sebald és Véron a *Vibrio fetus*-t és a *Vibrio bubulus*-t átsorolta a *Campylobacter* nemzetségbe. Tíz évvel később Véron és Chatelin munkája nyomán került át az akkor még *Vibrio jejuni* a mai helyére (Nachamkin – Blaser, 2000). A *Campylobacter jejuni*t először 1957-ben izolálták, majd 1972-ben hozták összefüggésbe humán enteritises megbetegedéssel. A baktériumnak ma két alfaját különítjük el: *C. jejuni* subsp. *jejuni* és a *C. jejuni* subsp. *doylei* (Holt et al., 2000). Közegészségügyi szempontból a *C. jejuni* napjaink egyik legfontosabb zoonózist okozó baktériuma. A *Campylobacter jejuni* mellett a *C. coli*, *C. laridis* és a *C. upsaliensis* is gastroenterális megbetegedést idéz elő, igaz ritkábban, mint a *C. jejuni*.

4.1.1. Morfológia

A *Campylobacter jejuni* a Spirillaceae-családba tartozó, spórákat nem képző, 0,2–0,5 µm széles és 1,5–5,0 µm hosszú baktérium (Bíró, 1999); hajlott pálcika vagy vessző alakú. Néhány osztódás után, ha a baktérium-pálcikák egymáshoz tapadva maradnak, S alakok és hosszú, spirális fonalak keletkeznek. Többször átoltott, vagy idősebb tenyészetekben elvesztik jellegzetes alakjukat, rövid egyenes pálcák, coccoidok lesznek. Egyik vagy mindkét végükön poláris csillójuk van. Friss tenyészetekben élénk dugóhúzó-szerű mozgást végeznek. Gram-negatívok, jól megfesthetők karbolvizes fukszinnal (Tuboly, 1998). 42-45°C hőoptimumon, microaerophil (3-15% O₂ és 3-5% CO₂) körülmények között növekedő baktérium (Tuboly, 1998), a pH optimuma 6,5-7,5, de 4,9-9 tartományban is túlélhet (NZFSA, 2001).

4.1.2. Biokémiai tulajdonságok

A *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* oxidáz- és kataláz-pozitív. Szénhidrát anyagcseréjére jellemző, hogy a biokémiai próbákban általánosan használt szénhidrátokat (poli-, di-, monoszacharidok, cukoralkoholok, glükózidok) nem bontja, így a metilvörös és Voges-Proskauer próbában negatív eredményt ad. A *C. jejuni* subsp. *jejuni* a nitrátot nitráttá alakítja, erre a másik alfaj nem képes, nitrít átalakító képessége egyik alfajnak sincs. Kéntartalmú aminosavakból kénhidrogént szabadít fel. Energiaforrásként aminosavakat és a citrátkör köztes termékeit (piroszőlősav) hasznosítja. Proteolitikus enzimekkel nem rendelkezik, a karbamidot nem bontja, lipáz és ureáz aktivitása nincs, a zselatint nem hidrolizálja. Növekedéséhez vér és szérum nem szükséges. Nalidixsavra érzékeny, jellemző rá a hippurát és az indoxil-acetát hidrolizáló képesség. Pigmentet, toxint élelmiszerekben nem termel (Bíró, 1999; Tuboly, 1998; Holt et al., 2000).

4.1.3. Antigénszerkezet, genom

A *Campylobacter jejuni* és *Campylobacter coli* törzsek hőstabil (O-) antigénjeik alapján legalább 66 szerocsoportba (ún. Penner-szerocsoportokba) sorolhatók. Hőlabilis antigénjeik alapján több mint 100 szerocsoportot sikerült ezidáig elkülöníteni (Varga – Tuboly – Mészáros, 1999). A DNS vizsgálaton alapuló kutatások kimutatták, hogy a *Campylobacter*ek szélsőséges mértékben variábilis organizmusok, genomjuk nagyfokú instabilitást mutat (Tam, 2001).

4.1.4. Növekedés

A mikroba szaporodásának hőmérséklet-optimuma 42°C-on van, de 30,5–45,0°C között még képes szaporodni. A baktérium viszonylag lassan növekedik (ideális körülmények között generációs ideje kb. 60 perc), pH optimuma 6,5–7,5 tartományban van, de 4,9–9,0 között is túlél (Lake et al., 2003).

Közönséges levegőn nem tenyésztethők, microaerophilek. Növekedésükhöz legmegfelelőbb, ha 3-15% oxigént és 3-5% széndioxidot tartalmazó gázkeverékben tenyésztjük őket. A baktérium hozzászoktatható a légköri oxigénhez is, bár ennek jelentősége a betegség közvetítésében még nem tisztázott. Módosított atmoszférájú és vákuumcsomagolásban is túlél.

Vízaktivitási optimuma $a_w = 0.997$ (0,5 % NaCl-dal beállítva), minimuma $a_w = 0.987$ (2,0 % NaCl-dal beállítva) (Lake et al., 2003).

Kedvezőtlen körülmények között a *Campylobacter jejuni* átmeneti ún. „VNC” Viable but Non Culturable stádiumba kerül. Ezen képességéről először Rollins és Colwell (1986) számolt be. Ez az állapot egyfajta válasz a környezeti feltételek kedvezőtlené fordulására. VNC stádiumban a baktériumok anyagcseréje a minimumra csökken, nem szaporodnak, a baktérium ilyenkor standard technikákkal nem mutatható ki, de ha ezeket a sejteket embrionált tyúktojásba oltják, akkor ismét aktív állapotba kerülnek. A VNC sejtek pathogenitása még nem tisztázott, de ha sikerül a VNC formából ismét aktív állapotba kerülniük, akkor fertőző képességüket is visszanyerhetik (Cappelier et al., 1999). Egyes szerzők szerint a VNC forma képes állatokban a passage során újraéledni (Saha et al. 1991).

4.1.5. Tenyésztési protokoll

A *Campylobacter jejuni* kimutatása az MSZ EN ISO 10272-1:2006 szabvány alapján történik. A vizsgálandó x g mintát 9x ml Bolton-levesben homogénezzük (az x g leggyakrabban 25g), majd 37°C-on 4-6 óráig, ezután pedig 42°C h hőmérsékleten, 44 ± 4 órán át (microaerophil körülmények között) inkubáljuk. Inkubálás után a dúsítóból módosított szelektív campylobacter agarra szélesztjük. A leoltás után 42°C-on, microaerophil körülmények között, 2 napon át inkubáljuk. A jellegzetes telepekből mintát veszünk, és azonosító próbákra vetjük alá. Jellegzetes telepnek tekintjük a nagy, lapos, kerek, a szélesztés mentén esetleg összefolyó, szürkés színű, irizáló, ép szélű és vajszerűen kenhető konzisztenciájú, vagy a kisebb (0,5–2,0 mm átmérőjű) kerek formájú, domború, épszelű, fényes felszínű, tömött állományú, sárgásszürke kolóniákat.

Közönséges levesben nem erednek meg, de aminosavakat bőven tartalmazó, félfolyékony táptalajba oltva a felszín alatt 0,5–1,0 cm vastag rétegben jól elszaporodnak, diffúz zavarosodást okozva (Tuboly, 1998).

4.2. A *Campylobacter jejuni* az élelmiszerláncban

4.2.1. Pathogenitás állatokban

A *Campylobacter jejuni* a bélflóra normális összetevőjének tekinthető, természetes viszonyok között is nagy számban megtalálható a vadon élő és házi állatok bélcsatornájában, az állatok és az ember szájüregében is (Holt et al., 2000). A vékonybél tartalmában 10^5 - 10^9 CFU/g mennyiségben található meg (Nachamkin – Blaser, 2000). A bélsárral ürülnek, így bejuthatnak a természetes vizekbe. A húsfeldolgozás során, a fekál kontamináció eredményeként megjelenhetnek az állatokból származó élelmiszerekben. A *C. jejuni* törzsek szórványosan okozhatnak vetélést kérődzőkben, borjakban ritkán hasmenést, fejőstehenekben pedig mastitist. Ez utóbbi során a kórokozó rendszerint tartósan ürül a tejjel, ami nyers tej fogyasztását követően emberekben campylobacter-enteritis kialakulásához vezethet (Varga – Tuboly – Mészáros, 1999).

Kutyákban, és macskákban néhány napig tartó enyhe tünetekkel járó, vízszerű hasmenést okozhat. Varga (1990) beteg kutyákból izolált esetek 12,7%-ában *C. jejuni*-t mutatott ki kórokozóként.

A baromfifajok és a vadon élő madarak bélcsatornájában a *C. jejuni* ubiquiter. Eltekintve a tyúkok campylobacter-hepatitisétől, a fertőzés tünetmentes marad (Varga – Tuboly – Mészáros, 1999). Campylobacter-hepatitis-szel érintett tojóállományokat vizsgálva Varga (1986) a tojástermelés 8,7-16,4%-os visszaeséséről, valamint az állatok 5%-ának hasmenéséről számolt be, miközben az állományok mortalitása a 2,3%-ot nem haladta meg. A *Campylobacter jejuni* a bélcsatornából nem jut be a tojásba (szemben a Salmonellákkal), így a kikelt naposcsibék fertőzéstől mentesek. A baromfifajok vágóhídi feldolgozása során a baktériumok rákerülhetnek a testfelületre, ahol legalább néhány napig életben maradnak (Varga – Tuboly – Mészáros, 1999).

4.2.2. A campylobacteriosis humán vonatkozásai

Emberekben a *C. jejuni* a vastagbél nyálkahártyán megtapadva képes elszaporodni, ezáltal megváltoztatni a bélflóra normális baktérium-összetételét, ami általában enyhe hasmenéses tünetekben nyilvánul meg.

A campylobacteriosis lappangási ideje 1–10 nap (általában 2–5 nap) közé tehető. A betegség tipikus tünetei: izomfájdalom, fejfájás, láz, vízszerű vagy véres hasmenés, hasi fájdalom, hányinger, esetleg hányás, melyek 1–7 napig tartanak (Wallace, 2003). A betegek

székletéből a *Campylobacter jejuni* a fertőzést követően 2–3 hétig mutatható ki. Egy felmérés szerint a bejelentett campylobacteriosisos esetek 8-10 %-ában került sor hospitalizációra, a betegség becsült mortalitása pedig 1:10.000 (Havelaar et al. 2000). A halálos kimenetelű campylobacteriosist elsősorban immunszupresszált megbetegedésben (AIDS) szenvedők, illetve nagyon fiatalok körében regisztráltak (WHO, 2000). A betegség kialakulásában predisponáló tényezőként szerepel minden immunszuppresszív állapottal járó megbetegedés (diabetes mellitus), illetve a gyomorsósav túltengés kezelésére használt H₂-agonisták tartós szedése. Hatásukra a gyomor-pH emelkedik, így kedvezőbb környezetet teremtenek a baktériumok számára (Neal – Slack, 1997).

A campylobacteriosis szövődményeként az esetek kb. 0,1 %-ában kialakul az idegrendszeri tünetekben megnyilvánuló Guillan-Barré (GBS) szindróma (Altekruse et al. 1999). A kórházi kezelést követően a GBS-es betegek kb. 20%-ában maradnak vissza paralitikus tünetek, és 5%-ra tehető a GBS-ben elhalálozottak aránya. Egy tanulmányban, a GBS-es betegek 26%-ában mutatták ki, hogy előzetesen *C. jejuni*val fertőződtek (Rees et al. 1995). A WHO előrejelzései szerint a polio eradikálásával a GBS léphet elő az akut flaccid/petyhüdt paralízis (AFP) leggyakoribb okozójává (WHO, 2000).

A *Campylobacter jejuni* okozta enteritist összefüggésbe hozták az ún. Reiter-szindrómával is. A betegség jóindulatú, bár jelentős fájdalom kíséri, ezért néhány napig, esetleg hetekig korlátozhatja a beteg mozgását, munkavégzését. A bejelentett campylobacteriosisok kb. 1%-ában jelentkezik ez a betegség, mely reaktív arthritises tünetekben nyilvánul meg (Altekruse et al. 1999).

A campylobacteriosis szövődményeként hepatitis, pancreatitis, septicaemia (főleg idős, és immunszupresszált betegekben) előfordulását is megfigyelték.

A campylobacteriosis minden korosztályt érintő megbetegedés, de leginkább a 4 év alatti gyermekeket, és a 15-44 év közötti korosztályt érinti. A fiatal gyermekek magasabb bejelentett esetszámát egyes kutatók azzal magyarázzák, hogy a szülők gyakrabban fordulnak orvoshoz gyermekeik hasmenéses tüneteivel, hiszen ebben a korban a hasmenés és hányás következményei (kiszáradás, legyengülés) sokkal nagyobb mértékben viselik meg a szervezetet (Stafford et al. 1996). A 20-29 évesek körében jelentkező nagyszámú megbetegedés összefüggésbe hozható azzal a jelenséggel, hogy ebben a korosztályban a legnagyobb az utazási kedv, valamint ebben az életkorban jellemző a saját háztartás megalapozása. A campylobacteriosis előfordulása 1,2–1,5-ször gyakoribb férfiaknál, mint nőknél, aminek oka lehet, hogy különösen fiatal korban a férfiak kevésbé tapasztaltak és gyakorlottak az ételek biztonságos elkészítésében. A fejlett országokban a *C. jejuni* okozta megbetegedések kifejezett nyári szezonálisitást mutatnak (Tauxe, 2001).

Az a tény is bizonyítottnak látszik, mely szerint a humán populációban immunitás fejlődhet ki a *Campylobacter jejuni* ellen. Dániában kimutatták, hogy a *C. jejuni* specifikus IgG megjelenése az életkor előrehaladtával szignifikáns növekedést mutat a lakosság körében: 15-34 évesek között a *C. jejuni* specifikus IgG 20,6%-ban, míg az 50-59 évesek között 32,4%-ban mutatható ki. A *C. jejuni* specifikus IgG a fertőzést követő 3-4. héten éri el csúcspontját a vérben, majd lassú csökkenése figyelhető meg (Linneberg et al., 2003).

A betegség kialakulásához már elég lehet 5-800 baktérium felvétele (Black et al., 1988). Napjainkban azonban egyre elfogadottabbá válik az a nézet, hogy a fertőződés nemcsak az egyszerre felvett mikrobaszámtól (minimum dózis), hanem az expozíció gyakoriságától is függ. Kutatásokat végeztek annak kiderítésére, hogy milyen összefüggés rajzolható fel a dózis és az erre adott válasz között. A vizsgálatok önkénteseken folytak, akik meghatározott számú baktériumot vettek fel. Külön értékelték a fertőződés gyakoriságát (a baktérium elkezd szaporodni a szervezetben), és a tünetekben is megnyilvánuló betegséget. A vizsgálat szerint 800 sejt felvételénél a kísérleti alanyok 50%-a, míg $1,0 \times 10^8$ baktérium „elfogyasztása” után közel 100%-a fertőződött. A betegség kialakulása 800 sejt felvételénél 20%-os, $9,0 \times 10^4$ sejtnél 46%-os volt, míg $1,0 \times 10^8$ sejtnél közelített a 100%-hoz (Teunis et al. 1999).

A *Campylobacter jejuni* antibiotikumokkal szembeni rezisztenciája is terjedőben van. Elsősorban a fluorokinolonok és erythromicin elleni rezisztencia kialakulása érdemel említést, mely az utóbbi időben egyre kedvezőtlenebb tendenciát mutat világszerte. Ennek oka, hogy a gastrointestinalis megbetegedéseket gyakran előzetes antibiotikum rezisztencia vizsgálatok nélkül fluoroquinolonokkal kezelik, valamint egyes országokban a baromfi kezelésére is alkalmazzák ezt az antibiotikumot, elősegítve ezzel a rezisztens törzsek kialakulását. (WHO, 2000).

A campylobacteriosis kezelése alapvetően palliatív jellegű, (folyadék és elektrolit pótlás, roboráló szerek) de súlyosabb tünetekkel járó megbetegedés esetén, előzetes rezisztencia vizsgálatokat követően, adekvát antibiotikum (erythromycin, fluoroquinolonok, tetraciklin) kezelés javasolt.

4.2.3. A campylobacteriosis mint zoonosis epidemiológiája

Egy WHO Tanácskozás 2000-ben a *Campylobacter* fertőzéseket nevezte meg a fejlődő és fejlett országokban előforduló enterális zoonózisok vezető okaként. Míg a fejlődő országokban a nem megfelelően kezelt ivóvizet és a háziállatokkal való érintkezést tartják a legfontosabb kockázati tényezőnek, a fejlett országokban, így Magyarországon is a

fertőződés módjai komplexebb képet mutatnak. Az iparosodott országokban az alábbi rizikófaktorok jelentik fontosságai sorrendben a legjelentősebb fertőzési lehetőségeket:

1. baromfihús kezelése és fogyasztása
2. állati eredetű élelmiszerek, nyers tej
3. nem megfelelően kezelt ivóvíz
4. gazdasági haszonállatokkal és kedvtelésből tartott állatokkal történő érintkezés
5. külföldi utazások (utazási hasmenés) (WHO, 2000).

A campylobacteriosis közegészségügyi jelentősége világszerte igen nagy. Ezt mutatja a bejelentett campylobacteriosisok *1. táblázatban* összefoglalt országonkénti aránya (Lake, 2006; EPINFO, 2005 és Zoonosis-jelentés, Európai Unió, 2007 alapján).

1. táblázat A bejelentett campylobacteriosisos esetek aránya különböző országokban

Ország	Év	beteg / 100.000 fő
Anglia és Wales	2001	107,6
Dánia	2002	82
Észak-Írország	2001	52,4
Írország	2001	35,5
Izland	1999	116
Kanada	2000	40,1
Skócia	2003	86,6
Új-Zéland	2003	395,6
Magyarország (EPINFO)	2003	60
Magyarország (Zoonosis-jelentés)	2007	57,7
EU-átlag	2007	45,2

A baromfihús eredetű fertőződés egyik oka a hús elégtelen hőkezelése, és a nyers élelmiszerek iránti egyre nagyobb fogyasztói kereslet. A baromfivágási technológia során a kopasztás és zsigereles szakaszában jelentősen szennyeződik a hús felszíne. Elsősorban a nem megfelelően beállított zsigereles berendezések, és a túlzott feldolgozási sebesség – melyek gyakori hibák a baromfifeldolgozás során – jelentik a legnagyobb veszélyt.

Annak ellenére, hogy hazánkban egyre nagyobb figyelmet fordítanak a mikrobiális eredetű ételmérgeződések megelőzésére, az élelmiszer eredetű gastroenteritises megbetegedések száma nem csökken szignifikáns mértékben. Magyarországon az élelmiszerekkel közvetített

enterális fertőző megbetegedések vezető kórokozójának a *Campylobacter* és *Salmonella* fajok tekinthetők. Hazánkban a campylobacteriosisos esetek évente bejelentett száma mára meghaladta a salmonellosisét. Az esetek elsősorban többségét a sporadikus megbetegedések teszik ki, *C. jejuni* okozta járványokról csak elvétve érkeznek bejelentések.

A campylobacteriosisnak közegészségügyi jelentősége mellett gazdasági hatásai is vannak. A kórházi költségeken túlmenően a kieső munkaerő okozta károk, valamint a táppénzes állomány kedvezőtlen alakulása növeli az egészségügyi ellátórendszer költségeit. A betegség kialakulásának megelőzése kiemelt fontosságú, mivel a Campylobacterek okozta megbetegedések leküzdése jelentős összegbe kerül a világon mindenhol. A védekezés azonban nem könnyű, mivel az élelmiszer hosszú láncon jut el a fogyasztóhoz, így meglehetősen sok ponton szükséges a szabályozás.

Az elmúlt években a campylobacteriosis világszerte a figyelem központjába került. A *Campylobacter jejuni*ről, és a vele összefüggésbe hozható megbetegedésekről nagyon sok tudományos cikk látott napvilágot, de a mai napig vannak megválaszolatlan kérdések a tekintetben, hogy ez a viszonylag gyenge ellenálló-képességű baktérium milyen úton kerül be az élelmiszer-láncba, hogyan fertőz, miként lehet elpusztítani.

4.2.3.1. A *Campylobacterek* előfordulása az élelmiszerláncban

Az állatok *Campylobacter jejuni* okozta betegségeinél jóval jelentősebbek a humán megbetegedések. A *Campylobacter*-fertőzések emberben nagyrészt élelmiszer eredetűek. Ilyen ok lehet a nyers tej, a kezeletlen víz és az összes forrás közül a legjelentősebb, a nem kielégítően hőkezelt baromfihús fogyasztása. A Campylobacterek az ivóvízben is előfordulhatnak (Cools et al. 2003). A baromfihús eredetű fertőződés egyik oka a hús elégtelen hőkezeltése, másik tipikus módja a kenődés, mikor a készétel kapcsolatba került olyan tárgyakkal, amelyek még a nyers hússal is érintkeztek, és nem lettek kielégítő módon fertőtlenítve (De Cesare et al. 2003). Az esetek nagy százalékában a baktérium megtalálható a frissen vágott baromfin és a fagyasztott baromfiban is 10^2 és 10^5 CFU/carcass mennyiségben (Nachamkin – Blaser, 2000).

A baromfival kapcsolatos humán megbetegedéseket az esetek több, mint 90%-ában a Campylobacterek és a Salmonellák okozzák. A humán fertőzöttség 5-100 megbetegedés/100.000 fő körül mozog (Bryan – Doyle, 1994). A humán fertőzöttségi értékek általában alábecsültek, ezért egyes esetekben az emberekből történő baktérium-izolálások,

a járványtani felmérések és a bejelentett esetek alapján, a felügyeleti szervek adatainak extrapolációjával számolnak (Sacks et al. 1986).

Helyzet az Európai Unióban

Humán megbetegedések

Az Európai Unió Zoonosis jelentése (Zoonosis-jelentés, Európai Unió, 2007) szerint a 2. táblázatban szereplő humán megbetegedésekről számoltak be a tagállamok.

2. táblázat A 2003-2007 között jelentett humán eredetű *Campylobacter*-esetek és a bejelentések aránya 2007-ben

Ország	2007				2006	2005	2004	2003
	Jelentés típusa ²	Esetek	Bizonyított esetek	Bizonyított esetek / 100'000 lakos	Bizonyított esetek	Esetek		
Ausztria	C	5'821	5'821	70,1	5'020	5'065	5'365	3'926
Belgium	C	5'906	5'906	55,8	5'771	6'879	6'716	6'556
Bulgária ³	A	38	38	0,5	0	-	-	-
Ciprus	C	17	17	2,2	2	-	-	-
Csehország	C	24'252	24'252	234,6	22'571	30'268	25'492	-
Dánia	C	3'868	3'868	71	3'239	3'677	3'724	3'537
Egyesült Királyság	C	57'815	57'815	95	52'134	52'686	50'388	52'126
Észtország	C	114	114	8,5	124	124	124	98
Finnország	C	4'107	4'107	77,8	3'439	4'002	3'583	3'19
Franciaország	C	3'058	3'058	4,8	2'675	2'049	2'127	1'997
Görögország	- ⁴	-	-	-	-	-	392	1
Hollandia ⁵	C	3'462	3'289	38,6	3'186	3'761	3'273	2'805
Írország	C	1'891	1'885	43,7	1'81	1'81	1'71	1'568
Lengyelország	C	192	192	0,5	156	47	24	
Lettország	C	0	0	0	-	-	-	1
Litvánia	A	564	564	16,7	624	694	797	617

Luxemburg	C	345	345	72,5	285	194	-	-
Magyarország	C	5'856	5'809	57,7	6'807	8'288	9'087	
Málta	C	91	91	22,3	54	91	-	-
Németország	C	66'107	66'107	80,3	52'035	62'114	55'796	47'876
Olaszország	A	676	676	1,1	-	-	-	1
Portugália	- ⁴	-	-	-	-	-	-	-
Románia ³	- ⁴	-	-	-	-	-	-	-
Spanyolország	C	5'055	5'055	11,4	5'889	5'513	5'958	6'048
Svédország	C	7'106	7'106	78	6'078	5'969	6'169	7'149
Szlovákia	C	3'421	3'38	62,7	2'718	2'204	1'691	1'195
Szlovénia	C	1'127	1'127	56,1	944		1'063	890
EU összesen		200'889	200'507	45,2	175'561	195'426	183'479	139'581
Izland	C	93	93	30,2	117	128	-	-
Liechtenstein	C	14	0	0	10	-	-	-
Norvégia	C	2'836	2'836	60,6	2'588	2'631	-	-
Svájc	C	6'038	6'038	79,5	5'429	5'259	5'584	5'692

1. A 2005 és 2007 között bizonyított és a 2003-2004 közötti összes eset száma

2. A= aggregált adatjelentés, C= eset alapú jelentés, -= nem jelentett

3. Az EU tagság 2007-ben kezdődött

4. Nincs kutatási módszer

5. Becsült tájékoztatáson alapuló bejelentési rendszer (52%)

Élelmiszerek

Az Európai Unióban a *Campylobacter* előfordulását friss broiler húspan az 1. melléklet, egyéb baromfihúspan a 2. melléklet, egyéb állatfajok húspan a 3. melléklet, húskészítményekben 4. melléklet, tehéntejben és tejtermékekben az 5. melléklet mutatják be. (Zoonosis-jelentés, Európai Unió, 2007).

Állatállományok

Az állatállományok uniós *Campylobacter* fertőzöttségét broiler csirkében a 6. melléklet, sertésben a 7. melléklet, szarvasmarhában a 8. melléklet, kiskérődzőkben a 9. melléklet kedvtelésből tartott állatokban a 10. melléklet mutatják be. (Zoonosis-jelentés, Európai Unió, 2007).

Hazai helyzet

A hazai *Campylobacter* okozta humán megbetegedések száma mintegy 60 megbetegedés/100.000 lakos körül mozog. A fertőzöttségi adatokat a *Salmonellák* okozta humán enterális megbetegedések számával együtt a 3. táblázat tartalmazza.

3. táblázat A magyarországi *Campylobacter* és *Salmonella* okozta humán enterális megbetegedések száma (Epinfo Heti jelentések, 2000-2008)

Év	<i>Campylobacter</i>	<i>Salmonella</i>
2000.	6072	8576
2001.	6179	7447
2002.	6150	7326
2003.	5687	6595
2004.	6306	5264
2005.	6597	6361
2006.	5144	7349
2007.	4651	5627
2008.	4627	5972

A 2000-es hazai *Campylobacter* surveillance alapján járványos esetekből 502, míg a sporadikusakból 10028 *Campylobacter* okozta humán megbetegedést regisztráltak. A járványok 79,7 %-át (400 eset) és a sporadikus megbetegedések 77 %-át (7719 eset) okozta *Campylobacter jejuni*, a többit *Campylobacter coli* (Epinfo 2000). A sporadikus esetek kiemelkedő száma (az összes eset több mint 95%-a) felhívja a figyelmet arra, hogy a jövőben a szélesebb rétegek megfelelő tájékoztatása, a *Campylobacter*ekkel kapcsolatos ismeretterjesztés fontos eszköze lehet a megbetegedések visszaszorításának.

A megbetegedések kifejezett szezonalitást mutatnak, viszont az egyedi és a tömeges megbetegedések évszakos előfordulása eltér egymástól. A tömeges megbetegedések májusban és októberben, míg a sporadikus esetek leginkább nyáron jelentkeznek. A *Campylobacter* okozta megbetegedés két járványtani csúcst mutat: egyrészt csecsemő- és kisgyermekkorban (mintegy 4 éves korig), másrészt a 20-30 éves korosztálynál (saját háztartás megalapozása) jelentkezik nagyobb számban (Epinfo 1999).

A 2007. évi magyar zoonosis jelentés (Zoonosis-jelentés, Magyarország, 2007) szerint Magyarországon a humán *Campylobacteres* fertőzések fő kiindulópontja a nyers hús, különösen a baromfihús. A *Campylobacter* idényszerű megjelenése a nyers csirkében erős korrelációt mutat a humán jellegű megbetegedések idényszerű megoszlásával. A gyakoriság a nyers tejet tekintve alacsony, ugyanakkor ez jelentheti bizonyos esetekben a megbetegedések lehetséges kiindulópontját is. Az élelmiszer eredetű *Campylobacter* kevés módszerrel határozható meg, a PFGE-t és más molekuláris alapú módszereket főleg járványkitörési vizsgálatokban és kis részben regionális tanulmányokban használják, az eredetazonosítási módszereket a jövőben fejleszteni kell. A *Campylobacter* előfordulásának csökkentésére irányuló speciális tevékenységeket Magyarországon nem végeznek. A leggyakoribb intézkedések: higiéniai intézkedések az elsődleges termelésben (all in – all out, tisztítás, fertőtlenítés, rágcső-kontroll), a vágóhidakon a HACCP és a GHP, a nyers hús csomagolásának fejlesztése, a darált hús és előkészített hús jelölése (emberi fogyasztás előtti hőkezelésére való utalás).

A termofil *Campylobacter* élelmiszerekben történő előfordulásának felmérésére az élelmiszerlánc-felügyeleti hatóság egy, a megyei termelési kapacitáson alapuló éves mintavételi programot működtet. A monitoring tervet a központi hatóság készíti el, a mintákat a területi szervek veszik le. Egy tételből csak egy mintát vesznek, 25 g-ot vizsgálnak a laboratóriumban. Ezeket a hivatalos mintákat a *Campylobacter* vizsgáló Nemzeti Referencia Laboratóriumban (NRL) vizsgálják a jelenlét/hiány próbát követő fajazonosítással és antimikrobiális rezisztencia vizsgálatával.

A monitoring rendszer eredményei szerint – ahogyan sok más országban – a termofil *Campylobacter* prevalenciája broiler húsban magas (4. táblázat), szezonális megoszlást tekintve télen 30%-os, a nyári hónapokban több mint 60%-os. Az egyéb élelmiszerekben és egyéb állatfajokban történő előfordulását az 5. és 6. táblázat tartalmazza.

4. táblázat *Campylobacter* előfordulása baromfihúsban (Zoonosis-jelentés, Magyarország, 2007)

	Információ eredete	Mintaegység	Minta súlya	Mintaszám	Összes pozitív egység termofil <i>Campylobacter</i> spp.-re	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>C. jejuni</i>	Termofil <i>Campylobacter</i> spp., meghatározatlan
Broilerből származó hús (Gallus gallus)										
Friss- vágóhídon	monitoring	egy	25 g	232	74	21	0	0	53	0
Pulykahús										
Friss- vágóhídon	monitoring	egy	25 g	166	30	4	2	0	23	1
Kacsahús										
Vágóhídon	monitoring	egy	25 g	72	7	2	1	0	4	0
Libahús										
Vágóhídon	monitoring	egy	25 g	47	2	0	1	0	1	0
Gyöngytyúkból származó hús	hatósági ellenőrzés	egy	25 g	2	0					
Vadon élő állatokból (madaraktól) származó hús	hatósági ellenőrzés	egy	25 g	1	0					

5. táblázat *Campylobacter* előfordulása egyéb élelmiszerekben (Zoonosis-jelentés, Magyarország, 2007)

	Információ eredete	Mintaegység	Minta súlya	Mintaszám	Összes pozitív egység thermofil <i>Campylobacter</i> spp.-re	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>C. lari</i>	Thermofil <i>Campylobacter</i> spp., meghatározatlan
Sertéshús										
Friss- vágóhídon	monitoring	egy	25 g	178	5	2	3	0	0	0
Marhahús										
Friss- vágóhídon	monitoring	egy	25 g	144	2	2	0	0	0	0
Juhhús	hatósági ell.	egy	25 g	2	0					
Tej (tehéntej)										
Nyers	hatósági ell.	egy	50 ml	31	1	1				
Hús, vörös hús (ökö, sertés, kecske, juh, ló, szamár, bölény és vízibivaly)	hatósági ell.	egy	25 g	3	0					
Tejtermékek, kivéve sajt	hatósági ell.	egy	25 g	2	0					

6. táblázat *Campylobacter* előfordulása állatokban (Zoonosis-jelentés, Magyarország, 2007)

	Információ eredete	Mintaegység	Minta súlya	Mintaszám	Összes pozitív egység thermofil <i>Campylobacter</i> spp.-re	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	Thermofil <i>Campylobacter</i> spp., meghatározatlan
Szarvasmarha-félék										
Tejelőtehén	MgSzhK ÁDI ¹	állati	5011	0	0	0	0	0	0	0
Bivaly	MgSzhK ÁDI ¹	állati	6	0	0	0	0	0	0	0

1 Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Központ Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság

4.2.3.2. A *Campylobacter* leküzdésének lehetőségei

Mindezek alapján nyilvánvalóvá vált, hogy a campylobacteriosis leküzdésében a fertőzés megelőzésének nagy szerepe lehet. Kutatások folynak olyan bakteriofágok kifejlesztésével kapcsolatban, melyek megakadályozzák a *C. jejuni* kolonizációját a baromfi bélcsatornájában (Carrillo et al. 2005), de vakcinák létrehozására is történtek kísérletek. A védekezés egyik új és még nem kiforrott, de biztató eredményeket hozó módszere a probiotikumok használata. Kísérletek szerint a *Saccharomyces boulardii*, a *Lactobacillus acidophilus* és a *Streptococcus faecium* per os alkalmazása csökkenti a campylobacterek kolonizációját a béltraktusban (Nachamkin – Blaser, 2000). Másik alternatív módszert jelenthet a genetikailag ellenálló vonalak alkalmazása (Nachamkin – Blaser, 2000). A HACCP-rendszer alkalmazásával és főképpen a jó higiéniai gyakorlat (GHP) kritériumainak betartásával a kontamináció veszélye nagymértékben csökkenthető.

A *Campylobacter jejuni* okozta megbetegedések megelőzéséhez olyan élelmiszertartósítási eljárásokat kell kidolgozni, melyek a baktérium szaporodását meggátolják, esetleg el is pusztítják a mikrobát, valamint nem befolyásolják kedvezőtlenül az élelmiszer organoleptikus tulajdonságait. Ígéretes eredmények vannak nagy hidrosztatikus nyomás és a hőmérséklet kombinációjának alkalmazása terén (Lori et al. 2007). A környezeti feltételek (hőmérséklet, vízaktivitás, pH) megváltoztatása felhasználható a baktérium szaporodásának visszaszorítására, így legfontosabb eszköze lehet az élelmiszer-közvetített humán campylobacteriosis leküzdésének.

4.3. A környezeti tényezők hatása a *Campylobacter jejuni* túlélésére

4.3.1. Hőmérséklet

A mikrobák hőpusztulásának jellemzésére az elsőrendű kémiai reakciók analógiájára felállított modell alkalmas (Chick, 1908, 1910). Megfelelően nagy hőmérséklet esetén az élősejt-koncentráció változását leíró egyenlet:

$$\frac{dN}{dt} = -kN \quad (1.)$$

ahol N az élő sejtek koncentrációja, t az idő, k a fajlagos pusztulási sebesség.

Állandó (T) hőmérsékleten, és a pusztító hatást befolyásoló környezeti tényezőket állandó értéken tartva, a pusztulási sebességi együttható konstans volta esetén az (1.) egyenlet megoldásával az ún. *túlélési görbe* egyenletét kapjuk eredményül:

$$\lg \frac{N}{N_0} = -\frac{k}{2,303}(t-t_0) \quad (2.)$$

ahol N a t időhöz, N_0 pedig a t_0 időhöz tartozó sejtkoncentráció.

A túlélési görbe meredekségéből meghatározható k pusztulási sebességi együttható és a mikrobiológiai gyakorlatban használt tizedre csökkenési idő (D) közötti összefüggés:

$$D = \frac{2,303}{k} \quad (3.)$$

Lineáris túlélési görbét feltételezve a T hőmérséklethez tartozó D_T tizedre csökkenési idő a kiindulási élősejtszám (N_0) és egy t idejű hőkezelést túlélő, N_t sejtszám felhasználásával 2 pontból is kiszámítható az alábbi összefüggés felhasználásával (Stumbo, 1948; Adams – Moss, 1995):

$$D_T = \frac{t}{\lg N_0 - \lg N_t} \quad (4.)$$

Ideális esetben a túlélési görbe egy egyenes, azonban nagyon gyakran ettől eltérő túlélési görbét kapunk eredményül. Az ideálistól eltérő görbék esetében a hőpusztulás jellemzésére a teljes tartományban a tizedre csökkenési idő, illetve a pusztulási sebességi együttható nyilvánvalóan alkalmatlan. Ezekben az esetekben használható a pusztulási idő:

Hőpusztulási idő (τ): az a legkisebb hőkezelési idő, amely egy adott (N_0) kiindulási élősejtszámú mikroba-szuszpenzió elpusztításához szükséges. A T hőmérséklethez tartozó átlagos tizedelődési idő (D_T) kiszámítása a kiindulási élősejtszám (N_0) és a pusztulási idő (τ_T) alapján:

$$D_T = \frac{\tau_T}{\lg N_0} \quad (5.)$$

A hőmérséklet változásának hatása a pusztulási sebességre

A vegetatív mikroorganizmusok hőpusztulása összetett folyamat eredménye, ezért általában nem határozható meg konkrétan egy olyan reakció, amely közvetlenül felelős a sejt haláláért. A letális sérülések helye azonban nagy valószínűséggel azonosítható: DNS, RNS, riboszóma, citoplazma membrán, specifikus enzimek.

A Chick-féle modell ma is jól alkalmazható, azonban ez a k konstans esetére vonatkozik. A pusztulási sebesség függ a környezeti tényezőktől, ennek leírására több modellt is kialakítottak. Itt csak a tartósítási eljárásokban legelterjedtebben alkalmazott Bigelow (1921) modellt ismertetem, amely a pusztulási idő logaritmus és a hőmérséklet között lineáris összefüggést tételez fel

A tizedelőési idők hőmérséklet-függését kifejező *hőpusztulási görbe* a különböző hőmérsékletekhez tartozó D_T értékek ismeretében meghatározható, és általában ez szolgál alapul egy kellő hatékonyságú hőkezelés méretezéséhez. A hőpusztulási görbe egyenlete:

$$\lg D_T = a - \frac{1}{z} \cdot T, \quad (6.)$$

ahol a meredekségből kifejezhető z érték jellemzi a hőpusztulási sebesség hőmérséklet-változásra való érzékenységét. A z érték - a tizedelőési (vagy pusztulási) idő egy nagyságrenddel való csökkenéséhez szükséges hőmérsékletemelkedés - a hőpusztulási görbe meredekségének negatív reciprokaként számítható (Adams – Moss, 1995)

$$z = \frac{T_2 - T_1}{\lg D_1 - \lg D_2}. \quad (7.)$$

A vegetatív mikroorganizmusok z értéke 3-10°C között változik, általában 5°C körüli érték. A baktériumspórák z értéke 10°C körül mozog, ennek megfelelően a spórák pusztulási sebességének relatív változása a hőmérséklet változására kevésbé érzékeny, mint vegetatív sejtek esetében.

A mikroorganizmusok elpusztításának legelterjedtebb és legbiztosabb módja az élelmiszeriparban a hőkezelés. A vizsgálatok problémája, hogy a holt sejtek kimutatására nincs egyértelmű módszer, ezért a hőkezelés hatékonyságát a túlélő sejtek számának meghatározása alapján becsüljük. A hőpusztulási kísérletek kiértékelése leggyakrabban

klasszikus tenyésztési mikrobiológiai eljárásokkal (lemezöntés, szélesztés, határhígítás) történik.

A *Campylobacter jejuni* okozta humán megbetegedések megelőzésének egyik fontos eszköze a baromfihús és az ebből készült termékek megfelelő hőkezelése.

A baktérium szaporodásának hőmérséklet optimuma 42°C, de 30,5–45°C között még képes szaporodni. A hőmérséklet emelésével a mikrobák gyors pusztulása érhető el. A *C. jejuni* tizedre csökkenési ideje (D): 50°C-on 1–6,3 perc, 55°C-on 0,6–2,3 perc, 60°C-on 0,2–0,3 perc (Lake et al. 2003).

A baktérium szobahőmérsékleten hamar elpusztul. Kézen és nedves felületen akár egy óráig is képes életben maradni. Túlélése 2°C-ra hűtött élelmiszerben jobb, mint szobahőmérsékleten. Normális fagyasztó-hőmérsékleten a kezdeti gyors pusztulás után túlélő sejtek száma csak lassan csökken, tehát a fagyasztás nem inaktiválja a baktériumot (Wallace, 2003). Fagyasztás során –20°C-on, 3%-os NaCl hozzáadásával készült húspépben a *C. jejuni* több, mint 7 napig túlél (Dabrowski, 1987). Az esetek nagy százalékában a baktérium 10^2 – 10^5 CFU/vágott test mennyiségben található meg a fagyasztott baromfiban (Nachamkin – Blaser, 2000).

A hőpusztulásra vonatkozó irodalmi adatok alapján elmondhatjuk, hogy normál hőkezelési eljárásokkal a baktérium könnyen elpusztítható, míg hűtőhőmérsékleten és a fagyasztás hőmérsékletén hosszabb ideig is túlélhet.

4.3.2. Vízáktivitás

A mikrobák életfolyamataik fenntartásához csak a kémiaiilag szabad vizet képesek hasznosítani. A mikroorganizmusok számára hozzáférhető víz arányát a vízáktivitással (a_w) fejezzük ki, ami az élelmiszerben lévő vizes oldat gőztenziójának (p) és a tiszta víz gőztenziójának (p_0) hányadosa egy adott hőmérsékleten. Mivel az élelmiszer felvehető nedvességtartalma a környezet relatív páratartalmától függ, a vízáktivitás szoros kapcsolatban áll a légtér egyensúlyi relatív páratartalmával (ERP%), (Deák, 2006).

$$a_w = \frac{p}{p_0} = \frac{ERP}{100}$$

A mikroorganizmusok a szaporodásukhoz szükséges vizet csak a környezet vízáktívásának egy minimális értéke felett tudják felvenni. A különböző mikrobacsoportok minimális vízáktívás igényét a 7. táblázatban foglaltuk össze.

7. táblázat. Mikrobacsoportok szaporodásának minimális vízáktívás-igénye (Deák, 2006.)

Mikroba csoport	Minimális vízáktívás-igény
Gram-negatív baktériumok többsége	0,97
Gram-pozitív baktériumok többsége	0,90
Halofil baktériumok	0,75
Élesztőgombák többsége	0,88
Ozmofil élesztőgombák	0,62
Penészgombák többsége	0,80
Xerotoleráns gombák	0,71
Xerofil gombák	0,61
Xeromyces bisporus	0,60

Gyakorlatilag, eltekintve néhány ozmofil élesztőgombáktól és xerofil penészgombáktól, 0,7 vízáktívás érték alatt a mikroorganizmusok szaporodása leáll, ezért élelmiszer-mikrobiológiai szempontból ezt az értéket tekintjük *kritikus vízáktívásnak*. Azonban nagyon fontos hangsúlyozni, hogy jóllehet 0,7 vízáktívás alatt általában nincs szaporodás, a mikroorganizmusok nagyon hosszú ideig képesek túlélni nagyon alacsony vízáktívás-értékeket, s ezt a törzs-gyűjteményben való tárolásuknál alkalmazzák is.

A vízáktívás élelmiszer-higiéniai jelentőségét az adja, hogy a sok nedvességet tartalmazó élelmiszerek kedveznek a különféle mikrobák szaporodásának. Egyes élelmiszerek vízáktívását a 8. táblázat mutatja

8. táblázat Néhány élelmiszer vízaktivitása (Adams – Moss, 1995.)

Élelmiszer	a_w
Friss zöldség, hús, tej, hal	0,98<
Főtt hús, kenyér	0,95 – 0,98
Sózott hús, sonka, sajt	0,91 – 0,95
Száraz sajtok, szalámi	0,87 – 0,91
Liszt, rizs, bab, gabona	0,80 – 0,87
Dzsemek	0,75 – 0,80
Szárított gyümölcs, karamell	0,60 – 0,75
Fűszerek, tejpor	0,20 – 0,60

A vízaktivitás hatása a pusztulási sebességre

A sejtmembrán a vízre nézve átjárható, így a vízaktivitás-változás csak abban az esetben vezet pusztuláshoz, ha túlzott plazmolízist, vagy a sejtek kipukkadását eredményezi a környezet ozmotikus potenciálja. Tartós plazmolízis csak olyan esetben fordul elő, amikor a sejtmembrán átjárhatatlan a vízaktivitás beállítására használt anyagra nézve (pl. szacharóz, glükóz, fruktóz, szorbit). Azoknál az anyagoknál, amire nézve a membrán permeábilis (pl. glicerin), plazmolízist nem tapasztalunk.

Pusztán vízaktivitás-változással is lehet pusztulást előidézni: ez általában igen hosszú tizedelődési idővel jellemezhető, így olyan lassú, hogy a pusztuláskinetikai méréseknél gyakorlatilag általában figyelmen kívül hagyható (Kroll – Anagnostopoulos, 1980). A vízaktivitás csökkenése gátolja a szaporodást (tartósítóipar), azonban mikrobapusztító hatása leginkább a pusztító eljárásokkal (hőkezelés, dezinficiálás) való kölcsönhatásokon keresztül érvényesül.

A jelenlegi szakirodalmi adatok alapján a *Campylobacter jejuni* NaCl-dal beállított vízaktivitási optimuma $a_w = 0,997$ ($\equiv 0,5$ % NaCl), minimuma $a_w = 0,987$ ($\equiv 2,0$ % NaCl) (Lake et al. 2003], így a mikroba a kiszáradásra érzékenynek tekinthető. Uradziński (1988b) kutatásai szerint a legalacsonyabb vízaktivitás, ahol szaporodás még tapasztalható volt, az 0,970 (NaCl-dal beállítva) valamint 0,967 (glicerinnel beállítva).

4.3.3. pH

A sejt belső pH értékének relatíve állandónak kell lennie, ennek a biztosítása elsősorban a sejtmembrán proton-permeabilitásának a szabályozásán keresztül valósul meg. A belső pH-nak a homeostasis kapacitását meghaladó változása a sejt fiziológiai folyamatait drámaian befolyásolja (Padan et al. 1981). A citoplazma optimális pH-értéke fajonként eltérő, de általában összefüggésbe hozható az illető mikroorganizmus szaporodási optimumával.

A membránon keresztül működő protonpumpa alapvető szerepet játszik a sejt aktív transzportjában és energiaháztartásában (Mitchell, 1973). A membrán két oldala között kialakuló protongradiens következtében létrejövő elektrokémiai potenciál aerob légzés esetében 200 mV körüli érték, fermentáció esetében valamivel kisebb. Minden olyan hatás, amely akadályozza a protonok ki- vagy visszaáramlását a membránon keresztül, esetenként teljesen megszüntetheti a sejt élettevékenységét. Ilyen hatás a pH értékének szélsőséges változása, illetve a redoxpotenciál-változás.

A pH változásának pusztulást okozó közvetlen hatása a fentiek szerint magyarázható, azonban a pH alakulását meghatározó H^+ ion aktivitás változása csak savas, illetve bázikus vegyületek hozzáadásával valósítható meg, így a pH hatás csak a H^+ - illetve OH^- -ionokat szolgáltató vegyület (disszociálatlan forma) hatásával együtt értelmezhető (Deák, 2006).

A mért H^+ ion koncentráció nem feltétlenül jelzi a várható mikrobacsökkenő hatást, mert azt a savi környezetet létrehozó kémiai anyag anionjának szerkezete is befolyásolja, valamint a szerint is módosul a mikrobaölő hatás, hogy milyen gyorsan alakul ki a savi vegyhatás. Ennek jelentősége a fermentációval készült élelmiszerek esetében van, ahol a savi kémhatás csak lassabban jön létre, így a jelenlévő kórokozók hosszabb ideig megőrzik életképességüket (Bíró, 1999).

A *Campylobacter jejuni* számára a neutrálisához közeli pH (6,5–7,5) a legkedvezőbb, de pH 4,9–9,0 között még képes szaporodni, míg pH 4,9 alatt és pH 9,0 felett növekedése gátolt. Számuk gyorsan csökken azokban az élelmiszerekben, ahol a pH kisebb, mint 4 (Lake et al. 2003). Uradziński (1988a) kísérletei szerint a szaporodáshoz szükséges minimális pH 6,0 (citromsav, foszforsav esetén) valamint 6,5 (ecetsav esetén), a maximális pH (NaOH-dal beállítva) pedig 7,5-8,5 között adódott.

4.4. Automatizált eljárások a mikrobaszám meghatározására

A mikrobiológiai minőségellenőrzéssel kapcsolatos feladatok utóbbi évtizedekben bekövetkezett igen nagymértékű növekedése támasztotta azt az igényt, hogy a mikroorganizmusok kimutatására szolgáló klasszikus élősejtszám-meghatározási módszereket jelentősen gyorsabb, és emellett automatizálható új vizsgálati eljárásokkal váltsák fel. A klasszikus mikrobiológiai vizsgálatok időigénye a meghatározandó mikroorganizmustól függően 24-72 óra. Az élelmiszertételek gyors minősítése, az átmeneti tárolás időszükségletének csökkentése, a HACCP rendszerek hatékony működtetése feltétlenül igényli a mikrobiológiai kiértékelés meggyorsítását, lehetőség szerinti automatizálását, egyidejű költségcsökkentés mellett.

A vizsgálati idő csökkentése céljából fejlesztették ki a különböző műszeres mérési eljárásokat (Adams – Hope, 1989; Deák, 2006). A módszerek egy része (ATP mérés, turbidimetriás mérés, flow cytometriás mérés, stb.) az összes mikrobaszám (élő és holt sejtek együttes száma) meghatározására alkalmas. Másik fejlesztési irányvonalat képviselnek az impedimetriás mérési módszerek, amelyek a mikrobaszaporodás anyagcsere-termékei által okozott vezetőképesség-változás detektálásán alapulnak.

A SZIE ÁOTK Élelmiszer-higiéniai Tanszék és a Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszer-tudományi Kar Fizika és Automatizálási Tanszék munkatársai által kifejlesztett és szabadalmaztatott gyors mikrobiológiai vizsgálati eljárás (Reichart et al., 2006.) és az ezen elvek alapján működő MicroTester nevű berendezés a mikroorganizmusok szaporodását a tápközeg redox-potenciáljának mérése alapján detektálja. A mikroba-szaporodás energiaforrása a biológiai oxidáció, ami a környezet redukálódását eredményezi, így a közeg redox-potenciálja mindig csökken. Ez a csökkenés általában az oxigén-fogyasztás és a redukáló anyagcsere-termékek felszaporodásának következménye. A redox-potenciál a mikroba-tenyészetek élettani állapotának egyik legkomplexebb indikátora, mérésével a mikrobiális kontamináció kvalitatív és kvantitatív meghatározása vált lehetővé.

4.4.1. Az impedancia mérésen alapuló módszerek

Az élősejtszám gyors meghatározására napjainkban az impedancia (konduktancia) mérésen alapuló gyors vizsgálati eljárásokat és berendezéseket használják. Ezen új vizsgálati eljárások előnye, hogy a klasszikus tenyésztéses módszereknél gyorsabban szolgáltatnak eredményt, és a vizsgálatok nagymértékben automatizálhatók. A legelterjedtebb berendezések (MALTHUS, BacTrac, RABIT) működési elve megegyezik.

Az impedimetrián alapuló gyors vizsgálati módszerek alapja, hogy a mikroorganizmusok anyagcseréjük során megváltoztatják a tápközeg összetételét (az alapanyagokból kisebb móltömeggű, részben ionos végtermékeket állítanak elő), és ez a közeg vezetőképességének és az elektródák felületén kialakuló kapacitanciának megváltozását eredményezi (Martin – Selby, 1980). Ez azt is jelenti, hogy a tápközeg összetétele rendkívül fontos és meghatározó: a célflóra szaporodásához megfelelő szelektivitás mellett kell biztosítani az optimális körülményeket, mindemellett az elektromos vezetőképesség nem lehet túl nagy.

A táptalaj kezdeti impedanciáját az oldat összetétele határozza meg. Nagy sókoncentrációjú oldatok esetén (pl. *Salmonella*-, *Listeria*-szelektív táptalajok) a mikroorganizmusok szaporodása kis impedancia változást eredményez. Ezekben az esetekben a tápközeg impedanciájának változása közvetlenül csak bizonytalanul mérhető, ehelyett indirekt mérés alkalmazható. Az indirekt mérés során a képződő CO₂-t vezetik a – lúgos oldattal töltött – mérőcellába és a CO₂-elnyelés hatására bekövetkező impedancia változást mérik. (Martin – Selby, 1980).

A jelentős előnyök mellett az impedimetriás módszernek több hátránya is ismert:

- Kis sejtkoncentrációk esetén a módszer nem megbízható: a detektációs idő és a kiindulási sejtkoncentráció logaritmusai közötti lineáris kapcsolat bizonytalanává válik. 10² sejt/ml alatt a kiindulási sejtkoncentráció csak nagyon pontatlanul becsülhető, kalibrációs diagramok nem készíthetők.
- Az impedancia függ a mérőcella alakjától és méretétől, ezért a mérés csak a speciálisan kialakított mérőcellában végezhető el, így a minta mennyisége meghatározott.
- Nagy sókoncentrációjú tápoldat impedancia mérésre közvetlenül nem használható, az indirekt módszernek pedig gátat szab, hogy nem minden mikroorganizmus termel a szaporodás során CO₂-t.
- A mért jel erősen hőmérsékletérzékeny, ezért nagy pontosságú és igen költséges termosztát alkalmazását teszi szükségessé (RABIT berendezés esetén az alumínium blokk-termosztát hőmérséklet-szabályozása ±0,002°C pontosságú).

4.4.2. A redox-potenciál mérésen alapuló mikrobaszám meghatározás

A MicroTester redox-potenciál mérésen alapuló gyors mikrobiológiai mérőeszköz, melynek alkalmazási területe döntően, de nem kizárólagosan, az élelmiszeriparhoz kapcsolódó mikrobiológiai minőségellenőrzés, kutatás-fejlesztés, valamint fermentációs folyamatok nyomon követése.

A MicroTester a mikroorganizmusok szaporodását a fent említett berendezésektől eltérően, a tápközeg redox-potenciáljának mérése alapján detektálja. A mért érték változásának kiértékelése lehetőséget teremt a vizsgált minták élősejt-számának az impedimetriás módszereknél szélesebb körű meghatározására (Reichart et al. 2006).

A mikroba-szaporodás energiaforrása a biológiai oxidáció. A mikroorganizmusok anyagcseréjét és szaporodását alapvetően meghatározza energiatermelésük, melynek hatékonysága az oxigénhez való viszonyuktól függ. Aerob légzéssel sokkal több energiát tudnak felszabadítani, mint a különböző anaerob erjedési folyamatokkal. A baktériumok energianyerési folyamatainak kiindulási anyagai változatosak, főleg szénhidrátok, az energiát ugyanis a glükóz lebontásából nyerik. A glükózból való energianyerés fő útjai a glükolízis és a trikarboxilciklus, bár ugyanazon baktériumban a glükózbontás más, kevésbé hatékony útjai is léteznek. A nagy energiájú foszfátkötésekben (ADP, ATP) tárolt energia egy részét mozgásra, bioszintézisre, transzport folyamataikra használják, a másik része szabad hő formájában távozik.

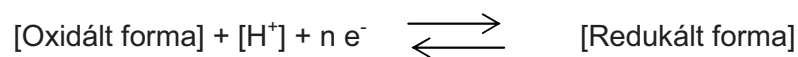
Az obligát aerob baktériumok energiatermelő anyagcseréje az aerob légzés, melyhez a levegő molekuláris oxigénjére van szükségük. Az aerob folyamat során nagy energiatartalmú szerves molekulákat bontanak le, és az így felszabaduló energiát hasznosítják. A szerves molekulákról hidrogénatomok távoznak megfelelő enzimek hidrogénátvevő koenzimjeinek a segítségével a citokróm enzimszisztéma tagjain keresztül. A hidrogént átvevő koenzimek ezzel redukált állapotba jutnak. A redukált koenzimek a hidrogénatomokat elemi részecskék formájában adják le. Az elektronokat molekuláris oxigén veszi át. A baktériumok oxidatív energianyerése során tehát a szénhidrátok végül vízzé és szén-dioxiddá oxidálódnak.

Az obligát anaerob fajok csak oxigén nélkül képesek szaporodni, sőt az oxigén elpusztítja a sejteket. Ezek erjesztenek, az energianyeréshez rendelkezésre álló anyagok oxidációja hidrogénelvonással, molekuláris oxigén jelenléte nélkül történik. A glükózt közvetlenül

használják fel, fermentációjának első szakasza a glükolízis lépcsői szerint megy végbe. Baktériumfajoktól és -csoportoktól függően különféle szerves savak, alkoholok, gázok, stb. keletkeznek, ha kevés a könnyen fermentálható (kis redox-potenciálú) szénhidrát.

A kórokozó baktériumok többsége *fakultatív anaerob*. Ezek a mikroorganizmusok oxigén jelenlétében vagy hiányában egyaránt képesek szaporodni, aerob körülmények között légzéssel, anaerob körülmények között erjesztéssel nyerik az energiát. Bőséges oxigénellátás mellett oxidatív úton a glükózból főleg szén-dioxid és víz keletkezik. De például a fakultatív anaerob *E. coli* glükózfermentációja során gázok és szerves savak is képződnek.

Biológiai rendszerek reverzibilis redox-folyamatait az alábbi egyenlet szerint mennek végbe:



A fenti redox folyamatra felírható Nernst-egyenlet (Adams – Moss, 1995):

$$E_h = E_0 + \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \cdot \ln \cdot \frac{[\text{ox.}] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{red.}]}$$

Ahol E_h : a normál hidrogén elektródra vonatkoztatott redox-potenciál pH=7-nél

E_0 : a rendszer standard redox-potenciálja pH=7-nél, és az oxidált [ox.] és redukált [red.] alak koncentrációja megegyezik,

R: az egyetemes gázállandó ($R=8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$),

T: az abszolút hőmérséklet (K),

F: a Faraday konstans ($F=9,648 \cdot 10^4 \text{ J} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$),

n: a reakcióban átvitt elektronok száma.

A redox-potenciál változása független a mérőcella alakjától, méretétől és széles körben a táptalaj összetételétől, ezért a mérés tetszőleges mennyiségű mintával, bármely folyékony tápközegben elvégezhető. Ennek megfelelően a MicroTester az impedimetriás mérés technikában alkalmazott összes vizsgálaton túl az alábbi megoldásokat is lehetővé teszi:

- Szabványos mikrobiológiai eljárásokban alkalmazott táptalajok felhasználása.
- Membránszűrőn koncentrált mikroorganizmusok számának meghatározása.

A tápleves redox-potenciál értékét a hőmérséklet ingadozása csak kismértékben befolyásolja. 1°C hőmérséklet-emelkedés tápközegtől függően 0,5-1,5 mV csökkenést eredményez, ami messze elmarad a detektációs kritériumként előírt 10 mV változástól. A módszer nem igényli az impedancia méréshez előírt nagy pontosságú termosztátok alkalmazását, elegendő a normál mikrobiológiai gyakorlatban alkalmazott $\pm 0,5^\circ\text{C}$ pontosságú termosztátok, vízfürdők felhasználása a mérőcellák termosztálásához.

A mérési eljárás elvi alapja az, hogy a baktériumok szaporodása folyamán az energiatermelő biológiai oxidációs reakciók eredményeként a környezet redox-potenciálja, egy meghatározott mikroba koncentráció (10^6 - 10^7 cfu/ml) felett, jól mérhetően csökken. Detektációs időnek (TTD) tekintjük azt az időpontot, amikor a redox-potenciál (E, mV) változás sebességének abszolút értéke egy, a véletlen hatásoktól szignifikánsan különböző értéket meghalad (pl. $|dE/dt| \geq 1$ mV/perc). Ez az érték a detektációs kritérium.

A MicroTester laboratóriumi és ipari validálásai során meghatározott paraméterek az alábbiak (Reichart et al. 2007):

- *Szelektivitás*: a rendszer szelektivitása az alkalmazott tápközegtől függ. A MicroTester bármely kereskedelmi forgalomban lévő tápfolyadékkal működtethető.
- *Linearitás*: a TTD és a kezdeti sejtkoncentráció logaritmusai között szigorúan lineáris a kapcsolat (1 sejt/mérőcella koncentráció felett).
- *Érzékenység*: a kezdeti sejtkoncentráció egy nagyságrenddel történő emelkedése 50-130 perccel csökkenti a TTD értékét, a mikroorganizmustól függően.
- *Detektálási (kimutatási) határ*: 1 sejt/mérőcella. A MicroTester alkalmas jelenléti/hiány vizsgálatok elvégzésére.
- *Kvantifikációs (meghatározási) határ*: az elméleti érték 10 sejt/mérőcella (egy logaritmikus egység), összhangban a mért kalibrációs görbékkel.
- *Mérési tartomány*: a kalibrációs egyenesek alapján ez 1-7 logaritmikus egység. 10 sejt alatt a Poisson-eloszlás miatt bizonytalaná válik a sejtszám-meghatározás (a kimutatás nem!), 10^7 sejt felett pedig a TTD túl rövid a tranziens időhöz képest (hőmérséklet- és redox-kiegyenlítődé, a szaporodás lag-periódusa).
- *Pontosság*: mivel a redox-potenciál mérésen alapuló módszer a detektációs idő és a kezdeti élősejtszám logaritmusai közötti lineáris kapcsolatot kifejező regressziós egyenleteken alapul, a módszer pontossága ezen egyenletek megbízhatóságától függ. Ezért minden mikroorganizmus és alkalmazott táptalaj külön kalibrációs görbét igényel.

- *Precizitás (ismételhetőség, reprodukálhatóság)*: a validálási folyamatok során a módszer ismételhetősége és reprodukálhatósága meghatározásra került.
- *Zavartűrés (robosztusság)*: a szaporodási sebesség a hőmérsékleti optimum $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ -os környezetében nem változik. A redox-potenciál hőmérséklet-függésének kísérleti vizsgálata szerint ezen tartományon belül a hőmérséklet-ingadozás hatása a TTD-meghatározás szempontjából elhanyagolható.

A redox-potenciál mérésen alapuló gyorsmódszer előnye az egyszerű mérés technika, a tetszőleges mérőcella használata. A mérőrendszer üzemeltetéséhez nincs szükség pontos és drága hőmérséklet-szabályozásra. A módszer a klasszikus élősejtszám meghatározásos módszerekhez képest gyors, főleg nagyobb fertőzöttség esetén (6-12 óra alatt eredményt adhat). Bármely táplevessel használható (az impedimetriás módszerek speciális, kis vezető-képességű tápfolyadékot igényelnek), és különösen alkalmas a membránszűrési módszerek kiértékelésére. A klasszikus mikrobiológiai módszereknél olcsóbb, főleg a null-toleráns mikroorganizmusok esetében. (Jozwiak – Reichart – Szakmár, 2005; Reichart et al., 2006, 2007; Reichart – Szakmár – Jozwiak, 2006; Szakmár – Reichart – Jozwiak, 2005, 2006; Szakmár et al., 2009).

5. Anyag és módszer

Vizsgálatainkat a SZIE ÁOTK Élelmiszer-higiéniai Tanszék Akkreditált Mikrobiológiai Laboratóriumában végeztük. A kísérletekhez baromfivágóhídról izolált *Campylobacter jejuni* törzseket használtunk. A mikroba fenntartása szelektív Bolton-táplevesben (MERCK 1.00068) történt, hetenkénti átoltással.

5.1. Telepi és vágóhídi mintavétel

5.1.1. Kísérleti elrendezés

A mintavételekre a Hajdú-Bét Rt. broiler telepein és vágóhídján került sor. Két mintázási időszakot terveztünk – egyiket nyáron, másikat télen – annak érdekében, hogy képet kapjunk az esetleges szezonális különbségekről. A nyári időszak mintázása 2003. június 5 – július 17-ig, a téli időszak pedig 2003. december 8 – 2004. január 20-ig tartott. A mintavételi ütemezés szerint a betelepítéskor, majd kéthetente vettünk mintát a baromfitartó telepen, egy állomány útját követve egészen a vágásig, ahol a technológiai sor különböző pontjairól történt mintavétel. A telepi mintavételi tervet a 9. táblázat, a vágóhídit a 10. táblázat tartalmazza.

9. táblázat Telepi mintavételi terv

Mintavételi hely	Minta	Minta mennyisége (db)		
		Betelepítés	2 hetes	4 hetes
Baromfi-telep	Cloaca-tampon	10	10	10
	Légbeeresztő nyílások melletti falfelület	5	5	5
	Takarmány	5	5	5
	Mélyalom	5	5	5
	Itatóvíz	5	5	5
	Levegő	5	5	5
	Rovarok	*	*	*
	Személyi higiénia	*	*	*

* Nem tervezett mintaszám, a jelenlevő segítő személyzettől és a talált rovaroktól függött.

10. táblázat Vágóhídi mintavételi terv

Mintavételi hely	Minta	Minta mennyisége (db)
		Vágás (6 hetes)
Vágóhíd	Cloaca-tampon	15
	Kopasztott testfelület	15
	Testfelület zsigerelés után	15
	Testfelület a testmosás után	15
	Lehűtött testfelület	15
	Személyi higiénia	5
	Üzemi környezet	5
	Állatszállító ládák mosás után	5

5.1.2. Mintavétel

A cloacából, a szellőzőnyílásokról (10 cm²) és a dolgozók kezéről steril tamponnal vett mintát azonnal 10 ml transzport-dúsítóba tettük, a rovar-, takarmány-, és alommintákat steril Stomacher-zacskókban szállítottuk a laboratóriumba, és itt helyeztük a dúsítóba. A levegőmintákat Koch-féle szedimentációs módszerrel vettük, 15 perces expozíciós idővel. A vízmintákat steril üvegekbe, a mintavételi csapot kifolyatva vettük, majd 0,30 µm pórusátmérőjű membránszűrő-lapon átszűrtük, a szűrőlapot mCCDA táptalajra helyeztük.

5.1.3. Minták vizsgálata

A *Campylobacter jejuni* telepi és vágóhídi azonosítását az MSZ-3640/24-1989 szabvány előírásai szerint végeztük. A vizsgálandó 25 g mintát 225 cm³ mennyiségű Preston-féle levesben homogéneztük, majd 42 °C hőmérsékleten 48 órán át inkubáltuk. Az inkubálás után a dúsítóból szelektív *Campylobacter* agarra (mCCDA) végeztünk kiszélesztést. A szelektív táptalajokat 42°C-on, mikroaerofil körülmények között (Anaerocult®C – Merck 1.16275) tenyésztettük 48 óráig, majd a bírálókat során a kiválasztott telepeket biokémiai próbákra vetettük alá. A vízmintákat 0,30 µm pórusátmérőjű membránszűrőn szűrtük, majd a szűrőket szelektív mCCDA táptalajra helyeztük, és úgy inkubáltuk.

A jellegzetes telepek kiválasztása után azonosító, megerősítő vizsgálatokat végeztünk. Ezek a kataláz és oxidáz próba, a natív és festett kenetek mikroszkópos vizsgálata, az aerob körülmények közt történő tenyésztés és a hippurát-hidrolízis voltak.

5.1.3.1. Táptalajok

Preston-leves

Nutrient Broth No.2 (Oxoid CM0067)

Campylobacter Growth Supplement (Oxoid SR0084)

Preston Campylobacter Selective Supplement (Oxoid SR117E)

mCCDA szelektív táptalaj

Campylobacter Blood Free Selective Agar Base (Oxoid CM0739)

CCDA Selective Supplement (Oxoid SR0155)

5.1.3.2. A *Campylobacter jejuni* azonosítása

Az mCCDA táptalajon jellegzetes telepek tekintettük a nagy, lapos, kerek, a szélesztés mentén esetleg összefolyó, szürkés színű, fényes felszínű, irizáló, ép szélű és vajszerűen kenhető konzisztenciájú (1. teleptípus), vagy kisebb (0.5-2.0 mm), kerek formájú, domború, ép szélű, fényes felszínű, tömött állományú, sárgásszürke kolóniákat (2. teleptípus).

Az azonosításra kiválasztott telepek mindegyikével aerob tenyésztést végeztünk. További azonosító próbákat csak azokkal a telepekkel végeztünk, amelyek aerob körülmények között 48 óra elteltével fejlődést nem mutattak.

Az első biokémiai próba az oxidáz-próba volt. Az azonosításra kerülő másodlagos tenyészetek mindegyikéről kacsnyi mennyiséget felvittünk oxidáz-reagenssel (összetétele: N, N, N, N-tetrametil-parafenilén-diamin-dihidroklorid 0,05g; desztillált víz 5 ml) megnedvesített szűrőpapírra.

Az oldatot frissen készítettük, az elszíneződött oldatot nem használtuk.

A próbát két percen belül elbíraltuk. Pozitívnak tekintettük, ha a szűrőpapír két perc elteltével sötétvörösre színeződött. Csak az oxidáz pozitív mintákat tekintettük *Campylobacter jejuni*nak.

A második biokémiai próba a kataláz-próba volt. A tenyészetekből kacsnyi mennyiséget Widal-féle kémcsőben 2-2 cm³ hígítóoldatban szuszpendáltuk, majd 30 %-os hidrogén-

peroxid oldatból frissen készített 10 %-os oldatból (kataláz-reagens) 3-4 cseppet hozzáadtunk. Alaposan összeráztuk és fél perc múlva elbíraltuk. Pozitívnak ítéltük a próbát, ha a szuszpenzió élénk pezsgést vagy habzást mutatott. Csak a kataláz pozitív mintákat tekintettük *Campylobacter jejuni*-nak.

A harmadik biokémiai próba a hippurát hidrolízisének vizsgálata volt. A vizsgálathoz szükséges oldatot úgy készítettük, hogy 1 g nátrium-hippurátot 100 cm³ desztillált vízben feloldottunk. Az oldatot 0,4 cm³-enként steril, papírvatta dugós Widal-csővekbe mértük szét. Kacsnyi mennyiségű baktériumtenyészetet a Widal-csővekbe helyeztük, jól elkevertük, majd ezeket a szuszpenziókat két óráig 37 °C-on inkubáltuk. Ezután egy csepp ninhidrin-reagenst (Sigma – N7285) adtunk hozzájuk. A reagens hozzáadása után a kémcsöveket 5 percig 100 °C-os vízfürdőbe helyeztük. Pozitívnak ítéltük azokat a csöveket, amelyek 5 percen belül kékeslila színűvé váltak. Csak a hippurát-hidrolízis pozitív mintákat tekintettük *Campylobacter jejuni*-nak.

A baktériumok identifikálására elvégeztük a mozgásvizsgálatot is. Kacsnyi mennyiséget fedőlemezen hígítóoldatban szuszpendáltunk, majd tárgylemezen függőcsepp készítményt állítottunk elő. A készítményeket immerziós nagyítás mellett vizsgáltuk, majd megnéztük, hogy van-e aktív mozgás és milyen ennek jellege. *Campylobacter jejuni*-nak ítéltük a mintát, ha a látótérben vékony, karcsú, S- vagy csavar alakú mikrobákat láttunk és azok jellegzetes dugóhúzó szerű, előre haladó mozgást végeztek.

5.2. *Campylobacter jejuni* élősejtszám meghatározása tenyésztéses módszerrel

A *Campylobacter jejuni* számának klasszikus meghatározása az ISO/TS 10272-2:2006 szabvány alapján történt. A mintából tízes léptékű hígítási sort készítettünk sós-pepton vízben (8,5 g/l NaCl, 1 g/l pepton). A hígítási sor valamennyi tagjából 0,1 ml-t szélesztettünk mCCDA agar táptalajra (MERCK 1.00070). A tenyésztést 42 °C hőmérsékleten, 48 órán át Anaerob Jar-ban (MERCK 1.16387) végeztük, a megfelelő gázkeverék (8-10 % CO₂ és 5-7 % O₂) beállítását MERCK Anaerocult C (MERCK 1.16275) adalékkal biztosítottuk.

5.3. *Campylobacter jejuni* élősejtszám meghatározása műszeres méréssel

Oxigén-igényük alapján a mikroorganizmusok szaporodása csak bizonyos redox-potenciál tartományban megy végbe, ennek megfelelően a redox-potenciál változásának detektálásával esetenként a mikroorganizmusok jellegére (aerob, anaerob, fakultatív anaerob, aerotoleráns anaerob) is következtethetünk, amire az impedimetriás mérések nem adnak lehetőséget.

A tápközeg szaporodás folyamán bekövetkező redox-potenciál változása műszeresen igen jól mérhető.

5.3.1. A mérő-rendszer leírása

Az alábbi ismertetés forrása a SZIE ÁOTK Élelmiszer-higiéniai Tanszékének és a Corvinus Egyetem Fizikai- és Automatizálási Tanszékének munkatársai által kifejlesztett és szabadalmaztatás alatt álló eljárás leírása (Reichart et al., 2006).

A moduláris felépítésű mérő rendszer a mérési igényeknek megfelelően bővíthető. A redox-potenciál méréséhez 12, 16, 32 csatornás kiépítésű műszereket használtunk kereskedelmi forgalomból beszerezhető (Schott BlueLine 31Rx) kombinált mérőelektródokkal. Az elektródok sterilizálásának menete: az elektródokat hipo:víz 1:10 arányú keverékében 30 percig sterilizáltuk, tiszta vízzel öblítettük, majd tömény etanolba mártottuk, az így előkészített elektródok alkalmasak voltak a mérésre. A nem használt elektródokat tömény KCl-oldatban tároltuk.

A mérés során a számítógéphez csatlakoztatott mérőrendszer vezérlésére és adatfeldolgozás céljára kifejlesztett speciális számítógépes program folyamatos adatgyűjtést végez, minden mérőcsatornát kiolvas. A beolvasott adatok rögzítése csak akkor történik meg, ha a csatorna beállításai szerint ez szükséges. A program fejlett zajszűréssel is rendelkezik. A szoftver a begyűjtött adatokat táblázatban tárolja, ezek a telepített táblázatkezelő és statisztikai programokba konverzió nélkül beolvashatók. A csatornák egyedileg paraméterezhetők, lehetővé téve több különböző jellegű, eltérő időben megkezdett vizsgálat monitorozását és kiértékelését.

Detektációs időnek (TTD) tekintjük azt az időpontot, amikor a redox-potenciál (E , mV) változás sebességének (a redox-görbe idő szerinti differencia-hányadosának) abszolút értéke egy, a véletlen hatásoktól szignifikánsan különböző értéket meghalad (pl. $|dE/dt| \geq 1$ mV/perc). Ez az érték a detektációs kritérium. A véletlen mérési hibák kiküszöbölése miatt beállítható, hogy több egymást követő, a határértéket meghaladó differencia-hányados

esetén jelölje csak az adott pontot detektációs időként. A szoftverben beállítható a kritikus differencia-hányados értéke (*jelen esetben: -1 mV/min*), a kritikus értéket meghaladó mérési pontok minimálisan megkívánt száma (*jelen esetben: 3*) és az értékelés kezdete (*60 perc*). Az értékelés kezdetének beállításával az idősor eleje nem vesz részt a számításban, a mérés elejének bizonytalanságai így kiküszöbölhetőek.

5.3.2. Kalibrációs görbe felvétele

A különböző kiindulási sejtkoncentrációk logaritmus (lgN) és a hozzájuk tartozó TTD értékek között szoros lineáris összefüggés áll fenn, ami kalibrációs görbe felvételét teszi lehetővé.

Táptalaj: Bolton leves (Merck 1.00068)
Bolton Szelektív adalék (Merck – 1.00069)

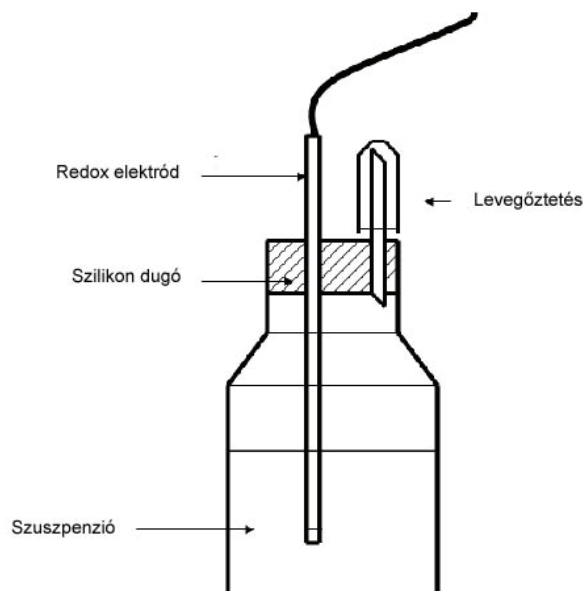
A vizsgálni kívánt *Campylobacter jejuni* szintenyészetéből 10-es léptékű hígítási sort készítünk peptonvíz hígítóoldattal. A kiindulási szuszpenzió élősejtszámát klasszikus tenyésztéses módszerrel (a 4.2. szakaszban leírt módon) határozzuk meg. A hígítási sor minden tagjából a MicroTester 100 ml-es mérőcelláiban lévő steril Bolton-levesbe oltunk 1-1 ml-t, és 42 °C-os vízfürdőben termosztálva meghatározzuk a TTD értékeket. A tenyésztéssel kapott lgN és a műszeresen meghatározott, különböző hígítási szintekhez tartozó TTD értékekből lineáris regresszióval kiszámítjuk a kalibrációs görbe egyenletét, melyet betáplálunk a műszer programjába. A kalibrációs görbe ismeretében lehetőségünk van a későbbiek során a vizsgált minták élősejtszámának műszeres meghatározására.

5.3.3. *Campylobacter jejuni* számának műszeres meghatározása

Egy minta élősejtszámának meghatározásához a mikrobiológiai gyakorlatnak megfelelő előkészítés (homogénezés, hígítás) után ismert mennyiséget viszünk a vízfürdős termosztátba helyezett mérőcellába, majd elvégezzük a műszeres mérést. Negatív kontrollként steril táptalajt, pozitív kontrollként a vizsgálandó mikroba nagy koncentrációjával oltott táptalajt használunk. A mérőrendszer felveszi a redox-görbét, meghatározza a detektációs időt, és az előzetesen felvett kalibrációs görbe alapján kiszámítja a minta kezdeti élősejtszámát. A mérőrendszer egy tipikus kialakítását szemlélteti az *1. ábra*. Az alkalmazott 100 ml-es mérőcellák kialakítása a *2. ábrán* látható.



1. **ábra** 16 csatornás mérőműszer teljes kiépítéssel,
Kémcsöves mérőcellákkal



2. **ábra** 100 ml-es mérőcella

5.4. Hőpusztulási kísérletek

A hőpusztulási kísérletek során különböző hőmérsékleteken végzett izoterm hőpusztulási vizsgálatokban a klasszikus tenyésztéses módszerrel nyert és a redox-potenciál mérésre alapozott műszeres eljárással meghatározott élősejtszámok alapján számított pusztulási paramétereket hasonlítottuk össze.

5.4.1. Hőpusztulási idők meghatározása tenyésztéses vizsgálatok alapján

Különböző hőmérsékleteken végzett izoterm hőpusztulási kísérletekben a tenyésztéses módszerrel meghatározott, ismert kiindulási élősejtszámú (N_0) szuszpenziót tartalmazó kémcsöveket (9 ml 0,5%-os glükózoldat, beoltva 1 ml *Campylobacter* szuszpenzióval) Medingen U10 ultratermosztát beállított hőmérsékletű vízfürdőjébe helyeztük. Az előre meghatározott mintavételi időpontokban 3-3 párhuzamos szuszpenziót kivettünk, hideg vízbe helyezve lehűtöttünk, majd minden kémcsőből 1 ml-t szelektív Bolton-levesbe pipettáztunk. A dúsító oldatot tartalmazó kémcsöveket 42°C-on 48 óráig inkubáltuk. Az inkubálás után a kémcsövek tartalmát kioltottuk mCCDA táptalajra és 42 °C hőmérsékleten 24 órán át inkubáltuk mikroaerofil körülmények között, a hőkezelést túlélő sejtek elszaporítása céljából. A mérést a következő hőmérséklet-idő kombinációkkal végeztük (11. táblázat):

11. táblázat Hőkezelési hőmérsékletek és idők (tenyésztéses kiértékeléshez)

Hőmérséklet	Mintavétel gyakorisága	Mintavételezés tartama
50 °C	10 percenként	80 percig
55 °C	5 percenként	40 percig
60 °C	2 percenként	16 percig
65 °C	1 percenként	6 percig

Hőpusztulási időnek (τ) tekintettük azt a legkisebb hőkezelési időt, amelynél a 3 párhuzamosan kivett minta egyikéből sem tudtunk túlélést kimutatni. A hőpusztulási időből a tizedelődési időket az (5.) összefüggés felhasználásával számítottuk ki.

5.4.2. Tizedelőési idők meghatározása redoxpotenciál mérésen alapuló módszerrel

A különböző hőkezelési időkhöz tartozó túlélő mikroba-számot (IgN_t) egy 16 csatornás MicroTester berendezéssel határoztuk meg, előzetesen felvett kalibrációs görbe alapján. A mérést a 12. táblázatban összefoglalt hőmérséklet-hőkezelési idő kombinációkkal végeztük

12. táblázat Hőkezelési hőmérsékletek és idők (redox kiértékeléshez)

Hőmérséklet	Hőkezelési idő
52 °C	10 perc
56 °C	5 perc
60 °C	4 perc
64 °C	2 perc

A különböző hőmérsékletekhez tartozó tizedelőési időket (D_T) a kiindulási élősejtszám (N_0) és egy t idejű hőkezelést túlélő, műszeresen meghatározott N_t sejtszám felhasználásával a (4.) összefüggés felhasználásával számítottuk ki.

5.5. A vízaktivitás hatásának vizsgálata a *Campylobacter jejuni* túlélésére

Kísérleteink során a vízaktivitás *Campylobacter jejuni* túlélésére kifejtett hatását vizsgáltuk, a túlélő sejtszámok redox-potenciál mérésen alapuló meghatározásával. A vízaktivitást három különböző anyaggal – konyhasó, glükóz és glicerin – állítottuk be. A kísérleteket az élelmiszerekre jellemző normál vízaktivitás-tartományban végeztük, a 13. táblázatban összefoglalt koncentrációk szerint.

A Bolton-levesben dúsított 24 órás *Campylobacter jejuni* szuszpenzióból 10 ml-t mértünk az előre elkészített, 42 °C hőmérsékletre beállított vízfürdőben termosztált, steril glicerin-, glükóz- és konyhasó-oldatokba. Az összekeverés után a 0, 15, 30 és 45. percben kivettünk 1 ml-t, és a szintén 42 °C-on termosztált mérőcellába készített steril Bolton-levesbe adagoltuk, majd a cellát rögtön összekapcsoltuk a redox-potenciál mérő berendezéssel. A mérőrendszer meghatározta a TTD értékeket és kalibrációs görbe alapján kiszámolta a túlélő *Campylobacter jejuni* számot.

13. táblázat A különböző vízaktivitás értékek beállításához szükséges koncentrációk (g/100 g oldat) (Water activities, 2009)

Vízaktivitás (a_w)	Glicerín	Glükóz	NaCl
0,995	2,5	4,45	0,88
0,985	4,0	7,0	2,84
0,976	8,0	14,0	4,47
0,946	20,0	32,0	8,55
0,920	27,6	43,7	-
0,874	37,5	-	-

5.6. A pH hatásának vizsgálata a *Campylobacter jejuni* túlélésére

Kísérleteink során a pH *Campylobacter jejuni* túlélésére kifejtett hatását vizsgáltuk, a túlélő sejtszámot MicroTesterrel meghatározva. A kísérleteket pH 4,5-10,0 tartományban végeztük. A pH hatásának (4,5-8,0) vizsgálatát az előzetes kísérletek és a szakirodalmi adatok alapján a 14. táblázatban összefoglalt vízaktivitás-pH kombinációknál 27, 32, 37, 42 és 49°C hőmérsékleteken ismételve végeztük.

14. táblázat Vízaktivitás és pH kombinált hatás vizsgálatának mérési elrendezése

pH	a_w			
	0,998	0,985	0,976	0,965
4,5		glicerín	glicerín	glicerín
5,0		glicerín	glicerín	glicerín
5,5		glicerín	glicerín	glicerín
6,0		glicerín	glicerín	glicerín
6,5		glicerín	glicerín	glicerín
7,2		glicerín NaCl	glicerín NaCl	glicerín NaCl
7,5		glicerín	glicerín	glicerín
8,0		glicerín	glicerín	glicerín
8,5		glicerín	glicerín	glicerín
9,0		glicerín	glicerín	glicerín
9,5		glicerín	glicerín	glicerín
10,0		glicerín	glicerín	glicerín

Az $a_w=0,998$ oszlop a vízaktivitás állítás nélküli Bolton levest reprezentálja, amelyben csak pH-állítás történt.

A Bolton-levesben feldúsított 24 órás *Campylobacter jejuni* szuszpenzióból 1 ml-t mértünk a beállított pH-jú és vízaktivitású steril Bolton-levesekbe. A vízaktivitás beállításához glicerint, a szaporodás szempontjából optimálisnak tekinthető 7,2 pH-n NaCl-ot is használtunk. A pH-t NaOH-dal, illetve steril borkősavval állítottuk be. Az így elkészített mérőcellákat beoltás után azonnal összekapcsoltuk a redox-potenciál mérő berendezéssel.

6. Eredmények

6.1. Telepi és vágóhídi mintavétel eredménye

Nyáron az első két mintavételi időpontban (0 és 12 napos korban) az összes minta negatív volt. A 26 napos korban vett minták közül egy kloáka minta, egy szellőzőnyílás melletti falfelület-minta és egy rovarminta volt pozitív (15. táblázat). 42 napos korban, a vágóhídon vett mintavételi pontok mindegyikén találtunk *Campylobacter* fajokat. A vágóhídi mintavételek eredményeit a 16. táblázat tartalmazza.

15. táblázat A telepi mintavétel *Campylobacter* eredményei nyáron
(2003.06.05.-2003.07.17.)

Minta	Pozitív minták száma / összes minta száma		
	1. mintázás (0. nap: betelepítés)	2. mintázás (12. nap)	3. mintázás (26. nap)
Cloaca-tampon	0/10	0/10	1/10
Szellőzőnyílások	0/5	0/5	1/5
Takarmány	0/5	0/5	0/5
Alom	0/5	0/5	0/5
Itatóvíz	0/5	0/5	0/5
Levegő	0/5	0/5	0/5
Rovar	0/1	0/0	1/1
Személyi higiénia	0/16	0/0	0/0

16. táblázat A vágóhídi mintavétel (42. nap) *Campylobacter* eredményei nyáron
(2003.06.05.-2003.07.17.)

Minta	Pozitív minták száma / összes minta száma
Cloaca-tampon	7/15
Kopasztott testfelület	14/15
Testfelület zsigerelés után	15/15
Testfelület a testmosás után	15/15
Lehűtött testfelület	8/8
Személyi higiénia	14/15
Környezeti higiénia	8/8
Állatszállító ládák mosás után	4/8

A téli mintázás során sem a 0, sem a 10 és a 31. napon vett mintákból nem sikerült *Campylobacter*t izolálni, de 42 napos korban, a vágóhídon már igen. A vágóhídon az összes mintavételi ponton sikerült *Campylobacter*t kimutatni, az élő állatok 93,3%-a volt fertőzött, a vágósor végére pedig már a minták 100%-a. A vágóhídi dolgozók kezéről és a vágóberendezésekről is sikerült *Campylobacter*t kimutatni. A pozitív minták 95,5%-a (88-ból 84 minta) *Campylobacter jejuni*nak bizonyult. A telepi mintavétel eredményeit a 17. táblázat, a vágóhídi eredményeket az 18. táblázat mutatja.

17. táblázat A telepi mintavétel *Campylobacter* eredményei télen
(2003.12.08.-2004.01.20.)

Minta	Pozitív minták száma / összes minta száma		
	1. mintázás (0. nap: betelepítés)	2. mintázás (12. nap)	3. mintázás (26. nap)
Cloaca-tampon	0/10	0/10	0/10
Szellőzőnyílások	0/10	0/10	0/10
Takarmány	0/5	0/5	0/5
Alom	0/5	0/5	0/5
Itatóvíz	0/5	0/5	0/5
Levegő	0/5	0/5	0/5

18. táblázat A vágóhídi mintavétel (42. nap) *Campylobacter* eredményei télen (2003.12.08.-2004.01.20.)

Minta	Pozitív minták száma / összes minta száma
Cloaca-tampon	14/15
Kopasztott testfelület	15/15
Testfelület zsigerezés után	14/15
Testfelület a testmosás után	15/15
Lehűtött testfelület	15/15
Személyi higiénia	5/5
Környezeti higiénia	5/5
Állatszállító ládák mosás után	5/5

Eredményeink jól egyeznek a nemzetközi szakirodalomban közölt adatokkal. Sajnos nem nyílt lehetőség a 26 napos és a 42 napos kor közti telepi mintavételre, amelynek során nyomon követhettük volna *Campylobacter* fertőzöttség terjedését.

A 90 mintából izolált 88 *Campylobacter* közül 84 volt *Campylobacter jejuni* (a hippurát-hidrolízis vizsgálata alapján) és mindössze 4 esetben találtunk más *Campylobacter*t.

6.2. Hőpusztulási kísérletek

6.2.1. Tenyésztéses módszerrel meghatározott hőpusztulási eredmények

A *Campylobacter jejuni* hőpusztulásának vizsgálata során a hőkezelésekhez közös alapsuszpenzióból indultunk ki, melynek élősejtszáma $N_0=1,0 \cdot 10^5$ cfu/ml volt. A különböző hőmérsékletekhez tartozó, tenyésztéses vizsgálatok alapján meghatározott pusztulási időket és belőlük számított tizedelőési időket a 19. táblázat foglalja össze.

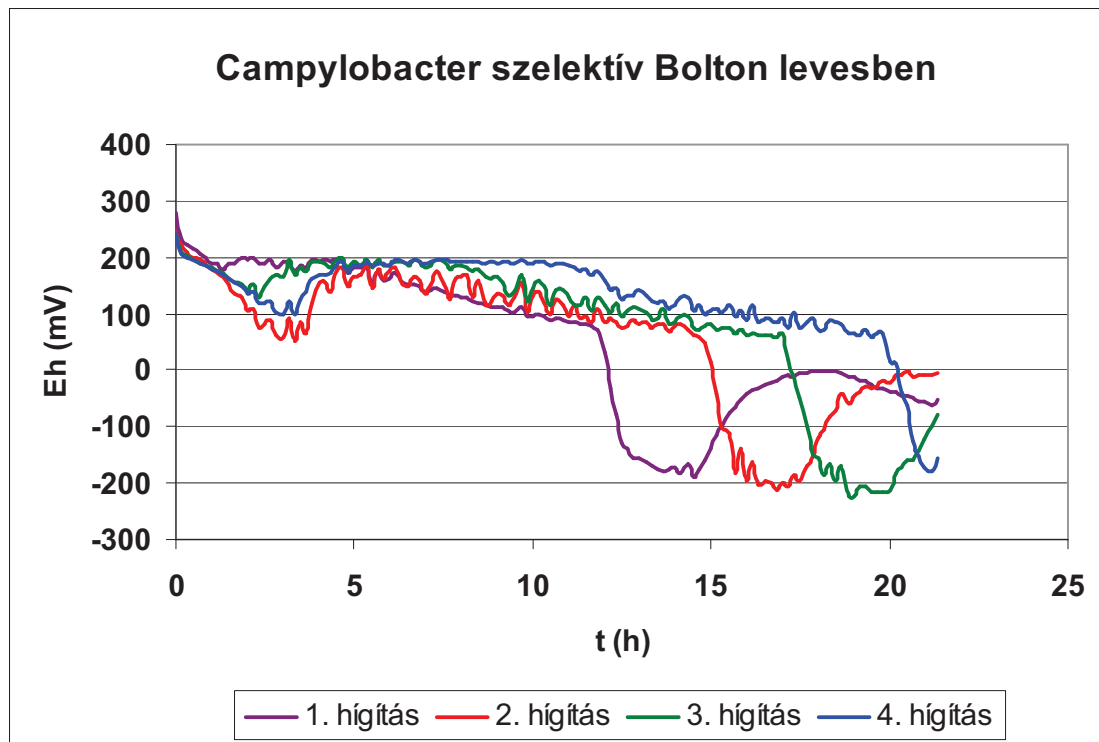
19. táblázat *Campylobacter jejuni* hőpusztulási jellemzői tenyésztéssel meghatározva (glükózoldat, 0,5%)

Hőmérséklet T (°C)	Induló sejtszám lg N_0	Pusztulási idő τ (min)	Tizedelőési idő D (min)	lg D
50	5,0	60	12,0	1,079
55	5,0	20	4,0	0,602
60	5,0	8	1,6	0,204
65	5,0	3	0,6	-0,222

6.2.2. A redox-potenciál mérésen alapuló hőpusztulási eredmények

6.2.2.1. Kalibrációs görbe meghatározása

A redoxpotenciál mérésen alapuló élősejtszám-meghatározáshoz először a kalibrációs görbét határoztuk meg. A kiindulási szuszpenzió 10-es léptékű hígításaiból meghatározott redox-görbéket a 3. ábra szemlélteti.

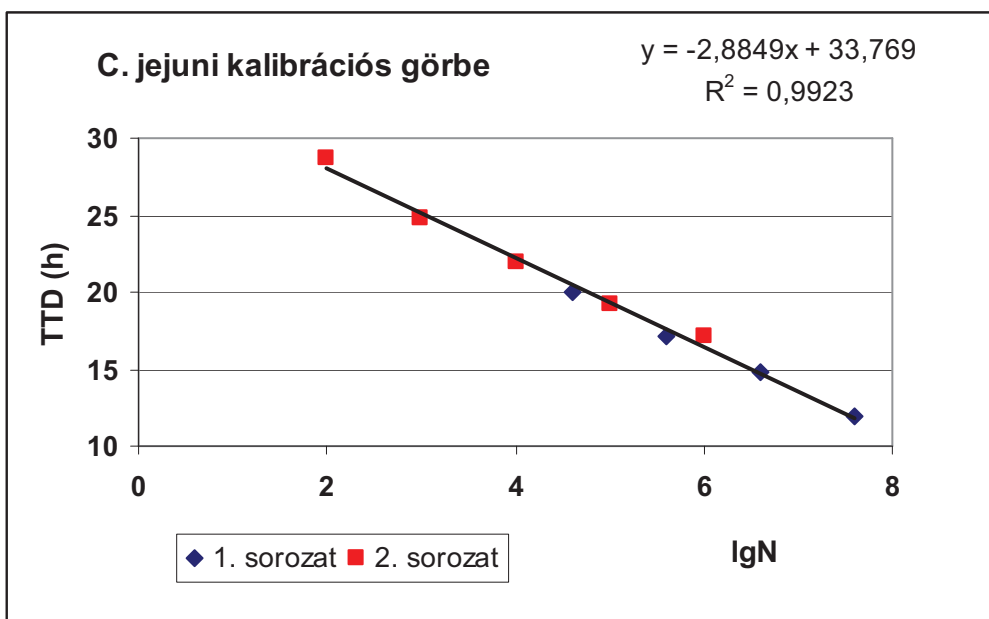


3. ábra A hígítás hatása *Campylobacter jejuni* redox-görbéire

A különböző hígításokhoz tartozó TTD értékeket (detektációs kritérium $-0,5 \text{ mV/min}$) a felületi szélesztéses módszerrel, mCCDA agaron nyert *Campylobacter*-számmal összevetve, meghatározható a kalibrációs görbe és annak egyenlete. A hőpusztulási mérések kiértékeléséhez használt, két független mérési sorozat eredményeit a 20. táblázatban foglaltam össze, az egyesített adatokból meghatározott kalibrációs görbe a 4. ábrán látható.

20. táblázat *Campylobacter jejuni* TTD értékei a kiindulási sejtszám függvényében

IgN	TTD (h)
7,6	12,00
6,6	14,83
5,6	17,17
4,6	20,00
6,0	17,17
5,0	19,17
4,0	22,00
3,0	24,83
2,0	28,67



4. ábra A *Campylobacter jejuni* kalibrációs görbéje

6.2.2.2. Redoxpotenciál-mérésen alapuló hőpusztulási eredmények

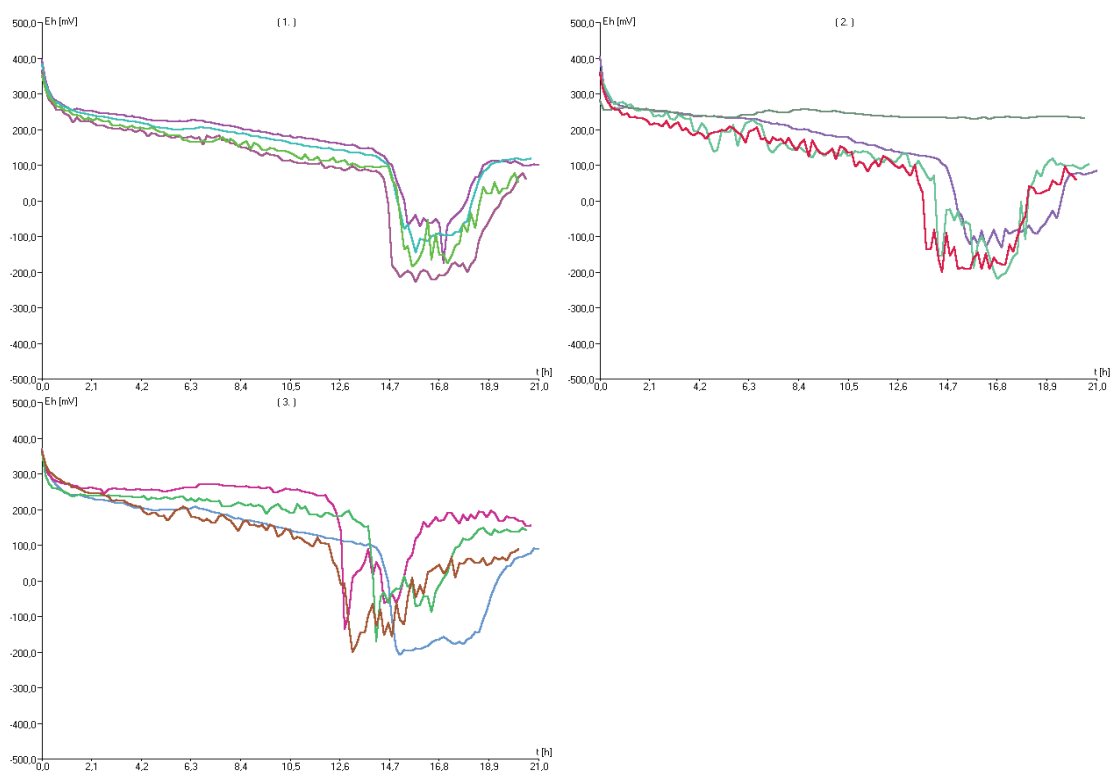
A hőkezelési kísérletek során műszeresen meghatározott túlélő sejtszámok felhasználásával számított tizedelési időket a 21. táblázat tartalmazza.

21. táblázat *Campylobacter jejuni* hőpusztulási jellemzői redoxpotenciál mérés alapján meghatározva

T (°C)	lg N ₀	Hőkezelés (min)	lg N _t	D (min)	lg D
52	7,25	10	5,89	7,35	0,866
56	7,25	5	5,36	2,65	0,423
60	7,25	4	4,36	1,38	0,141
64	7,25	2	4,23	0,66	-0,179

6.3. A vízaktivitás hatása a *Campylobacter jejuni* túlélésére

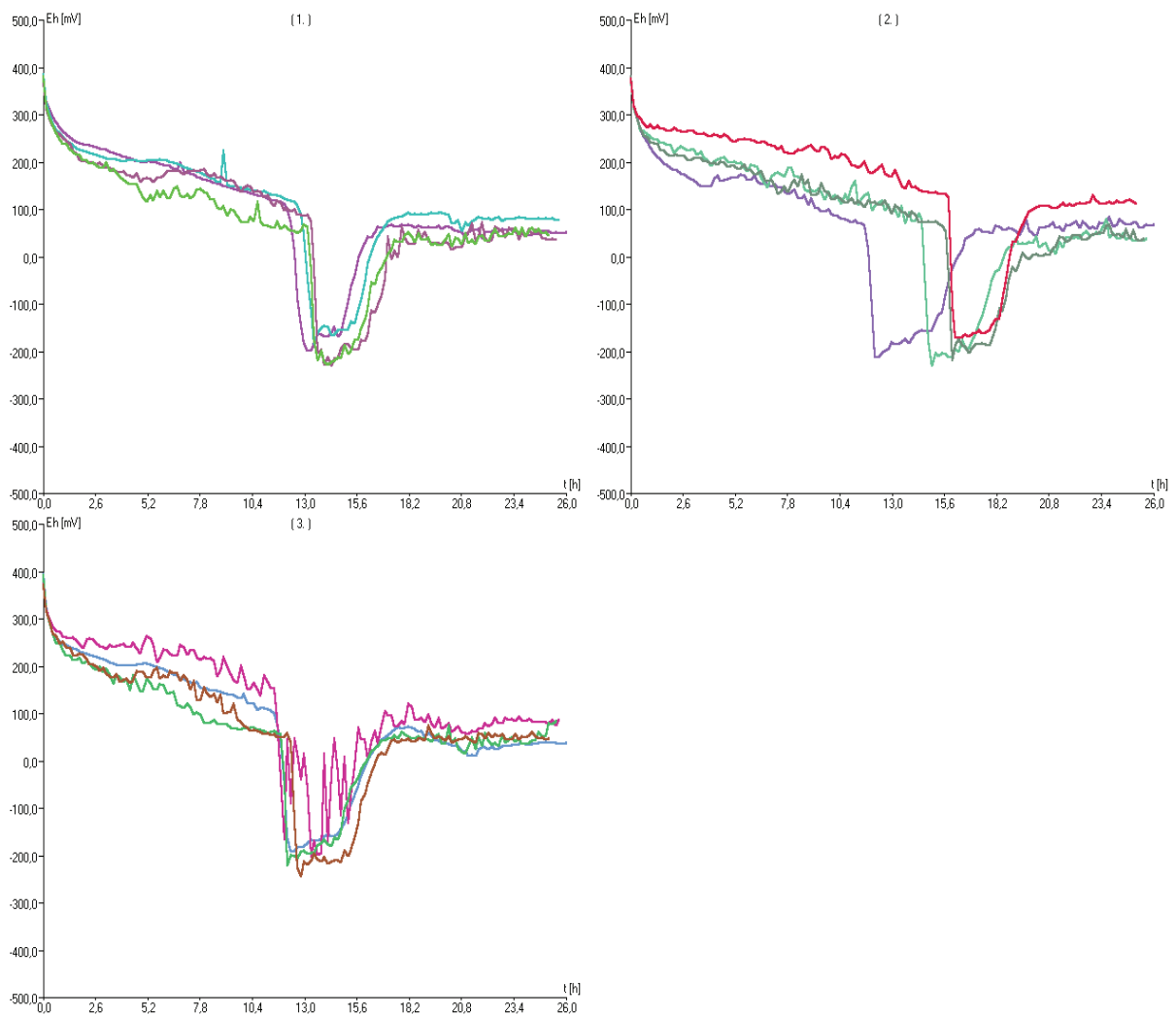
A különböző anyagokkal (glicerín, konyhasó, glükóz) beállított vízaktivitású, *Campylobacter jejuni* azonos mennyiségével beoltott, 42 °C-on termosztált oldatokból 15 percnként vettünk mintát 0 – 45 percig. A minták élősejtszámát MicroTester készülékkel határoztuk meg. A 0. perc a beállított vízaktivitású oldatba tett és elkeveredés után azonnal kivett mintát jelenti. A 4-4 mintavételi időponthoz tartozó, MicroTester által felrajzolt redox-görbék a vízaktivitást beállító anyag szerint csoportosítva az 5.-10. ábrán láthatók. A redox-görbék alapján számított IgN értékeket a 22.-27. táblázatok tartalmazzák.



5. ábra: Redox-görbék, $a_w=0,995$ Glicerín (1), konyhasó (2), glükóz (3)

22. táblázat *Campylobacter jejuni* élősejtszám változása 42 °C-on $a_w=0,995$ vízaktivitásnál

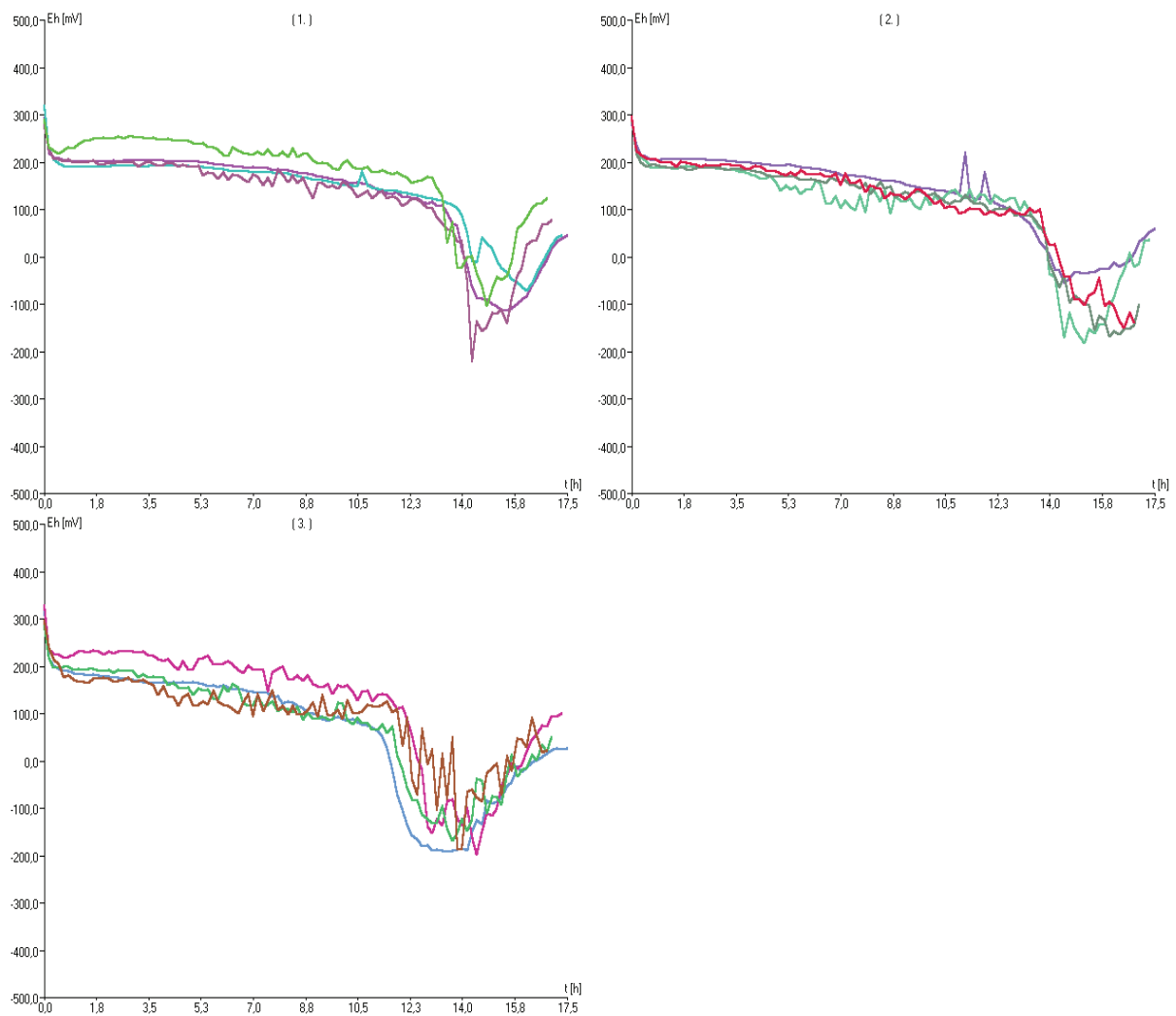
Idő (perc)	IgN		
	Glicerín	NaCl	Glükóz
0	6,19	6,19	6,31
15	6,19	6,31	6,97
30	6,31	–	6,41
45	6,16	6,59	6,94



6. ábra Redox-görbék, $a_w=0,985$ glicerín (1), konyhasó (2), glükóz (3)

23. táblázat *Campylobacter jejuni* élősejtszám változása 42 °C-on $a_w=0,985$ vízaktivitásnál

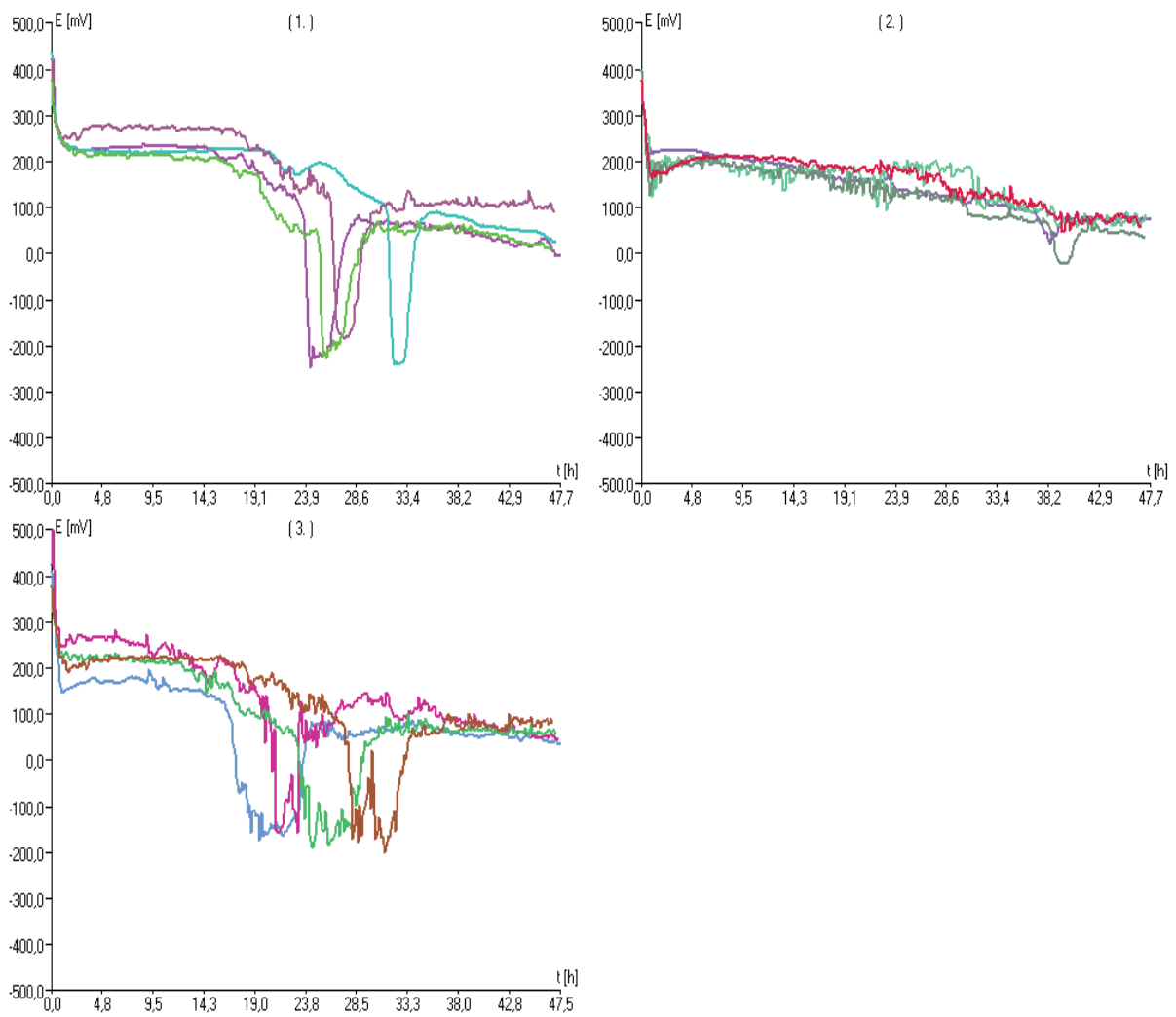
Idő (perc)	lgN		
	Glicerín	NaCl	Glükóz
0	7,32	7,45	7,46
15	7,10	6,55	7,45
30	6,94	6,16	7,35
45	6,94	6,06	7,23



7. ábra Redox-görbék, $a_w=0,976$ Glicerín (1), konyhasó (2), glükóz (3)

24. táblázat *Campylobacter jejuni* élősejtszám változása 42 °C-on $a_w=0,976$ vízaktivitásnál

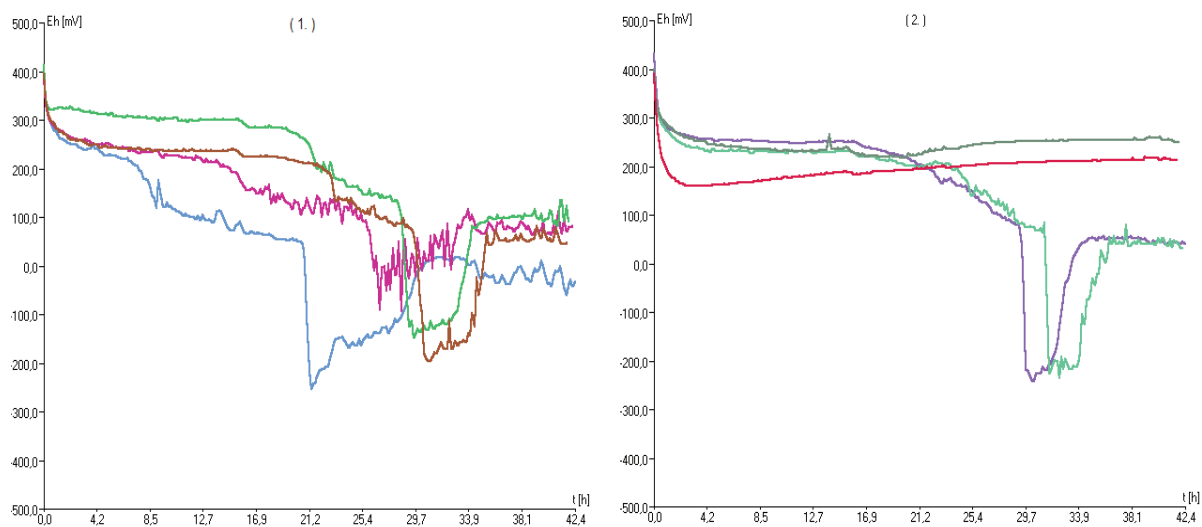
Idő (perc)	lgN		
	Glicerín	NaCl	Glükóz
0	6,90	7,03	7,61
15	6,74	6,97	7,32
30	7,00	6,90	7,45
45	7,03	6,81	7,48



8. ábra Redox-görbék, $a_w=0,946$ Glicerín (1), konyhasó (2), glükóz (3)

25. táblázat *Campylobacter jejuni* élősejtszám változása 42 °C-on $a_w=0,946$ vízaktivitásnál

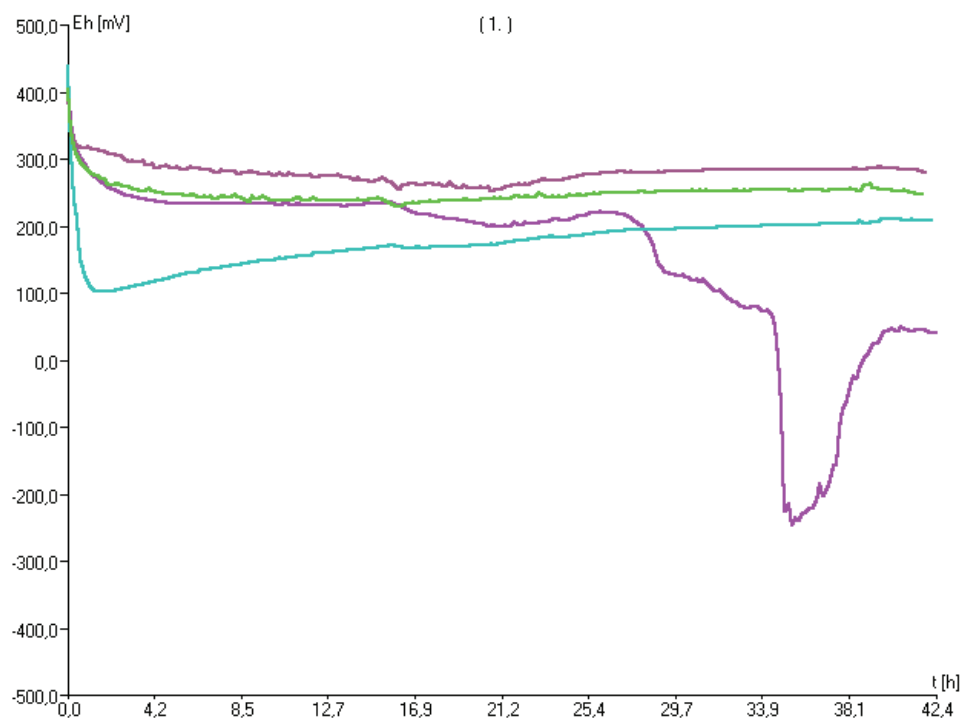
Idő (perc)	lgN		
	Glicerín	NaCl	Glükóz
0	3,54	-0,96	5,89
15	0,89	–	4,50
30	2,61	-1,39	3,61
45	3,00	–	2,14



9. ábra Redox-görbék, $a_w=0,920$ Glükóz (1), glicerin (2)

26. táblázat *Campylobacter jejuni* élősejtszám változása 42 °C-on $a_w=0,920$ vízaktivitásnál

Idő (perc)	lgN		
	Glicerin	NaCl	Glükóz
0	1,62	–	4,38
15	0,97	–	2,74
30	0,00	–	1,85
45	0,00	–	1,47



10. ábra: Redox-görbék, $a_w=0,874$ Glicerín (1)

27. táblázat *Campylobacter jejuni* elősejtszám változása 42 °C-on $a_w=0,874$ vízaktivitásnál

Idő (perc)	lgN		
	Glicerín	NaCl	Glükóz
0	0,00	-	-
15	-	-	-
30	-	-	-
45	-	-	-

6.4. A pH, a vízaktivitás és a hőmérséklet hatása a *Campylobacter jejuni* szaporodására és túlélésére

6.4.1. A pH hatása

Szelektív Bolton levesben pH=4,5–10-ig terjedő tartományban, 0,5 pH értékenként vizsgáltuk a *Campylobacter jejuni* szaporodását. A mérést 42 °C (optimális) hőmérsékleten végeztük, redox-potenciál méréssel. A pH értékeket steril NaOH-dal, illetve borkősavval állítottuk be. A mérőcellákban 80-80 ml táptalaj volt, amelyet 1-1 ml, 24 órás *Campylobacter* szuszpenzióval oltottunk be. A cellákban a kezdeti mikroba-koncentráció $2,3 \cdot 10^6$ cfu/ml volt. A mérést 48 óráig végeztük.

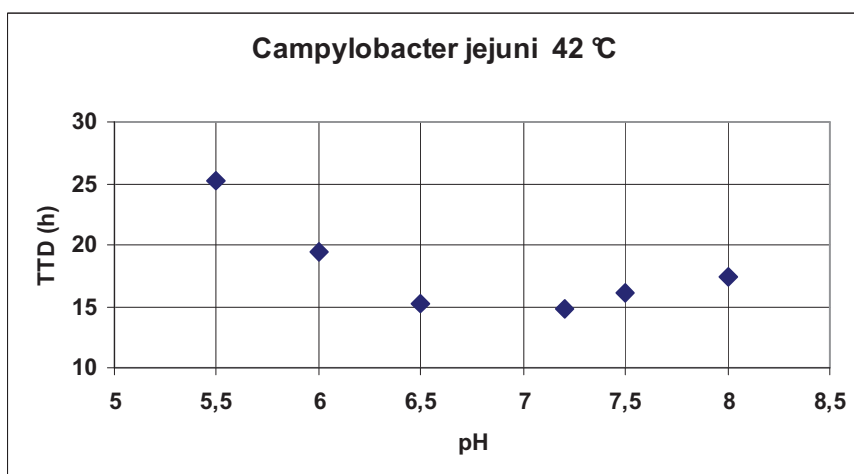
A z eredményeket a 28. táblázat foglalja össze.

28. táblázat A pH hatása *Campylobacter jejuni* szaporodására és túlélésére (T=42 °C)

pH	TTD (h)	túlélés
4,5	-	-
5,0	-	+
5,5	25,33	+
6,0	19,17	+
6,5	12,83	+
7,2	13,5	+
7,5	14,33	+
8,0	17,33	+
8,5	-	+
9,0	-	-
9,5	-	-
10,0	-	-

A táblázatból megállapítható, hogy a *Campylobacter jejuni* az 5,5 és 8,0 közötti pH tartományban volt képes szaporodni. A szaporodást nem mutató csövekből kioltást végeztünk mCCDA táptalajra, annak megállapítására, hogy a nem szaporodó csövekben elpusztult-e a mikroba. A táblázatban az mCCDA táptalajon szaporodást mutató mintákat + jellel jelöltük.

Az 5,5 – 8,0 pH tartományban mért TTD értékek a 11. ábrán láthatók.



11. ábra *Campylobacter jejuni* TTD értékeinek változása a pH függvényében (T=42 °C)

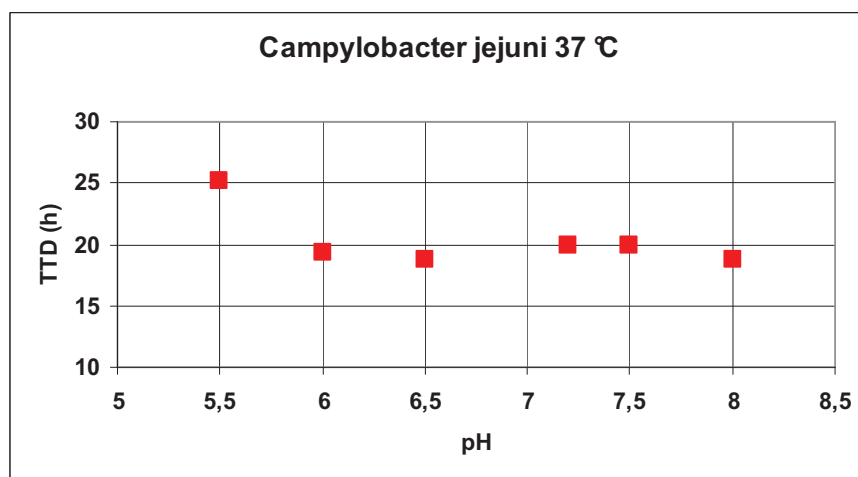
6.4.2. A pH és a hőmérséklet hatása

A pH és a hőmérséklet együttes hatását szelektív Bolton levesben pH = 5,5 – 8-ig terjedő tartományban, 0,5 pH értékenként, 27, 32, 37, 42, és 48 °C-on vizsgáltuk, redox-potenciál méréssel. Az eredményeket a 29. táblázat tartalmazza.

29. táblázat pH és hőmérséklet hatása *Campylobacter jejuni* szaporodására és túlélésére

T (°C)	pH	TTD (h)	túlélés	T (°C)	pH	TTD (h)	túlélés
27	5,5	-	+	42	5,5	25,17	+
	6	-	+		6	19,67	+
	6,5	-	+		6,5	17,67	+
	7,2	-	+		7,2	16,17	+
	7,5	-	+		7,5	17,83	+
	8	-	+		8	17,5	+
32	5,5	-	+	48	5,5	-	-
	6	-	+		6	-	-
	6,5	-	+		6,5	-	-
	7,2	-	+		7,2	-	-
	7,5	-	+		7,5	-	-
	8	-	+		8	-	-
37	5,5	25,17	+				
	6	19,33	+				
	6,5	18,83	+				
	7,2	20	+				
	7,5	20	+				
	8	18,83	+				

A 29. táblázatból megállapítható, hogy a *Campylobacter jejuni* csak 37 és 42 °C hőmérsékleten szaporodott. A szaporodást nem mutató csövekből kioltást végeztünk mCCDA táptalajra, annak megállapítására, hogy a nem szaporodó csövekben elpusztult-e a mikroba. A táblázatban az mCCDA táptalajon szaporodást mutató mintákat + jellel jelöltük. A 37 °C-on mért TTD értékeket a 12. ábra mutatja be



12. ábra *Campylobacter jejuni* TTD értékeinek változása a pH függvényében (T=37 °C)

6.4.3. A vízáktivitás hatása

A vízáktivitás hatását szelektív Bolton levesben $a_w=0,985$, $a_w=0,975$, $a_w=0,965$ értékeken vizsgáltuk. Az egyes vízáktivitás értékek szaporodásra gyakorolt hatását glicerinnel és NaCl-dal beállítva is megvizsgáltuk. A mérést 42 °C hőmérsékleten végeztük, redox-potenciál méréssel. Az eredményeket a 30. táblázat foglalja össze

30. táblázat A vízáktivitás hatása *Campylobacter jejuni* szaporodására (T=42 °C)

a_w	TTD (h)	túlélés
0,985 (só)	-	+
0,975 (só)	-	+
0,965 (só)	-	-
0,985 (glicerin)	-	+
0,975 (glicerin)	-	+
0,965 (glicerin)	-	+

A táblázatból látható, hogy a mikroba egyetlen szuboptimális vízaktivitás értéken sem szaporodott.

A szaporodást nem mutató csövekből kioltást végeztünk mCCDA táptalajra, annak megállapítására, hogy a nem szaporodó csövekben elpusztult-e a mikroba. A táblázatban az mCCDA táptalajon szaporodást mutató mintákat + jellel jelöltük.

Mivel a mikroba csökkentett vízaktivitás mellett optimális pH-n és hőmérsékleten sem szaporodott, a vízaktivitás, pH és hőmérséklet együttes hatását nem tudtuk vizsgálni.

7. Következtetések

A utóbbi években világszerte megnőtt a *Campylobacter jejuni* okozta humán megbetegedések száma. A kórokozó leggyakrabban baromfi hússal, illetve baromfival kapcsolatos termékekkel kerül az élelmiszer-láncba. A baromfiállományok fertőződésének módjáról, a valódi fertőzöttségi adatokról keveset tudunk, ahogy hiányosak az ismeretek a baktérium környezeti tényezőkkel szembeni viselkedéséről, a megelőzés, illetve az elimináció lehetőségeiről is. Az értekezésben tárgyalt felmérő vizsgálatok és a mikroba környezeti tényezőkkel szembeni ellenálló-képességét vizsgáló kísérletek eredményeiből az alábbi következtetések vonhatók le.

7.1. A *Campylobacter jejuni* előfordulása broiler telepen és vágóhídon

Az eredmények egybevágtak a nemzetközi szakirodalmi adatokkal: a telepen nem sikerült *Campylobacter*t kimutatni egészen 26 napos korig, azonban 42 napos korban (vágáskor) az élő állatok 93%-a fertőzöttnek bizonyult, ahogy a technológiai higiéniai és a személyi higiéniai minták mindegyike is. A vágás előrehaladtával minden mintából sikerült *Campylobacter*t kimutatni. A pozitív minták 95%-a *Campylobacter jejuni*nak bizonyult. Ezek az eredmények is megerősítik azokat az adatokat, melyek szerint egy állomány fertőzése után szinte minden egyed a baktérium hordozójává válik, amelyik nem, az a vágóhídon nagy valószínűséggel megfertőződik. Az eredmények alapján látszik, hogy a *Campylobacter* fajok szinte a teljes állományban jelen voltak, és aztán a vágási soron szét is kenődtek. Ebben szerepe lehetett mind az eszközök, mind a dolgozók személyi higiéniai hiányosságainak.

Ennek alapján kitűnik a megelőzés, az esetleges mentesítési programok fontossága. Ezek megtervezéséhez további vizsgálatokra van szükség, főleg a baromfiállományok fertőzödési módját illetően.

Bár a humán campylobacteriosisok prevalenciájáról rendelkezésre állnak hazai adatok (81,6-90,8 eset / 100'000 lakos / év – Epiinfo, 2000-2003), igen kevés publikált adat áll rendelkezésre a baromfiállományok hazai érintettségéről, illetve az állományokon belüli helyzetről, valamint a vágástechnológia hatásáról. Varga (2001) a Magyarországon levágott és csomagolt broilerekből vett mintáinak 26-64,3%-ában talált *Campylobacter* fajokat. Marjai és munkatársai (1982) vizsgálataikban a levágott csirkék bélmintáinak 84%-ából, testfelületi

mintáinak pedig 75%-ából izoláltak *Campylobacter jejuni*. Az értekezésemben ismertetett kísérletek a vizsgált állományon belül magas fertőzöttségi arányt (46,6-93,3%) mutatnak, összhangban a korábbi magyar adatokkal.

Evans és Sayers (2000) beszámoltak arról, hogy Nagy-Britanniában a baromfitelepekről gyűjtött minták 40%-a volt fertőzött *Campylobacter* fajokkal a csirkék 4 hetes korában, és több, mint 90%-a 7 hetes korra. Ez jól korrelál a mi tapasztalatunkkal, mely szerint 4 hetes kor körül fertőződnek az állatok. Az ilyen típusú kor-függés okait nem ismerjük, de szerepet játszhatnak benne *Campylobacter*-specifikus anyai ellenanyagok (Sahin et al., 2003), takarmány-komponensek, illetve a bélflóra kompetitív tagjai, amellet a tény mellett, hogy a *Campylobacter* fajok nem terjednek tojással. Amennyiben egy állomány *Campylobacter* fajokkal megfertőződik, szinte minden egyed is fertőzötté válik. Ez a folyamat nem megállítható, legfeljebb lassítható (Gibbens et al. 2001). Némiképp eltérő eredményekről számoltak be Pearson és munkatársai (1996), akik azt találták, hogy az Egyesült Királyság broiler állományainak csupán 27%-a fertőzött. Németországban az állományok 41,1%-a (Atanassova – Ring, 1999), Dániában 47%-a, Svédországban 10-27%-a (Nachamkin – Blaser, 2000) fertőzött *Campylobacter* fajokkal. Ezek az adatok az állományok fertőzöttségét mutatják, míg vizsgálataink főleg egy állományon belüli fertőzöttségi arányról adnak információt.

A kísérletek során szezonális eltérést tapasztaltunk a broilerek nyári és a téli *Campylobacter*-fertőzöttségi szintje között. Ez összhangban van a nemzetközi eredményekkel: Patrick és munkatársai (2004) azt találták, hogy a broiler állományok *Campylobacter* prevalenciája ugrásszerűen megnő, amennyiben a vágás előtt 3 hétig 8°C felett van az átlagh őmérséklet.

A vágás során a *Campylobacter*-mentes állatok kontaminálódhatnak a fertőzött testekről származó mikroorganizmusokkal (Miwa et al., 2003). Varga (2001) beszámolt arról, hogy lehetséges broiler állományokat *Campylobacter*-mentesen felnevelni, de a vágási és feldolgozási folyamat végére az állatok 16%-a volt termofil *Campylobacter*ekkel fertőzött. Vizsgálatainkban a nyári szezonban vett mintákban a vágóhídi minták 85,8%-a, a téli minták 97,7%-a volt *Campylobacter*rel fertőzött. A hűtött testek mindegyike fertőzöttnek bizonyult *Campylobacter*rel mind nyáron, mind télen.

Más vizsgálatok eltérő testfél-fertőzöttségi arányt mutatnak: Észak-Írországban a bőrminták 92,4 %-a (Moore et al., 2003), az USA-ban a vágott testek 52-80%-a (Nachamkin – Blaser, 2000), Japánban a vágott testek 48%-a, a bőrminták 78%-a, a zsigerek 94%-a (Jeffrey – Tonooka – Lozanot, 2001), Németországban a testek 45,9%-a (Atanassova et al., 1999) volt fertőzött.

Vizsgálataink szerint a vágóhídról izolált *Campylobacter* 95,5 %-a *Campylobacter jejuni*-nak bizonyult. Ez összhangban van a nemzetközi eredményekkel: Whyte és munkatársai (2004) eredményei szerint a *Campylobacter* 83,4%-a, míg Wedderkopp, Nielsen és Pedersen (2003) eredményei szerint a *Campylobacter* 89,5%-a bizonyult *Campylobacter jejuni*-nak.

A jelen értekezésben ismertetett eredmények szerint a hazai broiler-állományok fertőzöttségi szintje hasonló a többi országéhoz, azonban az eredmények arra is rávilágítanak, hogy további kutatások szükségesek a fertőzés forrásainak illetve a fertőzési útvonalaknak a feltárására.

7.2. A hőmérséklet hatása a *Campylobacter jejuni* túlélésére

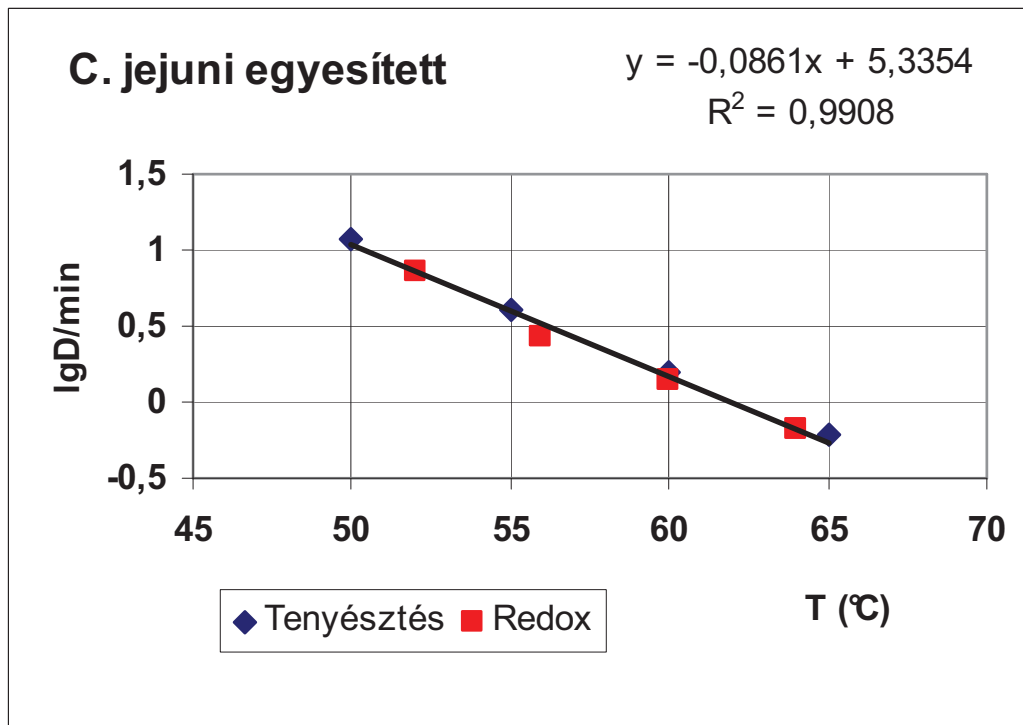
7.2.1. A hőmérséklet változásának hatása a szaporodásra

Az 5.4.2. pontban leírt vizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a mikroba szaporodási hőmérséklet tartománya nagyon szűk. Szaporodás csak 37 és 42 °C-on volt tapasztalható. 32 °C-on és 48 °C-on már nem tapasztaltunk szaporodást. A mikroba 32 °C-on túlélte 48 órát, 48 °C hőmérsékleten a kiindulási 10^6 / ml élősejtszámú szuszpenzió a vizsgálat ideje alatt (48 óra) elpusztult.

7.2.2. A *Campylobacter jejuni* hőpusztulása

Kísérleteinkben a *Campylobacter jejuni* izoterm hőpusztulását vizsgáltuk hagyományos tenyésztéses és redox-potenciál mérésen alapuló gyors módszerrel végzett élősejtszám meghatározással.

A tenyésztéssel meghatározott (19. táblázat) és a redoxpotenciál-mérés alapján számított (21. táblázat) lgD értékeket együttesen ábrázolva a hozzájuk tartozó hőmérsékletek függvényében, közös hőpusztulási görbét kapunk eredményül (13. ábra).



13. ábra *Campylobacter jejuni* egyesített hőpusztulási görbéje

Az igen szoros illeszkedésű hőpusztulási görbe egyértelműen igazolja, hogy a tenyésztéses alapon és műszeres mérés segítségével meghatározott hőpusztulási paraméterek között nincs szignifikáns különbség.

A hőpusztulási görbe egyenlete:	$\lg D = 5,34 - 0,0861 \cdot T$
A lgD értékek standard hibája:	standard error = 0,0487
A meredekségből számított z érték	$z = 1/0,0861 = 11,6 \text{ } ^\circ\text{C}$
A meredekség 95%-os konfidencia-intervalluma:	$-0,0944 < -1/z < -0,0778$
A z érték 95%-os konfidencia-intervalluma:	$10,6 \text{ } ^\circ\text{C} < z < 12,8 \text{ } ^\circ\text{C}$

A vizsgálati eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy a gyors módszerrel történő mikrobaszám meghatározás alkalmas hőpusztulási kísérletek kiértékelésére. A két módszer alapján meghatározott tizedelőési idők között nincs szignifikáns különbség, ezért az eredmények közös hőpusztulási görbében ábrázolhatók.

A meghatározás időigényét tekintve a műszeres mérés jelentősen gyorsabb, a hagyományos módszer 72 órás időigényével szemben csak 25-30 óra, lényegesen kevesebb munka és táptalaj-felhasználás mellett.

A hőpusztulási görbék alapján megállapítottuk, hogy a *Campylobacter jejuni* z értéke (az egy nagyságrendnyi tizedelőési idő csökkenéshez szükséges hőmérsékletnövekedés) nagyobb, mint a vegetatív mikrobák 5 °C körüli szokásos z értéke (Adams – Moss, 1995). *Campylobacter jejuni* esetében ez az érték 11,6 °C, ilyen nagy z érték a baktérium spórákra jellemző. Ugyanakkor a *Campylobacter jejuni* hőtűrése (adott hőmérsékleten mért tizedelőési ideje) nem tér el a vegetatív mikrobák esetében megszokott értékektől.

Mindezek alapján a *Campylobacter jejuni* a vizsgált 55-65 °C-os hőmérséklet tartományban a vegetatív baktériumoknál nem hőtűrőbb, de kevésbé érzékeny a hőmérséklet változására.

E tény ismerete *Campylobacter jejuni*t tartalmazó élelmiszerek hőkezelésének méretezésénél fontos lehet.

7.3. A vízaktivitás hatása a *Campylobacter jejuni* túlélésére

Kísérleteink során vizsgáltuk a különböző anyagokkal beállított vízaktivitási értékek mellett a *Campylobacter jejuni* élősejtszámának változását a kezdeti élősejtszámhoz képest, és a különbségből következtettünk a mikrobapusztulás mértékére. A mintákat minden esetben 42 °C-on (a *Campylobacter jejuni* hőoptimumán) inkubáltuk, a minták sejtszámát redox-potenciál mérés alapján határoztuk meg a 0., 15., 30. és 45. percben.

A műszeres méréssel meghatározott lgN értékekből számított élősejt-koncentráció változásokat a 31. táblázatban foglaltuk össze. A lgN₀ a beállított vízaktivitású oldatba tett és elkeveredés után azonnal kivett minta élősejtszámának logaritmusát jelenti, ΔlgN a kezdeti és a végső (45 perc után mért) értékek különbsége.

31. táblázat *Campylobacter jejuni* élősejt-koncentrációjának változása a vízaktivitás függvényében (45 perces kezelés 42 °C-on)

a _w	glicerin		glükóz		konyhasó	
	lgN ₀	ΔlgN	lgN ₀	ΔlgN	lgN ₀	ΔlgN
0,995	7,5	0	7,5	0	7,5	0
0,985	7,5	0	7,5	0	7,5	0
0,976	7,5	0	7,5	0	7,5	-1,5
0,946	2,5	0	6	-3,8	0	-
0,920	1,5	-1,5	4,2	-3,4	-	-
0,874	0	-	-	-	-	-

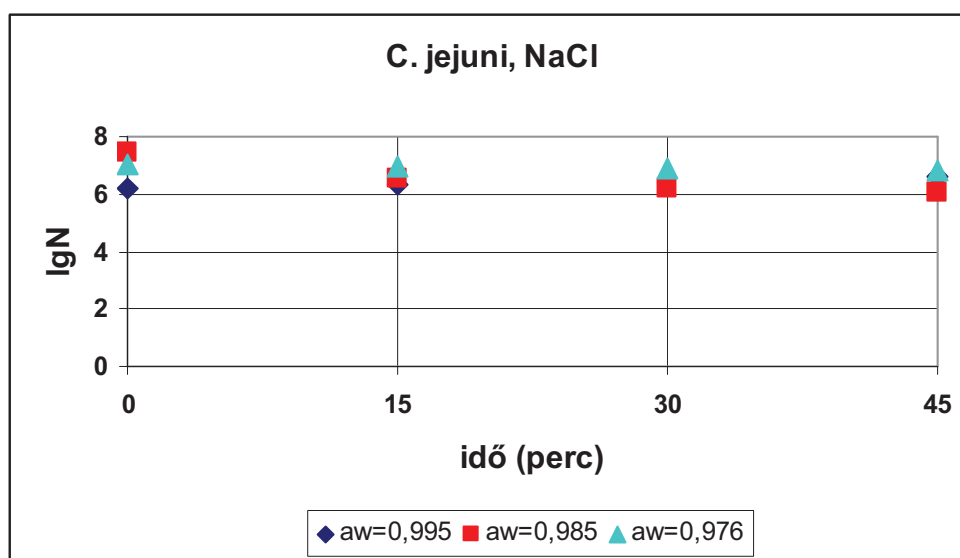
0,995, 0,985, és 0,976 vízáktívításokon 45 perc elteltével nem változott szignifikáns mértékben az élősejtszám. Ennek alapján azt mondhatjuk, hogy 0,976 vízáktívítási értéken még képes életben maradni a baktérium.

Mindhárom beállító anyagnál 0,946 és 0,920 vízáktívítású közegben az élősejtszám már a beoltás pillanatában jelentősen csökkent.

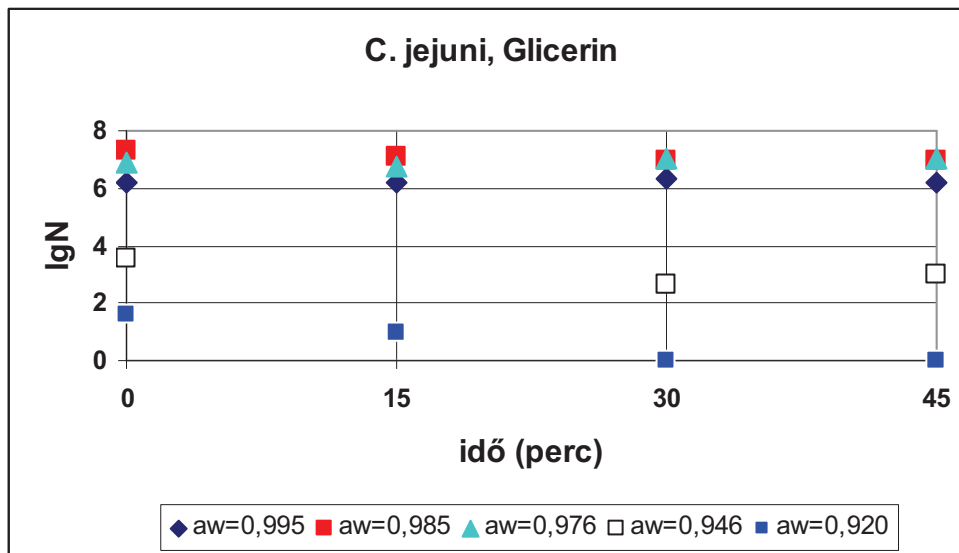
A csökkenés mértéke NaCl esetében a legnagyobb, gyakorlatilag a sejtek elpusztulnak (14. ábra).

Glicerinben a kezdeti gyors csökkenést lassabb változás követi (15. ábra). A jelenségre magyarázatul szolgálhat, hogy a glicerín a sejtmembránon keresztül akadálytalanul bejut a citoplazmába, ami gyors ozmotikus kiegyenlítéshez vezet.

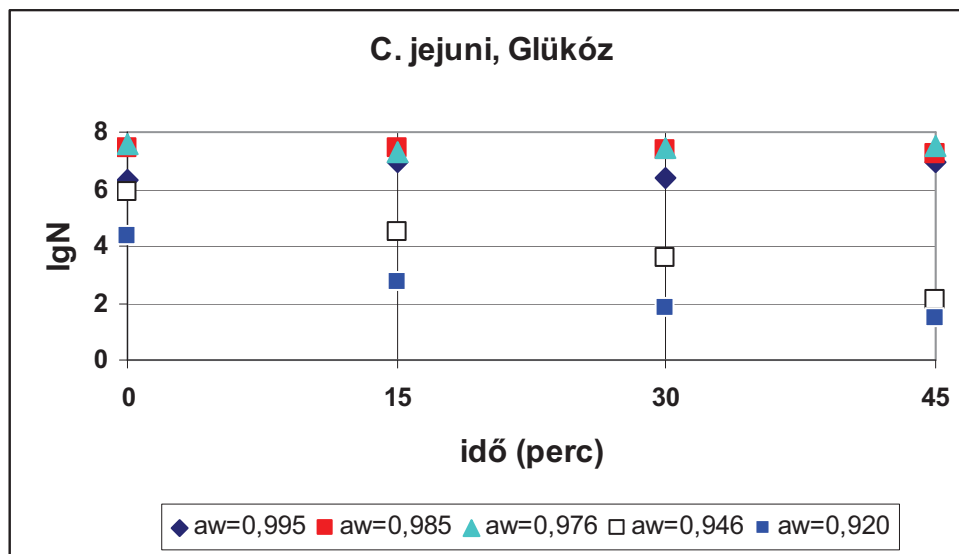
Glükóz hatására a beoltás pillanatában nem volt jelentős mértékű mikrobapusztulás, azonban az élősejtszám folyamatosan csökkent és a 45. percben megegyezett a glicerínben mért értékekkel (16. ábra).



14. ábra NaCl-dal beállított vízáktívítás hatása *C. jejuni* túlélésére az inkubálási idő függvényében



15. ábra Glicerinnel beállított vízaktivitás hatása *C. jejuni* túlélésére az inkubálási idő függvényében



16. ábra Glükózzal beállított vízaktivitás hatása *C. jejuni* túlélésére az inkubálási idő függvényében

Az $aw=0,876$ értéknél a mikroba glicerín és glükóz hatására is 15 percen belül elpusztult, a mikroba ozmosokra érzékeny.

Mindezek alapján a *Campylobacter jejuni* a vízaktivításra érzékenynek tekinthető, a vízaktivitás csökkenését, a beszáradást, a sózást, cukrozást nem bírja. E tény ismerete a *Campylobacter jejuni*t tartalmazó élelmiszerek vízaktivitás-csökkentésen alapuló tartósítási eljárásaiban fontos lehet.

7.4. A pH hatása a *Campylobacter jejuni* túlélésére

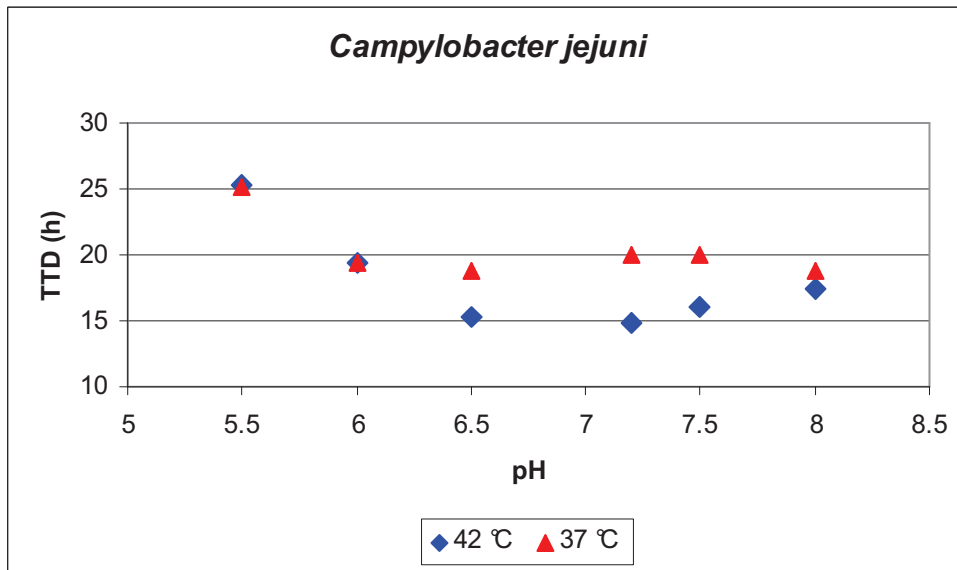
Kísérleteink során megállapítottuk, hogy a *Campylobacter jejuni* 5,5 és 8,0 pH értékek között képes szaporodni. A mikroba pH optimuma 7,2 körüli érték. Az optimumnál nagyobb, illetve kisebb pH értékeknél az azonos kezdeti sejtszám kimutatásához szükséges TTD érték nő, vagyis a mikroba szaporodási sebessége csökken.

Bár a mikroba pH=5,5 alatt és pH=8,0 felett nem szaporodott, de legalább 48 órán át képes volt túlélni az 5,0 és 8,5 pH közötti tartományt, majd optimális körülmények közé kerülve szaporodásnak indult. Az 5,0 pH érték alatti, illetve a 8,5 pH érték feletti tartományban a mikroba a vizsgálat ideje (48 óra) alatt elpusztult.

A *Campylobacter jejuni* az általunk vizsgált csökkentett vízaktivitás értékeken (0,985-0,965 között) nem mutatott szaporodást, azonban túlélte a csökkentett vízaktivitás hatását. Kivételt képez a NaCl-dal beállított aw=0,965 érték, amelynél a mikroba a vizsgálat ideje (48 óra) alatt elpusztult.

Mivel a baktérium csökkentett vízaktivitás mellett még optimális hőmérsékleten és pH-n sem szaporodott, ezért csak a hőmérséklet és a pH együttes hatását tudtuk vizsgálni, ezt is csak két hőmérsékleten (37 °C-on és 42 °C-on).

Megállapítottuk, hogy szuboptimális hőmérsékleten az optimális pH körüli értékhez közel (6,5-7,5) a mikroba gyakorlatilag érzéketlen a pH változására. Az optimumtól távolodva a pH érzékenység nő és a hőmérséklet hatása válik elhanyagolhatóvá. Az eredményeket a 17. ábra szemlélteti.



17. ábra *Campylobacter jejuni* TTD értékének változása a hőmérséklet és a pH függvényében

8. Új tudományos eredmények

1. A telepi és vágóhídi mintavételek eredményei megerősítik azokat az adatokat, melyek szerint egy állomány fertőződése után szinte minden egyed a baktérium hordozójává válik, amelyik nem, az a vágóhídon nagy valószínűséggel megfertőződik. A telepi mintavételek során sikerült *Campylobacter* izolálni a baromfitartás környezetéből is.
2. A kísérletek során szezonális eltérést tapasztaltunk a broilerek nyári és téli *Campylobacter*-fertőzöttségi szintje között, valamint megállapítást nyert, hogy az állatok 4 hetes kor körül fertőződnek. Az ilyen típusú kor-függés okait jelenleg még nem ismerjük, azonban fontos szerepe lehet a megelőzésben.

3. A *Campylobacter jejuni* környezeti tényezőkkel szembeni ellenálló-képességének vizsgálatai során egy új, eddig nem használt gyors mikrobiológiai módszert, a redox-potenciál mérésen alapuló sejtszám meghatározás pusztuláskinetikai vizsgálatokra való alkalmasságát vizsgáltuk. Az eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy a gyors módszerrel történő mikrobaszám meghatározás alkalmas hőpusztulási kísérletek kiértékelésére. A két módszer alapján meghatározott tizedelődségi idők között nincs szignifikáns különbség, ezért az eredmények közös hőpusztulási görbében ábrázolhatók.

A meghatározás időigényét tekintve a műszeres mérés jelentősen gyorsabb, a hagyományos módszer 72 órás időigényével szemben csak 25-30 óra, lényegesen kevesebb munka és táptalaj-felhasználás mellett.

4. A hőpusztulási görbék alapján megállapítottuk, hogy a *Campylobacter jejuni* z értéke (az egy nagyságrendnyi tizedelődségi idő csökkenéshez szükséges hőmérsékletnövekedés) nagyobb, mint a vegetatív mikrobák szokásos z értéke, amely átlagosan 5 °C. *Campylobacter jejuni* esetében ez az érték 11,6 °C, ilyen nagy z érték a baktérium spórákra jellemző. Ugyanakkor a *Campylobacter jejuni* hőtűrése (a meghatározott hőmérsékleten mért tizedelődségi idők) nem tér el a vegetatív mikrobák esetében megszokott értékektől.

Mindezek alapján a *Campylobacter jejuni* a vizsgált 55-65 °C-os hőmérséklet tartományban az egyéb nem spórás baktériumoknál nem hőtűrőbb, de kevésbé érzékeny a hőmérséklet változására. E tény ismerete *Campylobacter jejuni*t tartalmazó élelmiszerek hőkezelésének méretezésénél fontos lehet.

5. A további kísérlet során vizsgáltuk a különböző anyagokkal beállított vízaktivitás hatását a *Campylobacter jejuni* szaporodására és túlélésére. A vízaktivitás beállításához használt különböző vegyületeket (glicerin, glükóz és konyhasó) használtunk. Glicerinnel a kis vízaktivitás hatását vizsgáltuk. Glükóz, illetve konyhasó alkalmazásával a cukrozással, illetve sózással tartósított élelmiszerekben uralkodó körülményeket modelleztük.

Megállapítottuk, hogy a mikroba 0,995-ös vízaktivitás érték alatt nem szaporodik, de 0,876 a_w érték felett nem pusztul el és optimális körülmények közé kerülve szaporodásnak indulhat. Ha az $a_w \leq 0,876$, a mikroba elpusztul.

A *Campylobacter jejuni* túlélési esélyei jelentősen csökkennek cukrozás, illetve sózás alkalmazásakor. Előbbi esetben $a_w \leq 0,946$, utóbbi esetben $a_w \leq 0,965$ értéknél a mikroba 48 órán belül elpusztul.

6. A pH *Campylobacter jejuni* túlélésére gyakorolt hatását vizsgáló kísérletek eredményei azt mutatják, hogy a mikroba viszonylag szűk pH tartományban (5,5-8) képes szaporodni, azonban az ennél kisebb, illetve nagyobb pH értékű élelmiszerekben (5,0-8,5) is túlélhet és optimális körülmények közé kerülve szaporodásnak indulhat. Kifejezetten savas ($\text{pH} \leq 4,5$) és lúgos ($\text{pH} \geq 9,0$) közegben a *Campylobacter jejuni* 48 órán belül elpusztul, így ezekben *Campylobacter* fertőzéstől nem kell tartani.

9. Irodalom

Adams, M.R., Hope, C.F.A (Szerk.): **Rapid Methods in Food Microbiology**. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo. 1-100., 1989.

Adams, M.R., Moss, M.O.: **Food microbiology**. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, 18-37, 56-66., 1995.

Altekruse, S.F., Stern, N.J., Fields, P.I., Swerdlow, D.L.: **Campylobacter jejuni - An emerging foodborne pathogen**. Emerging Infectious Diseases, 5: 28-35., 1999.

Atanassova, V., Ring, C.: **Prevalence of Campylobacter spp. in poultry and poultry meat in Germany**. Int J Food Microbiol. 51, 187-190., 1999.

Bigelow, W. D.: **The logarithmic nature of thermal death time curves**. J. Infect. Diseases 29:528-536., 1921.

Biró G. (Szerk.): **Élelmiszer-higiénia**. 77-78., 107., 298. Agroinform Kiadó, 1993/1999.

Black, R.E.J., Levine, M.D.M., Clements, L., Huges, T.P., Blaser, M.P.: **Experimental Campylobacter jejuni infection in humans**. Journal of Infectious Diseases, 157:472-479, 1988.

Bryan, F.L., Doyle, M.P.: **Health Risks and Consequences of Salmonella and Campylobacter jejuni in Raw poultry**. Journal of Food Protection, 58: 326-344., 1994.

Cappelier JM., Minet J., Magras C., Colwell R. R., Federighi M.: **Recovery in Embryonated Eggs of Viable but Nonculturable Campylobacter jejuni Cells and Maintenance of Ability To Adhere to HeLa Cells after Resuscitation**. Applied and Environment Microbiology, 5154-5157, 1999.

Carrillo, Loc C., Atterbury, R.J., el-Shibiny, A., Connerton, P.L., Dillon, E., Scott, A., Connerton, I.F.: **Bacteriophage therapy to reduce Campylobacter jejuni colonization of broiler chickens**. Appl. Environ. Microbiol. 71:6554-6563., 2005.

Chick, H.: **An investigation of the laws of disinfection**. Jour. Hyg., 8, 92., 1908.

Chick, H.: **The process of disinfection by chemical agencies and hot water**. Jour. Hyg., 10, 237., 1910.

Cools, I., Uyttendaele, M., Caro, C.D., Haese, E., Nelis, H.J., Debevere, J.: **Survival of Campylobacter jejuni strains of different origin in drinking water.** Journal of Applied Microbiology, 886-892., 2003.

Dabrowski, J.: **Wpływ NaCl na przeżywalność Campylobacter jejuni w temperaturze - 20°C. [Effect of NaCl on the survival of Campylobacter jejuni at a temperature of 20 degrees Centigrade].** Rocznik Państwowej Szkoły Higieny. 38(4-5), 436-9. 1987.

Deák T. (Szerk): **Élelmiszer-mikrobiológia.** Mezőgazda Kiadó. 29-32, 317-327., 2006.

De Cesare, A., Sheldon, B.W., Smith, K.S., Jaykus, L.A.: **Survival and persistence of Campylobacter and Salmonella species under various organic loads on food contact surfaces.** Journal of Food Protection. 1587-1594., 2003.

Devine, R.: **Meat consumption trends in the world and the European Union.** Prod Anim. 16, 325-327., 2003.

Directive 2003/99/EC of the European Parliament and of the Council on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents, amending Council Decision 90/424/EEC and repealing Council Directive 92/117/EEC. Official Journal L 325, 31-40., 2003.

Epinfo. Johan Béla Országos Epidemiológiai Központ online heti kiadványa. (<http://www.oek.hu/oek.web?to=839&nid=41&pid=1&lang=hun>), 1999-2009.

Evans, S.J., Sayers, A.R.: **A longitudinal study of campylobacter infection of broiler flocks in Great Britain.** Prev Vet Med. 46, 209-223., 2000.

Gibbens, J.C., Pascoe, S.J., Evans, S.J., Davies, R.H., Sayers, A.R.: **A trial of biosecurity as a means to control Campylobacter infection of broiler chickens.** Prev Vet Med. 48, 85-99., 2001.

Havelaar, A.H., de Wit, M.A.S., Koningsveld, R., van Kempen, R.: **Health burden in the Netherlands due to infection with thermophilic Campylobacter spp.** Epidemiology and Infection, 125: 505-522, 2000.

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T.: **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology,** 9th Edition, Lipcott William and Wilkins, 41-60., 2000.

ISO/TS 10272-2:2006: **Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for detection and enumeration of Campylobacter spp. – Part 2: Colony-count technique.**, 2006.

Jeffrey, J.S., Tonooka, K.H., Lozanot, J.: **Prevalence of campylobacter spp. from skin, crop, and intestine of commercial broiler chicken carcasses at processing.** *Poult Sci.* 80, 1390-1392., 2001.

Jozwiak Á., Reichart O., Szakmár K.: **Redox potential measurement as a rapid method for heat destruction experiments of Campylobacter jejuni.** *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica.* 52. Supp. 62-63., 2005.

Kroll, R.G., Anagnostopoulos, G.D.: **Effect of sucrose and glycerol on the phenol concentration coefficient.** *in:* Gould, G.W., Corry, J.E.L. (Szerk.): *Microbial growth and survival in extremes of environment.* Academic Press, London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco. 149-157., 1980.

Lake, R., Hudson, A., Cressey, P., Nortje, G.: **Risk profile: Campylobacter jejuni/coli in poultry (whole and pieces).** Institute of Environmental Science and Research Ltd., Christchurch (<http://nzfsa.govt.nz/science-technology/risk-profiles/index.htm>)., 2003.

Lake, R.: **Transmission routes for campylobacteriosis in New Zealand.** (www.nzfsa.govt.nz/science/research), 2006.

Linneberg, A., Ostergaard, C., Tvede, M., Andersen, L.P., Nielsen, N.H., Madsen, F., Frølund, L., Dirksen, A., Jørgensen T.: **IgG antibodies against microorganisms and atopic disease in Danish adults: the Copenhagen Allergy Study.** *J Allergy Clin Immunol.* 111(4), 847-53., 2003.

Lori, S., Buckow, R., Knorr, D., Heinz, V., Lehmacher, A.: **Predictive model for inactivation of Campylobacter spp. by heat and high hydrostatic pressure.** *J Food Prot.* 70(9), 2023-9., 2007.

Marjai E., Kováts Z., Kajáry I., Horváth Z.: **Campylobacter jejuni contamination of slaughtered chickens.** *Acta Microbiologica Academiae Scientiarum Hungaricae.* 29, 213-215., 1982.

Martin, S.B., Selby, M.J.: **Evaluation of a rapid method for the quantitative estimation of coliforms in meat by impedimetric procedures.** *Applied and Environmental Microbiology.* 39, 518-524., 1980.

Mitchell, P.: **Performance and conservation of osmotic work by proton-coupled solute porter systems.** *Journal of Bioenergetics.* 4, 63-91., 1973.

Miwa, N., Takegahara, Y., Terai, K., Kato, H., Takeuchi, T.: **Campylobacter jejuni contamination on broiler carcasses of C. jejuni-negative flocks during processing in a Japanese slaughterhouse.** Int J Food Microbiol. 84, 105-109., 2003.

Moore, J.E., Wilson, T.S., Wareing, D.R.A., Murphy, P.G.: **Occurrence and characterisation of thermophilic Campylobacter spp. in a poultry processing plant in Northern Ireland.** Irish Vet J. 56, 95-98., 2003

MSZ 3640/24-1989: **Húсок és hús alapú élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata: A Campylobacter jejuni kimutatása.**, 1989.

MSZ EN ISO 10272-1:2006: **Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. Horizontális módszer a Campylobacter spp. kimutatására és számlálására. 1. rész: Kimutatási módszer (ISO 10272-1:2006).**, 2006.

Nachamkin, I., Blaser, M.J.: **Campylobacter** (2nd edition). ASM Press, American Society for Microbiology, Washington, USA. 470-498., 2000.

Neal, K.R., Slack, R.C.B.: **Diabetes mellitus, anti-secretory drugs and other risk factors for campylobacter gastro-enteritis in adults: a case-control study.** Epidemiol. Infect., 119:307-311., 1997.

New Zealand Food Safety Authority (NZFSA): **Pathogen Data Sheets - Campylobacter** (<http://www.nzfsa.govt.nz/science/data-sheets/campylobacter.pdf>), 2001.

Padan, E., Zilberstein, D., Schuldiner, S.: **pH homeostasis in bacteria.** Biochimica et Biophysica Acta. 650, 151-166., 1981.

Patrick, M.E., Christiansen, L.E., Waino, M., Ethelberg, S., Madsen, H., Wegener, H.C.: **Effects of climate on incidence of Campylobacter spp. in humans and prevalence in broiler flocks in Denmark.** App Environ Microbiol. 70, 7474-7480., 2004.

Pearson, A.D., Greenwood, M.H., Feltham, R.K., Healing, T.D., Donaldson, J., Jones, D.M., Colwell, R.R.: **Microbial ecology of Campylobacter jejuni in a United Kingdom chicken supply chain: intermittent common source, vertical transmission, and amplification by flock propagation.** Appl Environ Microbiol. 62, 4614-4620., 1996.

Rees, J.H., Soudain, S.E., Gregson, N.A., Hughes, R.A.C.: **Campylobacter jejuni infection and Guillan-Barré syndrome.** New England Journal of Medicine, 333: 1374-1379, 1995.

Reichart O., Szakmár K., Felföldi J., Baranyai L., Jozwiak Á.: **Szabadalom: Eljárás mikroorganizmusok szilárd, folyékony, légnemű anyagokban való jelenlétének kimutatására és számszerű meghatározására.** Közzététel: 2006. december 28.

Reichart O., Szakmár K., Jozwiak Á.: **Redox-potenciál mérésen alapuló mikrobiológiai gyorsmódszer alkalmazása telepi nyerstejellenőrzés során.** SZIE ÁOTK. Akadémiai Beszámolók, 2006.

Reichart O., Szakmár K., Jozwiak Á., Felföldi J., Baranyai L.: **Redox potential measurement as a rapid method for microbiological testing and its validation for coliform determination.** International Journal of Food Microbiology, volume 114, issue 2, 143-148., 2007.

Rollins, D.M., Colwell, R.R.: **Viable but nonculturable stage of Campylobacter jejuni and its role in survival in the natural aquatic environment.** Applied and Environment Microbiology, 52 :531-538, 1986.

Sacks, J.J., Lieb, S., Baldy, L.M., Berta, S., Patton, C.M., White, M.C., Bigler, W.J., Witte, J.J.: **Epidemic campylobacteriosis associated with a community water supply.** American Journal of Public Health, 76:424-429., 1986.

Saha, S.K., Saha, S., Sanyal, S.C.: **Recovery of injured Campylobacter jejuni cells after animal passage.** Applied and Environment Microbiology, 57: 3388-3389., 1991.

Sahin, O., Luo, N.D., Huang, S.X., Zhang, Q.J.: **Effect of Campylobacter-specific maternal antibodies on Campylobacter jejuni colonization in young chickens.** Appl Environ Microbiol. 69, 5372-5379., 2003.

Sebald, M., Veron, M.: **Teneur en bases de l'ADN et classification des vibrions.** Ann Inst Pasteur (Paris). 105, 897–910., 1963.

Stafford, R., Tenkate, T., McBall, B.: **A five year review of Campylobacter infection in Queensland.** Communicable Diseases Intelligence, 20: 478-482, 1996.

Stumbo, C.R.: **A technique for studying resistance of bacterial spores to temperature in the high range.** Food Technology, 2, 228-40, 1948.

Szakmár K., Reichart O., Jozwiak Á.: **Microbiological inspection of mineral water by redoxpotential measurement.** Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica. 52. Supp. 149-150., 2005.

Szakmár K., Reichart O., Jozwiak Á.: **Microbiological quality control of food industrial samples by redoxpotential measurement.** Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica.. 52. Supp. 342., 2006

Szakmár K., Reichart O., Erdősi O., Fekete Z.: **Redoxpotenciál-mérésen alapuló gyorsmódszer nyers tej mikrobaszámának meghatározására.** Magyar Állatorvosok Lapja. 131. 365-372., 2009.

Tam, C.C.: **Campylobacter reporting at its peak year of 1998: don't count your chickens yet.** Communicable Disease and Public Health, 4 (3): 194-199, 2001.

Tauxe, R.V.: **Incidence, trends and sources of campylobacteriosis in developed countries: an overview.** In: *The increasing incidence of human campylobacteriosis.* Report and proceedings of a WHO consultation of experts. 21-25 Nov 2000, Copenhagen, Denmark. WHO/CDS/CSPUAPH 2001.7. Geneva,; World Health Organization; p. 42-3., 2001.

Teunis, P.F.M., Nagelkerke, N.J.D., Haas, C.N.: **Dose response models for infectious gastroenteritis.** Risk analysis, 19. 1251-1260, 1999.

Tuboly Sándor (Szerk.): **Állatorvosi járványtan I. (Állatorvosi mikrobiológia),** Mezőgazda Kiadó, 185-188., 1998.

Uradziński J.: **Przeżywalność Campylobacter jejuni w wyciągu mózgowo-sercowym o różnym pH. [Survival of Campylobacter jejuni in brain and heart extracts of different pH].** Rocz Panstw Zakł Hig. 39(4), 319-24., 1988a.

Uradziński J.: **Wpływ aktywności wodnej na wzrost Campylobacter jejuni w wyciągu mózgowo-sercowym.** [Effect of water activity on the growth of Campylobacter jejuni in brain-heart infusion]. Rocz Panstw Zakł Hig. 39(2), 139-44., 1988b.

U.S. Food & Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition: **Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook (Bad Bug Book) – Campylobacter.**, 2005

Varga J, Fodor L, Bitay Z.: **Biochemical and serological characteristics of Campylobacter jejuni strains isolated from chickens.** Acta Vet Hung. 34(1-2), 49-53., 1986.

Varga J.: **Occurrence and significance of different Campylobacter types in domestic animals in Hungary.** Dtsch Tierarztl Wochenschr. 97(8), 317-21., 1990.

Varga J: **Campylobacter-fajok okozta fertőzések háziállatokban és emberben.** Magyar Állatorvosok Lapja. 123, 687-694., 2001.

Varga J, Tuboly S, Mészáros J: **Háziállatok fertőző betegségei (Állatorvosi járványtan II),** Mezőgazda Kiadó, 218., 221-222., 1999.

Wallace, R.B.: **Campylobacter.** In: *Foodborne microorganisms of public health significance.* Sixth Edition. Australian Institute of Food Science and Technology, Waterloo NSW Australia, 2003.

Water activities of selected solutions and foods. (<http://food.oregonstate.edu/water/aw.htm>) 2009.

Wedderkopp, A., Nielsen, E.M., Pedersen, K.: **Distribution of Campylobacter jejuni Penner serotypes in broiler flocks 1998-2000 in a small Danish community with special reference to serotype 4-complex.** Epidemiol Infect. 131, 915-921., 2003.

Whyte, P., McGill, K., Cowley, D., Madden, R.H., Moran, L., Scates, P., Carroll, C., O'Leary, A., Fanning, S., Collins, J.D., McNamara, E., Moore, J.E., Cormican, M.: **Occurrence of Campylobacter in retail foods in Ireland.** Int J Food Microbiol. 95, 111-118., 2004.

World Health Organization: **Facts Sheet No255.**, 2000.

World Health Organization: **The increasing incidence of human campylobacteriosis.** Report and proceedings of a WHO consultation of experts. Copenhagen, Denmark 21-25, 2000.

Zoonosis-jelentés, Európai Unió, 2007: **The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007.** The EFSA Journal, 223., 2009.

Zoonosis-jelentés, Magyarország, 2007: **The Report referred to in Article 9 of Directive 2003/ 99/ EC on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in humans, foodstuffs, animals and feedingstuffs** including information on foodborne outbreaks, antimicrobial resistance in zoonotic agents and some pathogenic microbiological agents in 2007, Hungary., 2007.

10. A doktori kutatás eredményeinek közlései

Jozwiak Á., Reichart O., Laczay P.: **The occurrence of Campylobacter species in Hungarian broiler chickens from farm to slaughter.** J. Vet. Med. B 53, 291–294., 2006. (IF: 1,356)

Jozwiak Á., Reichart O., Szakmár K.: **Redoxpotenciál-méréseken alapuló gyorsmódszer Campylobacter jejuni hőpusztulásának vizsgálatára.** Magyar Állatorvosok Lapja 132, 47-53., 2010. (IF: 0,088)

Reichart O., Szakmár K., Jozwiak Á., Felföldi J., Baranyai L.: **Redox potential measurement as a rapid method for microbiological testing and its validation for coliform determination.** International Journal of Food Microbiology, volume 114, issue 2, 143-148., 2007. (IF: 2,581)

Szabadalom:

Reichart O., Szakmár K., Felföldi J., Baranyai L., Jozwiak Á.: **Szabadalom: Eljárás mikroorganizmusok szilárd, folyékony, légnemű anyagokban való jelenlétének kimutatására és számszerű meghatározására.** Közzététel: 2006. december 28.

Egyéb közlemények:

Jozwiak Á., Reichart O., Szakmár K.: **Redox potential measurement as a rapid method for heat destruction experiments of Campylobacter jejuni.** Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica. 52. Supp. 62-63., 2005.

Szakmár K., Reichart O., Jozwiak Á.: **Microbiological inspection of mineral water by redoxpotential measurement.** Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica. 52. Supp. 149-150., 2005.

Szakmár K., Reichart O., Jozwiak Á.: **Microbiological quality control of food industrial samples by redoxpotential measurement.** Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica.. 52. Supp. 342., 2006.

Előadások:

Jozwiak Á, Reichart O: **A Campylobacter fajok növekvő jelentősége a humán enterális megbetegedések terén.** Akadémiai Beszámolók SZIE ÁOTK, 2003

Jozwiak Á, Reichart O: **Baromfihúsból izolált Campylobacter jejuni hőpusztulásának vizsgálata.** Akadémiai Beszámolók SZIE ÁOTK, 2005

Jozwiak Á, Reichart O, Szakmár K: **Ásványvíz mikrobiológiai vizsgálata redox-potenciál mérésen alapuló gyorsmódszer segítségével.** Akadémiai Beszámolók SZIE ÁOTK, 2006

Jozwiak Á, Reichart O, Szakmár K: **Redox-potenciál mérésen alapuló mikrobiológiai gyorsmódszer, mint hatékony eszköz a Campylobacter jejuni hőpusztulási kísérleteiben.** Akadémiai Beszámolók SZIE ÁOTK, 2006

Jozwiak Á, Süth M, Reichart O, Laczay P: **A Campylobacter és Salmonella fajok, valamint a Listeria monocytogenes előfordulása és terjedése broiler állományokban.** Akadémiai Beszámolók SZIE ÁOTK, 2004

Reichart O, Szakmár K, Jozwiak Á: **Redox-potenciál mérésen alapuló mikrobiológiai gyorsmódszer alkalmazása telepi nyerstejellenőrzés során.** Akadémiai Beszámolók SZIE ÁOTK, 2006

11. Mellékletek

1. Melléklet

Campylobacter a friss broiler húsból¹ vágásból, folyamatban lévő feldolgozásból és kiskereskedelmi eladásból származó mintán, 2003-2007.

Ország	Minta-egység	Minta mérete	2007		2006		2005		2004		2003	
			mintaszám	Pozitív (%)	mintaszám	Pozitív (%)	mintaszám	Pozitív (%)	mintaszám	Pozitív (%)	mintaszám	Pozitív (%)
Vágáskor:												
Belgium ²	egy	0,01 g	235	226	315	1,9	270	19,6	197	27,9	142	16,2
Dánia	egy	10g/15g	439	8,2	959	7,9	1,689	12,3	1,603	17,8	-	-
Észtország	tétel	1 g	46	2,2	-	-	235	4,7	27	37	-	-
Franciaország	tétel	10 g	192	86,5	-	-	-	-	-	-	-	-
Magyarország	egy	25 g	232	31,9	-	-	-	-	-	-	-	-
Románia	egy	25 g	778	0	-	-	-	-	-	-	-	-
Spanyolország	egy	25 g	147	55,8	-	-	-	-	-	-	-	-
Svédország	egy	10 g	-	-	-	-	3,062	18,5	2,981	19,8	144	21,1
Feldolgozás során:												
Belgium	egy	0,01 g	257	9,3	326	12,3	249	22,9	131	26	-	-
Írország	egy	változó	112	63,4	150	45,3	854	51,4	2,62	54,7	-	-
Lettország	egy	25 g	250	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-
Németország	egy	25 g	35	40	-	-	-	-	-	-	-	-
Norvégia	egy	25 g	305	9,5	-	-	-	-	-	-	-	-
Spanyolország	egy	25 g	168	29	-	-	-	-	-	-	-	-
Szlovénia	egy	20 cm ²	295	56,9	336	39,9	73	35,6	-	-	-	-
Kiskereskedelemben:												
Ausztria ³	egy	25 g	219	62,6	268	21,6	162	9,3	412	57,2	231	47,2
Belgium ⁴	egy	0,01 g	415	11,1	112	24,1	154	12,3	77	35,1	99	20,2
Dánia	egy	változó	695	37,6	605	12,4	983	21,2	584	23,5	407	32,9
Egyesült Királyság ⁸	egy	25 g	-	-	1,714	66,3	1,791	66,4	1,533	62,2	734	73
Észtország	egy	25 g	-	-	50	6	32	21,9	-	-	-	-
Hollandia	egy	25 g	1,407	10,9	1,302	14,2	1,605	23,5	1,477	29,3	1,51	26

Ország	Minta-egység	Minta mérete	2007		2006		2005		2004		2003	
			mintaszám	Pozitív (%)	mintaszám	Pozitív (%)	mintaszám	Pozitív (%)	mintaszám	Pozitív (%)	mintaszám	Pozitív (%)
Lettország	tétel	1 g	46	4,3	-	-	-	-	-	-	-	-
Luxemburg	egy	10 g	182	37,9	44	27,3	42	61,9	-	-	-	-
Németország ⁵	egy	10 g	574	40,9	1,121	39	1,254	43,9	2,684	43	1,396	19,6
Olaszország ⁶	egy	25 g	323	11,8	424	19,8	226	14,6	570	24,4	-	-
Spanyolország	egy	25 g	208	30,8	-	-	-	-	-	-	-	-
Svédország	egy	10 g	-	-	-	-	32	3,1	27	55,6	425	13,2
Szlovénia	egy	25 g	343	67,1	100	59	-	-	95	40	-	-
Összesen (17 tagállam)			7,598	26	7,826	30,4	12,713	29,8	15,018	36,9	5,088	30,9
Svájc ⁷	egy	25 g	287	52,9	-	-	-	-	-	-	-	-
Norvégia	egy	10 g	-	-	958	8,5	938	6	1,067	5,1	1,093	5

Megjegyzés: Az adatok csak ≥ 25 mintaszám esetén kerültek bemutatásra.

1. Csak a frissként meghatározott adatokat tartalmazza. Húskészítmények, mechanikusan szétválasztott húsról, darált húsról, előkészített és gyorsfagyasztott húsról nem vonatkozik.

2. Belgiumban 2003-ban: vágóhídon vagy feldolgozás közben.

3. Ausztriában: kiskereskedelemben és feldolgozás során, hűtve (162 teszt, 73,5% pozitív) és fagyasztva (57 teszt, 31,6% pozitív)

4. Belgiumban a vágott testfelek is beleszámítva.

5. Németországban a 2004, 2005. és 2006-os mintavételeknél a pozíció nem volt meghatározva.

6. Olaszországban a 2004, 2005. és 2006-os mintavételeknél a pozíció nem volt meghatározva.

7. Svájcban a 278 mintából 202 származik Svájcban (49% pozitív) és 85-öt importáltak (62,3% pozitív).

8. Az Egyesült Királyságban 2006-ban 860 mintát teszteltek kiskereskedelmi forgalomban, 63 %-os pozitív eredménnyel és 854 esetben a mintavételeknél a pozíció nem volt meghatározva (69,7% pozitív). 2005-ben a mintavételeknél a pozíció nem volt meghatározva.

2. Melléklet

Campylobacter friss¹, nem broiler baromfihúsban levágáskor, feldolgozás során és kiskereskedelemben, 2007

Ország	Minta pozíciója	Minta egysége	Minta mérete	Minta-szám	Pozitív (%)
Pulyka					
Ausztria	Kiskereskedelem	egy	25 g	92	28,3
Belgium	Vágáskor	egy	0,01 g	50	24
Németország	Feldolgozás alatt	egy	25 g	27	22,2
	Kiskereskedelem	egy	25 g	345	17,7
Magyarország	Vágáskor	egy	25 g	166	18,1
Olaszország	nem meghatározott	egy	25 g	39	7,7
Hollandia	Kiskereskedelem	egy	25 g	711	15,8
Szlovénia	Vágáskor	egy	20 cm ²	102	34,3
	Kiskereskedelem	egy	25 g	42	33,3
Összesen (7 tagállam)				1,574	19
Norvégia	Feldolgozás alatt	egy	25 g	121	5,8
Egyéb szárnyas					
Belgium	Vágáskor	több	25 g	74	98,6
Németország (kacsa)	Kiskereskedelem	egy	25 g	52	36,5
Magyarország (kacsa)	Vágáskor	egy	25 g	72	9,7
Magyarország (liba)	Vágáskor	egy	25 g	47	4,3
Összesen (egyéb szárnyas) (3 tagállam)				245	41,2
Megjegyzés: Az adatok csak ≥ 25 mintaszám esetén kerültek bemutatásra.					
1. Az adatok csak a friss húsról vonatkoznak. Nem tartalmazza a húskészítményekre, mechanikusan szeparált húsról, darált húsról és előkészített húsról vonatkozó adatokat.					

3. Melléklet

Campylobacter friss sertéshúsban¹ és friss marhahúsban¹, kiskereskedelemben, 2003-2007

Ország	Minta-egység	Minta mérete	2007		2006		2005		2004		2003	
			mintaszám	Pozitív (%)	mintaszám	Pozitív (%)	mintaszám	Pozitív (%)	mintaszám	Pozitív (%)	mintaszám	Pozitív (%)
Friss sertéshús¹												
Ausztria	egy	25 g	109	0,9	93	1,1	89	1,1	-	-	-	-
Hollandia	egy	25 g	269	1,1	397	0,3	389	0	287	1,1	227	0
Németország	egy	25 g	123	0,8	290	0,7	391	0,5	454	2	188	2,7
Spanyolország	egy	25 g	36	0	40	0	107	0	-	-	-	-
Összesen: (4 tagállam)			537	0,9	820	0,5	976	0,3	741	1,7	415	1,2
Friss marhahús¹												
Észtország	egy	25 g	-	-	42	0	-	-	-	-	-	-
Hollandia	egy	25 g	264	0	936	0,4	463	1,1	847	0,8	678	0,2
Luxemburg	egy	10 g	62	0	37	0	-	-	-	-	-	-
Magyarország	egy	25 g	-	-	202	2,5	-	-	-	-	-	-
Németország	egy	25 g	35	0	43	0	47	2,1	-	-	-	-
Olaszország	egy	25 g	334	2,4	241	0,4	394	0,5	196	0	161	0,6
Románia	egy	-	-	-	37	0	-	-	-	-	-	-
Összesen (7 tagállam)			695	1,2	1,538	0,7	904	0,9	1,043	0,6	839	0,3
Megjegyzés: Az adatok csak ≥25 mintaszám esetén kerültek bemutatásra.												
1. Az adatok csak a friss húsról vonatkoznak. Nem tartalmazza a húskészítményekre, mechanikusan szeparált húsról, darált húsról és előkészített húsról vonatkozó adatokat.												

4. Melléklet

Campylobacter húskészítményekben, 2007

Ország	Leírás	Minta-egység	Minta mérete	Minta-szám	Pozitív (%)
KÉSZÉTEL					
Broiler:					
Írország	Húskészítmények kiskereskedelemben	egy	25 g	399	0
Pulyka hús					
Írország	Húskészítmények kiskereskedelemben	egy	25 g	75	0
Sertéshús					
Ausztria	Húskészítmények kiskereskedelemben	egy	25 g	32	0
Írország	Húskészítmények kiskereskedelemben	egy	25 g	165	0
	Húskészítmények	egy	25 g	137	5,8
Olaszország	Húskészítmény, nyers fogyasztásra szánva	egy	25 g	36	0
	Darált hús, nyers fogyasztásra szánva	egy	25 g	238	0,4
Összesen (3 tagállam)				608	1,5
Marhahús					
Írország	Húskészítmény kiskereskedelemben	egy	25 g	64	0
Luxemburg	Darált hús, nyers fogyasztásra szánva	egy	10 g	44	0
Olaszország	Darált hús, nyers fogyasztásra szánva	egy	25 g	32	0
Összesen (3 tagállam)				140	0
NEM KÉSZÉTEL (vagy nem meghatározott)					
Broiler:					
Ausztria	Húskészítmény kiskereskedelemben, főzve fogyasztásra szánva	egy	25 g	147	3,4
	Feldolgozás alatt lévő hús, főzve fogyasztásra szánva	tétel	0,01 g	79	8,9
Belgium	Húskészítmény kiskereskedelemben,	egy	0,01 g/ 1g	557	1,1

Ország	Leírás	Minta-egység	Minta mérete	Minta-szám	Pozitív (%)
	főzve fogyasztásra szánva				
	Darált hús, főtt fogyasztásra szánva	egy	1g	161	0
Németország	Húskészítmény kiskereskedelemben, főzve fogyasztásra szánva	egy	25 g	91	22
Spanyolország	Húskészítmény kiskereskedelemben	egy	25 g	355	0,3
Összesen (4 tagállam)				1390	2,8
Norvégia ¹	Darált hús, főtt fogyasztásra szánva	egy	25 g	70	4,3
Pulyka hús					
Németország	Húskészítmény kiskereskedelemben, főzve fogyasztásra szánva	egy	25 g	61	8,2
Sertéshús					
Olaszország	Darált hús, főtt fogyasztásra szánva	egy	25 g	84	9,5
Spanyolország	Feldolgozás alatt lévő hús	egy	25 g	42	0
Összesen (2 tagállam)				126	6,3
Marhahús					
Hollandia	Darált hús, főtt fogyasztásra szánva	egy	25 g	325	0,6
Megjegyzés: Az adatok csak ≥25 mintaszám esetén kerültek bemutatásra.					
1. Norvégia mintái kevert darált broiler- és pulykahúsból származtak.					

5. Melléklet

Campylobacter tehéntejben és tejtermékekben, 2007

Ország	Leírás	Minta-egység	Minta mérete	Minta-szám	Pozitív (%)
Tehéntej					
Ausztria	Nyerstej "farmon"	egy	25 g	101	0
Németország	Nyerstej közvetlen emberi fogyasztásra	egy	25 g	145	0
	Nyerstej "farmon", hőkezelt	egy	25 g	193	0,5
	Nyerstej, gyártáshoz	egy	25 g	243	1,6
Magyarország	Nyers tej	egy	50 ml	31	3,2
Olaszország	Nyerstej	egy	25 g	3,169	0,4
	Nyerstej közvetlen emberi fogyasztásra	több	25 g	31	0
	Nyerstej közvetlen emberi fogyasztásra	egy	25 g	211	0,5
	Nyerstej nyers vagy alacsony fokon hőkezelt termékek gyártásához	egy	25 g	34	0
Összesen (4 tagállam)				4,158	0,48
Tejtermékek					
Belgium	Lágy vagy félig kemény sajtok nyers vagy alacsony fokon hőkezelt tehéntejből, kiskereskedelemben	egy	25 g	46	0
Olaszország	Nyers vagy alacsony fokon hőkezelt tehéntejből készült sajt	egy	25 g	81	0
	Nyers vagy alacsony fokon hőkezelt juhtejből készült sajt	egy	25 g	192	0
	Bivalytejből készült lágy vagy félig kemény sajt	egy	25 g	36	0
Szlovákia	Juhtejből készült sajt	tétel	25 g	69	8,7
Spanyolország	Meghatározatlan tejből készült sajt	egy	25 g	30	0
	Meghatározatlan (nem sajt)	egy	25 g	66	0
Összesen (4 tagállam)				520	1,15

6. Melléklet

Campylobacter broiler csirkékben, 2003-2007

Ország	2007		2006		2005		2004		2003	
	Mintaszám	Pozitív (%)	Mintaszám	Pozitív (%)	Mintaszám	Pozitív (%)	Mintaszám	Pozitív (%)	Mintaszám	Pozitív (%)
Ausztria	80	60	550	52,2	656	61,4	648	64,5	549	58,7
Csehország	246	45,1	189	48,7	92	52,2	-	-	-	-
Dánia	4,527	26,8	4,595	29,9	4,918	29,9	520	27	349	32,4
Észtország	46	0	224	0	-	-	-	-	-	-
Finnország ²	1440	7,1	1,333	5,9	1,32	7,4	1,325	6,2	77	6,5
Finnország ³	98	0	123	0	104	1	-	-	-	-
Franciaország	192	80,2	202	81,7	142	85,2	183	83,1	-	-
Hollandia	-	-	-	-	-	-	6,208	10	-	-
Írország ⁴	-	-	192	0	-	-	-	-	-	-
Lettország	265	37	70	47,1	-	-	-	-	-	-
Lettország ⁴	75	34,7	62	43,5	-	-	-	-	-	-
Litvánia	-	-	1,337	0,3	1,007	0,5	-	-	-	-
Litvánia ⁴	-	-	840	1,2	973	0,2	1,806	0	-	-
Magyarország	-	-	499	10	-	-	-	-	-	-
Németország	111	78,4	365	22,5	766	50,4	273	39,2	-	-
Olaszország	116	82,8	96	37,5	48	45,3	-	-	-	-
Olaszország (Veneto)	-	-	155	83,2	51	86,3	212	91	154	71,4
Spanyolország	89	46,1	98	50	-	-	-	-	-	-
Svédország	2,603	12,6	2,572	13,8	3,067	13,3	3,019	14,2	3,224	17,6
Szlovénia	372	75,3	311	72,3	306	65	-	-	-	-
Összesen (16 tagállam)	10,26	25,2	13,813	21,7	13,45	23,8	14,184	15,1	4,353	25,7
Norvégia	4,268	5,2	4,035	4,2	3,899	3,4	3,842	3,1	3,55	4,9
Norvégia ⁴	4,109	4,4	3,878	3,7	3,652	3,6	3,626	1,7	-	-
Svájc	320	43,4	320	25,9	596	23	-	-	-	-

Megjegyzés: Az adatok csak ≥25 mintaszám esetén kerültek bemutatásra.

1. Minták vágóhídról származnak, ha másképp nem jelölik.
2. Finnországban az adatokat június és október között gyűjtötték.
3. Finnországban az adatokat novembertől májusig gyűjtötték.
4. Farmon.

7. Melléklet

Campylobacter sertésben és sertésállományokban, 2003-2007

Ország	2007		2006		2005		2004		2003	
	Mintaszám	Pozitív (%)	Mintaszám	Pozitív (%)	Mintaszám	Pozitív (%)	Mintaszám	Pozitív (%)	Mintaszám	Pozitív (%)
Sertések (állat alapú adat)										
Egyesült Királyság	-	-	-	-	-	-	-	-	528	69,3
Luxemburg	-	-	64	35,9	-	-	-	-	-	-
Németország ¹	224	29,5	559	19,7	332	24,7	375	24,5	430	22,6
Sertések (állomány alapú adat)										
Ausztria	-	-	-	-	532	48,7	741	57,5	262	53,8
Dánia	261	78,5	295	52,2	185	85,4	191	79,6	259	93,4
Franciaország	192	64,1	204	67,6	-	-	176	70,5	-	-
Írország	-	-	216	0,9	-	-	-	-	-	-
Magyarország	-	-	505	8,1	-	-	-	-	-	-
Olaszország	47	66	199	55,8	84	25	37	67,6	46	52,2
Spanyolország ⁴	230	71,2	195	73,8	-	-	-	-	-	-
Szlovákia ³	148	19,6	39	56,4	53	30,2	-	-	-	-
Összesen (11 tagállam)	1,102	56,1	2,276	32,7	1,186	45,2	1,52	54	1,525	57
<p>Megjegyzés: Az adatok csak ≥25 mintaszám esetén kerültek bemutatásra.</p> <p>1. Németországban 2007-ben állomány alapú adat.</p> <p>2. 2007-ben becslés alapú adat.</p> <p>3. 2007-ben állat alapú adat.</p> <p>4. Vágási alapú adat.</p>										

8. Melléklet

Campylobacter marhában és marhaállományokban, 2003-2007

Ország	Leírás	2007		2006		2005		2004		2003	
		Minta szám	Pozitív (%)	Minta szám	Pozitív (%)	Minta szám	Pozitív (%)	Minta szám	Pozitív (%)	Minta szám	Pozitív (%)
Marha (állat alapú adat)											
Ausztria	Tejelő tehén	569	20,2	823	14,2	1,012	17,9	898	18,6	346	35
	Borjú (1 évnél fiatalabb)	-	-	83	24,1	-	-	-	-	-	-
	Húshasznú állatok	326	34,4	423	28,6	-	-	-	-	-	-
Magyarország	Tejelő tehén	5,011	0	456	6,8	-	-	-	-	-	-
Írország	-	-	-	2,048	0,1	-	-	4,375	0,8	-	-
	Borjú (1 évnél fiatalabb)	1,869	11,1	3,756	6,3	-	-	-	-	-	-
Olaszország	Tejelő tehén	-	-	1,621	0,9	35	2,9	-	-	-	-
	-	-	680	0,6	1,54	3,2	1,444	0,7	-	-	-
Luxemburg	-	166	13,9	183	20	-	-	-	-	-	-
Hollandia	-	3,005	0,7	22,532	0	-	-	-	-	-	-
Egyesült Királyság	-	-	-	-	-	-	-	-	-	667	54,6
Norvégia ¹	-	53	30,1	41	36,6	37	16,2	-	-	-	-
Marha (állomány alapú adat)											
Dánia ²	-	132	70,5	224	44,2	73	42,5	67	64,2	88	63,6
Németország	Marha (összes)	503	10,7	697	9,8	601	12	394	14	-	-
	Borjú (1 évnél fiatalabb)	70	22,9	128	5,5	32	46,9	-	-	-	-
	Tejelő tehén	57	0	153		315	0,3	-	-	-	-
Olaszország ³	-	33	6,1	155	15,5	295	17	150	28	119	35,3
Olaszország ⁴											
Veneto	-	-	-	67	59,7	28	71,4	-	-	-	-
Litvánia	Tejelő tehén	-	-	461	0	732	1,4	1,424	0,1	-	-
Szlovákia ⁵	-	635	0,2	434	0,7	524	0,2				

Ország	Leírás	2007		2006		2005		2004		2003	
		Minta szám	Pozitív (%)	Minta szám	Pozitív (%)	Minta szám	Pozitív (%)	Minta szám	Pozitív (%)	Minta szám	Pozitív (%)
Spanyolország ⁴	Húshasznú állatok	163	46	-	-	-	-	-	-	-	-
Összesen: (12 tagállam)	-	12,539	5,9	34,924	2,4	5,187	8,4	8,752	4	1220	47,8

Megjegyzés: Az adatok csak ≥ 25 mintaszám esetén kerültek bemutatásra.

1. Norvégiában klinikai minták alapján.
2. Dániában 2007-ben 2 évnél idősebb borjak esetében.
3. Olaszországban 2007-ben 1 évnél fiatalabb borjak esetében.
4. Olaszországban és Spanyolországban vágási adatok alapján.
5. Szlovákiában 2007-ben állat alapú adat.

9. Melléklet

Campylobacter kecskében és juhokban¹, 2003-2007

Ország	Mintaszám	Pozitív (%)
Kecske		
Hollandia	315	0
Olaszország	44	0
Olaszország ²	79	0
Juh		
Görögország	70	2,9
Hollandia	782	2,8
Írország	195	7,7
Németország ³	62	6,5
Olaszország	152	0,7
Olaszország ²	190	1,6
Olaszország ³	25	0
Összes (juh) (5 tagállam)	1,476	3,2
Megjegyzés: Az adatok csak ≥ 25 mintaszám esetén kerültek bemutatásra. 1. Állat alapú adatok, ha másképp nem jelölt. 2. Vállalkozás alapú adatok. 3. Állomány alapú adatok.		

10. Melléklet

Campylobacter kisállatokban, 2003-2007

Ország	2007		2006		2005	
	Mintaszám	Pozitív (%)	Mintaszám	Pozitív (%)	Mintaszám	Pozitív (%)
Madarak						
Hollandia	120	0	97	0	-	-
Macskák						
Hollandia	225	8,9	226	2,2	238	1,7
Németország	227	7	218	1,4	221	3,2
Norvégia ⁴	34	11,8	-	-	-	-
Olaszország ¹	286	5,2	35	8,6	-	-
Kutyák						
Dánia ²	-	-	28	46,4	-	-
Hollandia	376	19,9	71	69	133	29,3
Írország ³	481	14,6	447	0,2	-	-
Németország	677	5,5	430	7	803	3,7
Norvégia ⁴	115	23,5	103	19,4	78	20,5
Olaszország	179	6,7	274	6,6	211	4,3
Szlovákia	55	7,3	56	8,9	52	5,8
<p>Megjegyzés: Az adatok csak ≥ 25 mintaszám esetén kerültek bemutatásra.</p> <p>1. Az adatok 2007-ben Olaszországban becsült adatok.</p> <p>2. 2006-ban Dániában diagnosztikai minták alapján.</p> <p>3. 2007-ben Írországban diagnosztikai minták alapján.</p> <p>4. 2005-2007 között Norvégiában diagnosztikai minták alapján.</p>						

12. Köszönetnyilvánítás

Értekezésemhez kapcsolódó munkám során nyújtott segítségért, konzultációkért szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Reichart Olivérnek, Dr. Szakmár Katalinnak a laboratóriumi kísérletekben és kiértékelésekben nyújtott hatékony segítségéért, továbbá Németh Gabriellának a laboratóriumi munka gondos előkészítéséért.

A telepi kísérletek az NKB-2003-KUT-7-028 pályázat keretében valósultak meg.